

Kualitas Spermatozoa *Cauda* Epididimis Sapi Peranakan Ongol (PO) dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-5°C

(Quality of *Cauda* Epididymal Spermatozoa of Ongole Cross Bred Bull in Egg Yolk Skim Milk, Tris and Citrate Extenders Stored At 4-5°C)

Nurcholidah Solihati^{1*}, Ruhijat Idi¹, Siti Darodjah Rasad¹, Muhammad Rizal² dan Maya Fitriati¹

¹ Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Bandung

² Fakultas Pertanian Universitas Pattimura Ambon

ABSTRACT: The objective of this study was to find out the quality of cauda epididymal spermatozoa in egg yolk skim milk, tris and citrate extenders stored at 4-5°C. This study was laid out in Complete Randomized Design (CRD) with three treatments and six replication. Evaluation had been done on quality of fresh spermatozoa, after diluting in extender and stored at 4-5°C. The result of this study showed that treatment of extenders not significant difference ($P>0.05$) on motility, live sperm, abnormality, intact plasma membrane and viability of cauda epididymal spermatozoa stored at 4-5°C. It is concluded that skim milk, citrate and tris extenders have the same ability to maintenance quality and viability of Ongol cross bred cauda epididymal sperm.

Key Words: Ongol cross bred, spermatozoa, cauda epididymal, extenders

Pendahuluan

Cauda epididimis merupakan tempat penampungan sementara (reservoir) spermatozoa sebelum diejakulasikan. Spermatozoa yang berasal dari *cauda* epididimis telah melewati proses pematangan di bagian *caput* dan *corpus* epididimidis (Axner *et al.*, 1999), dan mempunyai kemampuan untuk membuahi oosit (Garner and Hafez, 2000). Bahkan beberapa peneliti melaporkan bahwa penyimpanan epididimis sebelum spermatozoa dikoleksi masih mampu mempertahankan motilitas, diantaranya pada babi (Kikuchi *et al.*, 1998), rusa merah (Soler *et al.*, 2003) dan domba (Rizal *et al.*, 2004). Spermatozoa *cauda* epididimis merupakan alternatif sumber spermatozoa apabila ternak pejantan unggul tidak dapat ditampung semennya karena berbagai alasan, seperti tidak respons terhadap elektroejakulator dan masase, pincang atau bahkan pada pejantan yang mati secara mendadak. Dalam hal ini, spermatozoa epididimis yang diperoleh perlu mendapatkan penanganan supaya dapat bertahan hidup untuk beberapa waktu dan memiliki daya fertilitas optimum.

Teknologi tepat guna yang dapat diterapkan yaitu melalui teknik pengawetan, seperti pendinginan yang sebelumnya spermatozoa telah diencerkan. Pengen-

ceran dilakukan untuk menjamin kebutuhan fisik dan kimiawi spermatozoa. Setiap jenis pengencer umumnya memiliki komponen yang berbeda, sehingga dari setiap pengencer memiliki kemampuan dan cara yang berbeda dalam mendukung kelangsungan hidup spermatozoa. Pengencer Tris (*hidroxymethyl aminomethan*) telah banyak digunakan sebagai komponen dasar pengencer semen asal ejakulat, diantaranya pada sapi (Mardiyah, 2001), pada domba (Rizal *et al.*, 2003a; Aisen *et al.*, 2002; El-Alamy *et al.*, 2001; Maxwell and Salamon, 1993), dan pada kambing (Tambing *et al.*, 2000). Demikian pula penggunaan pengencer susu skim dan sitrat sudah digunakan secara meluas sebagai pengencer semen ejakulat. Sementara itu penggunaan tris, sitrat dan susu skim sebagai pengencer spermatozoa asal epididimis masih sangat terbatas khususnya pada sapi. Oleh karena nilai penting yang dimiliki spermatozoa asal *cauda* epididimis serta besarnya peranan pengencer pada proses pengawetan semen, maka dilakukan penelitian untuk memperoleh jenis pengencer yang mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa *cauda* epididimis yang paling optimal. Diharapkan dimasa yang akan datang melalui metode ini dapat melestarikan potensi genetik ternak-ternak unggul yang bermasalah dalam reproduksi sehingga tetap dapat dimanfaatkan untuk kesejahteraan umat manusia.

