

Laktosa Mempertahankan Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah yang Dipreservasi dengan Plasma Semen Domba Priangan

(ROLE OF LACTOSE IN MAINTAINING VIABILITY OF PERANAKAN ETAWAH GOAT SPERMATOZOA PRESERVED WITH PRIANGAN RAM SEMINAL PLASMA)

**Demianus Ferdinand Souhoka¹, Michel Johan Matatula¹,
Wilmientje Marlene Mesang-Nalley², Muhammad Rizal¹**

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura,
Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon, Maluku 97233

Telepon : 0911-322499, Email: demisou@yahoo.com

²Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana,
Jl. Adi Sucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur

ABSTRACT

The purpose of this research was to examine the effect of lactose in Tris extender on the viability of Etawah crossbreed goat spermatozoa which is preserved in the plasma using Priangan ram seminal plasma at 3–5°C. Semen was collected using artificial vagina once a week. Fresh semen was divided into four tubes, and centrifuged at 3,000 RPM for 30 min. Supernatant was removed and replaced with an equal volume with Priangan ram seminal plasma. Semen in first tube was diluted with Tris extender-20% egg yolk without lactose (control). Semen in second, third, and fourth tubes were diluted with Tris extender-20% egg yolk and 0.3% (0.3 g per 100 ml extender) (L0.3), 0.6% (L0.6), and 1.2% (L1.2) lactose, respectively. Diluted-semen were stored in refrigerator at 3–5°C. Quality of diluted-semen including percentages of motile spermatozoa (MS), live spermatozoa (LS), and intact plasma membrane (IPM) were evaluated daily during storage at 3–5°C for four days. The data were analyzed by using analysis of variance (ANOVA). Means were compared significant difference test at 0.05 significant level. Results of this study showed that mean volume, colour, consistency, pH, mass activity, spermatozoa concentration, MS, LS, spermatozoa abnormal, and IPM of Etawah crossbreed goat fresh semen were 0.68 ml, cream, thick, 7, ++/+++, 4,148.57 million cell/ml, 70%, 83.89%, 7.12%, and 84%, respectively. Addition of lactose in Tris extender could maintain the quality of semen during preservation. At day-5 of storage, the percentages of MS, LS, and IPM for treatment L0.6 (40, 55.6, and 53.8%) were significantly ($P<0.05$) higher than treatment L1.2 (36, 50.2, and 51.8%), treatment L0.3 (34, 51.2, and 48.4%), and control (29, 41.4, and 41.8%). In conclusion, addition of 0.6% lactose in Tris extender is the best dose in maintaining the quality of Etawah crossbreed goat spermatozoa, and could be maintaining percentage of motile spermatozoa 40% for four days after preserved at 3–5°C.

Key words: lactose, Priangan ram seminal plasma, spermatozoa viability, PE goat.

PENDAHULUAN

Salah satu jenis kambing penghasil susu yang cukup penting di daerah tropis khususnya Indonesia adalah kambing peranakan etawah (PE). Kambing tersebut merupakan hasil persilangan antara kambing etawah dan kambing lokal Indonesia. Di samping sebagai

ternak penghasil susu, pejantan kambing PE juga dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan potensi produksi susu kambing-kambing lokal Indonesia lainnya dengan inseminasi buatan (IB). Diharapkan dengan persilangan tersebut akan dihasilkan kambing-kambing yang mampu memproduksi susu dan daging cukup tinggi (*dual purpose*).

Pengolahan semen merupakan salah satu bagian integral dalam upaya penerapan teknologi IB. Salah satu permasalahan utama dalam pengolahan semen kambing adalah adanya enzim yang terkandung di dalam plasma semen. Enzim tersebut disintesis oleh kelenjar bulbouretralis (kelenjar Cowper) yang bila berinteraksi dengan kuning telur atau susu akan menyebabkan penggumpalan (koagulasi) semen (Ritar dan Salamon, 1982; Leboeuf *et al.*, 1998; Leboeuf *et al.*, 2000). Enzim tersebut diidentifikasi sebagai fosfolipase A yang dapat menghidrolisis lesitin kuning telur menjadi asam lemak dan lisolesitin. Asam lemak dan lisolesitin hasil hidrolisis tersebut bersifat toksik terhadap spermatozoa kambing. Sementara dalam proses pengolahan semen, kuning telur dan susu sudah lazim digunakan sebagai salah satu komponen penyusun pengencer semen. Lesitin yang terkandung di dalam kuning telur adalah alasan utama pemanfaatannya sebagai bahan penyusun pengencer semen. Lesitin dibutuhkan sebagai pelindung membran plasma sel spermatozoa untuk mencegah terjadinya kejutan dingin (*cold shock*) saat semen disimpan pada suhu dingin (Quinn *et al.*, 1980; Watson, 1981).

