

Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi Bali dengan Penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada Suhu 3–5°C

(THE QUALITY OF CAUDA EPIDIDYMAL SPERMATOZOEA OF BALI CATTLE WHEN PRESERVED AT 3-5 °C IN MEDIA SOLUTION WITH THE ADDITION OF LACTOSE OR MALTOSE)

Jusak Labetubun*, Isak Piter Siwa

Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura,
Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233. Telp/Faksimili: 0911-322653.

*Email: jurpet_unpatti@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah menguji efektivitas penambahan laktosa dan maltosa dalam mempertahankan daya hidup spermatozoa kauda epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C. Sebanyak lima buah testis beserta epididimis sapi bali diperoleh dari rumah pemotongan hewan di Mardika, Ambon. Spermatozoa epididimis dikoleksi dengan metode kombinasi penyayatan, pembilasan, dan penekanan kauda epididimis dengan larutan NaCl fisiologis (0,9% NaCl). Spermatozoa hasil koleksi dibagi ke dalam tiga buah tabung reaksi dan masing-masing diencerkan dengan pengencer Tris yang mengandung 20% kuning telur (kontrol), pengencer Tris + 0,6 g laktosa/100 ml (L0,6), dan pengencer Tris + 0,6 g maltosa/100 ml (M0,6). Spermatozoa yang telah diencerkan disimpan di dalam lemari es pada suhu 3–5°C. Kualitas spermatozoa meliputi persentase motilitas, persentase hidup, dan persentase membran plasma utuh (MPU) dievaluasi setiap hari selama enam hari. Data dianalisis dengan sidik ragam dalam bentuk rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan dan lima kali ulangan. Perbedaan antarperlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase hidup, persentase abnormalitas, persentase butiran sitoplasma, dan persentase MPU spermatozoa segar kauda epididimis sapi bali adalah masing-masing 11.222,5 juta sel/ml, 75%; 86,75%; 10,5%; 14%; dan 86,75%. Pada hari ketujuh preservasi, persentase motilitas, hidup, dan MPU perlakuan L0,6 (39; 51,4; dan 51,8%) dan M0,6 (38; 49,8; and 52%) nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (29; 41,8; dan 42,4%). Dapat disimpulkan bahwa penambahan 0,6 g laktosa atau maltosa di dalam 100 ml pengencer Tris dapat mempertahankan kualitas spermatozoa epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C.

Kata kunci: Laktosa, maltosa, preservasi, spermatozoa kauda epididimis, sapi bali

ABSTRACT

The purpose of this research was to examine the effectivity of lactose or maltose in maintaining the viability of cauda epididymal spermatozoa at Bali cattle when preserved at 3-5 °C. Epididymal spermatozoa were collected by slicing, flashing and pressure of cauda epididymis with normal saline (0,9% NaCl). The collected spermatozoa were divided in equal volume into three different tubes where each tube was then diluted with : i) 20 % egg yolk Tris solution (control), ii) 20 % egg yolk Tris solution + 0.6 gram lactose/ 100 ml (L 0.6), iii) 20 % egg yolk Tris solution + 0.6 gram maltose/ 100 ml (M 0.6), respectively following this all tubes were kept in a refrigerator at 3-5 °C for six days. The quality of spermatozoa including percentage of motility, live, and intact plasma membrane (IPM) were evaluated daily for the six days period. Result at the study showed that the mean spermatozoa concentration was 11.2 million cells/ml, whilst the mean at percentage of motility, percentage of live, percentage of abnormality, percentage of cytoplasmic droplets and percentage of IPM were 75.00%, 86.75%, 10.50%, 14.00% and 86.75%, respectively. At day 7 of storage, the percentage of motility, live, and IPM when the spermatozoa were preserved in media containing lactose was 39.00%, 51.40%, and 51.80%, respectively whilst when preserved in media containing maltose was 38.00%, 49.80% and 52.00%, respectively. The percentage of motility, live and IPM was significantly higher ($p < 0.05$) compared to the control. It is therefore concluded that the addition of lactose or maltose in the preservation media could maintain the quality of the epididymal spermatozoa of Bali cattle.

