

## Preservasi Semen Kambing Peranakan Etawa dalam Pengencer Tris dan Sitrat Kuning Telur dengan Penambahan *Sodium Dodecyl Sulphate*

(*THE PRESERVATION OF ETTAWA GRADE BUCK SEMEN IN TRIS AND CITRATE EGG YOLK DILUENTS SUPPLEMENTED WITH SODIUM DODECYL SULPHATE*)

Nur Hidayati<sup>1\*</sup>, Raden Iis Arifiantini<sup>2</sup>, Dondin Sajuthi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Biologi Reproduksi, Sekolah Pascasarjana,

<sup>2</sup>Bagian Reproduksi dan Kebidanan, <sup>3</sup>Bagian Penyakit Dalam,

Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi,

Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

Jln. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

Telpon : (0251) 8623940/ 081319720109

\*E-mail : nur.hidayatibrp@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) dan juga untuk membandingkan Tris kuning telur dan sitrat kuning telur pada kualitas semen cair kambing peranakan etawa (PE). Penelitian ini terdiri dari dua percobaan. Percobaan pertama untuk menentukan konsentrasi SDS terbaik pada pengencer Tris kuning telur dan percobaan kedua adalah untuk membandingkan suplementasi SDS di Tris dan sitrat kuning telur pada kualitas semen cair kambing PE. Semen dikumpulkan dari tiga kambing, segera setelah koleksi semen dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Semen menunjukkan motilitas di atas 70% dan abnormalitas di bawah 10%. Semen tersebut dibagi menjadi empat tabung, tabung masing-masing diencerkan dalam kuning telur ditambah dengan SDS 0; 0,025; 0,05; dan 0,075% kemudian disimpan pada suhu 5°C selama 72 jam. Kualitas semen cair untuk motilitas dan viabilitas diamati setiap 12 jam. Hasil menunjukkan bahwa penambahan SDS 0,05% adalah konsentrasi terbaik dibandingkan dengan yang lain. Pada percobaan kedua, semen diencerkan dalam empat pengencer yang berbeda, itu adalah Tris kuning telur (TKT), Tris kuning telur dengan SDS 0,05% (TKTS), sitrat kuning telur (SKT) dan sitrat kuning telur dengan SDS 0,05% (SKTS). Hasil menunjukkan bahwa nilai rata-rata motilitas dan viabilitas spermatozoa dalam pengencer TKTS ( $67,08 \pm 6,43\%$  dan  $77,07 \pm 6,78\%$ ) lebih tinggi ( $p < 0,05$ ) dibandingkan SKTS ( $60,42 \pm 9,05\%$  dan  $72,31 \pm 7,45\%$ ), TKT ( $59,23 \pm 9,41\%$  dan  $71,21 \pm 8,56\%$ ) dan SKT ( $53,45 \pm 11,33\%$  dan  $67,74 \pm 8,90\%$ ). Sebagai simpulan, suplementasi SDS 0.05% dalam TKT mempertahankan kualitas sperma terbaik dibandingkan dengan pengencer lain selama preservasi semen.

Kata-kata kunci: SDS, semen kambing peranakan etawa, semen cair, tris kuning telur, sitrat kuning telur.

### ABSTRACT

This study was conducted to determine SDS concentration also to compare Tris egg yolk and citrate egg yolk on the quality of ettawa grade chilled semen. The study consist of two experiments. The first experiment was to determine the best SDS concentration in Tris egg yolk diluents and the second experiment was to compare the SDS supplementation in tris and citrate egg yolk in the quality of ettawa grade chilled semen. The semen were collected from three bucks, immediately after collection the semen evaluated macro and microscopically. Semen demonstrate more than 70% motility and less than 10% spermatozoa abnormality, individually divided into four tube, each tube was diluted in egg yolk supplemented with 0; 0,025; 0,05; and 0.075% SDS then stored at 5°C for 72 hours. The quality of chilled semen was observe for motility and viability every 12 hours. Result demonstrated that 0.05% SDS was the best concentration compared to others. In the second experiment, the semen were diluted in four different diluents, it were Tris egg yolk (TEY), Tris egg yolk with 0.05% SDS (TEYS), citrate egg yolk (CEY) and citrate egg yolk with 0.05% SDS (CEYS). Result demonstrated that the mean value of motility and viability of spermatozoa in TEYS diluents ( $67.08 \pm 6.43\%$  and  $77.07 \pm 6.78\%$ ) was higher ( $p < 0.05$ ) than CEYS ( $60.42 \pm 9.05\%$  and  $72.31 \pm 7.45\%$ ), TEY ( $59.23 \pm 9.41\%$  and  $71.21 \pm 8.56\%$ ) and CEY ( $53.45 \pm 11.33\%$  and  $67.74 \pm 8.90\%$ ). In conclusion, supplementation of 0.05% SDS in TEY was maintained best sperm quality compared to other diluents during preservation.

Key words: SDS, ettawa grade buck semen, liquid semen, tris-egg yolk, citrate-egg yolk.

## PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi yang dapat dilakukan untuk perbaikan mutu genetik ternak kambing di Indonesia. Namun, penerapan teknologi ini secara luas pada ternak kambing masih kurang karena mengembangbiakan kambing masih dilakukan secara alami. Hal tersebut terkait berbagai kendala, di antaranya ketepatan waktu, teknik inseminasi, betina, sumber daya manusia, teknik pengawetan semen, kualitas semen cair, dan kualitas semen beku yang dihasilkan. Kualitas semen cair ditentukan oleh suhu penyimpanan, jenis pengencer, serta dosis inseminasi yang digunakan (Yusuf *et al.*, 2005). Suhu semen cair pada ternak umumnya adalah 5°C. Pada suhu tersebut spermatozoa masih melakukan metabolisme sehingga daya tahan hidupnya terbatas.

Selama proses preservasi semen terjadi perubahan suhu sehingga merusak komposisi lipid membran plasma, dan berdampak pada penurunan motilitas dan fertilitas spermatozoa tersebut. Membran dianggap target utama kerusakan sel pada pendinginan atau pembekuan semen (Aboagla dan Terada, 2004a). Menjaga integritas membran untuk menghasilkan spermatozoa yang fungsional setelah preservasi sangat penting untuk dilakukan. Kuning telur dan susu dalam pengencer mengandung *phospholipid* yang sangat dibutuhkan karena melindungi spermatozoa dari *cold shock* pada saat pendinginan ataupun pembekuan (Amirat *et al.*, 2004; Aboagla dan Terada, 2004b).

Semen kambing dalam bentuk cair atau beku jika menggunakan bahan pengencer yang mengandung kuning telur ataupun susu dilaporkan memiliki kualitas semen yang rendah (Sias *et al.*, 2005). Rendahnya kualitas semen tersebut diduga akibat *bulbourethral gland secretion* (BUS) yang terkandung dalam plasma semen kambing. Di dalam BUS terdapat enzim *phospholipase A* yang disebut juga *egg yolk coagulating enzyme*. Enzim tersebut dapat menghidrolisis *phospholipid* kuning telur menjadi *lysophospholipid* seperti *lysolecithin* yang toksik pada spermatozoa (Amirat *et al.*, 2007), dan merupakan faktor yang dapat merusak akrosoma sebelum dan sesudah pembekuan (Dewit *et al.*, 2000; Julian *et al.*, 2006).

Dalam proses pengenceran semen, kuning telur tidak mudah larut dalam pengencer, agar dapat larut dengan baik menurut El-Kon *et al.*,

(2010) dapat ditambahkan dengan *sodium dodecyl sulphate* (SDS). Senyawa SDS merupakan komponen aktif yang banyak dijual dalam merek dagang *Equex STM paste* yang digunakan sebagai suplemen pengencer semen (Ponglowhapan dan Chatdarong, 2008). *Equex STM paste* sudah banyak diteliti dan dilaporkan dapat memperbaiki kualitas semen beku pada kuda (Martin *et al.*, 1979), tikus (Dewit *et al.*, 2000), kucing (Axner *et al.*, 2004) anjing (Ponglowhapan dan Chatdarong, 2008), dan kambing (El-Kon *et al.*, 2010).

Penambahan SDS dalam bahan pengencer yang mengandung kuning telur dapat melarutkan dan meningkatkan dispersi molekul-molekul kuning telur sehingga meningkatkan kontak antara *phospholipid* kuning telur dengan membran sel spermatozoa (El-Kon *et al.*, 2010). Ponglowhapan dan Chatdarong, (2008) melaporkan penambahan SDS pada pengencer semen anjing meningkatkan motilitas, integritas akrosoma, dan fertilitas yang tinggi. Mengingat SDS adalah bahan yang toksik, pada pengencer kuning telur dan belum dilaporkan di Indonesia, maka penelitian ini bertujuan untuk mencari konsentrasi SDS dalam Tris kuning telur (TKT) serta membandingkan efektivitas SDS dalam pengencer TKT dan sitrat kuning telur (SKT) untuk mempertahankan kualitas semen cair kambing PE.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Koperasi Kambing Perah, di Desa Cikarawang, Kecamatan Ciampea, Bogor, Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR), Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, pada bulan Januari-Februari 2014. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap percobaan.

### Sumber Semen

Sebagai sumber semen, digunakan tiga ekor kambing PE jantan dewasa kelamin dengan umur berkisar antara 4,0-5,0 tahun dengan bobot badan 50-60 kg. Kambing tersebut ditempatkan dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum. Pakan yang diberikan berupa hijauan rumput gajah segar 20% dari bobot badan dan konsentrat sebanyak 0,5 kg serta air minum diberikan secara *ad libitum*.

**Menentukan Konsentrasi SDS Terbaik pada Pengencer Tris Kuning Telur (TKT)**

**Penyiapan Bahan Pengencer.**

Pengencer yang digunakan pada tahap ini adalah pengencer Tris kuning telur mengadopsi buffer Tris (Ariantie *et al.*, 2014) disajikan pada Tabel 1 dengan konsentrasi SDS yang akan digunakan adalah 0; 0,025; 0,05; dan 0,075 (Tabel 2).

