Uji Banding Empat Bahan Pengencer untuk Preservasi Semen Anjing Retriever

A. WICAKSONO dan R.I. ARIFIANTINI

Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan,
Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga 16680, Bogor
Iis_arifiantini@telkom.net

(Diterima dewan redaksi 22 November 2008)

ABSTRACT

WICAKSONO, A. and R.I. ARIFIANTINI. 2009. Comparison of four diluents for the retriever dogs semen preservation. *JITV* 14(1): 50-57.

The quality of chilled semen depends on the composition of diluent. The choice of the buffer, anti-cold shock and nutrition sources can be the first decision in order to choose appropriate diluents. Nowadays a lot of diluent are used for canine semen preservation such as Tris buffer and Citrate buffer. This study was aimed to observe the differences of diluent for preserving Retriever dog spermatozoa. The semen sample collected from four Retriever dogs with three times repetition. The semen was evaluated macro-and microscopically. The semen with >70% sperm motility was divided into four tubes and diluted with diluter 1 (P1), diluter: P2, P3 and P4 (modified P3). The diluted semen was divided into two tubes and each sample was stored at room and 5^0C temperature. The viability of chilled semen was observed every 3 hours at room temperature and 12 hours at 5^0C. The result showed that P2 keep the sperm viability better than the other diluents. On 5^0C at 24 hours storage P2 showed the highest motile and live sperm percentage (46.25 ± 0.22%; 57.11 ± 0.25%). In room temperature at 6 hours P2 showed the highest motile and live sperm percentage (40.94 ± 0.20%; 52.65 ± 0.23%). It is concluded that P2 can keep the sperm viability by 84 hours of 5^0C and 21 hours at room temperature.

Key Words: Diluents, Dog Sperm, Retriever

ABSTRAK

WICAKSONO, A. dan R.I. ARIFIANTINI. 2009. Uji banding empat bahan pengencer untuk preservasi semen anjing retriever. *JITV* 14(1): 50-57.

Kualitas semen cair bergantung kepada komposisi bahan pengencer yang digunakan. Pemilihan *buffer*, anti *cold shock* dan sumber nutrisi menjadi pertimbangan utama dalam menentukan bahan pengencer yang tepat. Saat ini berbagai bahan pengencer semen anjing telah banyak dilaporkan diantaranya menggunakan buffer Tris dan buffer sitrat. Penelitian ini bertujuan untuk menguji empat bahan pengencer semen cair yang telah dilaporkan terbaik sebelumnya terhadap daya tahan hidup spermatozoa anjing Retriever. Semen diperoleh dari empat ekor anjing Retriever sebanyak tiga ulangan. Semen yang didapat dievaluasi secara makro-dan mikroskopis. Semen yang mempunyai spermatozoa motil > 70% dibagi kevdalam empat tabung dan diencerkan menggunakan empat macam bahan yaitu pengencer 1 (P1); pengencer 2 (P2); pengencer 3 (P3) dan pengencer 4 (P4; modifikasi dari pengencer P3). Semen yang telah diencerkan dibagi ke dalam dua tabung dan masing-masing disimpan pada suhu ruang dan suhu 5^0C. Spermatozoa dalam semen cair diamati viabilitasnya setiap 3 jam untuk suhu ruang dan 12 jam untuk suhu 5^0C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan pengencer P2 mempertahankan longivitas paling baik diantara keempat bahan pengencer yang digunakan. Pada suhu 5^0C yang diamati pada jam ke-24 P2 memberikan hasil terbaik ($p<0,05$) untuk spermatozoa motil dan spermatozoa hidup sebesar 46,25 ± 0,22% dan 57,11 ± 0,25%. Pada suhu ruang yang diamati pada jam ke-6 P2 memberikan hasil terbaik ($p<0,05$) untuk spermatozoa motil dan spermatozoa hidup sebesar 40,94 ± 0,20% dan 52,65±0,23%. Kesimpulan yang dapat diambil adalah P2 dapat mempertahankan longivitas selama 84 jam pada suhu 5^0C dan 21 jam pada suhu ruang.

Kata Kunci: Bahan Pengencer, Spermatozoa Anjing, Retriever

PENDAHULUAN

Anjing Retriever di Indonesia mulai digemari dan pamornya semakin menanjak sejak tahun 2000-an. Anjing Retriever dikenal keramahannya oleh masyarakat dan banyak digunakan untuk memandu berjalan bagi orang yang buta. Animo yang besar ini tentunya dimanfaatkan oleh para *breeder* anjing untuk berlomba-lomba memenuhi permintaan anjing Retriever dimasyarakat. Hal ini tidak terlepas dari pembibitan anjing Retriever yang diharapkan baik dan berkualitas unggul. Pada saat ini para *breeder* lebih sering memakai cara konvensional untuk perkembangbiakan anjingnya, dengan membawa anjing jantan untuk dikawinkan secara alamiah dengan anjing betina. Hal ini tentu saja membawa dampak dan berbagai permasalahan yang timbul disamping penggunaan cara konvensional yang kurang praktis.

Salah satu solusi untuk menyelesaikan masalah reproduksi adalah dengan melakukan inseminasi buatan (IB). Inseminasi buatan pada anjing telah dipraktekkan secara rutin di banyak negara terutama untuk menghindari beberapa kesulitan perkawinan dan untuk penggunaan semen impor (JUNAIDI, 2006). Di Indonesia penerapan IB masih jarang dipakai, Dokter Hewan praktek di Indonesia masih belum banyak menerapkan teknik ini, walaupun dilakukan baru pada klinik-klinik hewan yang cukup besar. Program IB melibatkan serangkaian kegiatan, mulai dari seleksi atau pemilihan pejantan unggul, koleksi dan evaluasi semen, pengolahan dan penyimpanan semen, sampai pelaksanaan inseminasi dengan deposisi semen di saluran kelamin betina yang sedang estrus.

