

# Efektivitas Sukrosa sebagai Proteksi Aktif Membran Ekstraseluler Spermatozoa Sapi Bali pada Zona *Pre-Freezing*

## The effectiveness of sucrose as the Active Protection of Bali Spermatozoa Extracellular Membranes Pre-Freezing

Pajri Anwar dan Jiyanto

<sup>1</sup>Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Islam Kuantan Singing

**ABSTRAK** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kinerja sukrosa dalam Tris kuning telur sebagai krioprotektan untuk perlindungan aktif ekstraseluler membran plasma utuh spermatozoa sapi Bali. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sperma sapi Bali terpilih dan bahan pengencer semen. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan A (Kontrol) = Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; Perlakuan B = 0,2% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; Perlakuan C = 0,3% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; Perlakuan D = 0,4% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; Perlakuan E = 0,5% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur +

**Kata kunci:** Krioprotektan, Membran Plasma Utuh (MPU), Selulosa, Spermatozoa

**ABSTRACT** This study aimed to determine the effectiveness of the performance of sucrose in tris egg yolk as a cryoprotectant for extracellular active protection of extracellular membrane of Bali bulls spermatozoa. The material used in this study is the sperm of selected Bali bulls and spermatozoa thinning agent. This study used an experimental method with a completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments and 4 replications. Treatment A (Control) = Tris 80% + 20% Egg Yolk + Glycerol; Treatment B = 0.2% Sucrose + Tris 80% + 20% Egg yolk + Glycerol; Treatment C = 0.3% Sucrose + Tris 80% + 20% Egg yolk + Glycerol; Treatment D = 0.4% Sucrose + Tris 80% + 20% Egg yolk + Glycerol; and Treatment E = 0.5% Sucrose + Tris 80% + 20% Egg Yolk + Griserol.

**Keywords:** Cellulose, cryoprotectant, plasma membrane, Spermatozoa.

Griserol. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah pergerakan progresif aktif spermatozoa dan membran Plasma Utuh (MPU) pada tahap *pre-freezing* semen sapi Bali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi sukrosa pada tahap *pre-freezing* tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05\%$ ) terhadap persentase progresif aktif spermatozoa dan proteksi MPU semen Sapi Bali dan tingkat aktif progresif spermatozoa dengan penambahan sukrosa dalam kuning telur dikategorikan baik (66.75- 69.00%). Penambahan berbagai level konsentrasi sukrosa sebagai krioprotektan ekstraseluler melapisi dan mengikat membran spermatozoa dari efek perubahan suhu yang drastis pada tahap *pre-freezing* dalam proses semen beku.

The parameters observed in this study were the active progressive movement and extracellular membrane of spermatozoa protection in Bali bulls pre-freezing stage. The results showed that the sucrose tris egg yolk concentration level at the pre freezing stage no significant effect ( $P > 0.05\%$ ) on the active progressive percentage of spermatozoa and bali bulls extracellular membrane protection conditions active levels of progressive spermatozoa with the addition of sucrose in egg yolk are categorized as good (66.75- 69.00%). Addition of various levels of sucrose concentration as extracellular cryoprotectant coating and binding of spermatozoa membranes from the effects of drastic temperature changes in the pre-freezing stage in the process of frozen sperm.

2019 Jurnal Agripet: Vol (19) No. 1 : 77-84

### PENDAHULUAN

Pengembangan populasi ternak tidak lepas dari reproduksi, untuk mendukung produksi yang baik diperlukan penanganan manajemen produksi ternak. Tingkat fertilisasi

dipengaruhi oleh fertilitas pejantan dan betina yang memenuhi standar produktif dan terseleksi. Reproduksi betina yang perlu diperhatikan adalah keabnormalan ovarium sebagai penghasil ovum dan tingkat pengatur hormon fisiologi reproduksi betina. Selanjutnya untuk pejantan yang harus diperhatikan adalah kualitas spermatozoa yang

Corresponding author: pajryanwar@gmail.com

Doi: <https://doi.org/10.17969/agripet.v19i1.14468>

motil dan progresif aktif. Karakteristik spermatozoa yang baik yaitu memiliki keutuhan selubung membran. Keutuhan membran berfungsi sebagai perlindungan organel-organel sel dalam membran yang berhubungan dengan tingkat metabolisme sel. Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses transportasi zat nutrisi sebagai pembentuk energi gerak yang berhubungan dengan progresif aktif spermatozoa. Keadaan ini berpengaruh terhadap daya gerak yang aktif dan progresif spermatozoa menuju fertilisasi. Patokan daya gerak yang aktif adalah standar utama sebagai nilai mendapatkan tingkat fertilisasi inseminasi buatan (IB) yang dilaksanakan.

