

Kualitas Semen Kambing Sapera yang Dibekukan dalam Pengencer Tris Kuning Telur dengan Imbuan *Pentoxifylline*

(QUALITY OF SAPERA BUCK SEMEN FROZEN IN TRIS EGG YOLK
EXTENDER ADDED WITH PENTOXIFYLLINE)

Bq Hayyul Hidayati¹, Raden Iis Arifiantini²,
Ni Wayan Kurniani Karja², Diana Andrianita Kusumaningrum³

Program Studi Biologi Reproduksi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Jl Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680.

³Laboratorium Reproduksi Balai Penelitian Ternak,
Jl. Banjarwaru, PO Box 221, Ciawi, Bogor 16002

*Email: iis.arifiantinipurna@gmail.com, bqhayyulhidayati@yahoo.co.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan dosis terbaik *Pentoxifylline* (PTX) dalam pengencer tris kuning telur (TKT) untuk meningkatkan kualitas semen beku kambing sapera. Dua ekor kambing sapera umur 1,5 tahun digunakan sebagai sumber semen. Koleksi semen menggunakan vagina buatan, semen segar dievaluasi secara makro dan mikroskopis. Ejakulat yang menunjukkan motilitas spermatozoa di atas 70% dibagi menjadi empat tabung masing-masing diencerkan menggunakan pengencer TKT yang diberi imbuan PTX dengan konsentrasi PTX 0 mM (kontrol), 3,5 mM, 5 mM dan 6,5 mM. setelah diencerkan semen dikemas dalam *mini straw* (0,25 mL) dan diequilibrasi 5°C selama empat jam, kemudian dibekukan di atas uap nitrogen cair selama 10 menit, selanjutnya dimasukkan ke dalam nitrogen cair (-196 °C). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi terbaik imbuan PTX pada berbagai konsentrasi adalah 6,5 mM yang dapat meningkatkan motilitas dan skor individu spermatozoa setelah *thawing* ($P < 0,05$). Imbuan PTX tidak memengaruhi viabilitas dan membran plasma setelah *thawing*. Simpulan penelitian ini bahwa imbuan PTX 6,5 mM dalam pengencer TKT dapat meningkatkan motilitas dan skor individu spermatozoa.

Kata-kata kunci: antioksidan; pembekuan; *pentoxifylline*; kambing sapera

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effective dose of pentoxifylline (PTX) to improve the quality of sapera buck frozen semen in Tris Egg Yolk (TEY) extender. Two sexually mature sapera bucks aged 1.5 years old was used as semen source. Semen collected with artificial vagina. Fresh semen were evaluated macro and microscopically. Only ejaculates showing > 70% sperm motility were selected. Semen were divided into four aliquots tubes containing TEY extender with 0 mM, 3.5 mM, 5 mM and 6.5 mM PTX each tube. After dilution, semen were packed into mini straw (0.25 ml) and equilibrated at 5 °C for 4 hours, then frozen above liquid nitrogen vapors for 10 minutes before plunged into liquid nitrogen (-196 °C). Results of this study showed that 6.5 mM PTX addition to the TEY extender improve post-thaw semen motility ($P < 0.05$) but not viability and plasma membrane integrity. It concluded that 6.5 mM PTX addition to TEY extender improved post-thaw sperm motility of sapera buck.

Keywords: antioxidant; cryopreservation; *pentoxifylline*; sapera buck.

PENDAHULUAN

Kambing sapera merupakan kambing perah unggul hasil persilangan antara kambing saanen dan kambing peranakan etawa (PE) dengan rata-rata produksi susu sebanyak dua liter per hari pada laktasi pertama, lebih tinggi dibandingkan kambing PE dan kambing saanen (Praharani *et al.*, 2013). Untuk meningkatkan populasi kambing sapera dapat dilakukan dengan inseminasi buatan (IB). Inseminasi buatan merupakan teknologi reproduksi yang dapat diaplikasikan untuk mengoptimalkan potensi genetik pejantan unggul secara efisien. Keberhasilan IB pada kambing di Indonesia masih sangat rendah. Hal tersebut dapat disebabkan oleh rendahnya kualitas semen beku yang ditandai dengan penurunan motilitas spermatozoa setelah *thawing*.