Key words: Lactose, maltose, preservation, cauda epididymal spermatozoa, bali bull

PENDAHULUAN

Upaya peningkatan produktivitas sapi bali sebagai salah satu plasma nutfah asli Indonesia adalah melalui aplikasi teknologi reproduksi. Salah satu teknologi reproduksi yang dapat diterapkan adalah inseminasi buatan (IB). Inseminasi buatan merupakan teknologi yang dapat mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul, serta agar kapasitas reproduksi pejantan dapat dimanfaatkan secara maksimal.

Penerapan teknologi IB umumnya memanfaatkan spermatozoa hasil ejakulasi yang ditampung dengan vagina buatan. Pemanfaatan sumber spermatozoa yang lain seperti epididimis merupakan suatu alternatif yang dapat diterapkan pada saat semen tidak dapat ditampung dengan cara lain. Spermatozoa yang ada di kauda epididimis memiliki kemampuan untuk membuahi sel telur, karena telah mengalami proses pematangan di kaput dan korpus epididimis serta telah motil (Toelihere, 1981; Hafez dan Hafez, 2000).

Menurut Rizal (2005), upaya pengolahan spermatozoa yang dikoleksi dari epididimis dalam bentuk semen cair atau semen beku untuk keperluan aplikasi berbagai teknologi reproduksi, menjadi metode alternatif yang dapat diterapkan pada ternak atau hewan yang memiliki kualitas genetik unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya. Metode tersebut juga menjadi alternatif dalam upaya penyelamatan plasma nutfah ternak atau hewan jantan yang mati secara mendadak serta hewan langka dan buas. Pada beberapa spesies hewan dan ternak, upaya penyelamatan material genetik yang berasal dari epididimis melalui pengolahan spermatozoa (cair dan beku) serta aplikasi IB dan fertilisasi *in vitro* (FIV) sudah banyak dilakukan dengan hasil yang cukup menjanjikan, di antaranya pada domba (Graham, 1994; Rizal, 2005), sapi (Graham, 1994), babi (Kikuchi *et al.*, 1998), kuda (Squires *et al.*, 2000), rusa (Garde *et al.*, 2000; Soler *et al.*, 2003), kerbau Afrika (Herold *et al.*, 2004; Herold *et al.*, 2006), dan kerbau belang (Rizal *et al.*, 2007; Herdis *et al.*, 2008).

Kerusakan spermatozoa yang terjadi saat preservasi pada suhu rendah merupakan kendala utama dalam upaya mempertahankan kualitas semen. Untuk mengatasi hal tersebut, salah satu yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan beberapa senyawa ke dalam pengencer, seperti senyawa krioprotektan.

Dikenal dua jenis senyawa krioprotektan, yakni krioprotektan intraseluler dan ekstraseluler. Krioprotektan intraseluler seperti gliserol umumnya digunakan dalam proses kriopreservasi (pembekuan) semen, sedangkan krioprotektan ekstraseluler seperti karbohidrat digunakan dalam proses kriopreservasi dan preservasi semen pada suhu rendah (umumnya 3–5°C). Peranan penting karbohidrat 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 karbohidrat yang sering dimanfaatkan adalah: glukosa pada semen beku domba (Molinia *et al.*, 1993) dan semen beku babi (de Los Reyes *et al.*, 2000); rafinosa pada semen beku kambing peranakan Etawah (Suwarso, 1999); trehalosa pada semen beku domba Pampinta (Aisen *et al.*, 2000) dan 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), semen beku domba Garut (Rizal, 2005), dan semen cair domba Garut (Rizal, 2006); maltosa pada semen beku domba Garut (Herdis, 2005); serta dextrosa, trehalosa, rafinosa, dan sukrosa pada semen beku domba Garut (Rizal *et al.*, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas penambahan laktosa dan maltosa dalam mempertahankan daya hidup spermatozoa kauda epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C. Diharapkan dengan penambahan laktosa atau maltosa akan meminimalkan kerusakan spermatozoa selama preservasi, sehingga daya tahan hidupnya dapat diperpanjang.