Untuk menghasilkan angka kebuntingan yang tinggi, berbagai faktor harus diperhatikan diantaranya kualitas semen cair yang diinseminasikan. Untuk mendapat semen cair yang berkualitas berbagai aspek harus diperhatikan diantaranya adalah bahan pengencer semen yang digunakan harus dapat memenuhi kebutuhan dan dapat mempertahankan fungsi fisiologik spermatozoa selama penyimpanan. Penelitian mengenai bahan pengencer untuk preservasi semen anjing telah banyak dilaporkan diantaranya menggunakan buffer Tris glukosa (PENA dan FORSBERG, 2000; VERSTEGEN *et al.*, 2005), Tris dengan fruktosa (SILVA *et al.*, 2002; ROMAGNOLI, 2002; GUNAY *et al.*, 2004; SCHAFER-SOMI, 2006), Sitrat glukosa (MOSS *et al.*, 1979; SANTOS *et al.*, 2007). Para peneliti tersebut umumnya hanya melakukan pengujian secara *in vitro*. Pengujian fertilitas hanya dilakukan oleh VERSTEGEN *et al.*, (2005) dan ROMAGNOLI (2002) dengan persentase kebuntingan 60% (12/20). Penelitian ini bertujuan untuk menguji berbagai bahan pengencer yang telah ada dan memilih pengencer semen terbaik untuk anjing ras Retriever terkait dengan kepentingan teknologi IB yang diaplikasikan pada hewan ini.

MATERI DAN METODE

Sebagai sumber semen digunakan empat ekor anjing Retriever terdiri atas dua ekor anjing ras Golden Retriever dan dua ekor anjing ras Labrador Retriever yang telah dewasa kelamin (umur 2 – 4 tahun) dalam kondisi kesehatan (reproduksi) yang baik.

Bahan pengencer yang digunakan terdiri atas empat macam yaitu pengencer 1 (P1) (PENA dan FORSBERG, 2000); pengencer 2 (P2) (GUNAY *et al.*, 2004); pengencer 3 (P3) (MOSS *et al.*, 1979); pengencer 4 (P4) modifikasi (MOSS *et al.*, 1979). Komposisi *buffer* dan bahan pengencer disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Komposisi buffer

Komposisi	Pengencer			
	P1	P2	P3	P4
Tris (g)	2,4	3,6	-	-
Asam sitrat (g)	1,4	1,9	-	-
Fruktosa (g)	-	0,5	-	12,5
Sodium sitrat (g)	-	-	14,5	14,5
Glisine (g)	-	-	9,3	9,3
Glukosa (g)	0,8	-	12,5	-
Aquabidest (ml) *ad.*	100	100	100	100

Tabel 2. Komposisi pengencer

Komposisi	P1	P2	P3	P4
Buffer (ml)	80	80	80	80
Kuning telur (ml)	20	20	20	20
Penisilin (IU/ml)	1.000	1.000	1.000	1.000
Streptomisin (mg/ml)	1	1	1	1
Tekanan Osmotik (mOsm)	478	535	1.174	1.242

Sumber: P1 = PENA dan FORSBERG, 2000; P2 = GUNAY *et al.*, 2004; P3 = MOSS *et al.*, 1979; P4 = modifikasi MOSS *et al.*, 1979

Koleksi semen dilakukan pada pagi hari dengan teknik masase, semen terkoleksi dipisahkan menjadi tiga fraksi. Hanya semen dari fraksi kedua yang digunakan untuk percobaan. Segera setelah koleksi, semen dievaluasi secara makroskopis meliputi volume semen, warna (dilihat secara visual), pH menggunakan kertas pH spesial indikator *paper* (skala 6,4 sampai 8) dan konsistensi (kekentalan). Secara mikroskopis meliputi gerakan massa, persentase spermatozoa motil progresif secara subyektif kuantitatif. Persentase spermatozoa hidup menggunakan pewarnaan eosin nigrosin, morfologi spermatozoa (normal dan abnormal) menggunakan pewarnaan Williams. Serta konsentrasi spermatozoa per-ml menggunakan pengencer formolsaline (1 : 100) dan dihitung dalam kamar hitung Neubauer.

Semen diolah secara individu dan hanya semen yang menunjukkan persentase spermatozoa motil >70% digunakan dalam penelitian ini. Semen segar dibagi kedalam empat tabung dan diencerkan 1 : 2 dengan pengencer P1, P2, P3 dan P4. Semen cair dari masing-masing pengencer dibagi ke dalam dua tabung dan disimpan pada suhu ruang dan 5°C. Longivitas spermatozoa diamati setiap 3 jam untuk suhu ruang dan 12 jam untuk 5°C. Pengamatan meliputi persentase spermatozoa motil dan persentase spermatozoa hidup.

Rancangan percobaan

Penelitian ini dirancang menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan empat ekor anjing sebagai kelompok, dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh diolah menggunakan uji Anova dan jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji Duncans (STEEL dan TORRIE, 1995).