Permasalahan yang dihadapi secara alami adalah pergerakan progresif berlangsung sangat singkat apabila tidak diberi perlakuan yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa. Perbaikan kualitas pengencer merupakan salah satu cara untuk mempertahankan kualitas semen seoptimal mungkin sehingga motilitas spermatozoa dan daya tahan hidup spermatozoa dapat dipertahankan. Salah satu cara dalam mempertahankan sifat pergerakan progresif spermatozoa selama preservasi baik semen cair ataupun semen beku adalah dengan penambahan krioprotektan yang berfungsi untuk menjaga keutuhan membran. Krioprotektan berfungsi sebagai pengikatan selubung lipoprotein pada membran spermatozoa sehingga membran plasma tetap stabil saat melalui zona temperatur kritis (Tambing *et al.*, 2008). Proteksi aktif membran spermatozoa selama preservasi dilakukan dengan cara penambahan zat pelapis ekstraseluler membran dengan penyesuaian susunan membran plasma yang berupa karbohidrat yang berikatan dengan lipid dan protein yang disebut selubung sel (Subowo 1995). Pengaruh perlindungan lipoprotein dihasilkan dari pengikatan selubung lipoprotein pada membran spermatozoa yang menyebabkan membran plasma tetap stabil (Tambing *et al.*, 2008).

Berdasarkan sifat-sifat fisik kimia dan daya permeabilitas membran maka krioprotektan dibagi atas dua kelompok, yaitu krioprotektan intraseluler yang dapat keluar masuk membran karena memiliki berat molekul kecil sehingga bersifat permeabel dan krioprotektan ekstraseluler tidak dapat keluar masuk membran karena memiliki berat molekul besar sehingga bersifat non permeable. Karbohidrat seperti sukrosa berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler untuk melindungi membran dari kerusakan selama penyimpanan pada suhu rendah. Penambahan beberapa gula di dalam pengencer Tris efektif dapat meningkatkan kualitas spermatozoa (Herdis, *et al.*, 2016). Penambahan sukrosa kedalam pengencer Tris kuning telur dapat mempertahankan kualitas spermatozoa (Yulnawati dan Herdis, 2009) dan pemberian gula berpengaruh terhadap karakteristik semen kambing boer dibekukan (Nainga *et al.*, 2010). Suplementasi trehalosa dapat mempertahankan kualitas semen sapi setelah thawing (Jian *et al.*, 2010). Penambahan sukrosa dalam pengencer andromed kerbau belang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa (Surachman *et al.*, 2009). Penggunaan krioprotektan ekstraseluler sukrosa alami ekstraksi tebu dalam media pengencer semen cair dapat mempertahankan elastisitas membran (Anwar, *et al.*, 2014) dan menjaga motilitas dan viabilitas spermatozoa sampai tujuh hari preservasi (Anwar, *et al.*, 2015).

Dilihat dari uraian di atas perlu penambahan bahan pengikat dari luar yang mudah didapat dan memenuhi syarat sebagai bahan pengencer serta mengandung unsur yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Proteksi aktif membran fase pembekuan dapat dimaksimalkan dengan penambahan konsentrasi sukrosa dalam pengencer.

### **Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kinerja sukrosa dalam Tris kuning telur sebagai krioprotektan proteksi aktif ekstraseluler membran plasma utuh (MPU) spermatozoa sapi Bali.

## MATERI DAN METODE

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan September 2018 di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Tenayan Raya, Pekanbaru.

### Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen sapi Bali terseleksi yang ditampung di BIBD Tenayan Raya, Pekanbaru. Bahan pengencer semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah sukrosa, fruktosa, tris, kuning telur, aquades, streptomisin dan penisilin. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vagina buatan, *water bath*, mikroskop cahaya, *photometer* SDMS, magnetik stirrer, kertas lakmus, timbangan mikro, tabung sentrifus, objek gelas, *cover* gelas, kertas saring, pinset, pipet eritrosit, spuit, termometer, tisu, kapas, pipet mikro ukuran 1 ml dan gelas ukur.