Penurunan motilitas salah satu penyebabnya adalah kerusakan pada spermatozoa selama proses pembekuan sampai *thawing*. Penurunan tersebut terjadi karena adanya peningkatan radikal bebas yang memicu peroksidasi lipid (Waluyo, 2006). Peroksidasi lipid juga menghambat proses oksidasi fosforilasi sehingga terjadi peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) spermatozoa. Kadar ROS yang tinggi dalam sel dapat mengoksidasi lipid, protein, dan DNA (Noori, 2012). Oleh karena itu penambahan antioksidan ke dalam bahan pengencer spermatozoa diharapkan dapat menangkalkan peningkatan radikal bebas sehingga penurunan motilitas spermatozoa tidak terjadi secara drastis.

Pentoxifylline (PTX) adalah antioksidan yang berfungsi menghambat aktivitas enzim *phosphodiesterase*, meningkatkan cAMP intraseluler dan *tyrosin phosphorylation* pada ekor spermatozoa (Calogero *et al.*, 1998). *Pentoxifylline* terbukti mampu mempertahankan motilitas spermatozoa pada anjing (Milani *et al.*, 2010), sapi (Barakat *et al.*, (2015), dan kuda (Gradil dan Ball, 2000; Ortgies *et al.*, 2012; Stephens *et al.*, 2013; Tsunoda *et al.*, 2015). Penggunaan imbuhan PTX dalam pengencer untuk pembekuan semen kambing sapera belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian pembekuan semen kambing sapera menggunakan bahan pengencer tris kuning telur dan susu skim yang diimbuhi *pentoxifylline* terhadap kualitas spermatozoa semen beku kambing sapera.

METODE PENELITIAN

Sumber semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah dua ekor kambing sapera yang berumur $\pm 1,5$ tahun dengan bobot badan 44-45 kg. Kambing sapera dikandangkan secara individu, dengan pemberian pakan konsentrat 1 kg/ekor/hari dan hijauan 4 kg/ekor/sehari. Pemberian air minum secara *ad libitum*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Reproduksi, Balai Penelitian Ternak (Balitnak), Ciawi Bogor serta di Laboratorium Unit Rehabilitasi dan Reproduksi (URR), Fakultas Kedokteran Hewan (FKH), Institut Pertanian Bogor (IPB), Dramaga, Bogor.

Penyiapan Bahan Pengencer

Pengencer yang digunakan adalah Tris Kuning Telur (TKT) yang terdiri atas *buffer* tris (2,98 g *Tris hydroxymethyl amino methane*, 1,65 g asam sitrat dan 2 g D-fruktosa dilarutkan dengan *aquadest* sampai mencapai 100 mL). Pengencer TKT merupakan campuran dari tris *buffer* 76% dan kuning telur 20%. Larutan disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan diambil dan ditambahkan 4% gliserol serta antibiotik penisilin dan streptomisin. Imbuhan *Pentoxifylline* dalam pengencer TKT diberikan dengan berbagai konsentrasi yaitu TKT kontrol; TKT+3,5 mM; TKT+5 mM; dan TKT+6,5 mM.

Koleksi dan Evaluasi Semen Kambing Sapera.

Semen kambing sapera ditampung menggunakan vagina buatan pada pagi hari mulai jam 08.00 WIB. Penampungan semen dilakukan sebanyak dua kali setiap minggu. Semen yang telah dikoleksi diletakkan dalam penangas air atau *water bath* (32°C). Semen dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH semen. Evaluasi mikroskopis meliputi gerakan masa, motilitas, viabilitas, membran plasma utuh (MPU), morfologi dan konsentrasi spermatozoa (Arifiantini, 2012).