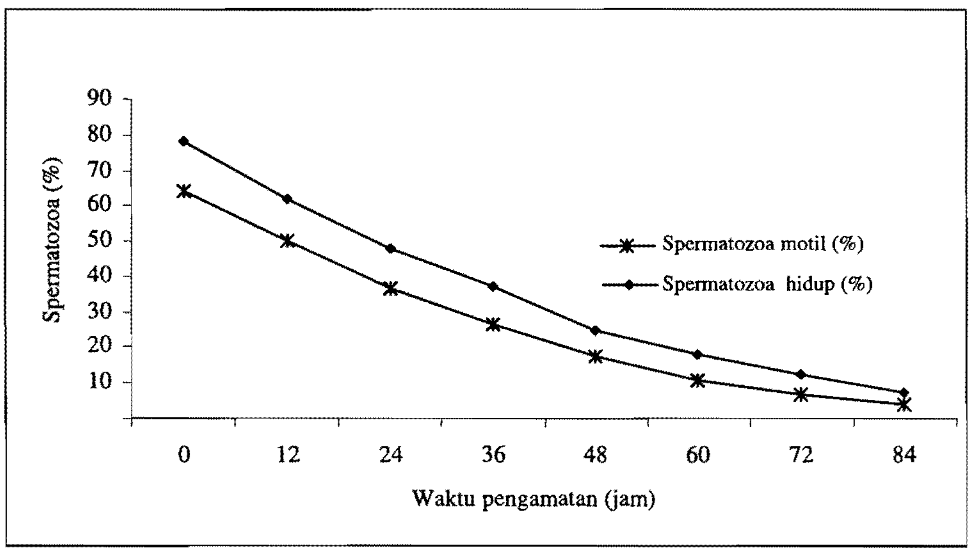
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik semen segar anjing retriever

Rataan semen segar fraksi kedua anjing Retriever menunjukkan volume sebesar 1,95 ± 0,01 ml, berwarna putih keruh atau putih susu dengan konsistensi yang sedang, pH sebesar 6,43 ± 0,02, persentase sperma motil 70 ± 0,08%, dan persentase sperma hidup sebesar 84,51 ± 0,03%, morfologi spermatozoa normal sebesar 94,80 ± 0.03% dengan konsentrasi spermatozoa sebanyak 407,50 ± 1,02 juta/ml Hasil ini menurut RIJSSELAERE *et al.* (2001); SILVA *et al.* (2005) dan JUNAIDI (2006) berada dalam kisaran kualitas semen anjing yang normal.

Kualitas semen cair anjing pada suhu 5°C

Prinsip preservasi dalam bentuk semen cair pada suhu 5^{0}C adalah menghambat metabolisme spermatozoa. Menurut MC. KINNON (1999) setiap penurunan suhu 10^{0}C, akan menurunkan 50% dari metabolisme spermatozoa. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa pada suhu 5°C semen cair anjing Retriever, dapat mempertahankan daya tahan hidupnya sampai jam ke 84. Tanpa melihat jenis pengencer yang digunakan secara umum, persentase spermatozoa motil maupun sperma hidup menurun secara nyata (P<0,05) sejalan dengan waktu penyimpanan (Gambar 1).



Gambar 1. Persentase spermatozoa setiap waktu pengamatan

Persentase spermatozoa motil pada 12-24 jam pertama turun cukup menyolok sebesar 13,4-14,09%, sedangkan pada 36-48 jam berikutnya penurunan sedikit berkurang yaitu 9,14 - 10,21%. Dari jam ke 48-72 jam penurunan kualitas hanya 3,28 - 6,28%. Perbedaan penurunan untuk setiap waktu pengamatan dapat dipahami karena pada awal penyimpanan, spermatozoa mengalami perubahan suhu yang cukup signifikan, dari suhu ruang saat pengolahan ke suhu 5°C. Penurunan suhu tersebut tentunya akan memberikan kejutan dingin *(cold shock)* yang akan mempengaruhi membran plasma spermatozoa. Kejutan dingin pada membran plasma spermatozoa tersebut akan menyebabkan perubahan konfigurasi dari membran plasma dan jika terjadi pada bagian *midpiece* ekor, enzim aspartat aminotransferase yang berfungsi untuk merubah ATP menjadi ADP akan keluar dari sel, sehingga energi yang dibutuhkan untuk pergerakan spermatozoa tidak akan terbentuk dan spermatozoa akan kehilangan daya motilnya (COLENBRANDER *et al.*, 1992). Setelah 36 jam penyimpanan, spermatozoa telah dapat beradaptasi, dan terbukti dari persentase penurunan spermatozoa yang semakin rendah.

Pengencer semen merupakan medium spermatozoa selama preservasi. Kandungan bahan pengencer semen akan secara langsung mempengaruhi kualitas spermatozoa yang terdapat di dalamnya. Dari keempat pengencer semen yang digunakan untuk preservasi semen anjing Retriever, ternyata P2 menunjukkan persentase spermatozoa motil dan spermatozoa hidup yang nyata ($P<0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan ketiga pengencer lainnya. Keunggulan P2 sudah terlihat dari mulai pengenceran. Persentase spermatozoa motil P2 diawal penyimpanan (setelah pengenceran) adalah 67,08 ± 0,22% lebih tinggi dibandingkan dengan P1 (65,42 ± 0,22%); P3 (65,42 ± 0,24%) ataupun P4 (59,17 ± 0,22%). Pada jam ke 24 penyimpanan, spermatozoa pada P2 masih mempunyai persentase spermatozoa motil yang cukup tinggi yaitu 46,25 ± 0,21%, sementara pengencer lainnya berkisar antara 31,16 ± 0,21 sampai dengan 37,08 ± 0,23%. Diakhir pengamatan pada jam ke 84, pada P3 menunjukkan tidak adanya gerakan spermatozoa yang motil (0%), P4 (1,15 ± 0,21%) dan P1 (2,71 ± 0,21%), sementara pada P2 terlihat masih ada 10,83 ± 0,21% spermatozoa yang motil (Tabel 3). Hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan laporan VERSTEGEN *et al.* (2005). Peneliti tersebut menggunakan pengencer P1, dapat mempertahankan motilitas progresif sampai hari ke-7 sekitar 40%. Pada penelitian ini P1 pada 24 jam pertama hanya menunjukkan motilitas progresif sebesar 31,67%. Hal tersebut dapat dipahami mengingat semen segar yang digunakan oleh peneliti tersebut antara 85 sampai dengan 90%, sedangkan dalam penelitian ini hanya 70%.

Persentase spermatozoa hidup pada semen anjing ini menunjukkan pola yang sama dengan spermatozoa motil. Sejak pencampuran sampai dengan jam ke 84 penyimpanan, P2 menunjukkan keunggulannya dibandingkan dengan ketiga pengencer lainnya (Tabel 4).

