

Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Friesian Holstein menggunakan Pengencer dari Berbagai Balai Inseminasi Buatan di Indonesia

(Comparative Study on the Quality of Friesian Holstein Frozen Semen Treated with Extender from Various Artificial Insemination Centre in Indonesia)

Iis Arifiantini, T.L. Yusuf dan Yanti D.

Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

Abstract

The aim of this research was to compare the quality of Friesian Holstein (FH) frozen semen bull using extender from various artificial center in Indonesia. Fifteen ejaculates from 3 FH bulls were collected using artificial vagina twice a week. Collected semen then evaluated macro and microscopically. Good quality semen diluted using 4 different extenders which was extender from artificial insemination center I (BIB I); II (BIB II); commercial extender Andromed[®] (Minitab, Germany) based on Soya lecithin (KK) and tris egg yolk extender (TF), original receipt from Faculty of Veterinary Medicine, IPB. Extended semen then packed into minitub straws 0.3 ml with the concentration of 25 million sperm each. The straw then equilibrated at 4 °C for 4 hours, freeze in the liquid nitrogen vapor for 10 minutes and the stored in liquid nitrogen container -196°C. After 24 hours, semen then thawed at 37°C for 30 second. Percentage of sperm motility, live and morphology were observed on raw, diluted post equilibrated and post thaw semen respectively. The data were analyzed using statistical analysis system (SAS) 6.12 version. Result showed that diluted and after equilibrated semen diluted with BIB II extender was significantly lower ($P<0.01$) on the percentage of sperm motility than other extender. The highest percentage was KK extender (57.90%), BIB I (52.09%), TF (46.36%), and BIB II (26.09%). The influence of different extender on the percentage of live sperm was significantly different ($P<0.05$) after equilibration. BIB II showed the lowest percentage compare with other extender. After semen were thawed, percentage of live sperm shows highly significant different among extender ($P<0.01$). The highest percentage of live sperm was KK (72.76%), BIB I (69.77%), TF (64.05%), and BIB II (51.28%) respectively. The highest percentage of sperm abnormality was on KK extender (6.98%) and the lowest was on TF extender (4.78%). Based on the material of frozen semen calculation per straw, the most expensive straw was BIB I (Rp 1158.17); followed by KK (Rp 715.00); TF (Rp 671.35) and BIB II (Rp 653.52). In conclusion, this result indicate that KK extender has a good post thawed sperm quality with the moderate price.

Key Words: Artificial Insemination, Thawing, Lecithin, Extender

Pendahuluan

Indonesia memiliki dua Balai Inseminasi Butan (BIB) Nasional yang terdapat di Lembang (Jawa Barat) dan Singosari (Jawa Timur). Dengan adanya UU no 22 th 1999 mengenai otonomi daerah yang memberikan kewenangan dalam mengatur dan memajukan daerahnya sendiri tanpa ada campur tangan pemerintah pusat, maka daerah terpacu dalam mendirikan balai inseminasi buatan skala lokal yang dikenal dengan nama BIBD,

seperti di Lampung, Palembang, Padang, Medan, Bali, Jawa tengah, Kalimantan Selatan dan Blora (Arifiantini, 2004).

Dengan banyaknya balai IB daerah, maka pergeseran fungsi BIB nasional, selain tetap memproduksi semen beku untuk beberapa daerah yang belum memiliki BIBD, juga sebagai pusat pelatihan bagi karyawan yang dikirim dari daerah yang baru mendirikan BIBD. Sebagai daerah yang baru mendirikan BIBD dirasa perlu untuk mencari informasi sebanyak-banyaknya tentang jenis pengencer

dan teknik yang paling baik untuk memproduksi semen beku. Selain mengirimkan karyawan ke pusat pelatihan, BIBD juga sering mengundang pakar dari perguruan tinggi (di antaranya dari FKH-IPB) atau lembaga penelitian terkait, yang umumnya mengembangkan resep pengencer dan teknik pembekuan semen tersendiri. Hal ini menjadi permasalahan baru bagi BIBD untuk menentukan pengencer yang paling baik untuk digunakan mengingat saat ini banyak pengencer paten yang beredar di antaranya Biociphos® (IMV Perancis) dan AndroMed® (Minitub, Jerman).

Untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan maupun pada saat thawing (Aboagla dan Terada, 2004a). Pengencer semen beku harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, anti biotik dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa pada saat pendinginan, pembekuan dan *thawing*. Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisir oleh spermatozoa (Toelihere, 1993). *Buffer* berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga berfungsi menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme, sehingga *buffer* diharapkan mempunyai kemampuan sebagai penyangga yang baik dengan toksisitas yang rendah dalam konsentrasi yang tinggi (Steinbach dan Foote, 1967).

Anti *cold shock*, perlu ditambahkan dalam bahan pengencer agar dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibrase (5°C). Anti *cold shock* yang umum ditambahkan adalah kuning telur atau

kacang kedelai (Aboagla dan Terada, 2004b), yang dapat melindungi membran spermatozoa sapi pada saat pendinginan dan pembekuan. Khasiat utama kuning telur atau kacang kedelai adalah kandungan lesitin (phosphatidil cholin) yang dapat bersifat membran *couthing* untuk tetap mempertahankan konfigurasi normal phospholipid bilayer yang merupakan susunan utama membran sel spermatozoa.

Krioprotektan perlu ditambahkan dalam pengolahan semen beku untuk meminimalisasi kerusakan akibat pembekuan, seperti pembentukan kristal es intra dan ekstra seluler. Krioprotektan yang umum digunakan pada pembekuan semen mamalia adalah gliserol (Park dan Graham, 1992). Selain itu karbohidrat bermolekul besar seperti raffinosa, trehalosa dan sukrosa juga dapat digunakan sebagai krioprotektan ekstra seluler.

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan kualitas semen beku sapi Friesian Holstein (FH) serta nilai ekonomi, menggunakan bahan pengencer semen yang dipakai oleh BIB di Indonesia.

Metode Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR) Fakultas Kedokteran Hewan, IPB Bogor mulai bulan Pebruari hingga Agustus 2004. Penelitian menggunakan 15 ejakulat dari tiga ekor sapi jantan jenis Friesian Holstein (FH) berumur antara 3-8 tahun dengan kondisi tubuh yang sehat. Pakan diberikan berupa rumput 10% dan konsentrat 1% dari bobot badan, air minum diberikan secara *ad libitum*. Bahan pengencer semen dibuat sesuai dengan komposisi (Tabel 1), pada hari penampungan kecuali untuk pengencer BIB I, dibuat tiga hari sebelumnya.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer semen beku yang digunakan

Bahan / Komposisi	BIB I	BIB II	KK	TF
Tris (hidroxymethyl aminomethan),g ¹⁾	1,6	-	-	3,87
Asam Sitrat, g ¹⁾	0,9	-	-	2,17
Laktosa, g ¹⁾	1,4	-	-	-
Raffinosa, g ²⁾	2,5	-	-	-
Fruktosa, g ¹⁾	-	-	-	1,56
Glukosa, g ¹⁾	-	0,5	-	-
Susu Skim, g ³⁾	-	10	-	-
Kuning Telur, ml ⁴⁾	20	5	-	20
Penicillin, IU ⁵⁾	100.000	100.000	-	100.000
Streptomycin, mg ⁵⁾	100	100	-	100
Gliserol, ml ¹⁾	6	10	-	6,4
AndroMed® ⁶⁾	-	-	20	-
Aquabidest, ml <i>ad</i>	100	100	100	100

¹⁾Merck; ²⁾BDH; ³⁾Carnation ®; ⁴⁾telur ayam ras; ⁵⁾Meiji; ⁶⁾Minitub Jerman
 KK : Bahan pengencer sumber lesitin dari kacang kedelai (digunakan di BIBD Bali)
 F : Pengencer tris fruktosa resep dari FKH-IPB (digunakan di salah satu BIBD di Sumatra)