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini menguji penggunaan dosis sukrosa yang berbeda dalam pengencer Tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa Sapi Bali. Kegiatan penelitian terbagi dalam beberapa tahap kegiatan yaitu proses koleksi atau penampungan semen, evaluasi semen segar, proses pengenceran dengan berbagai level dosis sukrosa yang berbeda, ekuilibrasi selama 3 jam, filling dan sealing (pengisian semen kedalam *straw*) dan *pre-freezing* kemudian evaluasi semen setelah *pre-freezing*. Berikut di jelaskan tahapan dalam melakukan *pre-freezing*: 1) pembuatan bahan pengencer, yang terdiri dari tris, pengenceran kuning telur, larutan sukrosa dengan berbagai konsentrasi, aquades dan gliserol; 2) pencampuran semen dengan larutan yang telah ditentukan dalam perlakuan; 3) tahap *pre-freezing*; 4) evaluasi semen setelah *pre-freezing*. Berikut dijelaskan cara pengenceran semen dan evaluasi semen setelah *pre-freezing* (Penilaian spermatozoa aktif progresif dan Persentase MPU spermatozoa):

### Pengenceran semen

Ejakulat yang diperoleh dari setiap ekor sapi Bali jantan yang memenuhi standar minimum motilitas spermatozoa (70%) dilakukan proses pengenceran. Proses pengenceran dilakukan dengan cara berikut:

1. Diawali dengan pemeriksaan semen sampai diketahui: Volume semen = 2.0 ml; Konsentrasi sperma total =  $1000 \times 10^6/\text{ml}$ ; Progresif motilitas sperma = 70%
2. Kandungan sperma motil per ml semen di tentukan sebagai berikut: Tiap ml semen mengandung 
$$\frac{1000 \times 10 \times 70}{100^6} = 700 \times 10^6 \text{ motil}$$
 ; Total volume semen segar =  $2 \times 700 \times 10^6 = 1400 \times 10^6$  motil; Progresif tiap dosis inseminasi yang diinginkan  $40 \times 10^6$  ditentukan dengan hitungan: (progresif motil/ dosis inseminasi) =  $\frac{1400 \times 10}{40 \times 10^6} = 35 \text{ ml}$  pengencer; Total volume yang harus ditambahkan : total volume pengencer – total volume semen segar =  $35 \text{ ml} - 2 \text{ ml} = 33 \text{ ml}$ ; Untuk dosis inseminasi yang dibutuhkan  $0.25 \text{ ml}$  progresif  $40 \times 10^6$  per straw adalah  $33 / 0.25 \text{ ml} = 132 \text{ straw}$ .

### Evaluasi Semen setelah *Pre-freezing* (Penilaian Spermatozoa Aktif Progresif dan Persentase MPU Spermatozoa)

Evaluasi dilakukan dengan cara sebagai berikut: 1) Penilaian spermatozoa aktif progresif dilakukan pada tiga lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop dengan pembesar 400x untuk masing-masing sampel. Angka yang diberikan berkisar antara 0 dan 100% dengan skala 5%. Skor 0% (tidak ada yang bergerak) dan 100% (seluruh spermatozoa bergerak kedepan). Rata-rata dari tiga estimasi berturut dicatat sebagai skor akhir motilitas. 2). Persentase MPU spermatozoa ditentukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang memiliki MPU dengan metode *Osmotic Hypoosmotic Swelling Test* (HOST) (Bucak *et al.*, 2008). Komposisi larutan hipoosmotik terdiri atas: 0,9 gr fruktosa + 0,49 gr natrium sitrat yang dilarutkan dengan aquabides hingga mencapai volume 100 ml. Sebanyak 300  $\mu\text{l}$  larutan hipoosmotik ditambahkan ke dalam 30  $\mu\text{l}$  semen, dicampur

hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Setelah di inkubasi, 0,2 µl ditetaskan di atas objek glass kemudian ditutup dengan penutup glass, selanjutnya dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000x terhadap minimum 200 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor lurus.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan sebagai berikut :1) Perlakuan A (Kontrol) = Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; 2) Perlakuan B = 0,2% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; 3) Perlakuan C = 0,3% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; 4) Perlakuan D = 0,4% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol; 5) Perlakuan E = 0,5% Sukrosa + Tris 80%+20% Kuning telur + Gliserol. Parameter yang diukur dalam penelitian adalah pergerakan progresif aktif spermatozoa dan MPU pada tahap *pre-freezing* semen sapi Bali.