Pencucian semen untuk menghilangkan plasma semen merupakan salah satu metode untuk mengatasi masalah tersebut di atas (Ritar dan Salamon, 1982; Leboeuf *et al.*, 2000; Aboagla dan Terada, 2004; Rizal *et al.*, 2008). Namun demikian, plasma semen dibutuhkan oleh spermatozoa untuk mendukung daya hidupnya selama proses pengolahan dan penyimpanan (preservasi) karena di dalamnya terkandung berbagai zat nutrisi. Plasma semen juga mengandung zat penyangga yang berfungsi mempertahankan pH medium dan berbagai senyawa lainnya yang dapat menjalankan fungsi sebagai senyawa krioprotektan. Penggantian plasma semen merupakan salah satu metode yang dapat ditempuh untuk tetap memberikan suplai nutrisi dan senyawa-senyawa lain yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Ada beberapa zat tertentu yang terkandung di dalam plasma semen fungsinya tidak dapat sepenuhnya digantikan oleh zat yang terdapat di dalam pengencer. Rizal *et al.* (2008) melaporkan bahwa semen kambing PE yang diencerkan dengan pengencer Tris-20% kuning telur menyebabkan terjadinya koagulasi semen pada hari keempat penyimpanan pada suhu 3–5°C, sehingga persentase spermatozoa motil menurun sangat

drastis dibandingkan dengan semen yang diganti plasma semennya dengan plasma semen domba priangan.

Dalam proses preservasi semen pada suhu rendah (umumnya pada suhu 3–5°C dan -196°C) kerusakan spermatozoa terjadi akibat kejutan dingin (*cold shock*) yang dapat merusak membran plasma sel dan berakibat kematian spermatozoa. Untuk meminimalkan kerusakan sel akibat pengaruh buruk suhu rendah, maka upaya yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan zat tertentu ke dalam pengencer semen. Zat tersebut dikenal dengan nama krioprotektan seperti gliserol (krioprotektan intraseluler) yang digunakan dalam proses kriopreservasi (pembekuan) semen dan beberapa jenis gula (krioprotektan ekstraseluler) yang dapat digunakan dalam proses kriopreservasi atau preservasi semen pada suhu 3–5°C. Di samping berperan sebagai senyawa krioprotektan, gula juga dapat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai substrat sumber energi.

Peranan penting gula dalam mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses preservasi dan kriopreservasi semen berbagai jenis hewan dan ternak telah dilaporkan oleh beberapa peneliti dengan hasil yang baik. Beberapa jenis gula yang sering dimanfaatkan adalah: glukosa pada semen beku domba (Molinia *et al.*, 1993) dan pada semen beku babi (de los Reyes *et al.*, 2000); rafinosa pada semen beku mencit (Storey *et al.*, 1998) dan pada semen beku kambing PE (Suwarso, 1999); trehalosa pada semen beku anjing (Yildiz *et al.*, 2000), pada semen beku domba pampinta (Aisen *et al.*, 2000; Aisen *et al.*, 2002), dan pada semen beku domba garut (Herdis *et al.*, 2005); sukrosa dan trehalosa pada semen beku sapi (Woelders *et al.*, 1997); laktosa pada semen beku kambing (Singh *et al.*, 1995), pada semen beku domba garut (Rizal *et al.*, 2003), dan pada semen cair domba garut (Rizal, 2006); serta dextrosa, trehalosa, rafinosa, dan sukrosa pada semen beku domba garut (Rizal *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini dilakukan penambahan laktosa ke dalam pengencer Tris-kuning telur untuk preservasi semen kambing PE yang sebelumnya telah diganti plasma semennya dengan plasma semen domba priangan. Dengan demikian, diharapkan bahwa pemanfaatan plasma semen domba priangan tidak akan menyebabkan koagulasi, dan penambahan laktosa akan meminimalkan kerusakan spermatozoa selama preservasi pada suhu 3–5°C.