Pembuatan Pengencer BIB I

Untuk pengencer BIB I, terlebih dahulu dibuat larutan dasar (*stock solution*) yang terdiri dari tris, asam sitrat, laktosa, raffinosa dan aquabidest sesuai Tabel 1. Selanjutnya dicampur dengan kuning telur, gliserol dan dihomogenkan. Pengencer yang telah dibuat dimasukan ke dalam gelas ukur dan ditutup dengan aluminium foil kemudian disimpan dalam lemari es. Setelah tiga hari penyimpanan diambil supernatannya menggunakan pipet, dipindahkan ke dalam tabung pengencer dan diberi antibiotik.

Pembuatan Pengencer BIB II

Pengencer BIB II dibuat sebelum melakukan penampungan semen. Cara pembuatan pengencer ini dengan mencampurkan susu skim dan glukosa kemudian dilarutkan dengan Aquabidest (Tabel 1), dipanaskan hingga suhu 92°C, suhu ini harus dipertahankan selama 10 menit untuk menginaktifkan laktenin, yang bersifat toksik untuk spermatozoa. Selanjutnya susu didinginkan menggunakan air mengalir. Susu

yang telah dingin dipindahkan ke dalam tabung pengencer ditambah kuning telur, gliserol, antibiotik kemudian dihomogenkan.

Pembuatan Pengencer Kacang Kedelai

Pengencer yang mengandung kacang kedelai dibuat sebelum melakukan penampungan. Cara pembuatan pengencer ini dengan mencampurkan *stock* pengencer paten yang mengandung lesitin kacang kedelai dengan aquabidest dengan perbandingan 2 berbanding 8 lalu dihomogenkan.

Pembuatan Pengencer FKH IPB

Pengencer FKH IPB dibuat sebelum melakukan penampungan. Cara pembuatan pengencer ini dengan mencampurkan larutan dasar yang terdiri dari Tris (hydroxymethyl) aminomethane, asam sitrat, fruktosa dan aquabidest dengan kuning telur, gliserol dan antibiotik kemudian dihomogenkan.

Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan menggunakan vagina buatan, dua kali

seminggu pada pagi hari, sebanyak satu ejakulat. Sebagai stimulasi seksual digunakan sapi betina pemancing.

Evaluasi Semen

Evaluasi semen dilakukan secara makroskopis meliputi warna, volume, pH, konsistensi dan secara mikroskopis yaitu gerakan massa, konsentrasi spermatozoa per ml, persentase sperma motil, sperma hidup dan abnormal. Gerakan massa dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes semen menggunakan pipet pasteur di atas gelas objek, lalu diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x. Penilaian untuk gerakan massa sangat baik (+++), baik (++), cukup (+) dan buruk (-). Untuk melihat persentase sperma motil dilakukan dengan menambahkan NaCl fisiologis, diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 x dan dinilai secara subyektif dari 5 lapang pandang skala 0-5%, penilaian dimulai dari 0% tidak bergerak sampai 100% bergerak seluruhnya.

Pengamatan konsentrasi dilakukan menggunakan kamar hitung *neubauer* dengan bahan pengencer eosin 0,2%. Untuk melihat persentase sperma hidup serta morfologi, dilakukan dengan membuat preparat ulas differensial, menggunakan pewarna eosin nigrosin. Pengamatan dilakukan untuk persentase sperma hidup terlebih dahulu, selanjutnya dilihat morfologi (sperma abnormal) sebanyak 200 sel.

Pengenceran Semen

Setelah evaluasi selesai dilakukan, semen dilarutkan dengan pengencer sesuai perlakuan dengan metode satu tahap dengan perhitungan sebagai berikut :

$$VT = \frac{V \times K \times M}{25 \times 10^6} \times 0,3 \text{ ml}$$

VT : volume total pengenceran

V : volume semen yang digunakan

K : konsentrasi spermatozoa (juta ml⁻¹)

M : sperma motil (%)

0,3 ml : volume straw minitub

25,10⁶ : Jumlah spermatozoa motil dalam satu kali inseminasi

Volume pengencer adalah volume total dikurangi volume semen yang diencerkan.