Pengamatan membran plasma utuh (MPU), mengadopsi metode Fonseca *et al.* (2005), dengan cara memaparkan 2 μ L semen kambing ke dalam 1 mL larutan *hypoosmotic swelling* (HOS) *test*, dihomogenkan kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Larutan HOS

dibuat dari campuran 1,351 g fruktosa dan 0,735 g Na-sitrat dalam 100 mL *aquadest* (osmolaritas 150 mOsm). Satu tetes campuran larutan yang telah diinkubasi diteteskan pada gelas objek kemudian ditutup menggunakan *cover glass*. Evaluasi dilakukan secara acak pada 10 lapang pandang, minimum 200 spermatozoa, dihitung menggunakan bantuan mikroskop cahaya (Olympus Japan) dengan pembesaran 400 kali. Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor yang lurus.

Pengolahan Semen

Semen dengan motilitas di atas 70% dan konsentrasi spermatozoa di atas 3000 juta, semen kemudian dibagi dalam empat tabung, masing-masing tabung diberi pengencer sesuai perlakuan. Setelah diencerkan, semen dikemas ke dalam *straw* mini berukuran 0,25 mL dengan konsentrasi 50×10^6 spermatozoa motil per *straw*. Kemudian diekuilibrasikan di dalam lemari es (suhu 5 °C) selama 4 jam. Pembekuan semen dilakukan dengan cara meletakkan *straw* 0,25 mL di atas permukaan nitrogen cair (suhu sekitar -130 °C) selama 10 menit, kemudian *straw* dimasukkan ke dalam nitrogen cair (suhu sekitar -196 °C) dan disimpan di dalam kontainer nitrogen cair. Sampel semen dievaluasi kualitasnya setelah pengenceran dan setelah equilibrasi.

Pengujian Kualitas Semen Beku

Pengujian kualitas semen beku kambing dilakukan 24 jam setelah pembekuan dan penyimpanan dalam nitrogen cair. Semen beku di-*thawing* ada suhu 37 °C selama 30 detik. Keberhasilan pembekuan dinilai dengan melihat kualitas spermatozoa yaitu motilitas, viabilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa. Persentase penurunan motilitas spermatozoa dihitung dengan cara membandingkan motilitas semen segar hingga kualitas semen *post thawing*. Keberhasilan pembekuan semen kambing juga dinilai dari kemampuan spermatozoa untuk pulih kembali setelah pembekuan atau disebut *Recovery Rate* (RR). Cara menghitung nilai RR menurut Hafez (2000) adalah: $RR = \{(\text{Persentase spermatozoa motil serelah } \textit{thawing}) \times (\text{Persentase spermatozoa motil semen segar})^{-1}\} \times 100\%$.

Analisis Data

Karakteristik semen segar kambing sapera disajikan dalam rataan. Penilaian kualitas semen beku *post thawing* dirancang dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dan dianalisis dengan sidik ragam. Perbedaan hasil yang diperoleh diuji dengan uji lanjut Duncan. Data diolah menggunakan *software SAS (Statistical Analysis System)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Semen segar kambing sapera menunjukkan rataan volume 0,95 mL dengan konsistensi semen sedang sampai kental, berwarna krem dan pH yang normal (6,4). Gerakan massa yang tinggi (+++) dan motilitas spermatozoa yang baik ($75,00 \pm 1,11\%$). Viabilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa berturut-turut adalah $78,16 \pm 1,71\%$ dan $85,00 \pm 0,84\%$. Konsentrasi spermatozoa kambing sapera hampir sama dengan kambing saanen dan PE yaitu $3\,545 \pm 95,015 \times 10^6$ spermatozoa per mL dan abnormalitas spermatozoa cukup rendah hanya sekitar 5-6% (Tabel 1).

