

Efektivitas Konsentrasi Kuning Telur di dalam Pengencer Tris dengan dan tanpa Plasma Semen terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Saanen

SURYA NATAL TAMBING¹, I-K. SUTAMA² dan M. SARIUBANG¹

¹Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan,
Jl. Perintis Kemerdekaan KM. 17,5 Sudiang, Makassar 90242

²Balai Penelitian Ternak, PO BOX 221, Bogor 16002

(Diterima Dewan Redaksi 15 September 2008)

ABSTRACT

TAMBING, S.N., I-K. SUTAMA and M. SARIUBANG. 2009. Efficacy of concentration of egg yolk in Tris extender with and without seminal plasma on frozen semen quality of Saanen bucks. *JITV* 13(4): 315-322.

Bucks semen is easily damaged compared to bull semen during cryopreservation process. Consequently, frozen semen quality decrease especially motility, live sperm, intact plasma membrane, and intact acrosomal cap after thawing. Objectives of this research was to evaluate the effect of egg yolk concentration in Tris extender with and without seminal plasma in maintaining frozen semen quality of Saanen buck. Four heads of Saanen buck of 2-4 years old were used in this experiment. Semen was collected once a week using artificial vagina. Experimental design applied was factorial complete random desing 2x2, viz. A factor was seminal plasma (A1 = with seminal plasma and A2 = without seminal plasma), and B factor was concentration of egg yolk (B1 = 10% and B2 = 20%). Duncan test were applied to identity differences between treatment. Result of these study indicated that the mean percentage of motility (M), live sperm (LS), sperm with intact plasma membrane (IPM) and intact acrosomal cap (IAC) after dilution and equilibration were not significantly different ($P>0.05$) in all treatment. After thawing, the mean percentage of M, LS sperm with IPM and IAC in A1 treatment (41.43, 51.52, 56.63 and 50.35% respectively) were significantly higher ($P<0.05$) than A2 treatment (37.14; 48.67; 52.31 and 45.09% respectively). Likewise, the mean percentage of M, LS, sperm with IPM and IAC in B2 treatment (41.79; 51.32; 55.78 and 49.50% respectively) were significantly higher ($P<0.05$) than B1 treatment (36.79, 48.86; 53.16 and 45.94% respectively). There were a significant interaction between factors of seminal plasma and concentration egg yolk in Tris extender, where the increase of egg yolk concentration from 10% to 20% in unwashed seminal plasma treatment caused increase in percentages of M, LS, sperm with IPM and IAC. On the other hand in washed seminal plasma treatment there were a trend of decreasing frozen semen quality. It is concluded that the combination of 20% egg yolk in Tris extender with seminal plasma is effective in maintaining frozen semen quality of Saanen bucks.

Key Words: Saanen Bucks, Semen Quality, Egg Yolk, Seminal Plasma

ABSTRAK

TAMBING, S.N., I-K. SUTAMA dan M. SARIUBANG. 2009. Efektivitas konsentrasi kuning telur di dalam pengencer tris dengan dan tanpa plasma semen terhadap kualitas semen beku kambing Saanen. *JITV* 13(4): 315-322.

Semen kambing lebih rentan dibandingkan dengan semen sapi terhadap proses pembekuan, akibatnya kualitas semen beku, khususnya motilitas, daya hidup, membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) menurun setelah thawing. Tujuan penelitian ini adalah melihat pengaruh konsentrasi kuning telur dalam pengencer Tris dengan dan tanpa plasma semen dalam mempertahankan kualitas semen beku kambing Saanen. Empat ekor kambing Saanen jantan berumur 2-4 tahun digunakan sebagai sumber semen. Semen ditampung dengan menggunakan vagina buatan sekali seminggu. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pola faktorial 2 x 2, yaitu faktor plasma semen (A1 = dengan plasma semen dan A2 = tanpa plasma semen), dan faktor B konsentrasi kuning telur (B1 = 10% dan B2 = 20%) dengan menggunakan pengencer Tris. Digunakan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata ($P>0,05$) dalam rata-rata persentase motilitas (% M), spermatozoa hidup (% H), % MPU dan % TAU spermatozoa sesudah pengenceran dan ekulibrasi pada semua perlakuan. Sesudah thawing, rata-rata % M, % H, % MPU dan % TAU spermatozoa pada perlakuan A1 (masing-masing: 41,43; 50,73; 56,63 dan 50,35%) nyata lebih tinggi ($P<0,05$) dibandingkan dengan perlakuan A2 (37,14; 49,24; 52,31 dan 45,09%). Demikian pula rata-rata % M, % H, % MPU dan % TAU spermatozoa pada perlakuan B2 (masing-masing: 41,79; 51,61; 55,78 dan 49,50%) nyata lebih tinggi ($P<0,05$) dibandingkan dengan perlakuan B1 (36,79; 48,36; 53,16 dan 45,94%). Terdapat interaksi antara faktor plasma semen dengan konsentrasi kuning telur dalam pengencer Tris, dimana peningkatan konsentrasi kuning telur dari 10% menjadi 20% pada perlakuan A1 mengakibatkan peningkatan % M, % H, % MPU dan % TAU. Sebaliknya pada perlakuan A2 kecenderungan terjadi penurunan kualitas semen. Disimpulkan bahwa kombinasi kuning telur 20% dalam pengencer Tris dengan plasma semen efektif mempertahankan kualitas semen beku kambing Saanen.