Tabel 1. Komposisi buffer tris

Bahan	Jumlah
Tris ( <i>Hydroxymethyl</i> ) aminomethane (g)	2,98
D-Fruktosa (g)	2
Asam Sitrat Monohidrat (g)	1,65
Akuabidestilata (mL) <i>ad</i>	100

Tabel 2 Komposisi bahan pengencer

Bahan	Konsentrasi SDS (%)			
	0	0,025	0,050	0,075
Buffer tris	8	8	8	8
Kuning telur	2	2	2	2
SDS g (w/v)	0	0,025	0,050	0,075
Antibiotik				
Penisilin (IU)/mL	1000	1000	1000	1000
Streptomisin (mg)/mL	1	1	1	1

Keterangan: SDS: *Sodium Dodecyl Sulphate*

**Koleksi dan Evaluasi Semen.** Semen dikoleksi satu minggu dua kali masing-masing satu ejakulat, menggunakan vagina buatan. Semen yang diperoleh dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH, sedangkan evaluasi mikroskopis yang dilakukan adalah gerakan massa, gerakan individu, konsentrasi, spermatozoa hidup, morfologi, dan keutuhan membran plasma (MPU).

Volume semen segar diukur langsung dengan menggunakan pipet ukur. Derajat keasamaan (pH) semen segar diukur menggunakan pH spesial indikator paper (*Merck*

*scale* 6,4-8,0). Warna diidentifikasi secara visual, konsistensi atau kekentalan semen diuji dengan cara memiringkan dan mengembalikan tabung pada posisi semula dengan kriteria encer, sedang, kental, dan sangat kental.

Penilaian mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop binokuler (Olympus CH21). Penilaian gerakan massa dibedakan berdasarkan gelombang gerakan spermatozoa secara masal cepat berpindah dari satu posisi ke posisi lainnya. Persentase motilitas spermatozoa dibedakan dengan melihat perbandingan gerakan spermatozoa yang progresif maju ke depan dengan gerakan spermatozoa yang tidak progresif.

Pemeriksaan konsentrasi dihitung dengan menggunakan kotak hitung *Neubauer* dengan pengenceran 500 kali menggunakan *formol-saline*, sedangkan pemeriksaan persentase spermatozoa hidup dengan membuat preparat ulas yang diwarnai dengan pewarna eosin nigrosin, dihitung pada 10 lapang pandang yang berbeda atau 200 spermatozoa. Pemeriksaan morfologi spermatozoa menggunakan pewarna carbofuchsin (Williams) mengadopsi teknik Arifiantini (2012). Spermatozoa yang diamati minimal sebanyak 200 sel atau 10 lapang pandang. Pemeriksaan keutuhan membran plasma spermatozoa menggunakan larutan *hypoosmotic swelling test* (HOS-Test) (Fonesca *et al.*, 2005). Hanya semen dengan motilitas lebih dari 70%, konsentrasi lebih dari 25x10<sup>8</sup>, dan abnormalitas kurang dari 10% digunakan dalam penelitian ini.

**Pengolahan Semen.** Semen yang memenuhi kualitas dibagi menjadi empat tabung masing-masing diencerkan dengan TKT SDS 0 (TKT<sub>0</sub>), TKT SDS 0,025 (TKT<sub>0,025</sub>), TKT SDS 0,050 (TKT<sub>0,050</sub>), TKT SDS 0,075 (TKT<sub>0,075</sub>), dengan konsentrasi 50 juta dalam 0,2 mL. Semen cair selanjutnya disimpan dalam kulkas (4°C), dan diamati setiap 12 jam. Pengamatan dilakukan terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Jumlah pengencer yang digunakan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah pengencer (mL)} = \frac{V \times M \times K}{50 \times 10^6} \times 0,2$$

Keterangan:

V = Volume semen; M = Motilitas semen; K = Konsentrasi semen

## Membandingkan Kualitas Semen Cair Terbaik Menggunakan Tris Kuning Telur (TKT) dan Sitrat Kuning Telur (SKT) yang Ditambahkan SDS

**Penyiapan Bahan Pengencer.** Pengencer yang digunakan pada tahap ini adalah pengencer Tris kuning telur sama dengan tahap I dan pengencer sitrat kuning telur. Buffer sitrat mengadopsi Arifiantini dan Purwantara (2010). Komposisi buffer sitrat disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Komposisi buffer sitrat

Bahan	Jumlah
D-Fruktosa (g)	1,25
Sodium Sitrat Dihidrat (g)	2,32
Akuabidestilata (mL)	100

**Pengolahan Semen.** Koleksi dan evaluasi semen sama dengan yang dilakukan pada tahap I. Semen yang diperoleh masing-masing dibagi ke dalam empat tabung dan diencerkan masing-masing dengan TKT<sub>0</sub>, TKT<sub>0,05</sub>, SKT<sub>0</sub> atau SKT<sub>0,05</sub>, dengan konsentrasi sama dengan tahap I. Penyimpanan dan pengamatan semen sama seperti yang dilakukan pada tahap I.