* Korespondensi penulis : e-mail nurcholidah@yahoo.com

Metode Penelitian

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cauda* epididimis sapi Peranakan Ongol (PO) yang baru dipotong dari rumah pemotongan hewan (RPH). *Cauda* epididimis yang digunakan sebanyak enam buah yang berasal dari enam ekor sapi.

Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan adalah : *cauda* epididimis, pengencer susu skim, pengencer tris, pengencer sitrat, kuning telur, aquabides, NaCl fisiologik, NaCl 3%, pewarna eosin, alkohol, tissue. Peralatan yang digunakan adalah spuit jarum suntik, gunting stainless steel steril, syringe, timbangan mikro, tabung reaksi, rak tempat tabung, termometer, gelas piala, gelas erlenmeyer, pipet tetes, gelas ukur, gelas objek, gelas penutup, haemositometer, pH meter, bunsen, botol, mikroskop cahaya, lemari es, styrofoam, pinset, kertas saring, dan lain-lain.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratoris menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan jenis pengencer (susu skim, sitrat, dan tris) dan enam kali ulangan. Setiap *cauda* epididimis dibagi untuk tiga perlakuan. Setiap ulangan menggunakan satu *cauda* epididimis. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam.

Koleksi Spermatozoa *Cauda* Epididimis

Koleksi spermatozoa dari *cauda* epididimis dilakukan dengan cara membuat sayatan-sayatan pada *cauda* menggunakan gunting stainless steel steril kemudian dibilas dengan NaCl fisiologis dan dilakukan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit.

Pengenceran Semen

Semen segar yang memenuhi syarat (motilitas ? 70%, konsentrasi ? 2000 juta sel/ml, dan abnormalitas <14%) diencerkan dengan pengencer. Pengencer yang dicobakan adalah susu skim, sitrat dan tris yang masing-masing ditambah kuning telur sebanyak 20%, sehingga rasio masing-masing pengencer dengan kuning telur yaitu 4 : 1. Setelah diencerkan, kemudian dilakukan evaluasi terhadap kualitas spermatozoa.

Evaluasi

Evaluasi dilakukan terhadap : (a) Semen segar, terdiri dari penilaian makroskopis (volume, warna, pH, bau, dan konsistensi) dan penilaian mikroskopis (konsentrasi, motilitas, abnormalitas, spermatozoa

hidup dan membran plasma utuh). (b) Kualitas semen cair yang disimpan pada suhu 4-5°C.

Peubah yang Diamati:

- (1) Motilitas adalah persentase sperma yang bergerak kedepan, dihitung dengan menggunakan haemocytometer di bawah mikroskop pada pembesaran objektif 40 kali.
- (2) Abnormalitas adalah persentase spermatozoa yang abnormal, ditentukan dengan menggunakan pewarna eosin 2% (Toelihere, 1993b).
- (3) Persentase Sperma Hidup adalah persentase spermatozoa yang hidup, dihitung dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran objektif 100 kali. Evaluasi menggunakan zat pewarna eosin-negrosin. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna sedangkan yang mati berwarna merah.
- (4) Persentase MPU (membran plasma utuh) adalah keutuhan membran plasma spermatozoa diamati dengan metode *hypoosmotic swelling (HOS) test*. Spermatozoa dimasukkan ke dalam medium HOS dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C (Jeyendran dan Zaneceld, 1984), kemudian diamati di bawah mikroskop. Spermatozoa dengan membran plasma utuh ditunjukkan oleh spermatozoa dengan ekor membengkok setelah diinkubasi dalam larutan *HOS test*. Membran plasma yang tidak utuh (*HOS test* negatif) ditunjukkan dengan spermatozoa yang tidak menunjukkan adanya pembengkokan pada ekor (ekor lurus).