METODE PENELITIAN

Penampungan dan Pengolahan Semen

Semen ditampung menggunakan vagina buatan satu kali dalam seminggu dari seekor kambing PE dewasa yang berumur sekitar empat tahun. Penampungan semen dilakukan sebanyak lima kali sebagai jumlah ulangan.

Plasma semen domba diperoleh dari enam ekor domba priangan dewasa yang dicampur menjadi satu kemudian disimpan dalam keadaan beku di dalam *freezer*. Semen disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 RPM selama 30 menit dan supernatan dikoleksi. Supernatan disentrifugasi kembali pada kecepatan dan waktu yang sama, kemudian supernatan (plasma semen) dikoleksi dan disimpan di dalam *freezer*.

Semen segar kambing PE yang telah ditampung segera dievaluasi untuk mengetahui kualitasnya. Semen yang memenuhi syarat kualitas (spermatozoa motil $\geq 70\%$, gerakan massa ++ atau +++, dan spermatozoa abnormal $< 10\%$) dibagi ke dalam empat buah tabung reaksi dengan volume yang sama. Semen tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 RPM selama 30 menit. Supernatan (plasma semen) dibuang dan diganti dengan plasma semen domba priangan sebanyak supernatan (plasma semen kambing PE) yang dibuang, kemudian dicampur hingga homogen menggunakan pipet. Semen pada tabung reaksi pertama diencerkan dengan pengencer Tris-20% kuning telur tanpa penambahan laktosa (perlakuan kontrol). Semen pada tabung reaksi kedua, ketiga, dan keempat diencerkan dengan pengencer Tris-20% kuning telur dan masing-masing ditambahkan 0,3% (0,3 g per 100 ml larutan pengencer) laktosa (perlakuan L0,3), 0,6% (0,6 g per 100 ml larutan pengencer) laktosa (perlakuan L0,6), dan 1,2% (1,2 g per 100 ml larutan pengencer) laktosa (perlakuan L1,2). Sebelum ditambahkan ke dalam pelet (spermatozoa kambing PE), plasma semen domba priangan yang sebelumnya disimpan di dalam *freezer* dicairkan kembali pada suhu ruang, sehingga saat dicampur suhunya sama dengan suhu pelet.

Semen pada masing-masing tabung reaksi diencerkan hingga mencapai konsentrasi 100 juta spermatozoa motil per mililiter. Komposisi pengencer dasar Tris terdiri atas: 2,42 g Tris(hidoksimetil)aminometan + 1,28 g asam sitrat + 2,16 g fruktosa yang dilarutkan dengan akuabidestilata hingga mencapai volume 100

ml, kemudian ditambahkan penisilin dan streptomisin masing-masing 1.000 IU/ml pengencer (Herdis, 2005). Komposisi pengencer Tris lengkap adalah 80% pengencer dasar Tris + 20% kuning telur ayam ras.

Keempat tabung reaksi yang berisi semen masing-masing perlakuan ditutup rapat kemudian dimasukkan ke gelas piala yang telah diisi air bersih dan disimpan di dalam *refrigerator* pada suhu 3–5°C. Semen masing-masing perlakuan dievaluasi kualitasnya setiap hari selama empat hari (hingga persentase spermatozoa motil mencapai 40%).

Variabel Kualitas Semen yang Dievaluasi

Kualitas semen dievaluasi pada tahap setelah penampungan (semen segar), pengenceran, dan penyimpanan. Kualitas semen yang dievaluasi pada tahap semen segar adalah: volume, warna, kekentalan (konsistensi), pH (derajat keasaman), konsentrasi spermatozoa, gerakan massa spermatozoa, persentase spermatozoa motil, persentase spermatozoa hidup, persentase spermatozoa abnormal, dan persentase membran plasma utuh (MPU). Sedangkan evaluasi terhadap semen yang telah diencerkan dan disimpan, meliputi: persentase spermatozoa motil, persentase spermatozoa hidup, dan persentase MPU.

Persentase spermatozoa motil: persentase spermatozoa yang bergerak progresif (bergerak ke depan). Dievaluasi secara subjektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x (Rasul *et al.*, 2001). Angka yang diberikan berkisar antara 0 dan 100% dengan skala 5%.