Pada Tabel 1 disajikan karakteristik semen segar kambing sapera, kambing saanen dan kambing PE. Secara makroskopis karakteristik semen segar kambing sapera memiliki volume lebih rendah dibandingkan dengan kambing saanen dan PE. Evaluasi semen kambing sapera secara mikroskopis menunjukkan hasil yang hampir sama dengan laporan penelitian kambing saanen dan kambing PE. Kualitas spermatozoa selain dipengaruhi genetik tetuanya, dapat juga karena faktor kecukupan pakan, lingkungan dan umur (Dethan *et al.*, 2010). Oleh sebab itu dari hasil perbandingan kambing sapera dengan tetuanya menunjukkan bahwa memiliki karakteristik yang normal dan layak untuk dilakukan pembekuan semen. Pemeliharaan kambing di tempat penelitian termasuk baik, pakan yang diberikan dengan jumlah dan kualitasnya cukup baik. Pakan yang memiliki kandungan nutrisi tinggi seperti energi, protein, mineral dan vitamin sangat penting untuk menunjang proses spermatogenesis dan menghasilkan kualitas semen yang baik (Fias *et al.*, 2010).

Pentoxifylline dalam Pengencer Tris

Tabel 1. Karakteristik semen segar kambing sapera, saanen, dan perakan etawa

Spermiogram	Rataan±SEM		
	Sapera	Saanen	PE (Ariantie 2013)
Makroskopis			
Volume (mL)	0,95±0,19	1,22±0,23*	1.44±0.15
Warna	Kream	Kream**	Kream
Konsistensi	Sedang sampai kental	Konsistensi** kental*	Kental
pH	6,40±0,12	6,85±0,29**	pH 6.60±0.15
Mikroskopis			
Gerakan Masa	+++	+++**	+++
Motilitas (%)	75,00±1,11	77,00±4,83*	77,78±2,64
Viabilitas (%)	78,16±1,71	89,00±2,93*	84,90±4,37
MPU (%)	85,00±0,84	82,40±5,08**	77,01±3,18
Morfologi (%)	94,50±1,05	89,83±4,62*	91,38±3,05
Konsentrasi spermatozoa x 10 ⁶ / ml	3 545±95.015	3 620±0.41*	3 686.33±553.56

Keterangan: +++ (baik)= gelombang cepat dan tebal, MPU= membran plasma utuh, PE= Peranakan Etawa. *= Kulaksiz dan Daskin (2010), **= Tambing *et al.* (2003).

Kuning Telur dan Kualitas Semen Beku Kambing Sapera Setelah *Thawing*

Stanic *et al.* (2002) menjelaskan bahwa selama proses pembekuan, terjadi penurunan kadar cAMP sebanyak tiga kali lipat dibandingkan semen segar. Hal ini mengindikasikan rendahnya aktivitas metabolisme pada spermatozoa setelah pembekuan. Peran penting cAMP dalam mengatur jalur glikolisis memengaruhi pembentukan energi yang dibutuhkan untuk pergerakan spermatozoa. *Pentoxifylline* mencegah perombakan cAMP oleh cAMP-phosphodiesterase sehingga ketersediaan energi dapat mencukupi untuk menunjang motilitas spermatozoa (Safarinejad, 2011).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase motilitas pada empat jenis pengencer TKT yang diimbuhkan dengan PTX memberikan hasil yang berbeda pada berbagai parameter yang diuji (Tabel 2). Motilitas spermatozoa terbaik yang diberi imbuhan PTX 6,5 mM menunjukkan nilai rata-rata 51,33 yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Kelompok kontrol (tanpa imbuhan PTX) dengan PTX 3,5 mM dan 5 mM tidak terdapat perbedaan ($P > 0,05$). Hal ini diduga karena PTX mampu menekan *reactive oxygen species* (ROS) selama proses pembekuan sehingga sel spermatozoa mengurangi aktivitas seluler.