Hasil dan Pembahasan

Kualitas Spermatozoa Segar

Berdasarkan evaluasi secara makroskopis, diperoleh hasil bahwa spermatozoa asal *cauda* epididimidis sapi PO mempunyai kualitas sebagai berikut :

- | | |
|----------------|-----------------|
| ▪ Warna sperma | : Krem |
| ▪ Bau | : Khas sperma |
| ▪ pH | : 7 |
| ▪ Volume | : 0,3-0,5 ml |
| ▪ Konsistensi | : Sangat kental |

Hasil ini menunjukkan bahwa secara makroskopis spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut. Rata-rata angka pH menunjukkan 7,0 sesuai dengan pernyataan Toelihere (1993a), bahwa pada umumnya spermatozoa sangat aktif dan dapat bertahan hidup

lama pada pH sekitar 7,0. Apabila pH terlalu tinggi ataupun terlalu rendah, maka akan menyebabkan kematian pada spermatozoa karena pH sangat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Hasil evaluasi secara mikroskopis terhadap spermatozoa segar *cauda* epididimidis sapi PO terdapat pada Tabel 1.

Konsentrasi total spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO pada penelitian ini rata-rata $5,0533 \times 10^9$ sel/ml. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Suhendra (2002) bahwa konsentrasi spermatozoa *cauda* epididimidis sapi sebesar $3,593 - 4,4067 \times 10^9$ sel/ml. Akan tetapi lebih rendah dari yang dilaporkan oleh Soeparna (1982) bahwa tiap *cauda* epididimidis mengandung $8,9 \times 10^9$ sel/ml atau kira-kira 18×10^9 sel/ml untuk kedua epididimidis sapi, sedangkan menurut Bearden dan Fuquay (2000) pada sapi sebesar $50 - 74 \times 10^9$ sel/ml. Perbedaan ini diduga karena perbedaan jenis hewan percobaan yang digunakan dan metode penghitungan dan pengoleksian spermatozoa.

Motilitas spermatozoa segar *cauda* epididimidis sapi PO pada penelitian ini dalam keadaan baik, dengan rataan 75,5%. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Brandton (1946) yang dikutip Salisbury dan Van Demark (1985) yang melaporkan rata-rata motilitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi sebesar $51,7\% \pm 14,7\%$. Hasil penelitian yang diperoleh kurang lebih sama dengan yang dilaporkan oleh beberapa peneliti pada hewan lain bahwa motilitas spermatozoa *cauda* epididimidis setelah diencerkan sebesar 70-75% pada badak (Lubbe *et al.*, 1999), 38-77% pada kuda (Squires *et al.*, 2000), rata-rata 64% pada monyet ekor panjang (Feradis *et al.*, 2001), rata-rata 57,6% pada rusa merah (Soler *et al.*, 2003), dan 70-75% pada Domba Garut (Rizal *et al.*, 2003b).

Menurut Toelihere (1993b) spermatozoa motil untuk semen ejakulat sapi memiliki kisaran 50-80%.

Parameter kualitas spermatozoa yang lain hasil penelitian ini memenuhi persyaratan untuk IB dan *in vitro* seperti spermatozoa hidup, abnormalitas dan MPU berturut-turut adalah 84,16%; 9,3% dan 84,17%. Syarat abnormalitas spermatozoa pada semen segar untuk IB adalah <14% (Toelihere, 1993b) dan MPU 60% (Revel dan Mrode, 1994).

Kualitas Spermatozoa Cair

Berdasarkan hasil pengamatan yang tercantum pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa rataan persentase motilitas spermatozoa tertinggi diperoleh dari pengencer tris baik pada hari ke-1 (76,3%), ke-2 (60%), ke-3 (50,83%) maupun ke-4 (36%) penyimpanan kemudian disusul oleh perlakuan pengencer susu kuning telur dan sitrat kuning telur. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan jenis pengencer memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap motilitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO yang disimpan pada suhu 4 - 5°C baik pada hari ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat pula bahwa motilitas dalam ketiga pengencer tersebut dapat dipertahankan sampai hari ketiga penyimpanan, karena motilitasnya masih diatas 40%. Dengan demikian ketiga pengencer tersebut dapat dijadikan pengencer untuk spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO, walaupun pengencer yang memberikan hasil paling tinggi yaitu pengencer tris kuning telur. Diketahui bahwa ketiga pengencer tersebut mempunyai persamaan komposisi unsur yaitu karbohidrat, antibiotik dan kuning telur yang ditambahkan untuk kebutuhan hidup spermatozoa, sehingga dapat mempertahankan daya hidupnya.

