

## PENAMBAHAN BEBERAPA JENIS GULA DAPAT MENINGKATKAN KUALITAS SPERMATOZOA BEKU ASAL EPIDIDIMIS TERNAK DOMBA

### *Addition of Various Sugars in Improving Quality of Frozen Thawed Epididymal Spermatozoa of Ram*

Herdis<sup>1\*</sup>, I Wayan Angga Darmawan<sup>1</sup>, dan Muhammad Rizal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pusat Teknologi Produksi Pertanian Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, LAPTIAB Banten

<sup>2</sup>Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat, Banjar Baru

\*Corresponding author: kangherdis@yahoo.co.id

#### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah menguji pengaruh penambahan beberapa jenis gula di dalam pengencer Tris terhadap kualitas spermatozoa beku asal kauda epididimis domba. Spermatozoa yang dikoleksi dibagi ke dalam lima buah tabung reaksi dan disentrifuga dengan kecepatan 3.000 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang dan pelet diencerkan masing-masing dengan pengencer Tris (kontrol), pengencer Tris + 0,4% dekstrosa, pengencer Tris + 0,4% maltosa, pengencer Tris + 0,4% laktosa, dan pengencer Tris + 0,4% sukrosa. Rata-rata persentase spermatozoa; persentase spermatozoa hidup; dan membran plasma utuh (MPU) setelah *thawing* perlakuan dekstrosa (43,0; 53,8; dan 53,4%), maltosa (44,0; 54,8; dan 52,8%), laktosa (44,0; 52,8; dan 52,8%), dan sukrosa (44,0; 55,0; dan 53,4%) nyata ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (37,0; 44,0; dan 40,8%). Tidak terdapat perbedaan antar perlakuan terhadap rata-rata persentase spermatozoa, persentase spermatozoa hidup, dan MPU setelah tahap ekuilibrisasi. Dapat disimpulkan bahwa penambahan beberapa gula di dalam pengencer Tris efektif dapat meningkatkan kualitas spermatozoa beku asal kauda epididimis domba.

Kata kunci: domba, spermatozoa asal epididimis, sukrosa

#### ABSTRACT

The purpose of this research was to examine the effect of various sugars addition in Tris extender on quality of frozen thawed epididymal spermatozoa of ram. Collected spermatozoa was divided into five tubes and centrifuged at 3,000 rpm for 30 minutes. Supernatants were removed and pellets were diluted with Tris extender (control), Tris extender + 0.4% dextrose (dextrose), Tris extender + 0.4% maltose (maltose), Tris extender + 0.4% lactose (lactose), and Tris extender + 0.4% sucrose (sucrose), respectively. There were no significantly difference among treatment on mean percentages of motile (MS), live (LS) and intact plasma membrane (IPM) after equilibration. Mean percentages of post-thawed MS, LS, and IPM for dextrose (43.0, 53.8, and 53.4%), maltose (44.0, 54.8, and 52.8%), lactose (44.0, 52.8, and 52.8%), and sucrose (44.0, 55.0, and 53.4%) were significantly ( $P < 0.05$ ) higher than control (37.0, 44.0, and 40.8%). In conclusion, addition of 0.4% dextrose or 0.4% maltose or 0.4% lactose or 0.4% sucrose in Tris extender increased quality of frozen thawed cauda epididymal spermatozoa of ram.

Key words: ram, epididymal spermatozoa, sucrose

#### PENDAHULUAN

Epididimis merupakan bagian dari alat kelamin ternak jantan yang sangat potensial sebagai sumber materi genetik. Jaringan epididimis terutama pada bagian kauda merupakan tempat penyimpanan spermatozoa sebelum ejakulasi (Yulnawati *et al.*, 2010). Pemanfaatan spermatozoa yang dikoleksi dari kauda epididimis menjadi metode alternatif yang dapat diterapkan pada ternak atau hewan yang memiliki kualitas genetik unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya karena berbagai alasan, seperti tidak bersedia melayani vagina buatan, tidak respons terhadap elektroejakulator dan masase, pincang, atau sebab-sebab lain yang menyebabkan hewan tersebut tidak mau kawin. Metode ini juga akan sangat membantu dalam upaya menyelamatkan plasma nutfah ternak atau hewan jantan yang mati secara mendadak, serta terhadap hewan-hewan langka yang sedang ditangkarkan tetapi tidak dapat kawin secara normal karena kondisi tempat penangkaran yang tidak sesuai dengan kondisi habitat aslinya (Surachman *et al.*, 2006).