Konsentrasi PTX juga dipengaruhi oleh

jenis pengencer yang digunakan. Ortgies *et al.* (2012) menyatakan bahwa imbuhan PTX 3,5 mM pada spermatozoa kuda dapat meningkatkan kecepatan sel bergerak dalam medium kapasitas. Hal tersebut sejalan dengan Stephens *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa imbuhan PTX pada semen kuda dalam pengencer skim menunjukkan hasil motilitas terbaik adalah 3,5 mM.

Kecepatan spermatozoa maju ke depan atau disebut dengan skor individu dinilai antara 1-5 (1 sangat lambat dan 5 sangat cepat). Spermatozoa maju setelah *thawing* disajikan dalam Tabel 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa skor individu terbaik adalah 3,05 dengan konsentrasi PTX 6,5. Laporan pembekuan semen anjing dalam pengencer TKT konsentrasi PTX 2,5 mM, 5 mM dan 7,5 mM menunjukkan motilitas progresif yang sama (Milani *et al.*, 2010).

Barakat *et al.* (2015) yang meneliti semen beku sapi FH dengan imbuhan PTX dengan konsentrasi 1 mM, 5 mM dan 10 mM dalam medium *In Vitro Fertilization* (IVF) melaporkan konsentrasi PTX terbaik untuk meningkatkan motilitas spermatozoa adalah 1 mM dan 5 mM. Tsunoda *et al.* (2015) melaporkan bahwa imbuhan PTX 7,18 mM ke dalam pengencer susu skim tidak meningkatkan motilitas spermatozoa kuda setelah *thawing*.

Viabilitas spermatozoa kambing sapera setelah *thawing* menunjukkan tidak berbeda

Tabel 2. Kualitas semen beku kambing sapera dalam tris kuning telur yang diberi imbuhan berbagai konsentrasi *pentoxifylline* (rata-rata±SEM).

Konsentrasi <i>Pentoxifylline</i>	Parameter (Spermatozoa)			
	Motilitas	Gerakan individu	Viabilitas	MPU
0 mM	43,51±0,76 ^b	2,53±0,13 ^b	61,37±1,68	70,55±0,90
3,5 mM	42,40 ±1,4 ^b	2,87±0,19 ^{ab}	61,87±0,94	71,28±0,35
5 mM	41,59±1,09 ^b	2,83±0,07 ^{ab}	58,34±0,41	73,12±1,13
6,5 mM	51,33±0,46 ^a	3,05±0,18 ^a	63,32±0,70	75,63±0,89

Keterangan: ^{a,b,c}Huruf berbeda yang mengikuti angka pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh nyata (P<0.05).

Tabel 3. Penurunan motilitas spermatozoa kambing sapera dalam pengencer tris kuning telur yang diberi imbuhan berbagai konsentrasi *pentoxifylline*/PTX

Konsentrasi <i>Pentoxifylline</i>	Penurunan Motilitas Spermatozoa (%)			Total penurunan
	SS – SP	SP – SE	SE- ST	
0 mM	11,67±3,33 ^a	5,83±0,83 ^b	14,17±2,50 ^b	31,67±2,47
3,5 mM	8,30±4,00 ^{ab}	10,03±2,00 ^a	14,27±3,00 ^b	32,60±1,77
5 mM	8,33±3,00 ^{ab}	3,34±2,00 ^b	21,74±1,00 ^a	33,41±5,49
6,5 mM	5,00±3,00 ^b	4,16±2,00 ^b	14,51±1,00 ^b	23,67±3,31

Keterangan: ^{a,b,c}Huruf berbeda yang mengikuti angka pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh nyata (P<0,05). SS= Semen segar, SP= Setelah Pengenceran, SE= Setelah equilibrasi, ST= Setelah thawing, *= Total penurunan mulai semen segar sampai setelah pembekuan.

antar perlakuan PTX (P>0,05) dengan nilai viabilitas antara 61,37% dan 63,32% (Tabel 2). Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Esteves *et al.* (2007) bahwa imbuhan PTX 5 mM tidak memengaruhi viabilitas semen beku pada spermatozoa manusia.