Tabel 1. Rata-rata kualitas spermatozoa segar asal *cauda* epididimidis sapi PO

Parameter Kualitas	Rata-rata
Konsentrasi Total	$5053,3 \times 10^6$ sel/ml
Motilitas	75,50%
Spermatozoa Hidup	84,16%
Abnormalitas	9,33%
MPU	84,17%

Tabel 2. Rataan persentase motilitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO dalam pengencer susu skim, tris dan sitrat kuning telur yang disimpan pada suhu 4-5°C.

Perlakuan	Penyimpanan Hari Ke-			
	1	2	3	4
 %			
Susu	75,50	58,50	49,67	35,33
Tris	76,30	60,00	50,83	36,00
Sitrat	74,67	54,33	46,00	35,00

Motilitas tertinggi diperoleh dari pengencer tris kuning telur, kemungkinan karena pengencer tris kuning telur memiliki komposisi bahan yang lebih lengkap (tris *hydroxymethyl aminomethan*, asam sitrat, fruktosa, antibiotik, lipoprotein dan lecitin) menyediakan zat makanan dan sumber energi yang penting bagi spermatozoa untuk mempertahankan kehidupannya. Tris (*hydroxymethyl aminomethan*) berfungsi sebagai buffer yang bersifat basa yang mampu menyanggah pH larutan agar tetap stabil, karena pH merupakan faktor penting yang mempengaruhi kualitas semen. Tris merupakan buffer yang kuat karena mengandung garam yang mampu menyanggah pH larutan dengan sangat baik (Hafez, 2000).

Perlakuan pengencer susu skim kuning telur dan sitrat kuning telur mempunyai motilitas yang lebih rendah dibandingkan tris kuning telur, hal ini disebabkan oleh beberapa faktor. Susu skim yang berfungsi sebagai buffer tidak dapat mempertahankan perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat sisa metabolisme yang menghasilkan energi. Pada pengencer sitrat kuning telur, ion sitrat akan berikatan dengan Ca yang terdapat dalam plasma semen, sehingga akan menghilangkan fungsi Ca sebagai pemacu motilitas. Seperti pendapat Fleig yang dikutip oleh Salisbury dan Van Demark (1985) yang menyatakan bahwa Ca berfungsi sebagai pemacu motilitas. Dengan terikatnya Ca, maka metabolisme spermatozoa yang menghasilkan energi untuk motilitas akan terhambat. Hal ini didukung oleh Toelihere (1993a) menyatakan bahwa energi dari hasil metabolisme dipergunakan untuk motilitas. Terhambatnya metabolisme akan berpengaruh dalam pembentukan asam laktat. Sependapat dengan Bearden dan Fuquay (2000); Gilbert (1980), tingkatan asam laktat berkorelasi nyata dengan daya gerak spermatozoa. Hal tersebut dapat memperpendek daya tahan hidup spermatozoa. Demikian pula menurut Tambing et al. (2000)

bahwa fruktosa yang juga menjadi salah satu komponen penyusun pengencer tris berperan sebagai substrat penghasil energi berupa ATP, sehingga menyebabkan spermatozoa dapat bergerak. Motilitas (daya gerak) spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme

Banyak bukti menunjukkan bahwa pada suhu 5°C aktivitas metabolisme yang diukur dengan perubahan-perubahan kimia akan berkurang, namun masih tetap berlangsung (Salisbury dan Van Demark, 1985). Pada penelitian ini penyimpanan spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO pada suhu 4-5°C menghasilkan motilitas yang masih layak untuk IB hanya sampai hari ke-3, karena standar motilitas yang banyak digunakan dalam program IB harus memiliki persentase motilitas paling sedikit sebesar 40% (Toelihere, 1993a). Setelah hari ke-4 motilitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO tidak layak untuk IB karena motilitas yang didapat < 40%. Hal ini disebabkan pendinginan semen dari suhu tubuh ke suhu lemari es dapat menyebabkan spermatozoa kehilangan motilitas secara gradual sampai pergerakan terhenti sama sekali (Toelihere, 1993b).