Pengemasan

Setelah selesai diencerkan, semen dikemas menggunakan minitub, selanjutnya disusun dalam kaset (plastik penyusun *straw*).

Ekuilibrasi

Ekuilibrasi (waktu yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan bahan pengencer), dilakukan dengan cara meletakkan *straw* yang telah tersusun dalam kaset dalam lemari es dengan suhu 4°C, selama 4 jam.

Pra Pembekuan dan Pembekuan

Kaset yang berisi *straw* dan telah diekuilibrasi diletakkan di atas rak pembekuan dengan jarak 3 cm dari permukaan nitrogen cair dalam styrofoam berukuran 60 x 40 x 30 cm, selama 10 menit kemudian disimpan dalam kontainer nitrogen cair -196°C.

Thawing

Thawing (pencairan kembali semen beku) dilakukan dengan cara: satu *straw* dari kontainer dimasukkan ke dalam air dengan suhu 37°C selama 30 detik kemudian diangkat dan dikeringkan dengan tissue.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada saat semen segar, pasca pengenceran, pasca ekuilibrasi dan pasca *thawing* dengan peubah yang diamati persentase sperma motil, sperma hidup dan sperma abnormal.

Analisis Data

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan faktor tunggal pengencer semen (BIB I, BIB II, KK, TF). Data yang diperoleh diolah dengan program statistical analysis system (SAS) versi 6.12.

Hasil dan Pembahasan

Hasil evaluasi kualitas semen segar merupakan pemeriksaan awal semen yang dijadikan dasar untuk menentukan kelayakan semen yang akan diproses lebih lanjut. Hasil rata-rata penampungan yang diperoleh dari 15 ejakulat sapi FH yang digunakan pada penelitian ini terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas semen segar sapi FH

Karakteristik Semen	Nilai Rataan
Makroskopik	
Volume, ml	6,5
Warna	Krem-kuning
Konsistensi	encer-sedang
pH	6,52
Mikroskopis	
Gerakan massa	2,80
Konsentrasi, 10^6 ml^{-1}	1093,66
Spermatozoa motil, %	74,66
Spermatozoa hidup, %	89,32
Spermatozoa abnormal, %	5,04

Ket : penilaian gerakan massa dipindahkan kedalam angka (+ = 1, ++ = 2, +++ = 3)

Hasil pemeriksaan makroskopis diketahui volume sperma 6,5 ml, hasil yang didapat berada dalam kisaran 5-8 ml (Garner dan Hafez, 2000) dan 1-15 ml (Rauge, 2003). Warna semen krem, sesuai dengan pendapat Rauge (2003) bahwa warna semen sapi adalah krem. Konsistensi semen yang didapatkan berkisar encer sampai sedang dengan derajat keasaman (pH) 6,52. Hasil yang didapat lebih rendah dari pendapat Bearden dan Fuquay (2000) yaitu 6,9-7,5 tetapi masih berada dalam kisaran yang ditetapkan oleh Toelihere (1993) yaitu 5,9-7,3.

Pada pemeriksaan mikroskopis gerakan massa yang didapatkan adalah 2,80 atau setara dengan (++/+++), seperti terlihat dengan adanya awan hitam yang tidak begitu gelap

tetapi gerakannya masih cepat berpindah. Konsentrasi spermatozoa 1093,66 juta ml^{-1} . Hasil ini berada dalam kisaran yang ditentukan oleh Hafez (1993) dan Rauge (2003) yaitu 300-2500 juta ml^{-1} . Sperma motil sebesar 74,66% mendekati hasil penelitian Rauge (2003) yaitu 70% sedangkan sperma hidup 89,32% berada diatas hasil yang didapatkan oleh Widiastuti (2001) yaitu 80,60%. Menurut Suzana (2002) untuk tujuan dibekukan paling sedikit dibutuhkan 70% sperma hidup dan motil. Diketahui sperma abnormal hasil penelitian adalah 5,04%.