### Analisis Data

Penelitian dirancang dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan pengamatan berulang. Data penelitian dianalisis menggunakan sidik ragam, jika ditemukan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1995). Data diolah menggunakan program SAS versi 9.1, yang disajikan dalam rataan dan simpangan baku.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Konsentrasi SDS Terbaik pada Pengencer Tris Kuning Telur untuk Preservasi Semen

Semen segar dari ketiga jantan kambing PE pada tahap I mempunyai kualitas yang baik dan layak untuk diproses menjadi semen cair. Pemeriksaan makroskopis menunjukkan volume semen 1,14±0,14 mL, pH 6,72, warna krem dengan konsistensi kental. Warna dan konsistensi menunjukkan konsentrasi spermatozoa yang tinggi. Konsentrasi yang

dihasilkan sebesar 3621±76,38x10<sup>6</sup>. Hasil ini mirip dengan laporan Dorado *et al.*, (2009) sebesar 3690±80x10<sup>6</sup>. Motilitas yang dihasilkan pada semen segar dalam penelitian ini sebesar 80,42±0,14%. Hasil ini hampir sama dengan hasil El-Kon *et al.*, (2010) yaitu 79,58±0,64. Viabilitas yang dihasilkan sebesar 87,96±0,02%, membran plasma utuh (MPU) sebesar 87,93±0,01%.

Hasil pemeriksaan morfologi, ditemukan spermatozoa yang abnormal sebesar 5,5±0,01%. Hasil ini sesuai pernyataan Ax *et al.*, (2000) yang menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa tidak lebih dari 10%. Morfologi spermatozoa yang abnormal telah banyak dilaporkan dan dapat memengaruhi fertilitas (Saacken, 2008). Pengukuran abnormalitas spermatozoa penting dilakukan karena abnormalitas yang tinggi mengurangi keberhasilan fertilisasi, sehingga menurunkan keberhasilan program inseminasi buatan (Sarder 2004). Chenoweth (2005) membagi abnormalitas spermatozoa ke dalam dua kategori yaitu abnormalitas primer (kerusakan pada kepala) dan abnormalitas sekunder (kerusakan pada ekor). Jenis abnormalitas primer yang ditemukan dalam penelitian ini berupa *pearshaped* (kepala spermatozoa berbentuk seperti buah pear), *abnormal contour* (kepala spermatozoa abnormal), *underdeveloped* (kepala spermatozoa kecil dan ekor pendek), *round head* (kepala spermatozoa bulat dan tidak ada perbatasan akrosom yang jelas), *macrocephalus* (kepala spermatozoa besar), *microcephalus* (kepala spermatozoa kecil), *abaxial* (pergeseran posisi titik penempelan ekor spermatozoa ke kepala), *detached head* (kepala spermatozoa patah dari bagian leher dan ekor), *knobbed acrosome defect* (kepala spermatozoa pudar tidak mulus seperti ada lekukan ke dalam/ ke luar). Abnormalitas sekunder yang ditemukan adalah *double folded* (ekor spermatozoa melipat ganda), *coiled under the head* (ekor spermatozoa melingkar di bawah kepala), *simple bent* (ekor spermatozoa melipat sederhana), *bow midpiece* (ekor spermatozoa melengkung menyerupai huruf U), *bent mid piece* (ekor spermatozoa melipat sehingga tampak patah), dan *cytoplasmic droplet* (massa kecil berbentuk bola atau bulat sitoplasma dengan diameter 2-3 µm pada ekor spermatozoa).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan SDS ke dalam pengencer Tris kuning telur efektif ( $p < 0,05$ ) dalam memperta-

Tabel 4 Komposisi bahan pengencer tris dan sitrat yang disuplementasi SDS

Bahan	Pengencer			
	TKT <sub>0</sub>	TKT <sub>0,05</sub>	SKT <sub>0</sub>	SKT <sub>0,05</sub>
Buffer tris	8	8		
Buffer sitrat			8	8
Kuning telur	2	2	2	2
SDS g (w/v)	0	0,05	0	0,05
Antibiotik				
Penisilin (IU)/mL	1000	1000	1000	1000
Streptomisin(mg)/mL	1	1	1	1

Keterangan : TKT<sub>0</sub> : Tris Kuning Telur tanpa SDS; TKT<sub>0,05</sub> : Tris Kuning Telur dengan 0,05 %SDS; SKT<sub>0</sub> : Sitrat Kuning Telur tanpa SDS; SKT<sub>0,05</sub> : Sitrat Kuning Telur dengan 0,05% SDS

Tabel 5 Persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing pada suhu 5 °C dalam pengencer Tris dengan konsentrasi SDS berbeda