Kata Kunci: Kambing Saanen, Kualitas Semen, Kuning Telur, Plasma Semen

PENDAHULUAN

Teknologi inseminasi buatan (IB) merupakan alat yang dapat digunakan untuk mendukung kegiatan program persilangan pada kambing. Peranan dari teknologi IB ini adalah meningkatkan produktivitas, dan memberikan keuntungan berupa kemampuan untuk mempercepat kemajuan genetik dan memfasilitasi aplikasi genetik molekuler dalam program seleksi (LEBOEUF *et al.*, 1998).

Penerapan teknologi IB pada ternak kambing saat ini masih mengalami hambatan, karena sulitnya mendapatkan kualitas *semen* beku yang memenuhi standar minimal untuk inseminasi. Rendahnya kualitas *semen* beku kambing disebabkan adanya fenomena kejutan dingin dan faktor koagulan yang terdapat dalam plasma semen kambing. Faktor koagulan tersebut disekresikan oleh kelenjar *bulbourethralis* (cowper's) disebut *egg yolk coagulating enzyme* dan telah diidentifikasi sebagai enzim fosfolipase A (EVANS dan MAXWELL, 1987).

Penurunan suhu secara mendadak dari suhu tubuh ke suhu di bawah 0°C merupakan faktor utama penyebab terjadinya kejutan dingin. Fenomena kejutan dingin kemungkinan berkaitan dengan fase transisi dari membran lipid yang menyebabkan terjadinya fase pemisahan dan penurunan sifat-sifat permeabilitas secara selektif dari membran biologik sel hidup (DROBNIS *et al.*, 1993; WATSON, 1995). Sedangkan enzim fosfolipase A akan menguraikan lesitin dari kuning telur yang terdapat dalam pengencer menjadi lisolesitin dan asam lemak tak jenuh (CORTELL, 1980 dalam GALL, 1981; EVANS dan MAXWELL, 1987). Lisolesitin inilah yang bersifat toksik dan mematikan sperma. Dengan rusaknya lesitin, maka efek perlindungan dari lesitin terhadap pengaruh kejutan dingin pada spermatozoa menjadi hilang, sehingga spermatozoa mudah mengalami kerusakan selama proses pembekuan.

Pengaruh negatif yang ditimbulkan akibat munculnya kedua fenomena ini adalah penurunan jumlah spermatozoa motil, pelepasan enzim, hilangnya aktivitas lesitin, perpindahan ion melewati membran dan penurunan kandungan lipid (fosfolipid dan kolesterol) yang sangat berperan dalam mempertahankan integritas struktural membran plasma (WEITZE dan PETZOLDT, 1992; WHITE, 1993; LEBOEUF *et al.*, 2000).

Upaya mengatasi pengaruh negatif yang ditimbulkan dari kedua fenomena ini adalah melalui penentuan konsentrasi optimal kuning telur dalam pengencer semen disertai dengan pengeluaran plasma semen. Penelitian tentang konsentrasi kuning telur dalam pengencer semen serta pengeluaran dan tanpa pengeluaran plasma semen kambing sudah banyak dilakukan namun hasilnya bervariasi. Hasil penelitian tentang konsentrasi kuning telur dalam pengencer