Motilitas spermatozoa *cauda* epididimidis yang akan diolah dapat ditingkatkan diantaranya dengan menambahkan plasma semen. Nolan dan Hammerstedt (1997) melaporkan bahwa membran plasma sel spermatozoa *cauda* epididimidis tidak mendapatkan perlindungan berupa glikoprotein yang disintesis oleh kelenjar vesikularis dan disekresikan ke dalam plasma semen. Glikoprotein sangat penting dalam melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan akibat kejutan dingin dan serangan radikal bebas akibat kontak dengan oksigen saat spermatozoa dikoleksi.

Ketidakhadiran glikoprotein dapat menyebabkan penurunan daya hidup spermatozoa dan meningkatkan persentase reaksi akrosom yang prematur akibat kerusakan membran plasma sel.

Tabel 3. Rataan persentase spermatozoa hidup asal *cauda* epididimidis sapi PO dalam pengencer susu skim, tris dan sitrat kuning telur yang disimpan pada suhu 4-5°C

Perlakuan	Penyimpanan Hari Ke-			
	0	1	2	3
 %			
Susu	80,50	73,00	63,33	56,83
Tris	81,50	75,17	61,67	57,50
Sitrat	80,33	69,67	59,83	54,17

Rattan (1990) melaporkan bahwa plasma semen sapi mengandung susunan kimia diantaranya protein, asam askorbat, natrium, kalium dan kalsium, dimana unsur protein dan natrium merupakan komponen yang paling besar. Squires *et al.* (2000) melaporkan motilitas spermatozoa *cauda* epididimidis kuda dapat ditingkatkan dengan cara menambahkan plasma semen, dimana terjadi peningkatan motilitas dari 53% menjadi 61%. Rizal *et al.* (1999) melaporkan bahwa semen beku kerbau lumpur dapat ditingkatkan kualitasnya dengan cara mengganti plasma semennya dengan plasma semen sapi Friesian Holstein (FH).

Penilaian terhadap spermatozoa hidup asal *cauda* epididimidis sapi PO dalam berbagai pengencer yang disimpan pada suhu 4 – 5°C, terdapat pada Tabel 3.

Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata spermatozoa hidup di dalam pengencer Tris lebih tinggi dibanding pengencer lain namun hasil analisis statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P>0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga perlakuan pengencer memberikan kemampuan hidup yang sama terhadap spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO.

Pada pengencer tris kuning telur, persentase hidup spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO tertinggi disebabkan didalam pengencer tris terdapat

sumber energi yang tinggi dihasilkan dari fruktosa. Fruktosa yang cukup akan menyebabkan spermatozoa tetap bergerak, karena fruktosa berperan menghasilkan energi berupa ATP yang mengandung fosfat organik (Pi) kaya energi dan akan digunakan untuk kontraksi fibril-fibril dan menghasilkan gerak spermatozoa. Kelebihan tris dibandingkan pengencer lain adalah dapat memperpanjang hidup spermatozoa pada temperatur -5°C dan -196°C (Bearden dan Fuquay, 2000), sangat efektif untuk mempertahankan pH (Toelihere, 1993a) serta dapat mempertahankan osmolaritas. Hal ini didukung oleh pendapat Singh (1992) yang dikutip Herdis (2004) bahwa apabila ditinjau dari viabilitas dan daya fertilitas, tris kuning telur merupakan pengencer yang baik untuk proses pembekuan semen.