METODE PENELITIAN

Koleksi dan Pengolahan Spermatozoa

Testis beserta epididimis sapi bali sebanyak lima buah (sebagai jumlah ulangan) diperoleh dari rumah pemotongan hewan (RPH) di Mardika, Ambon kemudian diproses di Laboratorium Produksi Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Ambon. Epididimis dipisahkan dari testis dan dibilas dengan larutan NaCl fisiologis (0,9% NaCl), kemudian kauda dipisahkan dari kaput dan korpus epididimis. Spermatozoa dikoleksi dengan cara membuat sayatan-sayatan

pada kauda epididimis kemudian dibilas dengan larutan NaCl fisiologis dengan penekanan bilas-tekan (Rizal, 2005). Sebelum dibilas-tekan dengan larutan NaCl fisiologis, spermatozoa disedot dengan pipet eritrosit untuk dihitung konsentrasinya. Spermatozoa dikoleksi pada pagi hari sekitar jam 07.00, sedangkan sapi dipotong pada malam hari sebelumnya sekitar jam 24.00 (testis beserta epididimis disimpan pada suhu ruang tanpa perlakuan).

Spermatozoa hasil koleksi dibagi ke dalam tiga buah tabung reaksi dengan volume yang sama. Spermatozoa diencerkan dengan pengencer sesuai perlakuan, yakni: 80% pengencer dasar Tris + 20% kuning telur (kontrol); 80% pengencer dasar Tris + 20% kuning telur + 0,6 g laktosa per 100 ml pengencer (L0,6); dan 80% pengencer dasar Tris + 20% kuning telur + 0,6 g maltosa per 100 ml pengencer (M0,6). Komposisi pengencer dasar Tris terdiri atas: 3,87 g Tris (hidroksimetil) aminometan (Merck, Jerman), 2,17 g asam sitrat-monohidrat (Merck, Jerman), dan 1,56 g (D)-fruktosa (Merck, Jerman) yang dilarutkan dengan akuabidestilata hingga mencapai volume 100 ml, kemudian ditambahkan penisilin-G (PT. Meiji Indonesia Pharmaceutical Industries, Bangil) dan streptomisin sulfat (PT. Meiji Indonesia Pharmaceutical Industries, Bangil) masing-masing sebanyak 1.000 IU per mililiter pengencer (Balai Inseminasi Buatan, Lembang). Spermatozoa diencerkan hingga mencapai konsentrasi 15 juta spermatozoa motil per mililiter. Selanjutnya, tabung reaksi ditutup rapat, kemudian dimasukkan ke gelas piala yang berisi air bersih, dan dipreservasi di dalam lemari es (*refrigerator*) yang bersuhu sekitar 3–5°C. Contoh masing-masing perlakuan dievaluasi kualitasnya setiap hari (interval waktu 24 jam) hingga persentase motilitas spermatozoa 40%.

Variabel Kualitas Spermatozoa yang Dievaluasi

Kualitas spermatozoa dievaluasi setelah koleksi (spermatozoa segar) serta setelah pengenceran dan preservasi. Kualitas spermatozoa yang dievaluasi pada tahap spermatozoa segar adalah: konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase hidup, persentase abnormalitas, persentase butiran sitoplasma, dan persentase membran plasma utuh (MPU) spermatozoa. Evaluasi terhadap spermatozoa yang telah diencerkan dan dipreservasi meliputi: persentase motilitas,

persentase hidup, dan persentase MPU spermatozoa.

Persentase motilitas adalah 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 hidup adalah persentase spermatozoa yang hidup. Dievaluasi dengan pewarnaan eosin 2% (Toelihere, 1981). Spermatozoa yang hidup ditandai oleh kepala berwarna putih, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala berwarna merah. Minimal sebanyak 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x.

Persentase MPU adalah persentase spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh. Dievaluasi dengan metode *osmotic resistance test* (ORT) atau *hyposmotic swelling* (HOS) *test* (Revell dan Mrode, 1994). Komposisi larutan hipoosmotik terdiri atas: 0,9 g fruktosa + 0,49 g natrium sitrat yang dilarutkan dengan akuabidestilata hingga mencapai volume 100 ml. Sebanyak 200 ml larutan hipoosmotik ditambahkan dengan 20 ml semen dan dicampur hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Preparat ulas tipis yang dibuat pada gelas objek dievaluasi 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 yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam dalam bentuk rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan dan lima kali ulangan. Perbedaan antarperlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat Fisik Spermatozoa Epididimis Segar Sapi Bali

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa pada kauda epididimis sapi bali adalah 11.222,50 juta sel/ml (10.590–11.780). Konsentrasi spermatozoa kauda epididimis pada hewan mamalia berkisar 10–50 juta sel/ml (Senger, 1999), rata-rata 10.445

juta sel/ml pada kerbau belang (Yulnawati *et al.*, 2008).