semen kambing bervariasi dari 1,5% sampai dengan 25% (RITAR dan SALAMON, 1982; MATHEW *et al.*, 1984; DEKA dan RAO, 1986; TREDJO *et al.*, 1996). Sementara itu, metode pengeluaran plasma semen kambing belum merupakan kesepakatan umum, karena ada anggapan bahwa dengan pengeluaran plasma semen menyebabkan hilangnya beberapa komponen yang sangat diperlukan spermatozoa selama perjalanannya dalam saluran reproduksi betina, seperti fruktosa yang sangat berperan sebagai sumber energi dan agen protektif (pelindung). Hasil penelitian SITUMORANG (1990) melaporkan persentase motilitas spermatozoa semen beku kambing PE dengan tanpa plasma semen lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan plasma semen. Sebaliknya hasil penelitian TULI dan HOLTZ (1994) menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa semen beku kambing Boer pada perlakuan dengan plasma semen lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa plasma semen.

Penelitian tentang kombinasi konsentrasi kuning telur dalam pengencer tris disertai dengan dan tanpa plasma semen terhadap kualitas semen beku kambing Saanen belum banyak dilaporkan, sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dalam pengembangan teknologi kriopreservasi semen kambing secara umum.

MATERI DAN METODE

Sumber semen

Empat ekor kambing Saanen jantan berumur 2-4 tahun, sehat dan organ reproduksinya normal digunakan sebagai sumber semen. Keempat pejantan tersebut ditempatkan dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum. Pakan yang diberikan berupa rumput gajah 2 kg/ekor/hari, ampas bir 1500 gram/ekor/hari dan konsentrat 700 gram/ekor/hari. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

Metode penelitian

Semen ditampung sekali seminggu dengan menggunakan vagina buatan. Segera setelah penampungan, semen dievaluasi meliputi evaluasi secara makroskopik dan mikroskopik. Semen yang akan diencerkan harus memenuhi syarat, yaitu minimal persentase motilitas 70%, konsentrat 2×10^9 sel/ml, gerakan massa +++, persentase hidup minimal 80% dan persentase abnormal tidak lebih dari 15%.

Semen yang telah memenuhi syarat selanjutnya dibagi dalam dua bagian, yaitu tanpa plasma semen melalui proses sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit dan dengan plasma semen (kontrol). Kedua bagian semen tersebut diencerkan dengan

menggunakan pengencer Tris sesuai komposisi baku (Tabel 1) dengan konsentrasi spermatozoa 100 juta/straw (0,25) dan dilanjutkan dengan penambahan kuning telur sesuai konsentrasi perlakuan, yaitu 10% (v/v) dan 20% (v/v). Jumlah larutan pengencer yang digunakan (dalam ml) adalah:

$$\frac{A \times B \times C}{D} - A$$

- A = Volume semen
- B = % Motilitas
- C = Konsentrasi spermatozoa
- D = Dosis IB/0,25

Semen yang telah diencerkan selanjutnya dikemas di dalam ministraw sistem Minitüb dan diekuilibrasikan pada suhu 3-5°C selama empat jam di dalam lemari pendingin. Selanjutnya dilakukan proses pembekuan yang diawali dengan menempatkan ministraw pada rak 3-5 cm di atas permukaan N₂ cair selama 10-15 menit. Kemudian minitüb disimpan dalam kontainer yang berisi N₂ cair (suhu -196°C). Thawing dilakukan dengan menggunakan air pada suhu 37°C selama kurang lebih 30 detik.

Parameter yang diamati

Parameter kualitas semen yang diamati adalah persentase motilitas (% M), persentase hidup (% H), persentase MPU (% MPU) dan persentase TAU (% TAU) yang dilakukan sesudah pengenceran, sesudah ekuilibrasikan dan sesudah thawing.

Analisa data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap pola faktorial 2 x 2. Faktor A adalah plasma semen (A1 = dengan plasma semen, dan

A2 = tanpa plasma semen), faktor B adalah konsentrasi kuning telur (B1 = 10% dan B2 = 20%). Perbedaan antar perlakuan digunakan uji Duncan (STEEL dan TORRIE, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik semen segar

Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakteristik semen segar kambing Saanen yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya (Tabel 2). Sebagai pembandingan, volume semen kambing Peranakan Etawah rata-rata 0,95 ml, konsistensi kental, warna putih sampai krem, konsentrasi spermatozoa 2,94 x 10⁹/ml, pH 7,13, gerakan massa +++, % M 72,79%, % H 82,54% dan abnormalitas spermatozoa 10,17% (TAMBING *et al.*, 2001). Sedangkan pada kambing Kacang dengan umur yang sama dengan kambing Saanen yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan volume semen rata-rata 0,6 ml, pH 7,0, gerakan massa +++, persentase motilitas 75,6%, persentase spermatozoa hidup 84,6%, persentase abnormalitas 7,0%, dan konsentrasi spermatozoa 2,842 x 10⁹/ml (WURLINA, 2000).