Persentase Sperma Motil

Spermatozoa dikatakan motil apabila spermatozoa tersebut bergerak kedepan (*progresive motility*), sedangkan spermatozoa yang bergerak dengan gerakan melingkar disebut sebagai *non progresive motility* (Rouge, 2003). Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa mempunyai peranan yang penting untuk keberhasilan fertilisasi (Widiastuti, 2001). Nugroho (2003) berpendapat bahwa motilitas atau daya gerak dapat dijadikan patokan dalam menilai kualitas semen. Persentase spermatozoa setiap waktu pengamatan dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil penelitian persentase sperma motil pasca pengenceran menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). Pengencer BIB II (62%) lebih rendah dibandingkan pengencer KK (72,69%), BIB I (72,33%) dan TF (72%). Hasil pasca ekuilibrisasi juga mirip, yaitu pengencer BIB II sangat berbeda nyata ($P < 0,01$) dengan pengencer KK (70,38%), BIB I (68%) dan TF (65,67%). Pada pasca *thawing* persentase sperma motil berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) antar bahan pengencer, dengan nilai tertinggi berturut-turut adalah pengencer KK (57,90%), BIB I (52,09%), TF (46,36%) dan BIB II (26,09%).

Tabel 3. Persentase sperma motil pada setiap tahap pengamatan

Pengencer	Pasca pengenceran	Pasca ekuilibrasi	Pasca <i>thawing</i>
		----- % -----	
BIB I	72,33±3,57 ^a	68,00±0,00 ^a	52,09± 7,07 ^b
BIB II	62,00±3,54 ^b	56,00±3,54 ^b	26,09±3,54 ^d
KK	72,69±3,54 ^a	70,38±3,54 ^a	57,90±3,54 ^a
TF	72,00±3,54 ^a	65,67±0,00 ^a	46,03±10,60 ^c

^{abcd.} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,01$

Persentase Sperma Hidup

Afinitas zat warna antara sel-sel spermatozoa yang mati dan yang hidup digunakan untuk menghitung jumlah sperma hidup secara obyektif pada waktu semen segar dicampur dengan zat warna eosin nigrosin. Pada waktu pencampuran sel-sel spermatozoa yang hidup tidak atau sedikit sekali menghisap warna sedangkan sel-sel spermatozoa yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding sel meninggi waktu mati (Hafez, 1993). Hal ini sejalan dengan pendapat Bearden dan Fuquay (1997), bahwa zat warna eosin tidak dapat melewati membran sel hidup namun dapat melewati membran sel mati, sehingga sel yang hidup akan terlihat tidak berwarna sedangkan yang mati akan tampak berwarna kemerahan. Hal ini karena spermatozoa yang telah mati, tidak terdapat perbedaan potensial ion natrium dan kalium antara di dalam dan di luar sel sehingga eosin nigrosin yang berikatan dengan natrium akan dengan mudah berdifusi

ke dalam sel spermatozoa dan menunjukkan penyerapan warna pada kepala saat diberi pewarnaan (Achmadi, 2001). Perbandingan persentase sperma hidup pada tiap-tiap pengencer dapat dilihat pada Tabel 4.

Sampai pasca pengenceran belum terdapat perbedaan persentase sperma hidup. Pengaruh pengencer terhadap persentase sperma hidup baru terlihat pada pasca ekuilibrasi, yakni BIB II (77,14%) nyata paling rendah dibandingkan pengencer KK (80,11%), BIB I (77,93 %) dan TF (77,14 %). Pasca *thawing* menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata ($P < 0,01$) antar keempat pengencer, dengan sperma hidup tertinggi berturut-turut terdapat pada pengencer KK (72,76%), BIB I (69,77 %), TF (64,05%) dan BIB II (51,28%).

Persentase Sperma Abnormal

Pemeriksaan sperma abnormal dilakukan setelah pemeriksaan persentase sperma hidup (Balkis 2002).