Rataan persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa kauda epididimis sapi bali adalah 75% dan 86,75% (86–88%). Persentase motilitas spermatozoa sapi adalah 40–75% (Hafez dan Hafez, 2000) dan 65% (Toelihere, 1981). Hasil beberapa penelitian menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa kauda epididimis segar adalah 66% pada kuda (Squires *et al.*, 2000), 70–75% pada domba garut (Rizal, 2005), dan 65% pada kerbau belang (Yulnawati *et al.*, 2008). Pada kerbau belang, dilaporkan persentase hidup spermatozoa kauda epididimis adalah 79,3% (Yulnawati *et al.*, 2008).

Hasil pengamatan terhadap rata-rata persentase abnormalitas dan persentase butiran sitoplasma spermatozoa kauda epididimis sapi bali adalah masing-masing 10,5% dan 14%. Rataan persentase spermatozoa abnormal asal kauda epididimis kerbau belang adalah 15% (Yulnawati *et al.*, 2008). Rataan persentase abnormalitas dan butiran sitoplasma spermatozoa epididimis domba garut adalah

masing-masing 10,83 dan 8,5% (Rizal, 2005).

Rataan persentase MPU spermatozoa kauda epididimis sapi bali adalah 86,75%. Rizal (2005) melaporkan bahwa persentase MPU spermatozoa kauda epididimis domba garut sebesar 81,33%, dan 80,8% pada kerbau belang (Yulnawati *et al.*, 2008).

Berdasarkan data sifat-sifat fisik spermatozoa segar epididimis sapi bali yang diperoleh (Tabel 1) menunjukkan bahwa spermatozoa tersebut memiliki kualitas yang baik dan memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut, baik dalam bentuk semen cair-dingin maupun semen beku. Hal tersebut karena spermatozoa segar memiliki persentase rata-rata spermatozoa motil 75%, spermatozoa abnormal 10,5%, dan persentase MPU 86,75%. Menurut beberapa peneliti, semen segar yang baik harus memiliki persentase spermatozoa motil 70% (Evans dan Maxwell, 1987), persentase spermatozoa abnormal 6–10% (Delgadillo, 1992), dan persentase MPU 60% (Revell dan Mrode, 1994).
Kualitas Spermatozoa setelah Preservasi pada Suhu 3–5°C

Tabel 1. Sifat fisik spermatozoa segar epididimis sapi bali

Variabel	Rataan ± SD
Konsentrasi spermatozoa (juta/ml)	11.222,50 ± 455,21
Spermatozoa motil (%)	75,00 ± 0,00
Spermatozoa hidup (%)	86,75 ± 0,83
Spermatozoa abnormal (%)	10,50 ± 1,12
Butiran sitoplasma (%)	14,00 ± 0,71
Membran plasma utuh (%)	86,75 ± 1,48

Tabel 2. Rataan persentase motilitas, persentase hidup, dan persentase MPU spermatozoa epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C

Variabel kualitas spermatozoa	Perlakuan	Preservasi hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
Persentase motilitas (%)	Kontrol	75,00 ± 0,00 ^a	67,00 ± 2,45 ^a	53,00 ± 4,00 ^a	47,00 ± 2,45 ^a	42,00 ± 2,45 ^a	37,00 ± 2,45 ^a	29,00 ± 2,00 ^a
	L0,6	75,00 ± 0,00 ^a	69,00 ± 2,00 ^a	60,00 ± 3,16 ^b	55,00 ± 3,16 ^b	50,00 ± 3,16 ^b	45,00 ± 0,00 ^b	39,00 ± 2,00 ^b
	M0,6	75,00 ± 0,00 ^a	69,00 ± 2,24 ^a	59,00 ± 2,24 ^b	54,00 ± 2,24 ^b	50,00 ± 3,54 ^b	45,00 ± 3,54 ^b	38,00 ± 2,74 ^b
Persentase hidup (%)	Kontrol	85,80 ± 0,98 ^a	78,20 ± 2,31 ^a	63,00 ± 3,16 ^a	58,00 ± 1,09 ^a	50,40 ± 2,73 ^a	47,00 ± 2,61 ^a	41,80 ± 1,17 ^a
	L0,6	86,60 ± 0,98 ^a	82,60 ± 1,02 ^a	71,20 ± 1,17 ^b	66,20 ± 2,31 ^b	60,20 ± 2,92 ^b	56,20 ± 1,33 ^b	51,40 ± 2,15 ^b
	M0,6	85,80 ± 0,98 ^a	80,80 ± 1,79 ^a	69,80 ± 2,05 ^b	66,00 ± 1,41 ^b	61,60 ± 2,30 ^b	55,00 ± 3,67 ^b	49,80 ± 2,49 ^b
Persentase MPU (%)	Kontrol	86,40 ± 0,80 ^a	77,80 ± 1,47 ^a	69,60 ± 0,80 ^a	61,20 ± 1,47 ^a	58,40 ± 3,14 ^a	49,60 ± 1,85 ^a	42,40 ± 1,85 ^a
	L0,6	85,60 ± 0,54 ^a	81,60 ± 1,02 ^a	73,00 ± 1,41 ^b	67,80 ± 0,98 ^b	65,60 ± 1,02 ^b	56,00 ± 1,41 ^b	51,80 ± 1,33 ^b
	M0,6	86,40 ± 0,80 ^a	80,40 ± 1,14 ^a	73,00 ± 0,71 ^b	68,60 ± 1,14 ^b	66,60 ± 2,30 ^b	55,40 ± 2,41 ^b	52,00 ± 2,24 ^b