Spermatozoa yang berasal dari kauda epididimis telah memiliki kemampuan membuahi oosit (Hafez dan Hafez, 2000). Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang ada di bagian kauda telah melewati proses pematangan di bagian kepala dan korpus epididimis serta sudah memiliki kemampuan bergerak (motil) yang sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi. Proses pematangan ditandai oleh berpindahannya butiran sitoplasma (*cytoplasmic droplet*) dari bagian proksimal ke distal ekor atau hilang sama sekali dari ekor spermatozoa. Secara fisiologis, spermatozoa yang berasal dari epididimis memang memiliki sedikit perbedaan dengan spermatozoa yang berasal dari ejakulat. Oleh karena itu, upaya pemilihan bahan pengencer sebagai media penyimpanan yang tepat perlu dilakukan agar dapat mempertahankan kualitas spermatozoa epididimis setelah *thawing* (Rizal *et al.*, 2007).

Beberapa penelitian pada beberapa spesies dalam upaya penyelamatan material genetik dari epididimis sudah banyak dilakukan dan hasilnya cukup signifikan, di antaranya pada monyet (Tollner *et al.*, 1990; Sankai *et al.*, 1994; Feradis *et al.*, 2001), domba (Graham,

1994; Rizal, 2006), sapi (Graham, 1994), kerbau belang (Yulnawati *et al.*, 2010), kerbau Afrika (Herold *et al.*, 2004; Herold *et al.*, 2006), kucing (Tsutsui *et al.*, 2003; Yulnawati dan Setiadi, 2005), kuda (Squires *et al.*, 2000), llama dan alpaca (Bravo *et al.*, 2000), rusa (Garde *et al.*, 2000; Soler *et al.*, 2003) dan anjing (Hori *et al.*, 2004). Namun demikian, pemanfaatan spermatozoa asal epididimis tersebut dalam penerapan teknologi reproduksi seperti inseminasi buatan (IB) dan fertilisasi *in vitro* (FIV) belum banyak dilaporkan. Dilaporkan bahwa, angka kebuntingan llama dan alpaca sebesar 37,5% (Bravo *et al.*, 2000) dan 44,44% pada domba garut (Rizal, 2006) yang diinseminasi dengan spermatozoa beku asal kauda epididimis.

Dalam proses pembekuan (kriopreservasi) semen, akibat perlakuan suhu yang sangat rendah (-196° C) akan terbentuk kristal-kristal es dan perubahan konsentrasi elektrolit yang akan menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel (Holt, 2000). Untuk mengurangi efek yang tidak menguntungkan bagi spermatozoa ini, di dalam pengencer harus ditambahkan senyawa krioprotektan. Jenis krioprotektan yang baik dan sudah lazim digunakan dalam proses kriopreservasi semen adalah gliserol. Selain gliserol sebagai krioprotektan intraseluler, dikenal pula berbagai macam gula baik monosakarida, disakarida, dan polisakarida yang dapat berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler (Holt, 2000). Perpaduan antara kedua jenis krioprotektan ini diharapkan dapat memberikan perlindungan yang optimal terhadap spermatozoa selama proses kriopreservasi semen.