Imbuhan PTX dalam berbagai konsentrasi dalam pengencer tidak memberikan efek yang signifikan terhadap keutuhan membran plasma setelah *thawing*. Adapun nilai MPU yang dihasilkan pada penelitian ini adalah antara 70,55 dan 75,63. Selama proses pembekuan membran plasma mengalami kerusakan baik pada bagian ekor maupun bagian kepala spermatozoa. Jika kerusakan spermatozoa terjadi pada bagian kepala maka enzim-enzim yang terdapat pada akrosom hilang dan menyebabkan kehilangan kemampuan untuk melakukan fertilisasi. Kerusakan jika terjadi pada bagian ekor maka enzim *aspartat aminotransferase* yang terdapat pada bagian *midpiece* yang berfungsi untuk merombak ATP hingga menjadi AMP, hilang dan spermatozoa

kehilangan daya pergerakan. Oleh sebab itu dengan imbuhan antioksidan PTX dapat meningkatkan level cAMP intraseluler sehingga aktivitas seluler dikurangi. Penelitian ini sejalan dengan Uysal *et al.* (2007) bahwa imbuhan antioksidan dapat melindungi keutuhan membran plasma sel spermatozoa selama proses pembekuan.

Penurunan Motilitas Spermatozoa Kambing Sapera Selama Proses Pembekuan

Secara umum persentase kerusakan akibat proses pembekuan antara 24-64% (Ozkavukcu *et al.*, 2008). Kerusakan spermatozoa pada berbagai ternak, sangat bergantung pada kemampuan spermatozoa bertahan terhadap proses pembekuan (*frezability*).

Pembekuan semen kambing sapera pada penelitian ini mulai dari semen segar, setelah pengenceran, setelah equilibrasi dan setelah *thawing* mengalami penurunan yang berbeda antarperlakuan. Total penurunan mulai dari

Tabel 4. *Recovery rate* spermatozoa kambing sapera dalam pengencer Tris Kuning telur yang diberi imbuhan berbagai konsentrasi PTX

Motilitas (%)	Konsentrasi <i>Pentoxifylline</i> (PTX)			
	0 mM	3,5 mM	5 mM	6,5 mM
Semen segar	75,00±1,11	75,00±1,11	75,00±1,11	75,00±1,11
Setelah <i>thawing</i>	43,33±0,76 ^b	42,40 ±1,44 ^b	41,59±1,09 ^b	51,33±0,46 ^a
<i>Recovery Rate</i>	58,83±3,83 ^b	56,59±2,07 ^b	55,71±1,04 ^b	65,29±2,10 ^a

Keterangan: ^{a,b}Huruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan pengaruh nyata (P<0.05).

semen segar sampai setelah *thawing* antara 23,67 sampai dengan 33,41%. Penurunan motilitas paling rendah ditunjukkan oleh spermatozoa dalam pengencer TKT dengan imbuhan 6,5 mM PTX (Tabel 3). Hal tersebut kemungkinan karena imbuhan PTX mampu melindungi membran sel sehingga fibril-fibril pada bagian tengah ekor spermatozoa tetap seimbang.

Keberhasilan pembekuan semen selain dapat dilihat dari kualitas spermatozoa kambing setelah *thawing*, dapat juga dilihat dari persentase motilitas spermatozoa sebelum dan sesudah dibekukan. Nilai RR merupakan nilai spermatozoa yang berhasil pulih setelah proses pembekuan. Semakin tinggi nilai RR maka semakin banyak spermatozoa yang pulih setelah dibekukan. Nilai RR pada spermatozoa dalam pengencer TKT dengan PTX 6,5 lebih tinggi (P<0,05) dibanding dengan spermatozoa dalam pengencer lainnya dan tidak terdapat perbedaan nilai RR antara kontrol dengan PTX 3,5 mM dan PTX 5 mM.