Pengaruh perlakuan terhadap kualitas semen

Persentase motilitas dan hidup spermatozoa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor plasma semen tidak mempengaruhi persentase motilitas spermatozoa sebelum pembekuan (baik sesudah pengenceran maupun sesudah ekuilibrasikan), namun sesudah thawing terlihat bahwa persentase motilitas spermatozoa sangat nyata (P<0,01) lebih tinggi pada perlakuan plasma semen dibandingkan dengan tanpa plasma semen (Tabel 3).

Tabel 1. Komposisi pengencer dasar yang digunakan dalam penelitian

Bahan	Pengencer	
	KT 10%	KT 20%
Tris [tris(hidroksimetil) amino metan], g	2,96	2,96
Asam sitrat, gr	1,65	1,65
Fruktosa, gr	2,00	2,00
Gliserol, ml	6,00	6,00
Kuning telur, %	10,00	20,00
Penisilin, IU/ml	1000,00	1000,00
Streptomisin, µg/ml	1000,00	1000,00
Aquabides <i>ad.</i> , ml	100,00	100,00

Pada perlakuan konsentrasi kuning telur, persentase motilitas spermatozoa tidak berbeda nyata sebelum pembekuan (baik sesudah pengenceran maupun sesudah ekuilibrasi), namun sesudah thawing terlihat bahwa persentase motilitas spermatozoa dengan perlakuan konsentrasi kuning telur 20% di dalam pengencer Tris sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dibandingkan dengan

konsentrasi kuning telur 10% di dalam pengencer Tris (Tabel 3). Hal yang sama dilaporkan oleh DEKA dan RAO (1986) dan TREDJO *et al.* (1996) bahwa konsentrasi kuning telur 20% di dalam pengencer Tris menghasilkan persentase motilitas spermatozoa kambing sesudah thawing yang terbaik.

Tabel 2. Karakteristik semen segar kambing Saanen

Karakteristik	Nilai rata-rata
Volume (ml)	1,03 ± 0,41
Warna	Krem
Konsistensi	Kental
Konsentrasi spermatozoa ($\times 10^6$ sel/ml)	2809,41 ± 554,48
Total sperma/ejakulat ($\times 10^6$)	2909,32 ± 1258,11
pH	7,14 ± 0,28
Gerakan massa	+++
Motilitas (%)	72,35 ± 2,57
Hidup (%)	85,62 ± 2,81
Abnormalitas (%)	7,91 ± 2,38
MPU (%)	82,52 ± 4,11
TAU (%)	82,66 ± 3,81

Tabel 3. Rataan persentase motilitas dan hidup spermatozoa sebelum dan sesudah pembekuan pada kombinasi konsentrasi kuning telur dalam pengencer Tris dengan dan tanpa plasma semen

Parameter dan tahap pengamatan	Perlakuan						Nilai P	
	Plasma semen (A1)		Tanpa plasma semen (A2)		PS	KT	INT	
	KT 10% (B1)	KT 20% (B2)	KT 10% (B1)	KT 20% (B2)				
Motilitas Spermatozoa:								
Sesudah pengenceran	69,29 ± 1,22	70,00 ± 2,50	69,64 ± 0,94	68,93 ± 1,97	NS	NS		
Sesudah ekuilibrasi	64,64 ± 3,66	64,64 ± 3,36	63,57 ± 3,49	63,21 ± 3,13	NS	NS		
Sesudah thawing	37,14 ± 3,93	45,71 ± 2,78	36,43 ± 3,78	37,86 ± 2,67	**	**	**	**
Spermatozoa Hidup:								
Sesudah pengenceran	77,45 ± 1,57	78,60 ± 2,46	78,13 ± 1,79	77,16 ± 2,12	NS	NS		
Sesudah ekuilibrasi	70,10 ± 2,33	70,90 ± 3,02	70,29 ± 3,14	70,39 ± 3,04	NS	NS		
Sesudah thawing	48,40 ± 2,90	54,63 ± 3,43	49,32 ± 2,31	48,01 ± 3,58	**	**	**	**