Kualitas semen cair anjing Retriever pada suhu ruang

Preservasi semen cair umumnya dilakukan pada suhu 3 – 5°C. Pada kondisi tidak terdapat lemari es, maka tidak ada pilihan lain, selain menyimpan semen cair pada suhu ruang. Suhu ruang di daerah tropis berbeda dengan di daerah sub tropis. Di daerah sub tropis suhu ruang umumnya adalah 20°C. Suhu ruang di tempat penelitian ini dilakukan berkisar antara 24°C (tengah malam) sampai dengan 29°C (siang hari). Dengan kisaran suhu 24-29°C tersebut semen cair anjing Retriever pada penelitian ini mempunyai *longivitas* yang sangat pendek. Tanpa melihat jenis pengencer yang digunakan kualitas semen anjing Retriever untuk setiap tiga jam penyimpanan turun antara 6,48 -17,42%. Pada jam ke-21 penyimpan, persentase spermatozoa motil dan spermatozoa hidup hanya tinggal 2,14 dan 3,90% (Gambar 2).

Tabel 3. Persentase spermatozoa motil semen cair anjing Retriever dalam berbagai bahan pengencer pada suhu 5°C

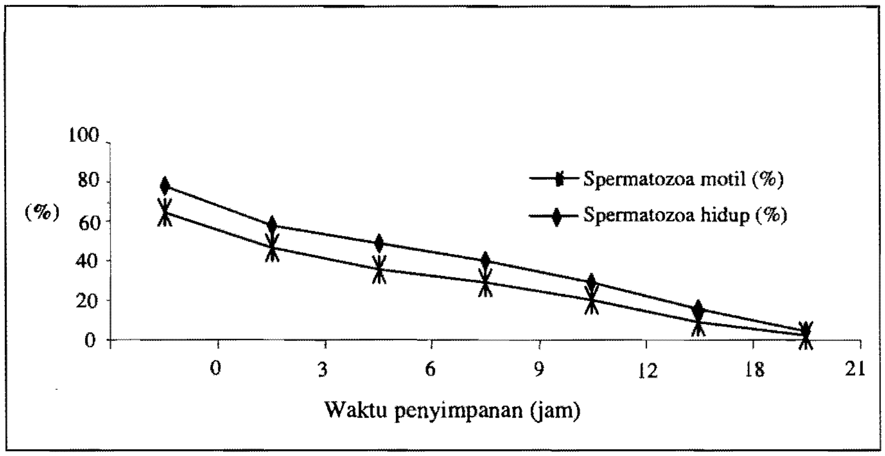
Pengamatan (jam ke-)	Jenis pengencer			
	P1	P2	P3	P4
0	65,42 ± 0,22^{c}	67,08 ± 0,22^{d}	65,42 ± 0,24^{c}	59,17 ± 0,22^{c}
12	48,54 ± 0,22^{c}	57,19 ± 0,21^{d}	51,26 ± 0,23^{c}	43,44 ± 0,21^{c}
24	31,67 ± 0,21^{b}	46,25 ± 0,21^{c}	37,08 ± 0,23^{b}	31,16 ± 0,21^{b}
36	22,81 ± 0,21^{b}	35,10 ± 0,21^{c}	25,10 ± 0,23^{b}	22,29 ± 0,21^{b}
48	15,10 ± 0,21^{ab}	26,67 ± 0,21^{b}	17,40 ± 0,23^{a}	9,58 ± 0,21^{a}
60	10,83 ± 0,21^{ab}	17,40 ± 0,21^{b}	10,83 ± 0,23^{a}	4,58 ± 0,21^{a}
72	8,13 ± 0,21^{a}	13,54 ± 0,21^{ab}	3,85 ± 0,23^{a}	2,29 ± 0,21^{a}
84	2,71 ± 0,21^{a}	10,83 ± 0,21^{ab}	0,00 ± 0,23^{a}	1,15 ± 0,21^{a}

Huruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P<0,05$)

Tabel 4. Persentase spermatozoa hidup semen cair anjing Retriever dalam berbagai bahan pengencer pada suhu 5^{0}C

Pengamatan (jam ke-)	Jenis pengencer			
	P1	P2	P3	P4
0	80,56 ± 0,27^{c}	82,22 ± 0,26^{d}	75,26 ± 0,27^{c}	75,81 ± 0,27^{c}
12	60,77 ± 0,26^{c}	68,43 ± 0,25^{d}	62,19 ± 0,27^{c}	55,52 ± 0,26^{c}
24	46,11 ± 0,26^{b}	57,11 ± 0,25^{c}	46,95 ± 0,27^{c}	41,30 ± 0,26^{b}
36	32,29 ± 0,26^{b}	51,07 ± 0,25^{c}	33,76 ± 0,26^{c}	32,19 ± 0,26^{b}
48	24,59 ± 0,26^{ab}	34,48 ± 0,25^{b}	22,30 ± 0,27^{b}	16,55 ± 0,26^{a}
60	18,47 ± 0,26^{ab}	27,34 ± 0,25^{b}	18,51 ± 0,26^{b}	7,16 ± 0,26^{a}
72	13,68 ± 0,26^{a}	21,16 ± 0,25^{ab}	8,81 ± 0,27^{ab}	5,21 ± 0,26^{a}
84	7,32 ± 0,26^{a}	18,67 ± 0,24^{ab}	0,00 ± 0,27^{ab}	2,83 ± 0,26^{a}

Huruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P<0,05)



Gambar 2. Persentase spermatozoa motil dan spermatozoa hidup pada silang waktu penyimpanan pada suhu ruang