Imbuhan PTX dalam pengencer TKT menunjukkan hasil terbaik hanya pada konsentrasi 6,5 mM, pada konsentrasi lain tidak terlihat peningkatan motilitas dan skor individu spermatozoa. Konsentrasi 6,5 mM adalah konsentrasi optimal untuk semen kambing sapera dalam pengencer TKT. Konsentrasi PTX pada semen kambing lain dan menggunakan pengencer lain masih perlu diteliti. Antioksidan PTX merupakan salah satu senyawa 2 *methylxantines* yang dapat menghambat aktifitas *phosphodiesterase*, sehingga meningkatkan level cAMP intraseluler pada ekor spermatozoa (Stephens *et al.*, 2013). Ekor spermatozoa mengandung mitokondria pada bagian *midpiece* (Garner dan Hafez, 2000) merupakan penghasil energi untuk pergerakan spermatozoa. Meningkatkan cAMP otomatis

meningkatkan aktivitas mitokondria sehingga pembentukan ATP dan ADP lebih baik dan menghasilkan motilitas yang lebih tinggi. Antioksidan PTX juga dapat menangkal radikal bebas (Pozor *et al.*, 2011). Adanya PTX dapat mengurangi radikal bebas, sehingga skor kecepatan sel bergerak lebih baik. Motilitas dan gerakan individu pada penelitian ini sejalan dengan laporan Gradil dan Ball (2000) yang melaporkan hasil yang serupa bahwa imbuhan PTX 3,5 atau 7,0 dapat meningkatkan motilitas spermatozoa dan skor individu spermatozoa ternak kuda.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 6,5 mM PTX dalam pengencer TKT lebih baik dalam meningkatkan motilitas dan gerakan individu spermatozoa kambing sapera. Imbuhan PTX pada berbagai konsentrasi tidak berpengaruh terhadap viabilitas dan membran plasma utuh.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian fertilitas untuk melihat kemampuan fertilisasi dari semen beku yang diberi imbuhan PTX.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariantie OS, Yusuf TL, Arifiantini RI. 2013. Pengaruh krioprotektan gliserol dan dimetilformamida dalam pembekuan semen kambing peranakan etawah menggunakan pengencer tris modifikasi. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 18: 239-