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) (Steel dan Torie 1995) dengan menggunakan program SPSS 20.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase Progresif Aktif Spermatozoa *Pre-Freezing*

Tingkat keberhasilan dari proses pembuatan semen beku dapat diukur dari proteksi kualitatif aktif progresif spermatozoa semen beku yang dihasilkan. Tahapan proses pembekuan yaitu *pre-freezing* dan *freezing*. Proses *pre-freezing* yaitu *straw* yang berisi semen disusun pada rak *straw* dan ditempatkan di atas permukaan uap nitrogen (N<sub>2</sub>) cair sekitar 4,5 cm, proses ini berlangsung sekitar 9 menit. Proses perlakuan *pre-freezing* berfungsi sebagai tahapan-tahapan proses dari suhu dingin hingga beku yang berlangsung dalam kontainer yang berisi nitrogen cair. Persentase progresif aktif dan proteksi aktif dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase progresif aktif dan Proteksi Aktif MPU Spermatozoa Sapi Bali *pre-freezing*

Variable	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
Progresif (%)	64,25	68,00	66,75	68,75	69,00
MPU (%)	93,32	92,74	91,37	88,88	89,85

Keterangan: A(kontrol), B (Sukrosa 0,2%), C (Sukrosa 0,3%), D (Sukrosa 0,4%), dan E (Sukrosa 0,5%).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa progresif aktif spermatozoa tanpa penambahan krioprotektan sukrosa (kontrol) memiliki persentase yang paling rendah (64,25%) dibandingkan dengan pemberian sukrosa 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5% masing-masing 68,00%, 66,75%, 68,75% dan 69,00%. Perlakuan konsentrasi sukrosa dalam tris kuning telur sebagai krioprotektan semen tahap *pre-freezing* memberikan kontribusi nilai terbaik. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa setiap perlakuan pengencer yang digunakan dapat mempertahankan persentase 64%-69% progresif aktif spermatozoa pada tahap preservasi *pre-freezing*. Perlakuan

penambahan konsentrasi sukrosa 0.5% dan tris kuning telur menghasilkan nilai terbaik dengan persentase sebesar 69% aktif (Tabel 1).

Tahap *pre-freezing* belum mempengaruhi tingkat kerusakan yang signifikan. Berdasarkan hasil statistik pengaruh pemberian konsentrasi sukrosa dalam tris kuning telur tahap *pre-freezing* tidak berpengaruh nyata ( $P > 0.05$ ) terhadap persentase progresif aktif spermatozoa sapi Bali. Namun secara persentase keseluruhan pemberian konsentrasi sukrosa dalam tris kuning telur dikategorikan baik (64%-69%). Hal ini diduga dengan penambahan konsentrasi sukrosa sebagai krioprotektan ekstraseluler

akan melapisi dan mengikat membran spermatozoa dari efek cekaman perubahan suhu yang drastis tahap *pre-freezing* dalam proses semen beku. Hasil dari beberapa penelitian melaporkan penambahan sumber disakarida sebagai krioprotektan ekstraseluler dalam pengencer semen beku nyata dapat mempertahankan progresif aktif spermatozoa. Menurut Rizal *et al.*, (2007), penambahan sukrosa dalam pengencer andromet nyata mempertahankan persentase livabilitas epididimis kerbau belang. Yulnawati *et al.*, (2008) menyatakan bahwa penambahan raffinosa dapat mempertahankan persentase motilitas progresif dan hidup spermatozoa epididimis kerbau belang pasca *thawing*. Selanjutnya Nalley *et al.*, (2007) melaporkan bahwa sumber karbohidrat dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa.