Beberapa laporan hasil penelitian membuktikan bahwa penambahan berbagai jenis gula di dalam pengencer semen dapat memperbaiki kualitas hasil ejakulasi. Penambahan sukrosa (Yulnawati dan Herdis, 2009), maltosa (Herdis, 2012), trehalosa dan *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) (Aisen *et al.*, 2000, 2002) serta laktosa (Rizal *et al.*, 2003) dalam pengencer semen dapat meningkatkan kualitas semen yang diproses. Namun demikian, masih sangat sedikit laporan yang mengkaji tentang upaya memperbaiki kualitas spermatozoa asal epididimis yang dikriopreservasi dengan pengencer Tris dan disuplementasi berbagai zat aditif, seperti gula. Oleh karena itu, diperlukan suatu penelitian mengenai penambahan berbagai jenis gula yakni dekstrosa,

maltosa, laktosa, dan sukrosa di dalam pengencer Tris dengan tujuan meningkatkan kualitas spermatozoa beku asal kauda epididimis domba.

**MATERI DAN METODE**

Spermatozoa dikoleksi dengan cara membuat sayatan-sayatan pada kauda epididimis menggunakan gunting steril kemudian dibilas dengan 5 ml larutan pengencer Tris tanpa gliserol (Rizal, 2004). Spermatozoa hasil koleksi dibagi ke dalam empat buah tabung reaksi dengan volume yang sama kemudian disentrifuga dengan kecepatan 3.000 rpm selama 30 menit. Supernatan dibuang dan pelet (spermatozoa) pada tabung pertama diencerkan dengan pengencer Tris (kontrol). Pelet pada tabung kedua diencerkan dengan pengencer Tris + 0,4% dekstrosa. Pelet pada tabung ketiga diencerkan dengan pengencer Tris + 0,4% maltosa. Pelet tabung keempat diencerkan dengan pengencer Tris + 0,4% laktosa. Pelet pada tabung kelima diencerkan dengan pengencer Tris + 0,4% sukrosa (Tabel 1). Spermatozoa diencerkan hingga mencapai konsentrasi 100 juta spermatozoa motil per 0,25 ml. Jumlah pengencer yang digunakan ditentukan berdasarkan persamaan yang dikemukakan oleh Toelihere (1993) sebagai berikut:

$$\text{Jumlah pengencer (ml)} = \left( \frac{\text{volume semen} \times \text{motilitas} \times \text{konsentrasi}}{100 \times 10^6} \times 0,25 \right) - \text{volume semen}$$

Spermatozoa yang telah diencerkan dikemas di dalam *straw* mini (0,25 ml) kemudian diekuilibrasi di dalam lemari es pada suhu 5° C selama tiga jam. Setelah ekuilibrasi, spermatozoa dibekukan dengan cara meletakkan *straw* di atas permukaan nitrogen cair setinggi 10 cm (suhu sekitar -130° C) selama 15 menit, selanjutnya *straw* dimasukkan ke konteiner nitrogen cair (suhu sekitar -196° C).

Setelah disimpan selama tujuh hari, *straw* masing-masing perlakuan dilakukan *thawing* dengan cara memasukkan ke air bersuhu 37° C (di dalam penangas air) selama 30 menit untuk dievaluasi kualitas spermatozoanya. Kualitas spermatozoa segar yang dievaluasi meliputi konsentrasi spermatozoa, persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, spermatozoa abnormal, spermatozoa yang memiliki butiran sitoplasma, dan membran plasma utuh (MPU).

**Tabel 1.** Komposisi pengencer perlakuan

Bahan	Perlakuan				
	Kontrol	Dekstrosa	Maltosa	Laktosa	Sukrosa
Tris (hidroksimetil) aminometan (g)	3,32	3,32	3,32	3,32	3,32
Asam sitrat-monohidrat (g)	1,86	1,86	1,86	1,86	1,86
D (-) Fruktosa (g)	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37
Dekstrosa (g)	-	0,4	-	-	-
Maltosa (g)	-	-	0,4	-	-
Laktosa (g)	-	-	-	0,4	-
Sukrosa (g)	-	-	-	-	0,4
Penisilin-G (µg/ml)	1000	1000	1000	1000	1000
Streptomisin (µg/ml)	1000	1000	1000	1000	1000
Gliserol (ml, v/v)	5	5	5	5	5
Kuning telur ayam ras (ml, v/v)	20	20	20	20	20
Akuabidestilata, <i>ad</i> (ml)	100	100	100	100	100

Peubah kualitas spermatozoa setelah perlakuan meliputi persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, dan MPU dievaluasi kembali masing-masing setelah tahap ekuilibrisasi dan *thawing*.