Menurut Hafez dan Hafez (2000) spermatozoa hidup yang berkaitan erat dengan motilitas dipengaruhi oleh umur sperma, maturasi sperma, penyimpanan energi (ATP), agen aktif, biofisik dan fisiologik, cairan suspensi dan adanya rangsangan atau hambatan. Penilaian abnormalitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO dalam berbagai pengencer disimpan pada suhu 4-5°C, dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan abnormalitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO dalam pengencer susu skim, tris dan sitrat kuning telur yang disimpan pada suhu 4-5°C

Perlakuan	Penyimpanan Hari Ke-			
	1	2	3	4
 %			
Susu	12,84	18,33	23,33	31,0
Tris	11,18	18,17	22,33	29,0
Sitrat	11,57	18,17	23,67	30,5

Tabel 5. Rataan persentase membran plasma utuh (MPU) spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO dalam pengencer susu skim, tris, dan sitrat kuning telur disimpan pada Suhu 4-5 °C

Perlakuan	Penyimpanan Hari Ke-			
	1	2	3	4
 %			
Susu	79,83	73,33	62,00	54,83
Tris	81,17	75,83	64,33	57,00
Sitrat	77,67	71,33	61,00	53,50

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai abnormalitas spermatozoa *cauda* epididimidis terendah pada hari ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4 diperoleh dari pengencer tris kuning telur secara berturut-turut sebesar 11,18; 18,17; 22,33; dan 29%, namun hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO baik pada hari ke-1, ke-2, ke-3 dan ke-4.

Abnormalitas terendah diperoleh dari pengencer tris kuning telur dibandingkan pengencer sitrat kuning telur maupun susu skim kuning telur. Menurut Hafez (2000) hal ini disebabkan karena tris memiliki kapasitas buffer yang baik, mempertahankan osmolaritas, mengandung garam dan asam amino.

Pada penelitian ini nilai abnormalitas yang masih layak untuk IB dari ketiga pengencer diperoleh sampai hari ke-3 dengan rata-rata nilai $< 25\%$. Hal ini sejalan dengan pendapat Bearden dan Fuquay (2000) dan Partodihardjo (1992) bahwa abnormalitas spermatozoa sampai 25% belum berpengaruh terhadap fertilitas spermatozoa, artinya masih baik untuk diinseminasikan. Sehingga setelah hari ke-3 abnormalitas spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO tidak layak untuk program IB. Semakin lama waktu penyimpanan maka semakin tinggi persentase abnormalitas. Kejadian ini disebabkan oleh kejutan suhu dingin dan ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama penyimpanan pada 5°C. Hasil akhir proses metabolik dalam suasana *anaerob* adalah asam laktat. Jenis abnormalitas yang tampak pada penelitian ini adalah abnormalitas sekunder terdiri dari ekor melingkar, kepala tanpa ekor dan kepala pecah, yang lebih disebabkan perlakuan ketika pembuatan preparat ulas.

Penilaian Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO dalam

berbagai pengencer yang disimpan pada suhu 4 - 5 °C, dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan Tabel 5 dapat terlihat bahwa rata-rata persentase Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa *cauda* epididimidis sapi PO tertinggi diperoleh dari pengencer tris kuning telur pada hari ke-1, ke-2, ke-3 maupun ke-4, disusul oleh pengencer susu kuning telur dan sitrat kuning telur. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa baik pada hari ke-1, ke-2, ke-3 maupun ke-4 penyimpanan, semua perlakuan memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap nilai MPU spermatozoa *cauda* epididimidis.

Revell dan Mrode (1994) menyatakan bahwa nilai persentase MPU semen segar yang kurang dari 60% dikategorikan sebagai semen yang infertil. Menurut Jeyendran dan Zaneveld (1984), batas minimal keutuhan membran yang layak digunakan untuk IB adalah 50%.