Persentase spermatozoa hidup: persentase spermatozoa yang hidup. Dievaluasi dengan pewarnaan 2% eosin B (Toelihere, 1981). Spermatozoa yang hidup ditandai oleh kepala berwarna putih atau transparan, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala berwarna merah. Dalam evaluasi minimum 200 spermatozoa diperiksa dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x.

Persentase MPU spermatozoa dievaluasi dengan metode *osmotic resistance test* (ORT) atau *hypoosmotic swelling* (HOS) test (Revell dan Mrode, 1994). Komposisi larutan hipoosmotik terdiri atas: 0,9g fruktosa+0,49g natrium sitrat yang dilarutkan dengan akuabidestilata hingga mencapai volume 100 ml. Sebanyak 200ml larutan hipoosmotik ditambahkan dengan 20ml semen dan dicampur

hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Preparat ulas tipis dibuat pada gelas objek kemudian evaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x terhadap minimum 200 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor lurus.

Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis ragam dalam bentuk rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan. Perbedaan antarperlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat Fisik Semen Segar

Hasil penelitian diperoleh volume semen segar rata-rata 0,68 ml (Tabel 1). Rata-rata volume semen segar yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah daripada yang dilaporkan oleh peneliti sebelumnya. Volume semen kambing PE adalah rata-rata 0,95 ml (Tambing *et al.*, 2001) dan rata-rata 0,92 ml pada kambing barbari (Argawal *et al.*, 1992).

Warna semen segar yang diperoleh adalah putih susu dan konsistensi agak kental hingga kental (Tabel 1). Tambing *et al.* (2001) melaporkan warna semen segar kambing PE adalah putih hingga krem dan konsistensi kental. Menurut Evans dan Maxwell (1987) warna semen segar kambing yang normal adalah putih hingga krem. Selanjutnya dilaporkan bahwa semen segar yang memiliki jumlah spermatozoa banyak akan mengakibatkan semen lebih kental dan warna lebih pekat.

Gerakan massa spermatozoa yang diperoleh adalah ++ hingga +++ dan pH rata-rata 7 (Tabel 1). Tambing *et al.*, (2001) melaporkan gerakan massa spermatozoa kambing PE adalah rata-rata +++ dan pH rata-rata 7,13. Suwarso (1999) melaporkan pH semen segar kambing PE yang lebih rendah, yakni 6,71. Sedangkan Argawal *et al.*, (1992) melaporkan pH semen segar kambing jamnapari dan kambing barbari masing-masing rata-rata 6,5 dan 6,49.

Hasil penelitian diperoleh konsentrasi spermatozoa rata-rata 4.148,57 juta sel/ml (Tabel 1). Konsentrasi spermatozoa kambing PE pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Tambing *et al.*, (2001) yakni sebesar rata-rata 2.940 juta sel/ml. Argawal *et al.*, (1992) melaporkan konsentrasi spermatozoa kambing jamnapari dan barbari masing-masing rata-rata 3.860 juta dan 4.020 juta sel/ml. Menurut Evans dan Maxwell (1987) konsentrasi spermatozoa kambing yang normal berkisar antara 2.500 juta dan 5.000 juta sel/ml.

Persentase spermatozoa motil yang diperoleh pada penelitian ini rata-rata 70% dan persentase spermatozoa hidup rata-rata 83,89% (Tabel 1). Hasil yang kurang lebih sama juga dilaporkan Tambing *et al.*, (2001) bahwa persentase spermatozoa motil dan spermatozoa hidup kambing PE masing-masing rata-rata 72,79 dan 82,54%. Suwarso (1999) melaporkan persentase spermatozoa motil dan spermatozoa hidup kambing PE yang lebih tinggi, yakni masing-masing rata-rata 78,13% dan 94,08%. Persentase spermatozoa motil semen segar kambing angora adalah 68,8–77% (Ritar dan Salamon, 1982) dan 80% dengan persentase spermatozoa hidup rata-rata 86,6% pada kambing jamnapari (Argawal *et al.*, 1992).