Krioprotektan sangat berperan dalam proteksi membrane, menjaga elektrolit dan organel sel yang berperan dalam motilitas spermatozoa. Proses krioprotektan intraseluler dapat mengurangi efek negatif dengan cara masuk menembus membran spermatozoa untuk menyeimbangkan tekanan osmolaritas sel, sehingga keseimbangan elektrolit intra dan ekstra seluler dapat terjaga. Pada kondisi keseimbangan elektrolit intra dan ekstra seluler, saat pembekuan tidak terjadi kristal es. Gliserol menggantikan sebagian air yang bebas dan mendesak keluar elektrolit-elektrolit sehingga menurunkan konsentrasi elektrolit intraseluler dan mengurangi daya rusaknya terhadap spermatozoa dengan jalan memodifikasi kristal es yang terbentuk (Toelihere, 1985).

Progresi aktif spermatozoa dapat mengalami penurunan yang disebabkan oleh perubahan temperatur pada zona temperatur dingin hingga beku. Susunan membran spermatozoa tersusun dari makro enzim, fosfolipid, glikoprotein dan senyawa kabrohidrat. Pengaruh kejutan dingin berkaitan dengan pelepasan ikatan karbohidrat dengan perubahan tatanan 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 sel. Oleh karena itu, preservasi spermatozoa pada suhu rendah diperlukan krioprotektan ekstraseluler dan krioprotektan intraseluler spermatozoa sebagai pelindung di dalam pengencer. Anwar *et al.* (2014) dan Anwar *et al.* (2015) melaporkan sukrosa dalam pengencer alternatif air tebu dan kuning telur mampu mempertahankan daya gerak dan membran plasma utuh selama 7 hari preservasi semen cair. Tahapan *pre-freezing* adalah tahapan dimana spermatozoa akan menghadapi zona temperatur kritis. Zona yang akan merusak keadaan membran plasma spermatozoa sehingga akan mempengaruhi tingkat progresif aktif spermatozoa. Tujuan *pre-freezing* adalah menghindari terjadinya *cold shock* yang akan mempengaruhi gerakan individu persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa. Keadaan zona kritis ini bisa dilewati dengan teknik proteksi aktif membran secara ekstraseluler dan intraseluler pada spermatozoa sehingga motilitas bisa dipertahankan. Anwar *et al.* (2014) dan Anwar *et al.* (2015) menyatakan bahwa proteksi ekstraseluler menggunakan sukrosa dalam air tebu murni dapat mempertahankan motilitas dan MPU selama tujuh hari pada semen cair pada suhu 5°C. Menurut Isnaini (2011) proteksi krioprotektan ekstraseluler dengan menggunakan trehalosa dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa kambing Boer pada level optimal trehalosa 1,5%-2,5%.

Krioprotektan yang paling berperan penting dalam melindungi sel adalah intraseluler karena krioprotektan tersebut dapat menembus membran sel. Salah satu senyawa krioprotektan intraseluler adalah penambahan konsentrasi gliserol dalam pengencer semen beku. Gliserol adalah salah satu krioprotektan intraseluler yang berfungsi memodifikasi pembentukan kristal es melalui pencegahan peningkatan konsentrasi elektrolit yang dapat membahayakan sel yang akan dibekukan. Gliserol merupakan krioprotektan yang sangat sering digunakan dalam proses pembekuan spermatozoa. Rusiyantono (2008) menyatakan bahwa pemberian beberapa jenis krioprotektan

kombinasi gliserol dan etilen glikol memberikan persentase hidup spermatozoa 68% lebih baik dengan gliserol 65,6% dan etilen glikol 64,8%. Penambahan gliserol dalam pengencer melindungi spermatozoa terhadap efek lethal selama proses pembekuan serta dapat memodifikasi kristal-kristal es yang terbentuk dalam medium sewaktu pembekuan, sehingga mampu menghambat kerusakan mekanis membran sel spermatozoa pada waktu penurunan suhu (*cooling rate*) (Mumu, 2009). Penambahan kombinasi krioprotektan ekstraseluler dan intraseluler spermatozoa baik dalam mempertahankan tingkat progresif aktif spermatozoa hingga pos *thawing*.