Pada suhu ruang, spermatozoa mempunyai daya tahan hidup yang sangat pendek. Hal ini disebabkan, pada suhu ruang antara 24 dan 29°C spermatozoa melakukan aktivitas seluler yang hampir optimal sehingga substrat energi cepat habis dan terdapat akumulasi asam laktat sebagai sisa metabolisme. Menurut VISHWANATH dan SHANNON (1997; 2000) sumber utama peroksidasi yang terjadi pada suhu ruang adalah oksidatif deaminase dari asam amino aromatik oleh enzim *aromatic amino acid aminase* (AAAO). Enzim AAAO tersebut dilepaskan dari membran plasma spermatozoa yang mati. Semakin tinggi suhu dan semakin lama penyimpan spermatozoa, jumlah enzim ini akan meningkat. Enzim AAAO ini tidak aktif pada spermatozoa yang masih hidup. Akibat habisnya substat energi, penimbunan asam laktat dan dilepaskannya enzim AAAO oleh membran spermatozoa yang mati, maka daya tahan spermatozoa anjing pada suhu ruang ini hanya bertahan selama 21 jam. Pengaruh jenis pengencer yang digunakan terhadap *longivity* spermatozoa dalam suhu ruang menunjukkan P2 lebih baik dalam mempertahankan kualitas semen dibandingkan dengan P1, P3 ataupun P4. Pada jam ke-6, P2 menunjukkan spermatozoa motil dan spermatozoa hidup masing-masing 40,94 ± 0,20% dan 52,65 ± 0,23% nyata (P<0,05) lebih tinggi dibandingkan dengan P1 (32,08 ± 0,20; 43,74 ± 0,25%), P3 (35,52 ± 0,22; 46,91 ± 0,25%) atau P4 (37,81 ± 0,22; 49,89 ± 0,25) dan tidak ada perbedaan kualitas antara ketiga pengencer tersebut (Tabel 5 dan 6).

Diakhir pengamatan pada jam ke 21, spermatozoa yang terdapat dalam pengencer P1, P3 maupun P4, sudah tidak menunjukkan pergerakan, tetapi pada pengencer P2 masih ada spermatozoa progresif sebanyak 8,54%. Hal ini membuktikan keunggulan P2 dalam suhu 5°C ataupun pada suhu ruang. Keunggulan

P2 dapat dipahami mengingat P2 dan P1 sama-sama menggunakan *buffer* Tris, sedangkan P4 dan P3 menggunakan *buffer* Sitrat. *Buffer* berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga berfungsi menetralisir asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme spermatozoa. Saat ini Tris (*hydroxymethyl*) aminomethan *buffer* telah digunakan secara universal untuk semen beku sapi (VERBERCKMOES, 2005; ARIFIANTINI *et al.*, 2005; 2006), semen kambing (HIDALGO *et al.*, 2006), semen domba (IVANOVA-KICHEVA, 2005; SALAMON dan MAXWELL, 2000), semen kerbau (SANSONE *et al.*, 2000) dan semen anjing (PENA dan FORSBERG, 2000; YILDIZ *et al.* 2000 SILVA *et al.* 2002; ROMAGNOLI, 2002; GUNAY *et al.*, 2004; VERSTEGEN *et al.*, 2005; SCHAFER-SOMI, 2006).

Keunggulan P2 dibandingkan dengan P1, meskipun menggunakan *buffer* yang sama tetapi sumber energi yang digunakannya berbeda. Pengencer P2 menggunakan fruktosa sedangkan P1 menggunakan glukosa sebagai sumber energi. Fruktosa merupakan gula sederhana yang terdapat dalam plasma semen yang paling penting untuk dimetabolisme oleh spermatozoa, Pada penelitian ini fruktosa menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan glukosa. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh fruktolisis dapat terjadi dan membutuhkan bahan dasar fruktosa. Perombakan fruktosa menjadi energi terjadi lebih cepat karena fruktosa dapat langsung dirubah menjadi fruktosa 6 phosphat (6P), sedangkan glukosa sebelum menjadi fruktosa 6P harus dirubah terlebih dahulu menjadi glukosa 6P kemudian menjadi fruktosa 6P dan akhirnya menjadi fruktosa bi phosphat untuk menghasilkan ATP dan asam laktat. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh PANGLOWHAPAN *et al.* (2003), bahwa penambahan fruktosa dalam pengencer TKT dapat mempertahankan spermatozoa motil pada semen anjing lebih baik, dibandingkan dengan glukosa. Penurunan persentase spermatozoa motil pada suhu ruang lebih cepat dibandingkan dengan suhu 5^0C. Hal ini dapat

Tabel 5. Persentase spermatozoa motil semen cair anjing Retriever dalam berbagai bahan pengencer pada suhu ruang

Pengamatan (jam ke-)	Jenis pengencer			
	P1	P2	P3	P4
0	60,83 ± 0,22^b	67,08 ± 0,22^c	65,42 ± 0,23^b	65,42±0,23^b
3	39,79 ± 0,20^b	52,92 ± 0,21^c	45,10 ± 0,22^b	51,25±0,23^b
6	32,08 ± 0,20^b	40,94 ± 0,20^c	35,52 ± 0,22^b	37,81±0,22^b
9	24,79 ± 0,20^a	32,19 ± 0,20^b	27,08 ± 0,22^a	30,52±0,22^a
12	15,94 ± 0,20^a	22,81 ± 0,21^b	18,65 ± 0,22^a	19,38±0,23^a
18	3,13 ± 0,21^a	15,42 ± 0,21^b	6,25 ± 0,22^a	9,69±0,23^a
21	0,00 ± 0,21^a	8,54 ± 0,21^a	0,00 ± 0,23^a	0,00±0,23^a

Huruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P<0,05$)

Tabel 6. Persentase spermatozoa hidup semen cair anjing Retriever dalam berbagai bahan pengencer pada suhu ruang