- 250.
- Arifiantini RI. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*. Bogor. IPB Press.
- Barakat IAH, Danfour MA, Galewan FAM, Dkhil MA. 2015. Effect of Various Concentrations of Caffeine, Pentoxifylline, and Kallikrein on Hyperactivation of Frozen Bovine Semen. *Biomed 1*: 1-7.
- Dethan AA, Kustono, Hartadi H. 2010. Kualitas dan kuantitas sperma kambing Bligon jantan yang diberi pakan rumput gajah dengan suplementasi tepung darah. *Bulletin Peternakan 34*: 145-153.
- Emreçan B, Tulukoglu E, Bozok S, Kestelli M, Onem G, Kupelioglu A, Yagdi S, Gurbuz A. 2006. Effects of iloprost and pentoxifylline on renal Ischemia-reperfusion in rabbit model. *European J Med Res 11*: 295-299.
- Esteves SC, Spaine DM, Cedenho AP. 2007. Effects of pentoxifylline treatment before freezing on motility, viability and acrosome status of poor quality human spermatozoa cryopreserved by the liquid nitrogen vapor method. *Brazilian J Med Biol 40*: 985-992.
- Fias M, Usmani RH, Abdullah M, Ahmad T. 2010. Evaluation of semen quality of Holstein Friesian and Jersey bulls maintained under subtropical environment. *Pakistan Vet J 30*: 75-78.
- Fonseca JF, Tores CAA, Maffi Li VV, Borges AM, Santos ADF, Rodrigues MT, Oliveira RFM. 2005. The hypoosmotic swelling test in fresh goat spermatozoa. *Anim Reprod Sci 2*: 139-144.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. *Spermatozoa and seminal plasma*. In: Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia (US). Lippincott Williams and Wilkins. Hlm. 96-109.
- Gradil CM, Ball BA. 2000. The use of pentoxifylline to improve motility of cryopreserved equine spermatozoa. *Theriogenology 54*: 1041-1047.
- Hafez ESE. 2000. *Preservation and cryopreservation of gametes and embryo*. In: Hafez B, Hafez ESE. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia (US). Lippincott Williams and Wilkins. Hlm. 431-
- 442.
- Kulaksiz R, Daskin A. 2010. In vitro evaluation of Saanen buck semen frozen in different extenders supplemented with various antioxidants. *Ankara Üniv Vet Fak Derg 57*: 151-156.
- Milani C, Fontbonne A, Sellem E. 2010. Effect of post-thaw dilution with caffeine, pentoxifylline, 2-deoxyadenosine and prostatic fluid on motility of frozen-thawed dog semen. *Theriogenology 74*: 153-164.
- Noori S. 2012. An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. *J Clinical & Cellular Immunol 1*(8): 1-9
- Ortgies F, Klewitz J, Gorgens A, Martinsson G, Sieme H. 2012. Effect of procaine, pentoxifylline and trolox on capacitation and hyperactivation of stallion spermatozoa. *Andrology 44*: 8-130.
- Ozkavukcu S, Erdemli E, Isik A, Oztuna D, Karahuseyinoglu S. 2008. Effects of cryopreservation on sperm parameters and ultrastructural morphology of human spermatozoa. *J Assist Reprod Genet 25*: 403-411.
- Pozor MA, Muehlhaus J, King A, Macpherson ML, Troedsson MH, Bailey CS. 2011. Effect of pentoxifylline treatment on testicular perfusion and semen quality in Miniature horse stallions. *Theriogenology 76*: 1027-1035.
- Praharani L, Adiati U, Budiarsana IGM. 2013. Penampilan pertumbuhan anak kambing f-1 anglo nubian peranakan etawah, f-2 sapera, dan peranakan etawah. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Hlm. 301-309.
- Safarinejad MR. 2011. Effect of pentoxifylline on semen parameters, reproductive hormones, and seminal plasma antioxidant capacity in men with idiopathic infertility: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Int Urol Nephrol 43*: 315-328.
- Stanic P, Sonicki Z, Suchanek E. 2002. Effect of pentoxifylline on motility and membrane integrity of cryopreserved human spermatozoa. *Int J Androl 25*: 186-190.
- Stephens TD, Ryan M, Julia L, Lulu C, Anne C.

- Carrington, Cheryl A, Rebecca K. 2013. Effects of pentoxifylline, caffeine, and taurine on post-thaw motility and longevity of equine frozen semen. *Equine Vet Sci* 33: 615-621.
- Tambing SN, Utama IK, Arifiantini RI. 2003. Efektivitas berbagai konsentrasi laktosa dalam pengencer Tris terhadap viabilitas semen cair kambing Saanen. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 8: 84-90.
- Tsunoda RH, Arruda RP, Recalde ECS, Oliveira BMM, Rodriguez SAF, Alves MBR, Lanconi, Nichi M, Celeghini ECC. 2015. Addition of pentoxifylline to skim milk-based extender on frozen-thawed equine sperm. *JEVS* 8: 1-28.
- Uysal O, Bucak MN, Yavas I, Varish O. 2007. Effect of various antioxidants on the quality of frozen-thawed bull semen. *J Anim Vet Adv* 12: 1362-1366.
- Waluyo TS. 2006. Pengaruh penggunaan prolin dalam pengencer susu skim pada spermatozoa beku terhadap kualitas spermatozoa domba priangan. *Anim Prod*: 8(1):_22-27.