^{a,b} Superskrip dalam kolom yang sama masing-masing peubah kualitas, menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)
 Kontrol: Pengencer Tris tanpa penambahan laktosa
 L0,6: Pengencer Tris + 0,6 g laktosa per 100 ml pengencer
 M0,6: Pengencer Tris + 0,6 g maltosa per 100 ml pengencer
 MPU: Membran plasma utuh.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan karbohidrat berupa laktosa (L0,6) atau maltosa (M0,6) ke dalam pengencer Tris mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama preservasi pada suhu 3–5°C. Persentase motilitas, hidup, dan MPU perlakuan L0,6 dan M0,6 nyata lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol mulai dari hari ketiga hingga hari ke tujuh preservasi (Tabel 2). Hal tersebut disebabkan oleh baik laktosa maupun maltosa sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler berfungsi melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan selama proses preservasi pada suhu rendah. Pengaruh positif kedua karbohidrat tersebut dalam memperbaiki kualitas semen telah dilaporkan oleh peneliti sebelumnya pada ternak yang lain. Penambahan laktosa (Rizal, 2006) dan maltosa (Herdis, 2005) ke dalam pengencer Tris dapat memperbaiki kualitas semen cair domba garut yang disimpan pada suhu 3–5°C.

Menurut Supriatna dan Pasaribu (1992), karbohidrat merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler, dan berfungsi melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan selama proses preservasi semen. Membran plasma sel yang tetap utuh, memberikan pengaruh positif terhadap motilitas (daya gerak) dan daya hidup spermatozoa. Hal tersebut karena motilitas spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa adenosin trifosfat (ATP) hasil metabolisme. Metabolisme berlangsung dengan baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan utuh. Hal ini karena membran plasma sel berperan dalam mengatur lalu lintas masuk dan keluar seluruh substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme sel (Lehninger, 1994).

Sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, laktosa dan maltosa berperan dalam melindungi membran plasma sel spermatozoa dari proses perusakan akibat pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) selama penyimpanan pada suhu rendah (3–5°C). Menurut White (1993), pengaruh kejutan dingin berkaitan dengan perubahan fosfolipid yang menyusun membran plasma sel, yakni perubahan bentuk dari cair ke gel yang terjadi pada suhu di bawah 20°C. Perubahan tatanan rantai asam lemak dan protein pada membran plasma menyebabkan kebocoran atau selektivitas membran plasma rusak, yang menyebabkan ion-ion seperti ion kalsium bebas masuk ke dalam sel. Preservasi semen pada

suhu yang mendekati 0°C memerlukan zat pelindung di dalam pengencer, seperti fosfolipid kuning telur dan krioprotektan, serta proses pendinginan harus dilakukan secara bertahap (Kayser *et al.*, 1992).

Sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, golongan karbohidrat memiliki kemampuan menggantikan molekul air secara normal dalam kelompok polar *hydrated* (Viswanath dan Shannon, 2000). Sifat-sifat karbohidrat tersebut akan membantu menstabilkan membran plasma sel spermatozoa selama masa transisi melewati zona suhu yang kritis, serta mengubah sifat mekanik pengencer melalui peningkatan viskositas. Selanjutnya, Aisen *et al.* (2002) melaporkan bahwa golongan karbohidrat disakarida berperan menggantikan posisi air pada permukaan membran plasma sel yang langsung berhubungan dengan pengencer.