Waktu (Jam)	Motilitas (%)			
	TKT <sub>0</sub>	TKT <sub>0,025</sub>	TKT <sub>0,05</sub>	TKT <sub>0,075</sub>
0	79,17±0,72 <sup>ab</sup>	79,17±1,44 <sup>ab</sup>	80,42±1,44 <sup>a</sup>	78,75±1,25 <sup>ab</sup>
12	69,58±1,91 <sup>ef</sup>	73,75±3,31 <sup>cd</sup>	77,50±2,17 <sup>b</sup>	71,67±1,91 <sup>de</sup>
24	65,42±0,72 <sup>hi</sup>	69,17±1,91 <sup>f</sup>	77,08±1,91 <sup>b</sup>	69,58±2,60 <sup>ef</sup>
36	62,08±2,60 <sup>j</sup>	65,00±1,25 <sup>hi</sup>	74,17±0,72 <sup>c</sup>	66,25±2,5 <sup>sh</sup>
48	57,92±3,15 <sup>k</sup>	62,08±1,91 <sup>j</sup>	70,42±3,15 <sup>ef</sup>	63,33±2,89 <sup>ij</sup>
60	53,33±3,15 <sup>l</sup>	57,50±3,31 <sup>k</sup>	68,33±1,91 <sup>fg</sup>	58,75±2,50 <sup>k</sup>
72	47,92±5,05 <sup>n</sup>	50,83±5,20 <sup>m</sup>	64,58±3,15 <sup>hi</sup>	52,50±3,31 <sup>m</sup>
Rataan	62,20±10,19 <sup>C</sup>	65,36±9,48 <sup>B</sup>	73,21±5,68 <sup>A</sup>	65,83±8,47 <sup>B</sup>
		Viabilitas (%)		
0	85,79±0,73 <sup>b</sup>	85,96±1,18 <sup>b</sup>	89,24±3,21 <sup>a</sup>	84,90±1,41 <sup>b</sup>
12	78,29±4,33 <sup>def</sup>	80,38±3,26 <sup>cd</sup>	84,11±3,93 <sup>b</sup>	78,16±3,85 <sup>def</sup>
24	76,05±4,23 <sup>fgh</sup>	78,33±4,00 <sup>def</sup>	80,91±3,59 <sup>c</sup>	76,60±3,42 <sup>fg</sup>
36	72,73±4,02 <sup>ij</sup>	75,33±4,60 <sup>gh</sup>	79,51±3,78 <sup>cde</sup>	74,89±3,59 <sup>ghi</sup>
48	69,38±2,68 <sup>k</sup>	72,41±2,85 <sup>j</sup>	77,96±4,45 <sup>ef</sup>	73,84±2,78 <sup>j</sup>
60	64,05±2,56 <sup>l</sup>	67,48±4,63 <sup>k</sup>	76,47±4,26 <sup>fg</sup>	71,93±2,85 <sup>k</sup>
72	58,47±2,93 <sup>n</sup>	60,11±4,45 <sup>mn</sup>	73,84±2,78 <sup>hij</sup>	61,47±3,04 <sup>m</sup>
Rataan	72,10±9,09 <sup>C</sup>	74,29±8,73 <sup>B</sup>	80,29±5,78 <sup>A</sup>	73,87±7,45 <sup>B</sup>

Keterangan : Huruf kecil (a-n) *superscript* menunjukkan perbedaan yang nyata pada interaksi antar kolom perlakuan (p<0,05), huruf kapital (A-C) *superscript* menunjukkan perbedaan yang nyata pada rata-rata perlakuan (p<0,05). Keterangan :TKT<sub>0</sub>=Tris kuning telur tanpa SDS; TKT<sub>0,025</sub>=Tris kuning telur dengan 0,025% SDS; TKT<sub>0,05</sub>=Tris kuning telur dengan 0,05% SDS ; TKT<sub>0,075</sub>=Tris kuning telur dengan 0,075% SDS

hankan kualitas semen kambing (Tabel 5). Nilai tertinggi pada lama penyimpanan 72 jam didapatkan pada konsentrasi SDS 0,05% dengan nilai motilitas dan viabilitas sebesar 64,58±3,15% dan 73,84±2,78%, dengan rata-rata motilitas dan viabilitas masing-masing sebesar 73,21±5,68% dan 80,29±5,78%. Hasil ini mirip dengan laporan

El kon *et al.*, (2010) yang mendapatkan hasil nilai motilitas dan akrosom utuh lebih tinggi pada konsentrasi SDS 0,05 % dibandingkan dengan 0,1 dan 0,2%.

Hal ini juga sejalan dengan Aboagla dan Terada, (2004a) yang melaporkan bahwa pengabungan SDS dalam pengencer semen yang

mengandung kuning telur melindungi spermatozoa terhadap kerusakan yang disebabkan pembekuan yang ditunjukkan dengan nilai motilitas dan akrosoma utuh secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Nilai motilitas dan viabilitas menurun pada konsentrasi SDS 0,075%. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi SDS yang tinggi secara signifikan menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Konsentrasi SDS yang tinggi dalam pengencer, menyebabkan molekul SDS yang bebas meningkat dan dapat berikatan langsung ke membran spermatozoa (Julian *et al.*, 2006). Menurunnya motilitas dan akrosoma utuh spermatozoa, pada konsentrasi SDS yang tinggi sejalan dengan laporan Dewit *et al.*, (2000) yang melaporkan integritas membran spermatozoa tikus secara signifikan berkurang ketika ditambahkan SDS lebih dari 0,05% dalam pengencer.

Beberapa penelitian telah melaporkan efek yang sama dari SDS ketika ditambahkan ke dalam pengencer yang mengandung kuning telur pada preservasi dan kriopreservasi semen

beberapa spesies. Suplementasi SDS dalam pengencer semen beku telah dilakukan pada beberapa spesies di antaranya pada anjing (Pena *et al.*, 2003; Ponglowhapan dan Chatdarong, 2008), kambing (Aboagla dan Terada, 2004a; Julian *et al.*, 2006; Morton *et al.*, 2010; El-Kon *et al.*, 2010), babi (Wu *et al.*, 2013), kucing (Axner *et al.*, 2004; Zambelli *et al.*, 2010; Anakkul *et al.*, 2011), dan serigala (Zindl *et al.*, 2006) dengan hasil yang berbeda-beda.