Tabel 1. Sifat fisik semen segar kambing PE

Variabel	Rata-rata ± SD	Kisaran
Volume (ml)	0,68±0,18	0,5–1
Warna	Putih susu	Putih susu
Konsistensi (kekentalan)	Agak kental – kental	Agak kental – kental
Derajat keasaman (pH)	7,00±0,00	7
Gerakan massa spermatozoa	++ / +++	++ – +++
Konsentrasi spermatozoa (juta sel/ml)	4.148,57±198,60	3.910–4.510
Persentase spermatozoa motil (%)	70,00±0,00	70
Persentase spermatozoa hidup (%)	83,89±1,45	81–86
Persentase spermatozoa abnormal (%)	7,12±0,93	6–9
Persentase membran plasma utuh (%)	84,00±1,00	83–86

Persentase spermatozoa abnormal yang diperoleh adalah rata-rata 7,12% (Tabel 1). Tambing *et al.*, (2001) melaporkan persentase spermatozoa abnormal kambing PE yang lebih tinggi, yakni rata-rata 10,17%. Persentase spermatozoa abnormal kambing jamnapari dan barbari masing-masing rata-rata 4,5 dan 4,9% (Argawal *et al.*, 1992). Menurut Delgadillo (1992) persentase spermatozoa abnormal kambing yang sehat adalah sekitar 6–10%.

Hasil penelitian didapatkan persentase MPU rata-rata 84% (Tabel 1). Tambing *et al.*, (2003) melaporkan persentase MPU kambing Saanen rata-rata 82,81%.

Berdasarkan pada data karakteristik semen segar tersebut di atas, dapat dikatakan bahwa kambing PE yang digunakan dalam penelitian ini memiliki semen dengan kualitas yang baik dan memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut, baik dalam bentuk semen cair-dingin mau pun semen beku. Hal ini karena semen segar tersebut memiliki konsistensi agak kental hingga kental, gerakan massa spermatozoa ++ dan +++, persentase spermatozoa motil 70%, persentase spermatozoa abnormal 6–9%, dan persentase MPU 83–86%. Semen segar yang baik harus memiliki konsistensi agak kental atau kental dan gerakan massa ++ atau +++ (Toelihere, 1981), persentase spermatozoa motil $\geq 70\%$ (Evans dan Maxwell, 1987), persentase spermatozoa abnormal 6–10% (Delgadillo, 1992), dan persentase MPU minimum 60% (Revell dan Mrode, 1994).

Pengaruh Perlakuan terhadap Kualitas Spermatozoa setelah Preservasi pada Suhu 3–5°C

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara umum penambahan laktosa ke dalam pengencer Tris mampu mempertahankan kualitas semen kambing PE selama penyimpanan di dalam *refrigerator* selama empat hari (Tabel 2). Hal ini disebabkan oleh pengaruh positif laktosa yang berperan sebagai substrat sumber energi dan senyawa krioprotektan ekstraseluler. Laktosa sebagai salah satu karbohidrat golongan disakarida terdiri atas dua unit monosakarida, yakni satu unit glukosa dan satu unit galaktosa yang keduanya dapat dimetabolisir oleh spermatozoa melalui glikolisis dan siklus Krebs untuk menghasilkan energi berupa adenosin trifosfat (ATP). Adenosin trifosfat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dalam proses pergerakan sehingga dapat tetap motil dan sekaligus untuk mempertahankan daya hidupnya.

Laktosa juga berperan sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, yang berfungsi melindungi membran plasma sel spermatozoa dari proses perusakan akibat pengaruh kejutan dingin selama penyimpanan pada suhu rendah (3–5°C). Hal tersebut ditandai oleh adanya pengaruh yang nyata akibat penambahan laktosa terhadap persentase MPU dibandingkan dengan kontrol, mulai dari hari kedua hingga kelima penyimpanan (Tabel 2). Membran

Tabel 2. Persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, dan membran plasma utuh semen kambing PE selama empat hari preservasi pada suhu 3–5°C