Tabel 4. Persentase sperma hidup pada setiap tahap pengamatan

Pengenceran	Pasca Pengenceran	Pasca Ekuilibrasi	Pasca <i>Thawing</i>
		----- % -----	
BIB I	81,55±6,22	77,93±1,31 ^{ab}	69,77±19,36 ^p
BIB II	77,89±3,53	73,05±9,25 ^b	51,28 ± 9,53 ^r
KK	80,77±4,26	80,11±7,08 ^a	72,76±10,76 ^p
TF	82,92±1,44	77,14±3,35 ^{ab}	64,05±19,42 ^q

^{abc.} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,05$

^{pqr.} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,01$

Ada dua macam sperma abnormal yang diperiksa (Salisbury dan VanDemark 1985), yaitu abnormalitas primer yang meliputi kelainan pada kepala seperti kepala tanpa ekor, ekor ganda, kerusakan akrosom, makrosefalus, mikrosefalus, ekor melingkar, kepala *pyriform*, *tapered head* dan asesoris bagian tengah. Sedangkan abnormalitas sekunder meliputi kerusakan ekor, ekor melipat, ekor melengkung, butiran sisa sitoplasma, kepala tanpa ekor atau ekor tanpa kepala. Hasil penelitian sperma abnormal semen segar dan pasca *thawing* yang KK (6,98%) dan BIB II (6,20 %). menggunakan berbagai macam pengencer dapat dilihat pada Tabel 5. Persentase sperma abnormal tidak berbeda ($P>0,05$) antara TF (4,78%) dan BIB I (5,54%) tetapi berbeda nyata ($P<0,5$) dengan pengencer

Tabel 5. Persentase sperma abnormal pada semen segar dan pasca *thawing*

Pengencer	Semen segar	Pasca <i>thawing</i>
	----- % -----	----- % -----
BIB I	5,04±8,06	5,54±0,99 ^{ab}
BIB II	5,04±8,06	6,20±1,25 ^a
KK	5,04±8,06	6,98±6,78 ^a
TF	5,04±8,06	4,78±1,14 ^b

^{ab}. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P<0,05$

Nilai Ekonomi dari Berbagai Pengencer

Untuk melihat pengencer yang cocok untuk masyarakat maka dilakukan analisis ekonomi. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa, perbandingan harga satu dosis semen beku pada berbagai pengencer ternyata pengencer BIB II memiliki harga yang paling ekonomis yaitu Rp.635,52. Hal ini karena pengencer BIB II menggunakan bahan yang efisien, sehingga pada proses produksi tidak membutuhkan biaya yang banyak. Pengencer dengan biaya produksi yang lebih tinggi adalah pengencer BIB I (Rp.1158,17) karena pengencer ini banyak menggunakan bahan kimia jenis raffinosa yang harganya sangat

mahal sehingga biaya produksi akan meningkat. Pengencer TF dan pengencer KK mempunyai harga yang yang tidak jauh berbeda dengan pengencer BIB II yaitu Rp.671,35 dan Rp.715,00.