#### Kualitas Semen Cair Kambing PE dalam Pengencer Tris Kuning Telur dan Sitrat Kuning Telur yang Disuplementasi SDS

Pemeriksaan semen segar pada tahap II secara makroskopis mempunyai volume  $1,13 \pm 0,16$ , pH 6,8, gerakan massa +++, warna krem dengan konsistensi kental. Secara mikroskopis motilitas spermatozoa  $75,83 \pm 0,01\%$ , viabilitas  $81,62 \pm 0,01\%$ , konsentrasi  $3750,00 \pm 131,69$ , abnormalitas  $4,93 \pm 0,01$ , dan MPU  $83,98 \pm 0,01\%$ . Semua nilai tersebut dalam kisaran normal menurut Garner dan Hafez (2000).

Tabel 6 Motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing pada pengencer Tris dan sitrat yang disuplementasi SDS pada suhu 5°C

Waktu (Jam)	Motilitas (%)			
	TKT0	TKT0,05	SKT0	SKT0,05
0	73,75±1,25 <sup>b</sup>	76,25±1,25 <sup>a</sup>	72,92±0,72 <sup>b</sup>	74,58±0,72 <sup>ab</sup>
12	68,33±1,44 <sup>cd</sup>	74,17±1,91 <sup>ab</sup>	63,33±3,61 <sup>f</sup>	68,33±2,60 <sup>cd</sup>
24	63,33±2,60 <sup>f</sup>	70,42±0,72 <sup>c</sup>	56,67±4,02 <sup>i</sup>	64,17±1,44 <sup>ef</sup>
36	56,67±2,60 <sup>i</sup>	66,25±1,25 <sup>de</sup>	51,67±0,72 <sup>l</sup>	60,00±1,25 <sup>h</sup>
48	54,17±2,89 <sup>k</sup>	62,50±1,25 <sup>fg</sup>	46,67±3,15 <sup>m</sup>	56,25±0,00 <sup>ij</sup>
60	51,25±3,75 <sup>l</sup>	60,42±1,44 <sup>gh</sup>	42,50±2,16 <sup>n</sup>	52,08±0,72 <sup>kl</sup>
72	47,08±3,82 <sup>m</sup>	59,58±0,72 <sup>h</sup>	40,42±0,72 <sup>n</sup>	47,50±3,31 <sup>m</sup>
Rataan	59,23±9,41 <sup>B</sup>	67,08±6,43 <sup>A</sup>	53,45±11,33 <sup>C</sup>	60,42±9,05 <sup>B</sup>
	Viabilitas (%)			
0	82,06±2,49 <sup>bc</sup>	86,22±1,66 <sup>a</sup>	81,42±1,17 <sup>bc</sup>	82,93±1,95 <sup>b</sup>
12	77,81±2,55 <sup>e</sup>	82,17±1,60 <sup>b</sup>	75,02±2,88 <sup>f</sup>	78,57±2,29 <sup>de</sup>
24	75,23±3,40 <sup>f</sup>	80,11±2,36 <sup>cd</sup>	70,71±2,42 <sup>gh</sup>	75,47±1,97 <sup>f</sup>
36	72,27±2,37 <sup>g</sup>	78,00±3,47 <sup>e</sup>	68,03±1,84 <sup>ij</sup>	72,25±2,40 <sup>g</sup>
48	70,22±2,54 <sup>gh</sup>	75,24±2,36 <sup>f</sup>	65,44±1,48 <sup>kl</sup>	69,23±2,06 <sup>hi</sup>
60	64,16±4,77 <sup>l</sup>	71,43±3,94 <sup>g</sup>	59,38±2,44 <sup>n</sup>	66,39±3,16 <sup>jk</sup>
72	56,75±4,11 <sup>o</sup>	66,35±3,30 <sup>jk</sup>	54,18±1,78 <sup>p</sup>	61,31±5,55 <sup>m</sup>
Rataan	71,21±8,56 <sup>A</sup>	77,07±6,78 <sup>B</sup>	67,74±8,90 <sup>C</sup>	72,31±7,45 <sup>C</sup>

Keterangan : Huruf kecil (a-p) *superscript* menunjukkan perbedaan yang nyata pada interaksi antar kolom perlakuan ( $p < 0,05$ ), huruf kapital (A-C) *superscript* menunjukkan perbedaan yang nyata pada rata-rata perlakuan ( $p < 0,05$ ). Keterangan : TKT0= Tris kuning telur tanpa SDS; TKT0.05=Tris kuning telur dengan 0.05% SDS; SKT0=Sitrat kuning telur tanpa SDS; SKT0.05=Sitrat kuning telur dengan 0.05% SDS

Konsentrasi penambahan SDS terbaik yang diperoleh dari percobaan I yaitu 0,05% disuplementasikan pada ke dua pengencer yaitu pengencer Tris dan sitrat. Dari hasil pengamatan didapatkan nilai rata-rata motilitas dan viabilitas spermatozoa dalam pengencer TKTS ( $67,08 \pm 6,43\%$ ;  $77,07 \pm 6,78\%$ ) lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan SKTS ( $60,42 \pm 9,05\%$ ;  $72,31 \pm 7,45\%$ ) (Tabel 6).