** Menunjukkan beda sangat nyata ($P < 0,01$)

NS = Menunjukkan tidak beda nyata

KT = Kuning telur

PS = Plasma semen

INT = Interaksi plasma semen dengan kuning telur

Terdapat interaksi antara faktor plasma semen dengan konsentrasi kuning telur di dalam pengencer Tris terhadap % M spermatozoa sesudah thawing (Tabel 3). Peningkatan konsentrasi kuning telur dari 10% menjadi 20% pada perlakuan dengan plasma semen menyebabkan terjadi peningkatan % M spermatozoa yang sangat nyata sebesar 23,07% (dari 37,14% menjadi 45,71%). Sementara itu, pada perlakuan tanpa plasma semen, peningkatan % M spermatozoa tidak nyata dan hanya sebesar 3,92% (dari 36,43% menjadi 37,86%).

Pada pengamatan daya hidup spermatozoa terlihat bahwa faktor plasma semen belum mempengaruhi secara nyata terhadap % H spermatozoa sebelum pembekuan (baik sesudah pengenceran maupun sesudah ekuilibrasi), namun sesudah thawing, % H spermatozoa sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi pada perlakuan dengan plasma semen dibandingkan dengan tanpa plasma semen (Tabel 3). Selanjutnya pada perlakuan konsentrasi kuning telur terlihat pula bahwa % H spermatozoa sebelum pembekuan (baik sesudah pengenceran maupun sesudah ekuilibrasi) tidak dipengaruhi secara nyata oleh perlakuan konsentrasi kuning telur di dalam pengencer Tris. Namun sesudah pembekuan (sesudah thawing), % H spermatozoa sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi pada perlakuan konsentrasi kuning telur 20% di dalam pengencer Tris dibandingkan dengan perlakuan kuning telur 10% di dalam pengencer Tris.

Terdapat interaksi antara faktor plasma semen dengan konsentrasi kuning telur di dalam pengencer

Tris terhadap % H spermatozoa sesudah thawing (Tabel 3), dimana peningkatan konsentrasi kuning telur di dalam pengencer Tris dari 10% menjadi 20% pada perlakuan dengan plasma semen menyebabkan terjadi peningkatan yang sangat nyata terhadap % H spermatozoa sebesar 12,87% (dari 48,40% menjadi 54,63%). Sebaliknya pada perlakuan tanpa plasma semen, justru menyebabkan terjadi penurunan % H spermatozoa sebesar 2,66% (dari 49,32% menjadi 48,01%).

Persentase MPU dan TAU Spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor plasma semen tidak mempengaruhi secara nyata ($P > 0,05$) terhadap % MPU spermatozoa sebelum pembekuan (baik sesudah pengenceran maupun sesudah ekuilibrasi). Sesudah pembekuan (sesudah thawing), % MPU spermatozoa pada perlakuan dengan plasma semen sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa plasma semen (Tabel 4).

Pada perlakuan konsentrasi kuning telur terlihat bahwa % MPU spermatozoa memberikan respon yang sama diantara kedua perlakuan sebelum pembekuan (baik sesudah pengenceran maupun sesudah ekuilibrasi). Namun sesudah pembekuan (sesudah thawing), % MPU spermatozoa pada perlakuan konsentrasi kuning telur 20% di dalam pengencer Tris nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi kuning telur 10% di dalam pengencer Tris (Tabel 4).

Tabel 4. Rataan persentase MPU dan TAU spermatozoa sebelum dan sesudah pembekuan pada kombinasi konsentrasi kuning telur dalam pengencer Tris dengan dan tanpa plasma semen

Parameter dan Tahap Pengamatan	Perlakuan				Nilai P		
	Plasma semen (A1)		Tanpa plasma semen (A2)		PS	KT	INT
	KT 10% (B1)	KT 20% (B2)	KT 10% (B1)	KT 20% (B2)			
MPU Spermatozoa :							
Sesudah pengenceran	77,13 ± 4,84	77,39 ± 3,08	77,35 ± 3,09	76,11 ± 3,37	NS	NS	
Sesudah ekuilibrasi	70,68 ± 3,84	71,95 ± 2,94	69,01 ± 3,27	69,60 ± 2,56	NS	NS	
Sesudah thawing	53,23 ± 3,51	60,03 ± 3,52	53,09 ± 2,86	51,53 ± 3,26	**	*	**
TAU Spermatozoa:							
Sesudah pengenceran	78,42 ± 3,25	79,64 ± 3,71	78,03 ± 3,59	78,81 ± 1,53	NS	NS	
Sesudah ekuilibrasi	71,00 ± 3,63	71,93 ± 2,44	69,26 ± 2,98	69,40 ± 4,22	NS	NS	
Sesudah thawing	46,67 ± 4,78	54,04 ± 4,92	54,04 ± 4,92	44,97 ± 1,54	**	*	**