Hasil yang telah dipaparkan terlihat bahwa terdapat perbedaan kualitas semen pada setiap pengencer yang berbeda. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengencer KK memiliki kualitas terbaik dalam hal persentase sperma motil dan sperma hidup tetapi mempunyai persentase sperma abnormal yang lebih tinggi dibandingkan bahan pengencer yang lain. Hal ini diduga karena kandungan pada pengencer KK seperti zat penyangga, jenis fosfolipid, antibiotik (*spectinomycin*, *lincomycin*, *tylosin* dan *gentamycin*) lebih mampu mempertahankan kualitas semen selama pembekuan dan *thawing*. Tingginya persentase abnormal dibandingkan pengencer lain tidak mempengaruhi kualitas semen, karena masih dalam kisaran normal. Jumlah sperma abnormal dibawah 20% masih dikategorikan semen yang baik. Pengencer BIB I juga memiliki kualitas semen pasca *thawing* yang baik. Hal ini disebabkan kandungan raffinosa yang digunakan sebagai sumber gula dalam pengencer. Raffinosa terdiri dari tiga sakharida yang mempunyai peranan penting pada penyesuaian pengaruh tekanan osmotik. Aktifitas dan sumber energi sakharida dengan berat molekul yang tinggi sangat baik untuk gerakan spermatozoa setelah pembekuan. Selain sebagai sumber aktifitas raffinosa yang terdiri dari D-glukosa, D-galaktosa dan D-fruktosa juga berfungsi menstabilkan kualitas spermatozoa terhadap pengaruh buruk pada waktu pembekuan dan penyimpanan dalam N₂ cair (Suwarso, 1999). Menurut Masuda (1992) raffinosa merupakan suatu dasar pengencer yang baik untuk kehidupan spermatozoa ditambah buffer dan kuning telur dengan konsentrasi 15–20%. Hal lain yang mendukung baiknya sperma motil adalah adanya sistem pengendapan bahan pengencer selama tiga hari. Pengendapan ini

bertujuan untuk mencegah pengaruh buruk dari kuning telur terhadap kualitas spermatozoa (Moussa *et al.*, 2002).

Pengencer TF, meskipun tidak sebaik pengencer BIB I, tetapi mempunyai sperma motil 46,03%, masih memenuhi syarat minimal pasca *thawing* SNI semen beku di Indonesia (40%). Pengencer BIB II mempunyai kualitas yang terendah di antara keempat pengencer. Hal ini disebabkan kandungan skim kuning telur dan glukosa yang terkandung didalamnya tidak mampu mempertahankan kualitas terhadap efek pembekuan dan *thawing*. Kemungkinan lain adalah metode yang dilakukan pada penelitian ini berbeda dengan yang dilakukan di BIB II. Seperti diketahui BIB II adalah BIB nasional yang mempunyai peralatan yang cukup memadai diantaranya tersedia *cool top* sehingga pengenceran dilakukan secara bertahap (4 x pengenceran). Jika pengencer dan teknik pengenceran pada penelitian ini dilakukan dengan hal yang sama kemungkinan hasilnya akan lebih baik. Pengencer TF meskipun diencerkan satu tahap, tetapi kandungan fruktosa dalam buffer tris kuning telur mampu mempertahankan daya hidup dan kerusakan akrosom dibanding susu skim kuning telur (D'Alessandro *et al.*, 2001). Hal senada juga dikemukakan oleh Paulenz *et al.* (2002), bahwa pada penelitiannya ternyata pengencer dasar Tris dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa lebih baik daripada pengencer sitrat maupun susu skim pada semen domba yang disimpan pada suhu 5^o dan 20^oC.

Hasil analisis nilai ekonomi, terlihat bahwa pengencer BIB II menunjukkan harga produksi per straw paling murah dibandingkan dengan pengencer yang lain. Pengencer ini dapat dijadikan pilihan seandainya BIBD atau laboratorium memiliki peralatan yang memadai. Harga Pengencer KK relatif murah dengan kualitas yang terbaik, tetapi harus diingat bahwa bahan ini diimpor dari luar negeri dan ketersediaannya sangat terbatas sehingga menyebabkan ketergantungan pada

negara lain. Keistimewaan pengencer KK adalah lesitin yang bersumber dari kacang kedelai. Untuk itu dapat dicoba dengan kombinasi buffer yang ada dengan mengambil lesitin dari kacang kedelai yang terdapat di Indonesia. Pengencer TF cukup murah dibandingkan pengencer KK dan BIB yang lain, dengan kualitas yang cukup baik sehingga dapat dijadikan pilihan. Pengencer BIB I mempunyai harga paling mahal dengan kualitas baik, untuk menekan harga produksi dapat dilakukan tanpa raffinosa tetapi dengan teknik pengendapan pengencer yang sama.