Variabel kualitas spermatozoa	Perlakuan	Penyimpanan hari ke-				
		1	2	3	4	5
Persentase spermatozoa motil (%)	Kontrol	70,00 ± 0,00 ^a	59,00 ± 2,00 ^a	51,00 ± 2,00 ^a	40,00 ± 0,00 ^a	29,00 ± 2,00 ^a
	L0,3	70,00 ± 0,00 ^a	61,00 ± 2,00 ^a	51,00 ± 2,00 ^a	40,00 ± 0,00 ^a	34,00 ± 2,00 ^b
	L0,6	70,00 ± 0,00 ^a	62,00 ± 2,45 ^a	52,00 ± 2,45 ^a	43,00 ± 2,45 ^a	40,00 ± 0,00 ^c
	L1,2	70,00 ± 0,00 ^a	61,00 ± 2,00 ^a	52,00 ± 2,45 ^a	42,00 ± 2,45 ^a	36,00 ± 3,00 ^b
Persentase spermatozoa hidup (%)	Kontrol	82,40 ± 0,80 ^a	69,40 ± 1,02 ^a	63,00 ± 1,67 ^a	52,20 ± 2,04 ^a	41,40 ± 1,02 ^a
	L0,3	82,60 ± 0,80 ^a	73,80 ± 1,94 ^b	64,80 ± 1,72 ^a	53,00 ± 1,26 ^a	51,20 ± 1,33 ^b
	L0,6	83,20 ± 0,75 ^a	74,80 ± 1,60 ^b	68,80 ± 1,94 ^b	58,40 ± 2,33 ^b	55,60 ± 1,36 ^c
	L1,2	82,80 ± 0,75 ^a	73,60 ± 1,85 ^b	68,20 ± 2,99 ^b	57,40 ± 3,01 ^b	50,20 ± 1,60 ^b
Persentase membran plasma utuh (%)	Kontrol	81,20 ± 0,75 ^a	69,20 ± 0,98 ^a	63,20 ± 0,98 ^a	51,60 ± 1,36 ^a	41,80 ± 1,33 ^a
	L0,3	82,20 ± 1,17 ^a	72,80 ± 1,17 ^b	66,80 ± 1,33 ^b	55,80 ± 1,72 ^b	48,40 ± 1,74 ^b
	L0,6	81,60 ± 1,36 ^a	74,40 ± 1,36 ^b	69,60 ± 1,62 ^b	59,20 ± 2,04 ^b	53,80 ± 1,94 ^c
	L1,2	82,20 ± 1,33 ^a	73,00 ± 2,28 ^b	68,20 ± 1,47 ^b	57,20 ± 1,60 ^b	51,80 ± 0,75 ^c

^{a,b,c} Superskrip dalam kolom yang sama untuk setiap variabel kualitas, menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)
 L0,3: Pengencer Tris + 0,3 g laktosa per 100 ml pengencer
 L0,6: Pengencer Tris + 0,6 g laktosa per 100 ml pengencer
 L1,2: Pengencer Tris + 1,2 g laktosa per 100 ml pengencer.

plasma sel yang tetap utuh akan memberikan pengaruh positif terhadap motilitas (daya gerak) dan daya hidup spermatozoa. Motilitas spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme. Metabolisme akan berlangsung dengan baik jika membran plasma sel dalam keadaan utuh. Hal tersebut karena membran plasma sel berperan dalam mengatur lalu lintas masuk dan keluar seluruh substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme sel. Menurut Supriatna dan Pasaribu (1992) karbohidrat merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler, dan berfungsi melindungi membran plasma sel dari kerusakan.

Pada bagian luar membran plasma sel terdapat karbohidrat yang berikatan dengan lipid (glikolipid) atau dengan protein (glikoprotein) yang disebut selubung sel atau glikokaliks (Subowo, 1995). Hal tersebut menjelaskan mengapa karbohidrat disebut sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, karena karbohidrat yang ditambahkan di dalam pengencer berfungsi melindungi glikokaliks dari kerusakan. Karbohidrat tidak dapat menembus membran plasma sel secara difusi bebas karena tidak larut di dalam lemak dan memiliki berat molekul besar, sehingga sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, karbohidrat melindungi sel dari luar (Supriatna dan Pasaribu, 1992). Menurut Viswanath dan Shannon (2000) senyawa krioprotektan golongan karbohidrat seperti laktosa memiliki kemampuan menggantikan molekul air secara normal dalam kelompok polar *hydrated*. Sifat-sifat laktosa tersebut akan membantu menstabilkan membran plasma sel spermatozoa selama masa transisi melewati zona suhu yang kritis, serta mengubah sifat mekanik pengencer melalui peningkatan viskositas. Aisen *et al.* (2002) menyatakan golongan karbohidrat disakarida berperan menggantikan posisi air pada permukaan membran plasma sel yang langsung berhubungan dengan pengencer. Selanjutnya dinyatakan bahwa laktosa dapat berinteraksi langsung dengan gugus pusat fosfolipid polar selama pembekuan, dan menurunkan interaksi ikatan van der Waals di antara rantai karbon.