Persentase spermatozoa motil adalah persentase spermatozoa yang bergerak progresif (bergerak ke depan), ditentukan secara subyektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x (Toelihere, 1993). Angka yang diberikan berkisar antara 0-100% dengan skala 5%. Persentase spermatozoa hidup adalah persentase spermatozoa yang hidup, ditentukan dengan pewarnaan 2% eosin B (Toelihere, 1993). Spermatozoa yang hidup ditandai oleh kepala berwarna putih, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala berwarna merah. Sebanyak minimum 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Persentase MPU adalah persentase spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh, ditentukan dengan metode *osmotic resistance test* (ORT) atau *hypoosmotic swelling* (HOS) *test* (Revell dan Mrode, 1994). Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor yang melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor yang lurus apabila semen dipaparkan di dalam larutan hipoosmotik dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 45 menit. Sebanyak minimum 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x.

**Analisis Data**

Data dianalisis dengan analisis ragam dalam bentuk rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan. Perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Karakteristik Spermatozoa Segar Asal Kauda Epididimis Domba**

Dari hasil penelitian diperoleh konsentrasi spermatozoa rata-rata 10.637,5 juta sel/ml (10.120-11.000 juta sel/ml) (Tabel 2). Hasil yang diperoleh kurang lebih sama dengan yang dilaporkan Surachman *et al.* (2006) bahwa konsentrasi spermatozoa asal kauda epididimis domba rata-rata 11.660 juta/ml. Hasil yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Rizal (2004) yang melaporkan konsentrasi spermatozoa asal kauda epididimis domba rata-rata 13.993,33 juta sel/ml (13.530-14.520 juta sel/ml).

**Tabel 2.** Karakteristik spermatozoa segar asal kauda epididimis domba

Peubah kualitas spermatozoa	Rata-rata
Konsentrasi spermatozoa (juta sel/ml)	10.637,50±349,02
Spermatozoa motil (%)	70,00±0,00
Spermatozoa hidup (%)	81,20±1,72
Spermatozoa abnormal (%)	11,80±1,33
Spermatozoa dengan butiran sitoplasma (%)	10,80±1,33
Spermatozoa dengan membran plasma utuh (%)	80,20±1,94

Persentase spermatozoa motil dan spermatozoa hidup yang diperoleh masing-masing rata-rata 70 dan 81,2% (79-84%) (Tabel 2). Persentase spermatozoa motil dan spermatozoa hidup kauda epididimis domba garut rata-rata 70,83 dan 82,83% (Rizal *et al.*, 2004) serta masing-masing rata-rata 65 dan 81% pada domba (Herdis *et al.*, 2006). Hasil beberapa penelitian juga dilaporkan bahwa persentase spermatozoa motil asal kauda epididimis setelah diencerkan sebesar 50-80% pada domba (Senger, 1999), 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), dan rata-rata 57,6% pada rusa merah (Soler *et al.*, 2003).

Persentase spermatozoa abnormal, butiran sitoplasma, dan MPU yang diperoleh pada penelitian ini masing-masing rata-rata 11,8% (10-14%), 10,8% (9-13%), dan 80,2% (77-83%) (Tabel 2). Hasil yang diperoleh kurang lebih sama dengan pada domba garut bahwa rata-rata persentase spermatozoa abnormal; butiran sitoplasma; dan MPU spermatozoa asal kauda masing-masing adalah 10,83; 8,5; dan 81,33% (Rizal *et al.*, 2004) serta masing-masing 7,6%, 10,2%, dan 82,2% pada domba domba (Herdis *et al.*, 2006). Persentase MPU yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan pada spermatozoa rusa merah, yakni lebih dari 90% (Soler *et al.*, 2003), tetapi lebih tinggi dibandingkan dengan pada spermatozoa asal kauda epididimis monyet ekor panjang dengan rata-rata 63,5% (Feradis *et al.*, 2001).