Viabilitas spermatozoa pada pengencer Tris dan sitrat yang menggunakan SDS lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa SDS. Pemeriksaan viabilitas ini penting karena akan berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Kelangsungan hidup spermatozoa berkaitan dengan keutuhan membran. Hal ini menunjukkan bahwa membran berperan mengatur keluar masuknya substrat dan elektrolit yang dibutuhkan selama proses metabolisme. Kerusakan spermatozoa pada saat preservasi yang disebabkan karena efek *cold shock*, mengubah struktur membran dari konfigurasi normal ke konfigurasi hexagonal yang dapat merusak keutuhan membran (Aboagla dan Terada, 2004a). Penambahan kuning telur yang mengandung *phospholipid*, dalam pengencer sangat dibutuhkan karena melindungi spermatozoa dari *cold shock* pada saat pendinginan ataupun pembekuan (Amirat *et al.*, 2004; Aboagla dan Terada, 2004b).

Membran plasma spermatozoa dipengaruhi oleh tekanan osmotik pada bahan pengencer. Spermatozoa membutuhkan lingkungan pengencer yang isotonik agar keutuhan membran plasma tetap terjaga. Tekanan osmotik semen segar dari ketiga kambing PE yang digunakan pada penelitian ini masing-masing adalah 240, 330, dan 290 mosmol/kg, dengan rata-rata tekanan osmotik dari ketiga jantan adalah 286,67 mosmol/kg. Tekanan osmotik pengencer Tris kuning telur, Tris kuning telur-SDS, sitrat kuning telur, sitrat kuning telur-SDS masing-masing adalah 357, 362, 302 dan 303 mosmol/kg. Berdasarkan pengujian tekanan osmotik yang dilakukan pada pengencer maka semua pengencer dalam kisaran normal toleransi tekanan osmotik spermatozoa. Dalam pengencer, spermatozoa memiliki toleransi tekanan osmotik 270-360 mosmol/kg (Guthrie 2002). Spermatozoa akan membengkak apabila dipapar ke larutan hipotonik, sebagai akibat masuknya cairan dari bagian luar sel ke dalam sel dan sebaliknya akan mengalami pengkerutan apabila dipapar ke dalam larutan hipertonik.

Berdasarkan hasil penelitian yang didapat, kehadiran SDS dalam pengencer kuning telur mampu meningkatkan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Efek perlindungan dari SDS mungkin karena surfaktan dapat melarutkan dan meningkatkan dispersi gelembung-gelembung kuning telur dalam pengencer sehingga meningkatkan kontak antara kuning telur dan membran sel spermatozoa lebih baik (El-Kon *et al.*, 2010). Hal tersebut meningkatkan efek protektif kuning telur terhadap *cold shock*. Mekanisme kerja SDS bermanfaat meningkatkan kualitas semen secara tidak langsung, tindakan spesifiknya belum diketahui. Morton *et al.*, (2010) menyatakan bahwa SDS bermanfaat di dalam pengencer kuning telur, karena berfungsi untuk mengubah struktur tersier lipoprotein kuning telur.

## SIMPULAN

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi SDS terbaik dalam pengencer Tris kuning telur adalah 0,05%. Kualitas semen cair pada pengencer Tris kuning telur yang disuplementasi SDS (TKTS) lebih baik dibandingkan tiga pengencer yang lainnya.