** Menunjukkan beda sangat nyata ($P < 0,01$)

* Menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$)

NS = Menunjukkan tidak beda nyata

KT = Kuning telur

PS = plasma semen

INT = interaksi plasma semen dengan kuning telur

Terdapat interaksi antara faktor plasma semen dengan konsentrasi kuning telur di dalam pengencer Tris terhadap % MPU spermatozoa sesudah thawing (Tabel 4). Peningkatan konsentrasi kuning telur di dalam pengencer Tris dari 10% menjadi 20% pada perlakuan dengan plasma semen menyebabkan peningkatan % MPU spermatozoa yang sangat nyata sebesar 12,77% (dari 53,23% menjadi 60,03%). Sebaliknya pada perlakuan tanpa plasma semen malah menyebabkan penurunan % MPU spermatozoa sebesar 3,88% (dari 53,09% menjadi 51,53%).

Selanjutnya hasil pengamatan keutuhan tudung akrosom memperlihatkan bahwa faktor plasma semen tidak berpengaruh nyata terhadap % TAU spermatozoa sebelum pembekuan (Tabel 4). Namun sesudah pembekuan, % TAU spermatozoa pada perlakuan dengan plasma semen sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa plasma semen.

Pada perlakuan konsentrasi kuning telur terlihat bahwa % TAU spermatozoa sebelum pembekuan tidak berpengaruh nyata sebelum pembekuan. Sesudah pembekuan, % TAU spermatozoa pada perlakuan konsentrasi kuning telur 20% di dalam pengencer Tris nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi kuning telur 10% di dalam pengencer Tris (Tabel 4).

Terdapat interaksi antara faktor plasma semen dengan konsentrasi kuning telur di dalam pengencer Tris terhadap % TAU spermatozoa sesudah thawing (Tabel 4). Peningkatan konsentrasi kuning telur dari 10% menjadi 20% di dalam pengencer Tris dengan perlakuan plasma semen menyebabkan terjadi peningkatan % TAU spermatozoa sangat nyata sebesar 15,79% (dari 46,67% menjadi 54,04%). Sebaliknya pada perlakuan tanpa plasma semen, justru menyebabkan penurunan % TAU spermatozoa sebesar 0,54% (dari 45,21% menjadi 44,97%).

Dari keseluruhan hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa kualitas spermatozoa (motilitas, hidup, MPU dan TAU) yang tinggi sesudah thawing pada perlakuan plasma semen. Hal ini mungkin disebabkan kandungan enzim fosfolipase A dalam plasma semen sangat rendah menyebabkan enzim tidak dapat merusak lesitin yang ada dalam kuning telur, sehingga lesitin mampu bekerja melindungi spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin (*cold-shock*), yang berakibat viabilitas spermatozoa sesudah pembekuan dapat dipertahankan. Walaupun tidak dapat menganalisis secara khusus enzim fosfolipase A, dalam penelitian ini didapatkan total konsentrasi enzim fosfolipase sebesar 11 unit/mg (TAMBING, 2004). Sedangkan hasil penelitian LA FALCI *et al.* (2002) melaporkan bahwa kandungan enzim fosfolipase A plasma semen kambing Saanen sebesar 60-122 unit/mg. Dengan demikian dapat diduga bahwa konsentrasi

enzim fosfolipase A rendah di dalam plasma semen kambing Saanen yang digunakan dalam penelitian ini sehingga tidak dapat merusak lesitin yang terdapat dalam kuning telur. Adanya perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan oleh faktor musim produksi semen, dimana produksi enzim fosfolipase A lebih tinggi pada daerah beriklim sub-tropis yang umumnya memiliki musim kawin yang biasa disebut *breeding season*, seperti yang dilaporkan oleh LA FALCI *et al.* (2002). LEBOEUF *et al.* (2000) melaporkan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi produksi enzim fosfolipase A adalah pH, suhu, konsentrasi plasma semen dan musim produksi semen,

Demikian pula dengan tidak dikeluarkannya plasma semen maka komponen yang terpenting di dalam plasma semen seperti ion-ion, protein dan metabolit lainnya tetap tersedia dan aktif bekerja untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup serta melindungi membran plasma dan akrosom spermatozoa selama proses pembekuan. Sebagaimana dikemukakan MAXWELL dan JOHNSON (1999) bahwa plasma semen akan berperan meningkatkan motilitas dan viabilitas spermatozoa selama pembekuan dan thawing. Plasma semen juga mempunyai peranan dalam mengurangi kerentanan spermatozoa terhadap kejutan dingin (WEITZE dan PETZOLDT, 1992).