**Pengaruh Perlakuan terhadap Kualitas Spermatozoa Asal Kauda Epididimis Domba**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan gula berupa 0,4% dekstrosa; 0,4% maltosa; 0,4% laktosa; 0,4% sukrosa; dan 0,4% rafinosa di dalam pengencer Tris mampu meningkatkan kualitas spermatozoa beku asal kauda epididimis domba. Hasil

**Tabel 3.** Pengaruh penambahan beberapa jenis gula terhadap rata-rata persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, dan MPU spermatozoa asal kauda epididimis domba

Peubah	Tahap pengolahan	Perlakuan				
		Kontrol	Dekstrosa	Maltosa	Laktosa	Sukrosa
Spermatozoa motil (%)	Ekuilibrisasi	59,00±2,00 <sup>a</sup>	58,00±2,45 <sup>a</sup>	59,00±2,00 <sup>a</sup>	59,00±2,00 <sup>a</sup>	58,00±2,45 <sup>a</sup>
	<i>Thawing</i>	37,00±2,45 <sup>a</sup>	43,00±2,45 <sup>b</sup>	44,00 ±2,00 <sup>b</sup>	44,00±2,00 <sup>b</sup>	44,00±2,00 <sup>b</sup>
Spermatozoa hidup (%)	Ekuilibrisasi	74,20±1,17 <sup>a</sup>	76,00±0,89 <sup>a</sup>	74,80±1,33 <sup>a</sup>	73,80±0,75 <sup>a</sup>	76,60±1,02 <sup>a</sup>
	<i>Thawing</i>	44,00±2,97 <sup>a</sup>	53,80±2,31 <sup>b</sup>	54,80±2,78 <sup>b</sup>	52,80±2,13 <sup>b</sup>	55,00±0,89 <sup>b</sup>
MPU (%)	Ekuilibrisasi	70,60±1,02 <sup>a</sup>	71,00±1,67 <sup>a</sup>	71,20±1,94 <sup>a</sup>	71,20±1,60 <sup>a</sup>	71,60±1,62 <sup>a</sup>
	<i>Thawing</i>	40,80±3,54 <sup>a</sup>	53,40±1,85 <sup>b</sup>	52,80±1,17 <sup>b</sup>	52,80±2,04 <sup>b</sup>	53,40±1,36 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup>Superskrip dalam baris yang sama, menunjukkan berbeda nyata (P<0,05); MPU= Membran plasma utuh

penelitian menunjukkan bahwa pada tahap setelah pengenceran dan ekuilibrisasi penambahan gula memperlihatkan pengaruh yang tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, tudung akrosom utuh (TAU), dan MPU. Namun pada tahap setelah *thawing*, rata-rata persentase spermatozoa motil; spermatozoa hidup; dan MPU perlakuan dekstrosa (43,0; 53,8; dan 53,4%), maltosa (44,0; 54,8; dan 52,8%), laktosa (44,0; 55,0; dan 52,8%), dan sukrosa (44,0; 55,0; dan 53,4%) lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan kontrol (37,0; 44,0; dan 40,8%) (Tabel 3).