Lehninger (1994) menyatakan laktosa merupakan salah satu senyawa pereduksi dan memiliki struktur yang stabil. Sebagai senyawa pereduksi, laktosa memiliki fungsi yang mirip

dengan senyawa antioksidan karena mampu meredam senyawa-senyawa pengoksidasi, sehingga juga berperan dalam memimumkan terjadinya reaksi oksidasi. Reaksi oksidasi bersifat merugikan karena menghasilkan produk yang dapat merusak integritas membran plasma sel. Sebagai senyawa yang stabil, laktosa tidak mudah mengalami perubahan struktur menjadi bentuk ion yang dapat mengubah tekanan osmotik larutan pengencer semen. Perubahan tekanan osmotik larutan pengencer menjadi hipoosmotik atau hiperosmotik dapat menyebabkan kematian spermatozoa.

Dalam penelitian ini didapatkan bahwa perlakuan penambahan laktosa sebanyak 0,6% (perlakuan L0,6) merupakan perlakuan terbaik. Hal tersebut karena pada perlakuan L0,6 mampu mempertahankan persentase spermatozoa motil hingga 40% selama empat hari (Tabel 2), sehingga semen tersebut masih layak dimanfaatkan dalam program IB. Menurut Evans dan Maxwell (1987) semen yang memenuhi syarat kualitas digunakan dalam program IB harus memiliki persentase spermatozoa motil minimum 40%. Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa penggantian plasma semen kambing PE dengan plasma semen domba priangan yang dikombinasikan dengan penambahan laktosa dosis tepat ke dalam pengencer Tris mampu mempertahankan kualitas semen kambing PE yang dipreservasi pada suhu 3–5°C, sehingga layak untuk dimanfaatkan dalam program IB. Penggunaan plasma semen domba priangan sebagai pengganti plasma semen kambing PE mencegah terjadinya proses koagulasi semen kambing PE, seperti yang dilaporkan oleh Rizal *et al.*, (2008); sedangkan laktosa akan melindungi spermatozoa dari proses perusakan selama penyimpanan, sehingga kualitasnya dapat tetap dipertahankan dan memperpanjang daya hidupnya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggantian plasma semen kambing PE dengan plasma semen domba priangan dan penambahan laktosa ke dalam pengencer Tris berpengaruh positif terhadap kualitas spermatozoa kambing PE selama preservasi pada suhu 3–5°C. Penambahan laktosa sebanyak 0,6 g per 100 ml pengencer