Kualitas semen yang rendah sesudah pembekuan pada perlakuan tanpa plasma semen, mungkin disebabkan hilangnya zat-zat makanan dan substrat lainnya yang terdapat didalamnya yang tidak dapat diganti secara keseluruhan oleh substrat yang ada pada pengencer, baik sebagai sumber energi maupun sumber krioprotektif. Salah satu substrat dari plasma semen yang mempengaruhi stabilisasi membran plasma adalah lemak. Perbandingan konsentrasi kolesterol dan fosfolipid yang rendah dalam plasma dan selama kolesterol terdistribusi secara asimetrik akan menyebabkan membran sel sangat rentan terhadap kejutan dingin. Karena plasma semen dikeluarkan, maka otomatis kandungan kolesterol dan fosfolipid menjadi tidak ada. Dengan demikian membran plasma spermatozoa akan mudah rusak oleh kejutan dingin dan berakibat akan mempengaruhi fungsi membran seperti peningkatan permeabilitas (kerusakan kation dan enzim), penurunan aktivitas enzim dan difusi dari proses membran, serta perubahan pergerakan lateral dari membran (JOHNSON *et al.*, 2000). TULI dan HOLTZ (1994) melaporkan bahwa pengeluaran plasma semen akan menyebabkan persentase motilitas dan hidup spermatozoa kambing sesudah thawing menjadi rendah dibandingkan tanpa pengeluaran plasma semen.

Tingginya kualitas semen sesudah thawing pada perlakuan konsentrasi kuning telur 20% dibandingkan 10% di dalam pengencer Tris memperlihatkan bahwa pada konsentrasi kuning telur sebesar 20% di dalam pengencer Tris lebih optimal untuk melindungi

spermatozoa dari pengaruh kejutan dingin selama proses pembekuan, sehingga viabilitas semen dapat dipertahankan. Komponen spesifik dari kuning telur yang bertanggung jawab sebagai agen krioprotektif adalah *phosphatidylcholine* (lesitin), fraksi *low density lipoprotein* (LDL), dan ekstrak lipid (VISHWANATH dan SHANNON, 2000). Pengaruh perlindungan LDL dihasilkan dari pengikatan lipoprotein pada membran spermatozoa melalui “*charged protein moiety*”, sehingga menyebabkan membran plasma tetap stabil saat melalui zona temperatur kritis, dimana bagian lipid beraksi sebagai isolasi thermal. Dengan terlindunginya membran plasma maka tudung akrosom juga akan tetap utuh selama proses pembekuan berlangsung.

Selanjutnya pengaruh interaksi antara kuning telur dengan plasma semen menunjukkan bahwa efek negatif enzim fosfolipase A tidak terbukti sehubungan dengan rendahnya konsentrasi enzim tersebut. Sebagai konsekuensi, peningkatan konsentrasi kuning telur dari 10% menjadi 20% di dalam pengencer Tris disertai dengan plasma semen mempunyai efek positif dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa selama proses pembekuan. Sebaliknya efek negatif dari peningkatan pada kuning telur dengan perlakuan tanpa plasma semen terjadi akibat kerusakan pada membran sel spermatozoa dan berakibat banyak spermatozoa yang mati. Enzim AAO yang bersumber dari membran sel yang rusak, sangat toksik terhadap pengencer semen yang mengandung kuning telur. Enzim ini akan menguraikan fenilalanin dari kuning telur menjadi hidrogen peroksida (VISHWANATH dan SHANNON, 2000). Oleh karena itu dengan peningkatan konsentrasi kuning telur dari 10% menjadi 20% di dalam pengencer Tris akan meningkatkan konsentrasi fenilalanin dan berakibat peningkatan hidrogen peroksida. Akumulasi hidrogen peroksida yang tinggi akan menyebabkan banyak spermatozoa yang mati selama proses pembekuan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan disimpulkan sebagai berikut: 1) Perlakuan plasma semen menghasilkan kualitas semen beku kambing Saanen lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa plasma semen. 2) Konsentrasi kuning telur 20% di dalam pengencer Tris menghasilkan kualitas semen beku kambing Saanen lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi kuning telur 10% di dalam pengencer Tris. 3) Terdapat interaksi antara faktor plasma semen dengan konsentrasi kuning telur, dimana kombinasi antara konsentrasi kuning telur sebesar 20% di dalam pengencer Tris dengan perlakuan plasma semen efektif mempertahankan kualitas semen beku kambing Saanen.