Hasil penelitian yang menunjukkan adanya perbaikan kualitas spermatozoa beku dengan penambahan berbagai jenis gula di dalam pengencer menjadi indikator bahwa gula-gula tersebut efektif melindungi spermatozoa dari kerusakan selama proses kriopreservasi. Dalam hal ini, gula yang ditambahkan berfungsi sebagai substrat sumber energi dan sekaligus sebagai krioprotektan ekstraseluler. Sebagai substrat sumber energi, gula tersebut akan dimetabolisme melalui jalur glikolisis atau dilanjutkan dengan reaksi asam trikarboksilat (siklus Krebs), sehingga dihasilkan energi berupa *adenosine triphosphate* (ATP) yang akan dimanfaatkan oleh spermatozoa dalam pergerakannya (motilitas). Sebagai krioprotektan ekstraseluler, gula akan melindungi membran plasma sel dan sel spermatozoa secara keseluruhan dari kerusakan secara mekanik yang terjadi saat proses kriopreservasi. Perbaikan terhadap membran plasma sel ditandai oleh lebih tingginya nilai persentase MPU spermatozoa beku perlakuan penambahan gula dibandingkan dengan perlakuan kontrol (Tabel 3). Menurut Salamon dan Maxwell (2000), gula dalam keadaan beku berbentuk seperti kaca (*glass*) yang tidak tajam, sehingga tidak merusak sel spermatozoa secara mekanik.

Keberadaan gula di dalam pengencer sangat berarti bagi spermatozoa asal epididimis dalam upaya mempertahankan kualitasnya selama proses kriopreservasi. Spermatozoa yang dikoleksi dari epididimis diduga lebih rentan terhadap pengaruh buruk proses pembekuan, karena spermatozoa tersebut tidak terpapar di dalam plasma semen yang diproduksi oleh kelenjar asesoris. Hal ini disebabkan oleh plasma semen mengandung berbagai macam makromolekul seperti lipoprotein yang berfungsi melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan selama proses pengolahan semen (Johnson dan Everitt, 1995; Nolan dan Hammerstedt, 1997), sehingga diperlukan senyawa khusus di dalam pengencer untuk meminimalkan kerusakan selama pembekuan dan *thawing*.

Perbaikan terhadap membran plasma sel akan memberikan pengaruh positif terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Hal ini karena motilitas spermatozoa bergantung pada suplai ATP hasil metabolisme sebagai energi untuk melakukan pergerakan. Metabolisme akan berlangsung dengan baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan utuh. Menurut Lehninger (1994) membran plasma sel berfungsi mengatur lalu lintas masuk dan keluar dari

sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme.

Gula dapat menjadikan membran plasma sel spermatozoa lebih stabil selama proses kriopreservasi. Gula juga memegang peranan penting dalam menurunkan kandungan garam larutan pengencer, sehingga dapat mengurangi efek solusi (*solution effect*) (Supriatna dan Pasaribu, 1992). Ini menyebabkan gula dapat mencegah kerusakan terhadap sel akibat meningkatnya kadar garam selama proses pembekuan (Nicollajsen dan Hvidt, 1994).

Viswanath dan Shannon (2000), Aisen *et al.* (2002) mengungkapkan bahwa efek krioprotektif gula dihasilkan dari terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus hidroksil gula dan bagian kepala polar fosfolipid membran plasma sel spermatozoa, sehingga gula menggantikan posisi molekul air selama proses dehidrasi berlangsung saat pembekuan. Dengan demikian, gula dapat mengatur fluiditas membran plasma sel spermatozoa. Menurut Giraud *et al.* (2000) motilitas dan daya hidup spermatozoa setelah *thawing* dapat ditingkatkan jika fluiditas membran plasma sel tinggi sebelum pembekuan.

Hasil yang diperoleh hampir sama dengan yang dilaporkan Rizal dan Herdis (2005) yang mendapatkan persentase spermatozoa motil setelah *thawing* sebesar 45% pada spermatozoa asal kauda epididimis domba garut yang dikriopreservasi dengan pengencer Tris ditambahkan glutathione. Akan tetapi, hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Graham (1994) yang memperoleh persentase motil setelah *thawing* sebesar 14-27% pada spermatozoa asal kauda epididimis domba suffolk dan dorset.