Tris (0,6%) merupakan dosis terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa kambing PE yang diberi plasma semen domba priangan, dan dapat mempertahankan persentase spermatozoa motil sebesar 40% hingga empat hari setelah dipreservasi pada suhu 3–5°C.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian disarankan bahwa dalam upaya memperpanjang daya hidup spermatozoa kambing PE yang dipreservasi pada suhu 3–5°C agar plasma semennya diganti dengan plasma semen domba, dan pengencer semen ditambahkan 0,6 g laktosa per 100 ml pengencer.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pengelola Kawasan Agroteknobisnis Sumedang dan Bapak Ir Sutardjo MS, atas bantuan fasilitas dan ternak percobaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla EME, Terada T. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology* 62:1160-1172.
- Aisen EG, Alvarez HL, Venturino A, Garde JJ. 2000. Effect of trehalose and EDTA on cryoprotective action of ram semen diluents. *Theriogenology* 53:1053-1061.
- Aisen EG, Medina VH, Venturino A. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram frozen semen in different trehalose concentrations. *Theriogenology* 57:1801-1808.
- Argawal KP, Sinha NK, Goel AK. 1992. Reproduction behaviour in Indian goats. In: *Research on Goats Indian Experience*. Central Institute for Research on Goat, Mathura, India. Pp.82-93.
- Delgadillo JJ, Leboeuf B, Chemineau P. 1992. Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by photoperiodic cycles in goat bucks. *Small Rum. Res.* 9:47-59.
- De los Reyes M, Saenz L, Lapiere L, Crosby J, Barros C. 2000. In vitro evaluation of boar spermatozoa frozen with permeable and non-permeable cryoprotectant. *Proceeding of 14th International Congress on Animal Reproduction*. Stockholm, 2-6 July 2000. Abstract Vol. 2. P.161.
- Evans G, Maxwell WMC. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. London. Butterworths.
- Herdis. 2005. Optimalisasi Inseminasi Buatan Melalui Aplikasi Teknologi Laserpunktur pada Domba Garut (*Ovis aries*). *Disertasi*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Leboeuf B, Manfredi E, Boue P, Piacere A, Brice G, Baril G, Broqua C, Humbolt P, Terqui M. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livestock Prod Sci* 55:193-203.
- Leboeuf B, Restall B, Salamon S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 62:113-141.
- Lehninger AL. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid 2. Alih bahasa: Thenawijaya M. Jakarta. Erlangga.
- Molinia FC, Evans G, Guintana-Casares PI, Maxwell WMC. 1993. Effect of monosaccharides in Tris-based diluents on motility, acrosomes integrity and fertility of pellet frozen ram spermatozoa. *Anim Reprod Sci* 36:113-122.
- Quinn PJ, Chow PYW, White IG. 1980. Evidence that phospholipid protects ram spermatozoa from cold shock at plasma membrane site. *Reprod Fertil* 60:403-407.
- Rasul Z, Ahmad N, Anzar M. 2001. Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. *J Androl.* 22:278-283.
- Revell SG, Mrode RA. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim Reprod Sci* 36:77-86.
- Ritar AJ, Salamon S. 1982. Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat. *Aust J Biol Sci* 35:305-312.
- Rizal M. 2006. Pengaruh penambahan laktosa di dalam pengencer Tris terhadap kualitas semen cair domba Garut. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 31:224-231.

- Rizal M, Toelihere MR, Yusuf TL, Purwantara B, Situmorang P. 2003. Kriopreservasi semen domba Garut dalam pengencer Tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. *Media Kedokteran Hewan* 19:79-83.
- Rizal M, Herdis, Boediono A, Aku AS, Yulnawati. 2006. Peranan beberapa jenis gula dalam meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 11:123-130.
- Rizal M, Herdis, Surachman M, Mesang-Nalley WM. 2008. Pengaruh plasma semen domba Priangan terhadap daya hidup spermatozoa kambing Peranakan Etawah yang disimpan pada suhu 3–5°C. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 13:23-29.
- Singh MP, Sinha AK, Singh BK. 1995. Effect of cryoprotectants on certain seminal attributes and on the fertility of buck spermatozoa. *Theriogenology* 43:1047-1053.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Alih bahasa: B. Sumantri. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.
- Storey BT, Noiles EE, Thompson KA. 1998. Comparison of glycerol, other polyols, trehalose, and raffinose to provide a defined cryoprotectant medium for mouse sperm cryopreservation. *Cryobiology* 37:46-58.
- Subowo. 1995. *Biologi Sel*. Bandung. Angkasa.
- Supriatna I, Pasaribu FH. 1992. *In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio, dan Pembekuan Embrio*. Bogor. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.
- Suwarso. 1999. Peranan Rafinosa dalam Pengencer Tris-Sitrat-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Tesis*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Tambing SN, Toelihere MR, Yusuf TL, Utama IK. 2001. Kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah setelah ekuilibrisasi. *Hayati* 8:70-75.
- Tambing SN, Toelihere MR, Yusuf TL, Purwantara B, Utama IK. 2003. Kualitas semen beku kambing Saanen pada berbagai jenis pengencer. *Hayati* 10:146-150.
- Toelihere MR. 1981. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Bandung. Angkasa.
- Viswanath R, Shannon P. 2000. Storage of bovine semen in liquid frozen state. *Anim Reprod Sci* 62:23-53.
- Watson PF. 1981. The roles of lipid and protein in the protection of ram spermatozoa at 5°C by egg yolk lipoprotein. *Reprod Fertil* 62:483-492.
- Woelders H, Matthij A, Engel B. 1997. Effect of trehalose and sucrose, osmolality of the freezing medium, and cooling rate on viability and intactness of bull sperm after freezing and thawing. *Cryobiology* 35:93-105.
- Yildiz C, Kaya A, Aksoy M, Tekeli T. 2000. Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosome integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenology* 54:579-585.