Kesimpulan

Pengencer yang mengandung lesitin dari kacang kedelai dapat melindungi persentase sperma motil dan sperma hidup lebih baik dibanding pengencer lain. Pengencer tris kuning telur FKH IPB memiliki persentase sperma abnormal yang paling rendah. Harga satu dosis semen yang paling ekonomis adalah menggunakan pengencer BIB II. Perlu adanya penelitian tentang adanya pengaruh endapan pengencer terhadap kualitas semen. Perlu adanya usaha untuk mencari jenis lesitin dari berbagai sumber nabati asli dari Indonesia.

Daftar Pustaka

- Aboagla, EM-E. and T. Terada, 2004a. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology* 62: 1160-1172.
- Aboagla, EM-E. and T. Terada, 2004b. Effects of supplementation of trehalosa extender containing egg yolk with sodium dodecyl sulfate on the freezability of goat spermatozoa. *Theriogenology* 62: 809-818.
- Achmadi, A.S., 2001. Kaji banding kualitas dan keutuhan membran plasma semen beku sapi pada setiap tahap jalur distribusi. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Arifiantini, I., 2004. Preservasi dan Kriopreservasi Semen Dalam Upaya Konservasi dan *Grading Up* Kuda Lokal Serta Mendukung Terciptanya

- Kuda Pacu Indonesia. *Makalah*. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Balkis, R.A.F., 2002. Kajian kualitas semen beku pada beberapa bangsa sapi. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay, 1997. *Applied Animal Reproduction*. 4th ed. Mississippi State University. New Jersey. Pp. 134-141.
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay, 2000. *Applied Animal Reproduction*. 5th ed. Mississippi State University. New Jersey. Pp 24-143.
- D' Alessandro, A.G., G. Martemumucci, M.A. Colonna, and A. Belliti, 2001. Post-thaw survival of ram spermatozoa and fertility after insemination as affected by prefreezing sperm concentration and extender composition. *Theriogenology* 55(5): 1159-1170.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez, 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. *In*: B. Hafez and E.S.E. Hafez (Eds). *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lippincott Williams. Philadelphia.
- Hafez, E.S.E., 1993. *Reproduction in Farm Animals*. 6th ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Masuda, H. 1992. *Artificial Insemination Manual For Cattle Association of Live Stock Technology*. Dalam: Suwarso. 1999. Peranan Raffinosa dalam Pengencer Tris-Sitrat Kuning Telur terhadap Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Tesis*. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Moussa, M., V. Martinet, A. Trimeche, D. Tanturier and M. Anton, 2002. Low density lipoprotein extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology* 57: 1591-1762.
- Nugroho, W.E., 2003. Efektivitas konsentrasi kuning telur dan plasma semen pada bahan pengencer tris terhadap kualitas semen beku saanen. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Park, J.E. and J.K. Graham, 1992. Effect of cryopreservation procedur on sperm membranes. *Theriogenology* 38: 209-222.
- Paulenz, H., L. Soderquist, R. Perez-Pe and K.A. Berg, 2002. Effect of different extender and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology* 57 (2): 823-836.
- Rouge, M., 2003. Sperm morphology. <http://www.stanford.edu/group/Urchin/sperm-1.htm> (24 September 2004).
- Rouge, M., 2003. Sperm motility. <http://www.arbl.cvmsbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/semeneval/motility.html> (24 September 2004).
- Salisbury, G.W., N.L. VanDemark, 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Terjemahan R. Djanuar. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Stainbach, J. and R.H. Foote, 1967. Osmotic pressure and pH effects on survival of frozen or liquid spermatozoa. *J. Dairy Sci.* 50: 205.
- Suwarso, 1999. Peranan Raffinosa dalam Pengencer Tris-Sitrat Kuning Telur Terhadap Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Tesis*. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Suzana, E. 2002. Kaji banding kualitas semen beku sapi potong yang telah didistribusikan ke lapang. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Toelihere, M.R., 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Widiastuti, E., 2001. Kualitas semen beku sapi FH dengan penambahan antioksidan vitamin C dan E. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.