#### **Persentase Proteksi Aktif Keadaan Membran Plasma Utuh Spermatozoa *Pre-freezing***

Persentase MPU di evaluasi dengan metode *osmotic resistance test* (ORT) atau HOST. Membran plasma sel utuh memberikan pengaruh positif terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi sukrosa dalam tris kuning telur dikategorikan sangat baik dengan nilai 88.88% - 92.74% aktif dalam memproteksi MPU spermatozoa tahap *pre-freezing* selama 9 menit. Persentase MPU perlakuan kontrol dengan 0% konsentrasi sukrosa tidak jauh signifikan dibandingkan dengan perlakuan pemberian konsentrasi 0,2%-0,5% *pre-freezing* (Tabel 1). Hal tersebut disebabkan tahap *pre-freezing* belum memberi

pengaruh buruk terhadap kerusakan MPU tahap proses semen beku. Pengaruh positif tahap semen cair pada suhu rendah pemberian krioprotektan jenis gula dapat mempertahankan kualitas semen dan telah dilaporkan oleh peneliti sebelumnya pada ternak yang lain. Penambahan sukrosa (Rizal, 2007) dan penambahan laktosa atau maltosa Labetubun *et al.*, (2011) ke dalam pengencer tris dapat memperbaiki kualitas semen cair domba garut yang disimpan pada suhu 3°C-5°C.

Pemberian konsentrasi sukrosa tris kuning telur tahap *pre-freezing* tidak berpengaruh nyata terhadap persentase keadaan membran plasma utuh spermatozoa sapi Bali. Sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, Surachman *et al.*, (2009) menyatakan bahwa keberadaan sukrosa dalam penelitiannya mampu menghasilkan persentase spermatozoa yang baik. Golongan disakarida seperti sukrosa dan laktosa diketahui lebih baik dalam mempertahankan fungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler membran sel. Karbohidrat memiliki kemampuan menggantikan molekul air secara normal dalam kelompok polar *hydrate*. Menurut Rizal *et al.* (2007), jenis gula yang ditambahkan ke dalam pengencer akan berasosiasi dengan karbohidrat pada lapisan membran plasma sel yang rusak selama penyimpanan sehingga karbohidrat sebagai pengganti struktur selubung sel yang rusak secara mekanis tetap utuh. Keadaan MPU hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Membran Plasma Utuh (MPU) Sapi Bali pada Zona *Pre-freezing* dengan 40 kali pembesaran

Sukrosa dalam pengencer berperan sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler, yang berfungsi melindungi membran plasma sel spermatozoa dari proses kerusakan akibat pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) selama proses hingga penyimpanan pada tahap *pre-freezing* atau *freezing*. Nalley *et al.* (2007) menyatakan bahwa selama penyimpanan semen berlangsung akan terjadi kerusakan terhadap dekomposisi protein pada membran sel sehingga lapisan lipoprotein pada sel akan menyebabkan terjadinya denaturasi protein yang disebabkan reaksi peroksidasi pada membran. Kerusakan membran bisa diminimalisir dengan adanya penambahan krioprotektan sukrosa dalam tris kuning telur dalam pengencer selama preservasi berlangsung. Menurut Rizal *et al.* (2007), jenis gula yang ditambahkan dalam pengencer akan berasosiasi dengan karbohidrat pada lapisan membran plasma sel yang rusak selama penyimpanan sehingga karbohidrat sebagai pengganti struktur selubung sel yang rusak secara mekanis tetap utuh.

Hasil penelitian pengencer konsentrasi sukrosa terdapat juga konsentrasi tris kuning telur dalam perbaikan dan mempertahankan semen tahap *pre-freezing*. Hasil dari beberapa penelitian melaporkan pemberian tris kuning telur dapat memberikan kontribusi baik terhadap membran spermatozoa dalam zona beku atau zona suhu rendah. Labetubun *et al.* (2011) menambahkan dalam penelitiannya pemberian konsentrasi 20% kuning telur efektif mempertahankan dan menstabilkan membran spermatozoa pada preservasi 3°C-5°C. Tambing *et al.* (2008) melaporkan bahwa lipoprotein yang terdapat dalam kuning telur sangat berperan aktif dalam perlindungan membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan akibat kejutan dingin dan serangan radikal bebas akibat kontak dengan oksigen saat pengolahan semen baik untuk semen cair maupun dibekukan.