## SARAN

Disarankan untuk menguji fertilitas semen cair dengan pengencer Tris kuning telur yang disuplementasi SDS. Perlu ada pengujian konsentrasi SDS yang optimum pada pengencer selain tris kuning telur.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Dikti yang telah memberikan Beasiswa Unggulan selama penulis menempuh program Pascasarjana (2012-2014). Terima kasih juga kepada Bapak RM Maulana selaku Ketua Koperasi Daya Mitra Primata, Cikarawang, Bogor beserta para karyawan yang telah memberikan ijin untuk menggunakan tiga ekor kambing PE jantan sebagai hewan percobaan, Bapak Bondan Ahmadi selaku staff pegawai di Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR), Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla EME, Terada T. 2004a. Effect of the supplementation of trehalose extender containing egg yolk with sodium dodecyl sulphate on the freezability of goat spermatozoa. *Theriogenology* 62: 809-818.
- Aboagla EME, Terada T. 2004b. Effects of egg yolk during the freezing experiment of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology* 62: 1160-1172.
- Amirat L, Tainturier D, Jeanneau L, Thorin C, Gerard O, Courtens JL, Anton M. 2004. Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with optidyl, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology* 61: 895-907.
- Amirat LB, Tainturier D, Anton M. 2007. Use Egg Compounds for Cryoprotection of Spermatozoa (Chapter 30). In Huopalahti R, LF Rosina, Anton M, Schade R. *Bioactive Egg Compounds*. Berlin Heidelberg. Springer-Verlag.
- Annakul N, S Junpen, Singlor J, Phutikanit N, Tharasanit T, Techakumphu M. 2011. Effect Equex STM Paste on the quality and motility characteristic of post thawed cryopreserved goat semen. *Thai J Vet Med* 41(3): 345-351.
- Ariantje OS, Yusuf TL, Sajuthi D, Arifiantini RI. 2014. Kualitas semen cair kambing peranakan etawah dalam modifikasi pengencer tris dengan trehalosa dan rafinosa. *Jurnal Veteriner* 15(1): 11-22
- Arifiantini RI. 2012. *Teknik koleksi dan evaluasi semen pada hewan*. Bogor (ID). IPB press.
- Arifiantini RI, Purwantara B. 2010. Motility and viability of friesian holstein spermatozoa in three different extender stored at 5°C. *J Indonesian Trop Anim Agric* 35(4): 222-226.
- Ax RL, Dally M, Didion BA, Lenz RW, Love CC, Varner DD, Hafez B, Bellin ME. 2000. Semen Evaluation. In: Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins. p 365-389.
- Axnér E, Hermansson U, Linde-Forsberg C. 2004. The effect of Equex STM Paste and sperm morphology on post-thaw survival of cat epididymal spermatozoa. *Anim Reprod Sci* 84: 179-191.
- Chenoweth PJ. 2005. Genetic sperm defect. *Theriogenology* 64: 457-468.
- Dewit M, Marley WS, Graham JK. 2000. Fertilization potential of mouse spermatozoa cryopreserved in a medium containing whole eggs. *Cryobiol* 40: 36-45.
- Dorado J, Hidalgo M, Muñoz A, Rodriguez I. 2009. Assessment of goat semen freezability according to the spermatozoa characteristics from fresh and frozen samples. *Anim Reprod Sci* 112:150-157.
- El-Kon II, Sallam AA, Ashmawy TM, Heleil B. 2010. Effect of Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) on The Viability and Fertility of Damascous Goat Spermatozoa. *Global Veterinaria Egypt* 4(6) : 576-581.
- Fonesca JF, Torres CAA, Maffili VV, Borgers AM, Santos ADF, Rodrigues MT, Oliveira RFM. 2005. The Hypoosmotic Swelling Test in Fresh Goat Spermatozoa. *Anim Reprod* 2:139-144.
- Garner DLE, Hafez SE. 2000. Sperm and seminal plasma. In: *Reproduction in farm animal*. In: B Hafez & Hafez ESE. 7th Ed Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins. USA. Pp. 96-109.
- Guthrie HD, Liu J, Critser JK. 2002. Osmotic tolerance limits and effects of cryoprotectants on motility of bovine spermatozoa. *Biol Reprod* 67: 1811-1816.
- Julian SMTD, Adolfo PP, Antonio D, Jesus GB, Amelia, Antonio LS. 2006. Effect of egg yolk concentration on cryopreserving spanish ibex (*Copra pyrenaica*) Epididymal Spermatozoa. *Theriogenology* 66: 1219-1226.
- Martin JC, Klug E, Gunzel AR, 1979. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws. *J Reprod Fert* 27: 47-51.



- Morton KM, Evans G, Maxwell WMC. 2010. Effect of glycerol concentration, Equex STM® supplementation and liquid storage prior to freezing on the motility and acrosome integrity of frozen-thawed epididymal alpaca (*Vicugna pacos*) sperm. *Theriogenology* 74: 311-316.
- Pena AI, Lugilde LL, Barrio M, Herradon PG, Quintela LA. 2003. Effect of Equex from different sources on post thaw survival, longevity and intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration of dog spermatozoa. *Theriogenology* 59: 1725-1739.
- Ponglowhapan S, Chatdarong, K. 2008. Effects of Equex STM Paste on the quality of frozen-thawed epididymal dog spermatozoa. *Theriogenology* 69: 666-672.
- Saacken RG. 2008. Sperm morphology: Its relevance to compensable and uncompensable traits in semen. *Theriogenology* 70: 473-478.
- Sarder MJU. 2004. Morphological sperm abnormalities of different breeds of AI and its impact on conception rate of cows in AI programme. *Bangl. J Vet Med* 2: 129-135.
- Sias BF, Ferrato MI, Pellicer Rubio, Forgerit Y, Guillouet P, Leboeuf B. 2005. Cloning and seasonal secretion of the pancreatic lipase-related protein 2 present in goat seminal plasma. *Biochim Biophys Acta* 1686: 169-180.
- Wu TW, Cheng FP, Chen IH, Yang CH, Tsai MY, Chang MH, Wang JH and Wu JT. 2013. The combinatorial effect of different Equex STM Paste concentration, cryoprotectants and the straw-freezing methods on the post thaw boar semen quality. *Reprod Dom Animal* 48: 53-58.
- Zambelli D, Iacono E, Raccagni R, Merlo B. 2010. Quality and fertilizing ability of electroejaculated cat spermatozoa frozen with or without Equex STM Paste. *Theriogenology* 73: 886-892.
- Zindl C, Asa CS, Gunzel Apel AR. 2006. Influence of cooling rates and addition of Equex Pasta on cooled and frozen-thawed semen of generic gray (*Canis lupus*) and mexican gray wolves (*C. I. Baileyi*). *Theriogenology* 66: 1797-1802.
- Yusuf TL, Arifiantini RI, Rahmiwati N. 2005. Daya Tahan Semen Kambing Peranakan Etawah dalam Pengencer Kuning Telur dengan Kemasan dan Konsentrasi Spermatozoa yang Berbeda. *J Indon Trop Anim Agric* 30 (4): 217-223.