Selain berfungsi sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, karbohidrat juga dapat berperan sebagai substrat sumber energi bagi spermatozoa selama proses preservasi, sehingga dapat memperpanjang daya hidupnya. Laktosa dan maltosa merupakan karbohidrat golongan disakarida yang terdiri atas dua unit monosakarida, yakni satu unit glukosa dan satu unit galaktosa untuk laktosa serta dua unit glukosa untuk maltosa, yang semuanya dapat dimetabolisme oleh spermatozoa untuk menghasilkan energi berupa ATP. Selanjutnya spermatozoa memanfaatkan ATP sebagai sumber energi dalam proses pergerakannya sehingga dapat tetap motil dan sekaligus untuk mempertahankan daya hidupnya.

Upaya mempertahankan kualitas spermatozoa kauda epididimis dengan penambahan berbagai jenis karbohidrat ke dalam pengencer juga telah dilakukan dalam proses kriopreservasi pada spermatozoa kauda epididimis kerbau belang. Penambahan sukrosa (Rizal *et al.*, 2007), maltosa (Herdis *et al.*, 2008), dan rafinosa (Yulnawati *et al.*, 2008) ke dalam pengencer komersial AndroMed® mampu mempertahankan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang setelah pencairan kembali (*thawing*) jika dibandingkan dengan tanpa penambahan karbohidrat. Lebih lanjut, Yulnawati *et al.* (2010) melaporkan bahwa penambahan maltosa ke dalam pengencer semen dapat mempertahankan kualitas spermatozoa kauda epididimis kerbau belang yang dipreservasi pada suhu 3–5°C.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan 0,6 g laktosa atau maltosa ke

dalam pengencer Tris mampu memperpanjang daya hidup spermatozoa kauda epididimis sapi bali, dan memenuhi syarat untuk dimanfaatkan dalam program IB. Pada perlakuan L0,6 dan M0,6 persentase motilitas spermatozoa sebesar 45% masih dapat dipertahankan hingga hari keenam preservasi (selama lima hari), sedangkan perlakuan kontrol hanya selama empat hari (Tabel 2). Menurut Evans dan Maxwell (1987), semen yang memenuhi syarat kualitas untuk digunakan dalam program IB harus memiliki persentase spermatozoa motil minimum 40%. Pada perlakuan kontrol, persentase spermatozoa motil sebesar 40% dapat dipertahankan hanya sampai hari kelima preservasi (selama empat hari).

Dalam penelitian tersebut teramati satu keistimewaan spermatozoa kauda epididimis sapi bali yang memiliki daya tahan hidup selama preservasi pada suhu 3–5°C yang lebih lama jika dibandingkan dengan spermatozoa kauda epididimis jenis ternak yang lain, seperti domba garut (Rizal, 2006) dan kerbau belang (Yulnawati *et al.*, 2010).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa penambahan laktosa atau maltosa ke dalam pengencer Tris dapat mempertahankan kualitas spermatozoa kauda epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C. Penambahan laktosa atau maltosa ke dalam pengencer Tris dapat mempertahankan kualitas spermatozoa kauda epididimis sapi bali dan masih memenuhi syarat untuk dimanfaatkan dalam program IB selama lima hari.

SARAN

Dalam upaya mempertahankan daya hidup spermatozoa kauda epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C, maka sebaiknya pengencer semen ditambahkan dengan senyawa krioprotektan ekstraseluler seperti laktosa dan maltosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada seluruh karyawan RPH Mardika, Ambon yang telah membantu dalam penyediaan epididimis sapi bali. Ucapan terima kasih juga disampaikan pada pengelola Laboratorium Produksi Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura atas bantuannya dalam penggunaan laboratorium beserta seluruh peralatan yang diperlukan dalam penelitian tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- 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. In: Proceeding of 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. Stockholm, Sweden. ICAR. Abstracts Vol 2. P 161.
- Evans G, Maxwell WMC. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. London. Butterworths.
- Garde J, Anel E, Garcia-Diaz A, Boixo JC, Soler A, de Paz P, Lopez-Saer A, Guerra C, Anel L. 2000. Evaluation of two glycerol concentrations in freezing of electro-ejaculated and epididymal spermatozoa from iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). In: Proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. Stockholm, Sweden. ICAR. Abstracts Vol 2. P 142.