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat di ambil dari hasil penelitian adalah penggunaan sukrosa sebagai krioprotektan ekstraseluler dalam

pengencer tris kuning telur dapat mempertahankan 66,75% - 69% progresif aktif spermatozoa tahap preservasi *pre-freezing* dan tingkat progresif aktif spermatozoa dikategorikan baik. Selanjutnya penambahan konsentrasi sukrosa mampu mempertahankan keadaan MPU hingga 88,88% - 92,74% terproteksi aktif tahap preservasi *pre-freezing*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, P., Ondho, Y.S., Samsudewa, D. 2014. Pengaruh Pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Peternakan*. 11(2): 48-54.
- Anwar, P., Ondho, Y.S., Samsudewa, D. 2015. Kualitas membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa sapi Bali dipreservasi suhu 5°C dalam pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur. *Jurnal Agromedia*. 33(1): 53-56.
- Bucak, M.N., Uysal, O., 2008. The role of antioxidants in freezing of saanen goat semen. *Jurnal Indian Vet*. 85: 148-150.
- Isnaini, N., 2011. Viability of boer goat spermatozoa after cooling and freezing using tris-based-solution supplemented with different level of trehalose. *Malang. J. Ternak Tropika*. 12(1) : 27-37.
- Herdis, Darmawan, W.A., Rizal, M., 2016. Penambahan beberapa jenis gula dapat meningkatkan kualitas spermatozoa beku asal epididimis ternak domba. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10 (2) : 200-204.
- Jian, H.H., Zan L.S., Zhao, X.L., Li, Q.W., Jiang, Z.L., Li, Y.K., Li, X. 2010. Effects of trehalose supplementation on semen quality and oxidative stress variables in frozen thawed bovine semen. *J Anim Sci*. 88: 1657-1662.
- Labetubun, J., Siwa, I.P., 2011. Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi Bali dengan Penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada suhu

- 3°C - 5°C. *Jurnal Veteriner*. 12 (3) : 200-207.
- Mumu, M.I., 2009. Viabilitas semen sapi simental yang dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol. *Jurnal Agroland*. 16(2): 172-179.
- Nainga, S.W., Wahida, H., Azamc, K.M., Rosnina, Y., Zukib, A.B., Kazhala, S., Bukara, M., Theind, T., Kyawe, M.M.S., 2010. Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after Cryopreservation. *Animal Reproduction Science*.122: 23-28.
- Nalley, W., Hamdarini, M.M.R., Purwantari, B., 2007. viabilitas spermatozoa rusa timur (*Cervus timorensis*) di dalam pengencer tris kuning telur dengan penambahan sumber karbohidrat berbeda yang disimpan pada suhu ruang. *JITV*. 14(4): 311-317.
- Rizal, M. Herdis, Yulnawati., Maheshwari, H., 2007. Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang di kriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. *J. Vet*. 8(4):188-193.
- Rusiyantono, Y. 2008. Penambahan Krioprotektan Dalam Bahan Pengencer Untuk Pembuatan Semen Beku Melalui Teknologi Sederhana Dalam Menunjang Pelaksanaan IB Di Daerah. Dalam Prosiding: Seminar Nasional Sapi Potong, Palu. pp: 160-166.
- Subowo. 1995. Biologi Sel. Angkasa. Bandung
- Steel, R.G.D., Torrie, H. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistik. Terjemahan; B.Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Surachman, .M., Herdisa., Yulnawati., Rizal, M., Maheshwari, H., 2009. Kualitas semen cair asal epididimis kerbau belang dalam bahan pengencer andromed yang mendapat penambahan sukrosa. *Media Peternakan*. 32(2) : 88-94.
- Tambing, S.N., Utama, K., Sariubang, M. 2008. Efektivitas konsentrasi kuning telur di dalam pengencer tris dengan dan tanpa plasma semen terhadap kualitas semen beku kambing saanen. *JITV*.13(4): 315-322.
- Toelihere, M.R. 1995. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Yulnawati., Herdis., 2009. Kualitas semen cair Domba Garut pada penambahan sukrosa dalam pengencer Tris kuning telur. *JITV*. 14 (1): 45-49.
- Yulnawati., Herdis., Maheshwari, H., Rizal, M. 2008. Kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang pada penambahan Raffinoa sebagai krioprotektan ekstraseluler. *JITV*. 13 (1): 30-34.