Pada pengencer tris didapatkan MPU yang paling tinggi disebabkan tris memiliki kapasitas buffer yang baik dan toksisitas rendah pada konsentrasi tinggi. Menurut Davis *et al.* (1963) serta Steinbach dan Foote (1967) Tris (*hydroxymethyl aminomethan*) pada umumnya sebagai komponen utama dalam pengencer untuk kriopreservasi semen sapi. Sementara tris dan asam sitrat yang terkandung di dalam pengencer tris memiliki fungsi sebagai senyawa penyangga yang baik untuk mempertahankan derajat keasaman (pH) dan osmolaritas pengencer karena mengandung garam dan asam amino. Mathew *et al.* (1984) menyatakan bahwa tris sebagai penyangga amina telah digunakan secara efektif untuk mempertahankan pH fisiologik. Menurut Rizal *et al.* (2004) apabila membran plasma sel dapat dipertahankan keutuhannya selama proses pembekuan, maka akan memberikan efek yang baik pula terhadap motilitas, daya hidup dan keutuhan tudung akrosom spermatozoa. Jika membran plasma sel dalam keadaan utuh, maka membran plasma mampu dengan baik mengatur lalu lintas keluar

masuk sel seluruh senyawa (substrat) dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa kualitas spermatozoa *cauda epididimis sapi PO* di dalam pengencer susu skim, tris dan sitrat kuning telur yang disimpan pada suhu 5°C menghasilkan kualitas yang sama baiknya. Pemanfaatan spermatozoa yang berasal dari *cauda epididimis sapi unggul* yang bermasalah dalam hal penampungan semen atau bahkan yang mengalami kematian mendadak dapat segera dilakukan dengan mengolah spermatozoa tersebut menjadi semen cair dengan menggunakan pengencer susu skim-kuning telur, sitrat-kuning telur atau tris-kuning telur.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan salah satu bagian dari rangkaian penelitian yang telah terlaksana atas dana bantuan penelitian andalan Universitas Padjadjaran Bandung. Untuk itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Rektor dan Lembaga Penelitian Universitas Padjadjaran Bandung, serta kepada semua pihak yang terlibat dan telah membantu selama penelitian.

Daftar Pustaka

- Aisen, E.G., V.H. Mediana and A. Venturino. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentration. *Theriogenology* 57 : 1801-1808.
- Axner, E., C.L. Forsberg and S. Einarsson. 1999. Morphology and motility of spermatozoa from different region of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology* 45 : 767-777.
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay, 2000. *Applied Animal Reproduction*. 5th ed. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. Pp.29.
- Davis I.S., R.W. Bratton and R.H. Foote. 1963. Livability of bovine spermatozoa at 5, -25 and -85 °C in tris-buffered and citrate-buffered yolk- glycerol. *Journal of Dairy Science* 46: 333.
- El-Alamy, M.A. and R.H. Foote. 2001. Freezability of spermatozoa from Finn and Dorset Rams in multiple semen extenders. *Animal Reproduction Science* 65 : 245-254.
- Feradis, D. Pawitri, I.K. Suatha, M. Rizal Amin, T.L. Yusuf, D. Sajuthi, I.N. Budiarsa and E.S. Hayes. 2001. Cryopreservation of epididymal spermatozoa collected by needle biopsy from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of Medicine Primatology* 30: 100-106.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: *Reproduction in Farm Animals*, 7th edition. B. Hafez and E.S.E. Hafez. (Eds). Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore. 96-109.
- Gilbert, A.B., 1980. Poultry. In: *Reproduction in Farm Animals*, 4th edition. E.S.E. Hafez (Ed). Lea and Febiger, Philadelphia. Pp. 436-438
- Hafez, E.S.E. 2000. Preservation and Cryopreservation of Gametes and Embryos. In: *Reproduction in Farm Animals*, 7th edition. B. Hafez and E.S.E. Hafez. (Eds). Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore. 431-442.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. Transport and Survival of Gametes. In: *Reproduction in Farm Animals*, 7th edition. B. Hafez and E.S.E. Hafez. (Eds). Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore. 82-95.
- Herdis, M.R. Toelihere, I. Supriatna, B. Purwantara dan R.T.S. Adikara, 2004. Integritas dan daya hidup spermatozoa pada pembekuan semen domba garut (*Ovis aries*) dengan pengencer dasar tris dan susu skim kuning telur. *Jurnal Veteriner* 5 : 40-47
- Jeyendran, R.S. and L.J.D. Zaneceld, 1984. *Instruction for Hypoosmotic Swelling (HOS) Test. Semen Analysis Reproductive Resource Centre Lab. Grant of Hospital of Chicago, Chicago.*
- Kikuchi, K., T. Nagai, N. Kashiwazaki, H. Ikeda, J. Noguchi, A. Shimada, E. Soloy and H. Kaneko, 1998. Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4°C. *Theriogenology* 50 : 615-623.
- Lubbe, K., R.L. Smith, P. Bartels and R.A. Godke. 1999. Freezing epididymal sperm from white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) treated with different cryodiluents. *Theriogenology* 51: 288.
- Mathew, J., C.K.S.V. Raja and K.P. Nair. 1984. Preservation of Indonesian buck semen with tris yolk diluent. *Indian Veterinary Journal* 61: 964-968.
- Mardiyah, E. 2001. Teknik pengenceran pada pembuatan chilling semen sapi. *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*. 130-137.