Persentase spermatozoa motil setelah *thawing* perlakuan penambahan dekstrosa, maltosa, laktosa, atau sukrosa antara 43-44%, sedangkan perlakuan kontrol hanya 37%. Hal ini menjadikan spermatozoa yang dikriopreservasi dengan penambahan beberapa jenis gula di dalam pengencer Tris tersebut memenuhi syarat untuk dimanfaatkan dalam program IB, sedangkan kontrol (tanpa penambahan gula) tidak memenuhi syarat. Menurut Toelihere (1993) semen yang memenuhi syarat digunakan dalam program IB harus memiliki persentase spermatozoa motil paling sedikit 40%.

## KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa penambahan beberapa gula di dalam pengencer Tris efektif dapat meningkatkan kualitas spermatozoa beku asal kauda epididimis domba.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aisen, E.G., H.L. Alvarez, A. Venturino, and J.J. Garde. 2000. Effect of trehalose and EDTA on cryoprotective action of ram semen diluents. *Theriogenology*. 53:1053-1061.
- Aisen, E.G., V.H. Medina, and A. Venturino. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram frozen semen in different trehalose concentrations. *Theriogenology*. 57:1801-1808.

- Bravo, P.W., V. Alarcon, and R.H. Bondurant. 2000. Epididymal spermatozoa characteristics and its use on artificial insemination of llamas and alpacas. In **Proceedings of 14<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction**. Stockholm. 2(15):18 (Abstracts).
- 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*). **J. Med. Primatol.** 30:100-106.
- Garde, J., E. Anel, A. Garcia-Diaz, J.C. Boixo, A. Soler, P. De Paz, A. Lopez-Saer, C. Guerra, and L. Anel. 2000. Evaluation of two glycerol concentrations in freezing of electroejaculated and epididymal spermatozoa from Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). In **Proceedings 14<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction**. Stockholm:142.
- Giraud, M.N., C. Motte, D. Boucher, and G. Grizard. 2000. Membrane fluidity predicts the outcome of cryopreservation of human spermatozoa. **Hum. Reprod.** 15:2160-2164.
- Graham, J.K. 1994. Effect of seminal plasma on the motility of epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during cryopreservation process. **Theriogenology.** 41:1151-1162.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. **Reproduction in Farm Animals**. 7<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
- Herdis, M. Surachman, dan M. Rizal. 2006. Pengaruh penambahan plasma semen terhadap kualitas spermatozoa epididimis domba yang telah dibekukan. **Media Kedokteran Hewan.** 22:42-46.
- Herdis. 2012. Pengaruh maltosa sebagai krioprotektan ekstraseluler dalam meningkatkan kualitas semen beku guna mendukung keberhasilan teknologi inseminasi buatan. **J. Sain dan Teknologi Indonesia.** 14(3):197-202.
- Herold, F.C., J.E. Aurich, and D. Gerber. 2004. Epididymal sperm from the African buffalo (*Syncerus caffer*) can be frozen successfully with Andromed<sup>®</sup> and Triladyl<sup>™</sup> but the addition of bovine seminal plasma is detrimental. **Theriogenology.** 61:715-724.
- Herold, F.C., K. de Haas, B. Colenbrander, and D. Gerber. 2006. Comparison of equilibration times when freezing epididymal sperm from African buffalo (*Syncerus caffer*) using Triladyl<sup>™</sup> or AndroMed<sup>®</sup>. **Theriogenology.** 66:1123-1130.
- Holt, W.V. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. **Anim. Reprod. Sci.** 62:3-22.
- Hori, T., M. Ichikawa, E. Kawakami, and T. Tsutsui. 2004. Artificial insemination with frozen epididymal sperm beagle dogs. **J. Vet. Med. Sci.** 66:37-41.
- Johnson, M.H. and B.J. Everitt. 1995. **Essential Reproduction**. 4<sup>th</sup> ed. Blackwell Science, Oxford.