- Graham JK. 1994. Effect of seminal plasma on the motility of epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during cryopreservation process. *Theriogenology* 46: 1151-1162.
- Hafez ESE, Hafez B. 2000. *Reproduction in Farm Animals* 7th Edition. Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins. Pp 3-12.
- Herdis. 2005. Optimalisasi Inseminasi Buatan Melalui Aplikasi Teknologi Laserpunktur pada Domba Garut (*Ovis aries*). [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Herdis, Rizal M, Boediono A, Arifiantini RI, Saili T, Aku AS, Yulnawati. 2005. Optimasi kualitas semen beku domba garut melalui penambahan trehalosa ke dalam pengencer kuning telur. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 30: 229-236.
- Herdis, Surachman M, Yulnawati, Rizal M, Maheshwari H. 2008. Viabilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kerbau belang pada penambahan maltosa dalam pengencer AndroMed®. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 33: 101-106.
- Herold FC, Aurich JE, Gerber D. 2004. Epididymal sperm from the African buffalo (*Syncerus caffer*) can be frozen successfully with Andromed^a and Triladyl^a but the addition of bovine seminal plasma is detrimental. *Theriogenology* 61:715-724.
- Herold FC, de Haas K, Colenbrander B, Gerber D. 2006. Comparison of equilibration times when freezing epididymal sperm from African buffalo (*Syncerus caffer*) using Triladyl^a or AndroMed^a. *Theriogenology* 66: 1123-1130.
- Kayser JP, Amann RP, Shidefer RK, Squires EL, Jasko DJ, Pickett BW. 1992. Effects of linear cooling rate on motion characteristics of stallion spermatozoa. *Theriogenology* 30:601-614.
- Kikuchi K, Nagai T, Kashiwazaki N, Ikeda H, Noguchi J, Shimada A, Soloy A, Kaneko H. 1998. Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4°C. *Theriogenology* 50: 615-623.
- Lehninger AL. 1994. *Dasar-dasar Biokimia* Jilid 2. Alih Bahasa: Thenawijaya M. Jakarta. Erlangga. Hal 253-272.
- 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.
- 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.
- Rizal M. 2005. Fertilitas Spermatozoa Ejakulat dan Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan. [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- 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, 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, Yulnawati, Maheshwari H. 2007. Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang dikriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. *Jurnal Veteriner* 8: 188-193.
- Senger PL. 1999. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Pullman: Current Conception Inc. Pp 49-52.
- 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.
- Soler AJ, Perez-Gusman MD, Garde JJ. 2003. Storage of red deer epididymides for four days at 5°C: effects on sperm motility, viability, and morphology integrity. *J Exp Zool* 295A: 188-199.

- Squires EL, Gomez-Cuetara C, Graham JK. 2000. Effect of seminal plasma on cryopreserving epididymal and ejaculated stallion spermatozoa. *In: Proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction*. Stockholm, 2-6 July 2000. Stockholm, Sweden. ICAR. Abstracts Vol 2. P 166.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Alih Bahasa: Sumantri B. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama. Hal 168-208
- Supriatna I, Pasaribu FH. 1992. *In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio, dan Pembekuan Embrio*. Bogor: Institut Pertanian Bogor. Hal 122-132.
- Suwarso. 1999. Peranan Rafinosa dalam Pengencer Tris-Sitrat-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. [*Tesis*]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Toelihere MR. 1981. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Bandung: Angkasa. Hal 64-91.
- Viswanath R, Shannon P. 2000. Storage of bovine semen in liquid frozen state. *Anim Reprod Sci* 62: 23-53.
- White IG. 1993. Lipid and Ca uptake of sperm in relation to cold shock and preservation: A review. *Reprod Fertil Dev* 5: 639-658.
- 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.
- Yulnawati, Herdis, Maheshwari H, Rizal M. 2008. Kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang pada penambahan raffinosa sebagai krioprotektan ekstraseluler. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 13: 30-34.
- Yulnawati, Maheshwari H, Rizal M, Herdis. 2010. Maltosa mempertahankan viabilitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang disimpan dalam bentuk cair. *Jurnal Veteriner* 11: 126-132.