Pengamatan (jam ke-)	Jenis pengencer			
	P1	P2	P3	P4
0	75,90 ± 0,27^b	81,16 ± 0,24^c	75,15 ± 0,26^b	76,90 ± 0,26^b
3	54,44 ± 0,26^b	63,48 ± 0,23^c	56,15 ± 0,26^b	59,59 ± 0,26^b
6	43,74 ± 0,25^b	52,65 ± 0,23^c	46,91 ± 0,25^b	49,89 ± 0,25^b
9	36,94 ± 0,25^a	43,19 ± 0,23^b	39,50 ± 0,25^a	43,33 ± 0,25^a
12	23,76 ± 0,25^a	33,62 ± 0,23^b	27,96 ± 0,25^a	30,63 ± 0,25^a
18	6,39 ± 0,26^a	23,35 ± 0,23^b	10,02 ± 0,26^a	18,75 ± 0,26^a
21	0,00 ± 0,26^a	15,62 ± 0,23^a	0,00 ± 0,27^a	0,00 ± 0,27^a

Huruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P<0,05$)

dipahami mengingat pada suhu ruang metabolisme berlangsung hampir optimal, sehingga fruktosa ataupun glukosa sebagai sumber energi bagi pergerakan spermatozoa cepat habis dan menghasilkan hasil sampingan berupa asam laktat yang dapat menurunkan pH bahan pengencer (BEARDEN *et al.*, 2004),

Berdasarkan hasil pemeriksaan tekanan osmotik, P1 dan P2 memiliki tekanan osmotik masing-masing sebesar 478 dan 535 mOsm, sedangkan P3 dan P4 menunjukkan tekanan osmotik yang cukup tinggi yaitu 1174 dan 1242 mOsm. Tekanan osmotik semen anjing adalah 325,9 ± 21,8 mOsm (ROTA *et al.* 1995). Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa bahan pengencer dengan *buffer* sitrat mempunyai tekanan yang hiperosmotik. Tingginya tekanan osmotik diluar sel akan menyebabkan keluarnya air dari dalam sel sehingga menyebabkan sel mengkerut (ANONIMOUS, 2008). Pengencer P1 dan P2 memberikan hasil yang lebih baik karena mempunyai tekanan osmotik yang mendekati tekanan osmotik semen yang normal. Tekanan osmotik P1 sebenarnya lebih cocok dibandingkan dengan tekanan osmotik pada P2, tetapi kenyataannya P2 memberikan hasil yang lebih baik. Hal ini kemungkinan karena peranan dari fruktosa dalam pengencer tersebut.

Pada penelitian ini, daya tahan hidup dan spermatozoa motil dapat dipertahankan sampai 84 jam pada suhu 5 °C dan 21 jam pada suhu ruang pada P2. pengencer yang berbahan Tris-kuning telur-fruktosa yang paling baik dibandingkan dengan ketiga pengencer lainnya. Penggunaan Tris-kuning telur memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pengencer lain dimana dapat mempertahankan spermatozoa motil pada penyimpanan selama hari ke dua dan tiga (ROTA, 1998).

KESIMPULAN

Pengencer P2 yaitu Tris-kuning telur-fruktosa merupakan bahan pengencer terbaik untuk melakukan preservasi semen anjing Retriever pada suhu 5°C dan suhu ruang. Semen cair pada pengencer P2 layak digunakan untuk inseminasi sampai dengan jam ke 24 pada suhu 5°C dan sampai dengan jam keenam pada suhu ruang. Pengencer P2 dapat mempertahankan longivitas semen anjing Retriever selama 84 jam pada suhu 5°C. Pengencer Tris-kuning telur-fruktosa dapat mempertahankan *longivitas* semen anjing Retriever selama 21 jam pada suhu ruang.

DAFTAR PUSTAKA

ARIFIANTINI, R.I., T.L. YUSUF dan D. YANTI. 2005. Kaji Banding Semen Beku Sapi Friesian Holstein Menggunakan Pengencer Dari Berbagai Balai Inseminasi Buatan di Indonesia. *J. Prod. Ternak* 7: 168-176.

ARIFIANTINI, R.I. dan T.L. YUSUF. 2006. Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi Frisian Holstein. *Majalah Ilmiah Petern.* 9: 89-93.

ANONIMOUS. 2008. http://en.wikipedia.org/wiki/Hyperosmotic#Hypertonicity (5 Juli 2008).

BEARDEN, H.J., J.W. FUQUAY and S.T. WILLARD. 2004. Applied Animal Reproduction. Ed ke-6. Pearson Education Inc. New Jersey.

COLENBRANDER, B., A.R. FAZELI, A. VAN BUITEN, J. PARLEVLIET and B.M. GADELLA. 1992. Assesment of sperm cell membran integrity in the horse. *Acta. Vet. Scand. Suppl.* 88: 49-58.

GARNER, D.L. and E.S.E. HAFEZ. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. *In*. Reproduction In Farm Animals. 7th HAFEZ, E.S.E. and B. HAFEZ. (Eds). Lea and Febiger. Philadelphia. USA.

GUNAY, U., N. ZEKARIYA and S. KEMAL. 2004. Effect of glass wool filtration method on frozen-thawed dog semen. *J. Fac. Vet. Med.*: 34: 77-83.

HIDALGO, M., I. RODRIGUEZ and J.M. DORADO. 2007. The effect of cryopreservation on sperm head morphometry in Florida male goat related to sperm freezability. *Anim. Reprod. Scie.* 100: 61–72.

IVANOVA-KICHEVA, M, A. DIMITROV, I. NIKOLOV, D. DASKALOVA and M. PETROV. 2005. Analysis of plasma membrane inegrity by using of fluorescein Labeled annexin v and its relationship to motility and viability of ram sperm after cryopreservation. *J. Cent. Eur. Agric.* 6: 331-336.

JUNAIDI, A. 2006. Reproduksi dan Obstetri pada Anjing. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

MC.KINNON, A.O. 1999. Breeding and its technology - now and the future, www.harness.org.au/99wldcon/CONFEREN.HTM (4 Juli 2006).

MOSS, J.A., D.R. MELROSE, H.C.B. REED and M. VANDEPLASSCHE. 1979. Spermatozoa, Semen and Artificial Insemination. *In*: Fertility and Infertility in Domestic Animals. J.A. LAING (Ed.). Balliere Tindall. London. pp. 59-91.

PENA, A. and C.L. FORSBERG. 2000. Effects of Spermatozoa Concentration an Post-Thaw Dilution Rate on Survival After Thawing of Dog Spermatozoa. Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden.

PANGLOWHAPAN, S., B. ESSEN-GUSTAVSSOM and C.L. FORSBERG. 2004. Influence of Glucose and Fructose in the extender during long-term storage af chilled canine semen. *Theriogenology* 62: 1498 – 1517.

RIJSSELAERE, T., A. VAN SOOM, D. MAES and A. DE KRUIF. 2002. Effect of centrifugation on in vitro survival of *l. Ternak* 7: 168-

5. Keberhasilan
a jenis kemasan
Frisian Holstein.

kipedia.org/wiki/
)8).

VILLARD. 2004.
ke-6. Pearson

AN BUITEN, J.
2. Assesment of
horse. *Acta. Vet.*

permatozoa and
arm Animals. 7th
ea and Febiger.

I. Effect of glass
d dog semen. *J.*

ADO. 2007. The
d morphometry
eezability. *Anim.*

NIKOLOV, D.
alysis of plasma
escein Labeled
and viability of
t. Eur. Agric. 6:

i pada Anjing.
rta.

chnology - now
g.au/99wldcon/

EED and M.
, Semen and
d Infertility in
Balliere Tindall.

of Spermatozoa
ate on Survival
zoa. Swedish
den.

OM and C.L.
and Fructose in
chilled canine

A. DE KRUIF.
tro survival of

fresh diluted canine spermatozoa. *Theriogenology* 57: 1669-1681.

ROMAGNOLI, S. 2002. Canine Artificial Insemination With Fresh, Refrigerated And Frozen Semen. Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, SPCV. Oeras, 10-12 Oct. 2002. pp. 167-170.

ROTA, A., B. STROM and C. LINDE-FORSBERG. 1995. Effects of seminal plasma and three extenders on canine semen stored at 4°C. *Theriogenology* 44: 885-900.

ROTA, A. 1998. Studies on Preservation, Capacitation and Fertility of Dog Spermatozoa. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, Sweden.

SALAMON, S and W. MAC MAXWELL. 2000. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 77–111.

SANSONE, G., M.J.F. NASTRI and A. FABBROCINI. 2000. Storage of Buffalo (*Bubalus bubalis*) Semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 55–76.

SANTOS, I.W. and L.C. BINSFELD. WEIS RR, KOZICKI LE, ROCHADELI R, RESENDE MV, HOSEPIAN DE LIMA VFM. 2007. Cryopreservation of dog spermatozoa: Effect of bovine serum albumin on acrosomal integrity and pregnancy rates after artificial insemination. *Arch. Vet. Sci.* 11: 47-54.

SCHAFER-SOMI, S, S. KLUGER, E. KNAPP, D. KLEIN and C. AURICH. 2006. Effects of semen extender and semen processing on motility and viability of frozen-thawed dog spermatozoa. *Theriogenology* 66: 173–182.

SILVA, A.R., R. DE CASSIA SOARES CARDOSO, D.C. UCHOA and L.D. MACHADO DA SILVA. Effect of tris-buffer, egg yolk and glycerol on canine semen freezing. *Vet. J.* 164: 244-246.

SILVA, A.R., R.C.S. CARDOSO and L.D.M. SILVA. 2005. Comparison between different dilution rates on canine semen freezing using tris-buffer with the addition of egg-yolk and glycerol. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57: 764-771.

STEEL, R.G.D. dan J.H. TORRIE. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika. B. Sumantri, Penerjemah. Gramedia. Jakarta.

VERSTEGEN, J.P., K. ONCLIN dan M. IGUER-OUADA. 2005. Long-Term Motility and Fertility Conservation of Chilled Canine Semen Using Egg Yolk added Tris–Glucose Extender: In Vitro and In Vivo Studies. *Theriogenology* 64: 720–733.

VISHWANATH, R. and P. SHANNON. 1997 Do sperm cells age? A review of the physiological changes in the sperm during storage at ambient temperature. *Rep. Fertil. Dev.* 9: 321-331.

Vishwanath, R. and P. Shannon. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim. Rep. Sci.* 62: 23-53.

YILDIZ, C, A. KAYA, M. AKSOY and T. TEKELI. 2000. Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenology* 54: 579-585.

VERBERCKMOES, S, A.V. SOOM, J. DEWULF and A. KRUIF. 2005. Comparison of three diluents for the storage of fresh bovine semen. *Theriogenology* 63: 912–922.

PETUNJUK BAGI PENULIS NASKAH

Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner, disingkat *JITV,* memuat: (i) naskah ilmiah primer hasil penelitian yang belum diterbitkan, (ii) uraian metoda dan teknik inovatif penelitian yang bermanfaat bagi pengembangan penelitian, dan (iii) ulasan/tinjauan ilmiah mutakhir hasil penelitian di bidang peternakan dan veteriner.

Ketentuan berikut merupakan petunjuk bagi penulis naskah yang hendak dimuat dalam JITV.

1. Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris yang baik, disertai abstrak dalam bahasa Inggris dan bahasa Indonesia. Naskah diketik pada kertas berukuran A4 dengan jarak 2 spasi dengan ruang sisi 4 cm dari tepi kiri, 3 cm dari tepi kanan, 3 cm dari tepi atas dan bawah.
2. Sistematika penulisan naskah disusun sebagai berikut:
   a. Judul, hendaknya yang komprehensif, namun dibuat sesingkat mungkin. Jika perlu dapat diberi sub judul.
   b. Nama dan alamat penulis:
   Nama penulis, ditulis lengkap (tanpa gelar) dan diketik dengan huruf KAPITAL. Jika penulis lebih dari seorang dengan alamat instansi yang berbeda, maka di belakang setiap nama diberi indeks atas *(superscripts)* angka arab. Alamat penulis, ditulis di bawah nama penulis, mencakup nama instansi beserta alamat lengkap, dibuat sesuai dengan banyaknya indeks atas nama penulis dan diketik dengan huruf MIRING.
   c. Abstrak, merupakan intisari naskah, ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris, tidak lebih dari 250 kata dan dituangkan dalam satu paragraf. Isi abstrak mencakup latar belakang, tujuan, materi dan metode serta hasil dan kesimpulan. Nama penulis (huruf KAPITAL), tahun terbit, judul naskah dan nama jurnal, dicantumkan sebelum isi abstrak, dengan susunan seperti daftar pustaka. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci *(key words)* maksimum 5 kata.
   d. Pendahuluan, berisi latar belakang penelitian, permasalahan yang dihadapi, usaha-usaha yang telah dilakukan, pendekatan yang ditempuh untuk memecahkan masalah dan tujuan penelitian.
   e. Materi dan Metode, mengungkapkan secara jelas dan rinci mengenai bahan yang digunakan dan cara kerja yang dilakukan.
   f. Hasil dan Pembahasan, menyajikan dan membahas secara jelas dan lengkap hasil penelitian yang dicapai dengan mengacu kepada tujuan. Hasil dan Pembahasan dapat disajikan secara terpisah atau disatukan. Uraian tentang Hasil dapat dilengkapi dengan tabel yang ringkas dan ilustrasi (grafik hitam putih, gambar atau foto) yang jelas pada halaman terpisah. Keterangan untuk tabel (di atasnya) dan ilustrasi (di bawahnya) harus jelas dan bersifat mandiri sehingga pembaca dapat dengan mudah memahami maknanya tanpa membaca teks. Uraian tentang Pembahasan selain mencakup kupasan mengenai hasil, juga mencakup penjelasan tentang arti dan manfaat penelitian, dikaitkan dengan masalah yang akan dipecahkan. Satuan ukuran baik di dalam teks maupun pada tabel dan ilustrasi menggunakan sistem metrik.
   g. Kesimpulan, merupakan rangkuman akhir dari naskah.
   h. Ucapan Terima Kasih, dapat ditulis jika dianggap perlu.
   i. Daftar Pustaka, menyajikan semua pustaka yang dikutip (sebaiknya 80% merupakan tulisan primer dan terbitan 10 tahun terakhir). Kutipan tak boleh berasal dari naskah yang tidak diterbitkan seperti petunjuk praktikum, laporan dan *down load* dari internet, kecuali skripsi, tesis, dan disertasi. *Down load* diperkenankan bila berasal dari publikasi majalah elektronik. Kutipan di dalam teks menggunakan nama belakang penulis dan tahun terbit. Pustaka di dalam daftar disusun secara alfabetis menurut nama penulis. Di belakang tahun, baik di dalam kutipan teks maupun di dalam daftar dapat dibubuhi huruf kecil (a, b, c), jika penulis yang sama menulis lebih dari satu artikel dalam tahun yang sama. Nama penulis, baik di dalam kutipan teks maupun di dalam daftar menggunakan huruf KAPITAL. Nama penulis yang lebih dari 2 orang, di dalam kutipan teks menggunakan *et al.*, di belakang nama pertama, sedangkan di dalam daftar pustaka harus ditulis lengkap.

Contoh Penulisan Daftar Pustaka:

BHANJA, S.K., C. ANJALI DEVI, A.K. PANDA and G.S. SUNDER. 2009. Effect of post hatch feed deprivation on yolk-sac utilization and performance of young broiler chickens. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 22: 1174-1179.

KRISNAN, R. 2008. Kombinasi Penggunaan Probiotik Mikroba Rumen dengan Suplemen Katalitik pada Pakan Domba. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

PRESTON, R. and R. LENG. 2008. Adapting livestock production systems to climate change – tropical zones. Proc. Int. Conf. Livest. Global Climate Change. Hammamet, Tumisia, 17-20 May, 2008. British Society of Animal Science. Midlothian, United Kingdom. pp. 56-60.

PUSPASARI, C.E., WIHANDOYO dan SUMARTONO. 2008. Pengaruh penambahan material penyerap air pada tinja ayam broiler terhadap populasi larva lalat rumah (*Musca domestica* L.). Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 21 – 22 Agustus 2007. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 856-860

VINCENT, B. 2005. Farming Meat Goats: Breeding, Production and Marketing.- Landlinks Press, Collingwood VIC, Australia.

WERTELECKI, T. 2006. The changes of yolk-sac composition in chickens fed prestarter mixtures composed according to different nutrition recommendation. *Elect. J. Polish Agric. Univ.* http://www.ejpau.media.pl/volume9/issue4/art-1.html Volume 9 Issue 4

WESTON, R.H. 2002. Constraints on feed intake by grazing sheep. *In*: Sheep Nutrition. M. FREER and H. DOVE (Eds). CABI Pbl. Canberra, Australia. pp. 27-49.

3. Apabila naskah ditulis lebih dari 1 penulis, perlu ada persetujuan dari penulis lainnya dengan membubuhkan paraf di belakang nama masing-masing
4. Naskah lengkap dikirim dalam rangkap 3 (tiga) kepada Dewan Redaksi JITV beserta file elektroniknya.

JURNAL ILMU TERNAK DAN VETERINER

Volume 14, Nomor 1, Maret 2009 ISSN 0853-7380

DAFTAR ISI