- Lehninger, A.L. 1994. **Dasar-dasar Biokimia**. (Diterjemahkan Thenawijaya, M.). Jilid 2. Erlangga, Jakarta.
- 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.
- Nicollajsen, H. and A. Hvidt. 1994. Phase behaviour of the system trehalose-NaCl-water. **Cryobiology.** 31:199-205.
- Nolan, J.P. and R.H. Hammerstedt. 1997. Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. **Faseb J.** 11:670-682.
- Revell, S.G. and R.A. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. **Anim. Reprod. Sci.** 36:77-86.
- Rizal, M. 2004. Penyimpanan epididimis domba pada suhu 5° C selama tiga hari: Pengaruhnya terhadap kualitas spermatozoa yang telah dibekukan. **Media Kedokteran Hewan.** 20:57-61.
- Rizal, M. 2006. Fertilitas semen beku hasil ejakulasi dan spermatozoa beku asal *cauda* epididimis domba garut. **J. Sain Veteriner.** 24:49-57.
- Rizal, M. dan Herdis. 2005. Daya hidup spermatozoa epididimis domba garut yang dikriopreservasi menggunakan modifikasi pengencer Tris. **Hayati.** 12:61-66.
- Rizal, M., Herdis, Yulnawati, dan H. Maheshwari. 2007. Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang di kriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. **J. Vet.** 8(4):188-193.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara, dan P. Situmorang. 2003. Kriopreservasi semen domba garut dalam pengencer Tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. **Media Kedokteran Hewan.** 19:79-83.
- 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. **J. Vet.** 5:95-103.
- Salamon, S. and W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. **Anim. Reprod. Sci.** 62:77-111.
- Sankai, T., K. Terao, R. Yanagimachi, F. Cho, and Y. Yoshikawa. 1994. Cryopreservation of epididymal spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). **J. Reprod. Fertil.** 101:273-278.
- Senger, P.L. 1999. The organization and function of the male reproductive system. In **Pathways to Pregnancy and Parturition**. Current Conceptions, Inc., Pullman.
- Soler, A.J., M.D. Perez-Guzman, and J.J. Garde. 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, E.L., C. Gomez-Cuetara, and J.K. Graham. 2000. Effect of seminal plasma on cryopreserving epididymal and ejaculated stallion spermatozoa. In **Proceedings of 14<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction**. Stockholm:2:166. (Abstract).
- Supriatna, I dan F.H. Pasaribu. 1992. **In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio dan Pembekuan Embrio**. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Surachman, M. Herdis, M.A. Setiadi, dan M. Rizal. 2006. Kriopreservasi spermatozoa epididimis domba menggunakan pengencer berbasis lesitin. **J. Pengembangan Peternakan Tropis.** 31(2):83-89.
- Toelihere, M.R. 1993. **Inseminasi Buatan pada Ternak**. Angkasa, Bandung.
- Tollner, T.L., C.A. van de Voort, J.W. Overstreet, and E.Z. Drobnis. 1990. Cryopreservation of epididymal spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). **J. Reprod. Fertil.** 90:347-352.
- Tsutsui, T., M. Wada, M. Anzai and T. Hori. 2003. Artificial insemination with frozen epididymal sperm in cats. **J. Vet. Med. Sci.** 65:397-399.
- Viswanath, R. and P. Shannon. 2000. Storage of bovine semen in liquid frozen state. **Anim. Reprod. Sci.** 62:23-53.
- Yulnawati dan Herdis. 2009. Kualitas semen cair domba garut pada penambahan sukrosa dalam pengencer tris kuning telur. **JITV.** 14(1):45-49.
- Yulnawati dan M.A. Setiadi. 2005. Motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kucing selama penyimpanan pada suhu 4° C. **J. Med. Vet.** 21:100-104.
- Yulnawati, H. Maheshwari, M. Rizal, dan Herdis. 2010. Maltosa mempertahankan viabilitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang disimpan dalam bentuk cair. **J. Vet.** 11(2):126-132.