DAFTAR PUSTAKA

- DEKA, B.C. and A.R. RAO. 1986. Effect of egg yolk levels on quality of frozen semen buck semen. *Indian Vet. J.* 63: 909-912.
- DROBNIS, E.Z., L.M. CROWE, T. BERGER, T.J. ANCHORDOGUY, W. OVERSTREET and J.H. CROWE. 1993. Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes : A demonstration using sperm as a model. *J. Exp. Zool.* 265: 432-437.
- EVANS, G. and W.M.C. MAXWELL. 1987. *Salamon's Artificial of Sheep and Goats*. Butterworth, London.
- GALL, C. 1981. *Goat Production*. Academic Press, London.
- JOHNSON, L.A., K.F. WEITZE, P. FISER and W.M.C. MAXWELL. 2000. Storage of boar semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 143-147.
- LA FALCI, V.S.N., H. TORTORELLA, J.L. RODRIGUES and A. BRANDELLI. 2002. Seasonal variation on goat seminal plasma proteins. *Theriogenology*. 57: 1035-1048.
- LEBOEUF, B., B. RESTALL and S. SALAMON. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 113-141.
- LEBOEUF, B., E. MANFREDI, P. BOUE, A. PIACÈRE, G. BRICE, G. BARIL, C. BROQUA, P. HUMBLOT and M. TERQUI. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest. Prod. Sci.* 55: 193-203.
- MATHEW, J., C.K.S.V. RAJA and K.P. NAIR. 1984. Preservation of buck semen in Tris yolk diluent. *Indian Vet. J.* 61: 964-968.
- MAXWELL, W.M.C. and L.A. JOHNSON. 1999. Physiology of spermatozoa at high dilution rates: The influence of seminal plasma. *Theriogenology*. 52: 1353-1362.
- RITAR, A.J. and S. SALAMON. 1992. Effects of seminal plasma and its removal and egg yolk in the diluents on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of Angora goat. *Aust. Biol. Sci.* 35: 305-312.
- SITUMORANG, P. 1990. The effect of diluent on the viability of washed and unwashed goat spermatozoa. *Ilmu dan Peternakan*. 4(2): 270-273.
- STEEL, R.G.D. dan J.H. TORRIE. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- TAMBING, S.N. 2004. *Optimalisasi Pengembangan Pengencer Semen dan Teknik Inseminasi Dalam Upaya Produksi Kambing Persilangan Saanen-Peranakan Etawah (Sapera)*. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian, Bogor.
- TAMBING, S.N., M.R. TOELIHERE, T.L. YUSUF dan I-K. SUTAMA. 2001. Kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah setelah ekuilibrisasi. *Hayati*. 8: 70-75.
- TREDJO, A.G., M.J. ANAYA and G.M. HERNANDEZ. 1996. Effect of egg yolk concentration and the cooling rates on the sperm motility and acrosomal integrity of frozen caprine semen. *In: Proc. 6th International Conference on*

- Goats. Beijing, China 6-11 Mei 1996. Vol. 2. pp. 854-857.
- TULI, R.K. and W. HOLTZ. 1994. Effect of glicerolization procedure and removal seminal plasma on post-thaw survival and GOT-release from Boer goat spermatozoa. *Theriogenology*. 42: 547-555.
- VISHWANATH, R. and P. SHANNON. 2000. Storage bovine semen in liquid frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 23-53.
- WATSON, P.F. 1995. Recent development and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fertil. Dev.* 7: 871-891.
- WEITZE, K.F. and R. PETZOLDT. 1992. Preservation of semen. *Anim. Reprod. Sci.* 28: 229-236.
- WHITE, I.G. 1993. Lipid and calcium uptake of sperm in relation to cold-shock and preservation: A review. *Reprod. Fertil. Dev.* 5: 639-658.
- WURLINA. 2000. Kualitas dan kuantitas air mani kambing lokal pada berbagai umur. *Media Kedok. Hewan*. Edisi Khusus I. hlm. 12-15.