- Maxwell, W.M.C. and S. Salamon. 1993. Liquid storage of ram semen : a review. *Reproduction, Fertility and Development* 5 : 601-612.
- Nolan, J.P. and R.H. Hammerstedt. 1997. Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. *The Journal of The Federation of America Societies for Experimental Biology*. 11 : 670-682.
- Partodihardjo, S., 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Cetakan ketiga Fakultas Kedokteran Veteriner Jurusan Reproduksi IPB. Mutiara Sumber Widya. Jakarta Pusat.
- Rattan, P.J.S. 1990. Physio-chemical constituents of buffalo bull semen. *Proceedings of the II World Buffalo Congress*, New Delhi. 26-30.
- Revel, S.G. and R.A. Mrode, 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Animal Reproduction Science* 36 : 77-86.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan P. Situmorang. 1999. Pengaruh plasma semen sapi terhadap kualitas semen beku kerbau lumpur (*Bubalus bubalis*). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 4: 143-147.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan P. Situmorang. 2003a. Kriopreservasi semen Domba Garut dalam pengencer Tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. *Media Kedokteran Hewan*. 19 (2) : 79-83.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan P. Situmorang, 2003b. Pengaruh lama penyimpanan epididimis domba pada suhu 5°C terhadap kualitas spermatozoa epididimis. *Seminar Nasional dan Gelar Produk "Pengelolaan dan Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati dalam Kerangka Pembangunan Berkelanjutan"*. Pusat Studi Ilmu Hayati, Lembaga Penelitian, IPB. Bogor.
- Rizal, M., Herdis dan A. Boediono, 2004. Daya hidup sperma epididimis domba setelah disimpan pada suhu rendah (5°C). *Animal Production* 6 (1): 30-36.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan P. Situmorang, 2004. Pengaruh waktu penyimpanan epididimis pada suhu 5°C terhadap kualitas spermatozoa epididimis domba garut. *Jurnal Veteriner* 5(3): 95-103.
- Salisbury, G.W. dan N.L. Van Demar,. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Soeparna, 1982. *Pengantar Spermatologi (II) Spermatogenesis*. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Soler, A.J., M.D. Perez-Guzman and J.J. Garde, 2003. Storage of red deer epididymis for four days at 5°C : Effects on sperm motility, viability and morphology integrity. *Jurnal Experimental Zoology* 295A: 188-199.
- Squires, E.L, C. Gomez-Cuetara and J.K. Graham, 2000. Effect of seminal plasma on cryopreserving epididymal and ejaculated stallion spermatozoa. *Proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction*, Stockholm, 2-6 July 2000. P.166. Abstract Vol.2.
- Steinbach, J. and R.H. Foote, 1967. Osmotic pressure and pH effects on survival of frozen on liquid Spermatozoa. *Journal of Dairy Science* 50: 205.
- Suhendra, 2002. *Kajian Beberapa Parameter Kualitas Spermatozoa Spermatozoa sapi pada Tiap Bagian Epididimis* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tambing, S.N., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf and I.K. Utama, 2000. Effects of glycerol in tris extender on frozen semen quality of crossbred etawah bucks. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 5(2): 84-91
- Toelihere, M.R., 1993a. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R., 1993b. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung.