Hayati, Desember 2003, hlm. 146-150
ISSN 0854-8587

Vol. 10, No. 4

Kualitas Semen Beku Kambing Saanen pada Berbagai Jenis Pengencer Semen

Frozen Semen Quality of Saanen Bucks in Various Diluent

SURYA NATAL TAMBING[1‡*], MOZES R. TOELIHERE[1], TUTY L. YUSUF[1], BAMBANG PURWANTARA[1], I KETUT SUTAMA[2], POLMER Z. SITUMORANG[2]

[1]*FKH, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680*
[2]*Balai Penelitian Ternak, Kotak Pos 221, Bogor 16002*

Diterima 11 Juli 2003/Disetujui 16 Oktober 2003

The objective of this research was to determine the optimal diluent in maintaining frozen semen quality of Saanen bucks. The kind of diluent used were tris-fructose-egg yolk, tris-lactose-egg yolk, lactose-egg yolk, and citrate-lactose-egg yolk. Semen was collected once a week by artificial vagina. Duncan test were used to evaluate the difference between treatments. Results indicated that the mean percentage of motility, live sperm, sperm with intact plasma membrane and intact acrosomal cap were not difference between treatments ($P > 0.05$) at pre-freezing. After freezing, the mean percentage of motility, live sperm, sperm with intact plasma membrane and intact acrosomal cap in tris-lactose-egg yolk diluent were higher ($P < 0.05$) than tris-fructose-egg yolk, lactose-egg yolk or citrate-lactose-egg yolk. Decreasing percentage of motility, live sperm, sperm with intact plasma membrane and intact acrosomal cap from dilution until thawing in tris-lactose-egg yolk diluent were lower than tris-fructose-egg yolk, lactose-egg yolk or citrate-lactose-egg yolk. Therefore, addition of tris-lactose-egg yolk could preserve good motility, live sperm, sperm with intact plasma membrane and intact acrosomal cap Saanen bucks semen during semen cryopreservation under low temperature.

PENDAHULUAN

Upaya untuk meningkatkan produksi susu kambing lokal dapat ditempuh melalui program persilangan dengan kambing bergenetika unggul dalam produksi susu, seperti kambing Saanen. Jenis kambing ini berukuran besar dan menghasilkan 2695.3 kg susu selama satu masa laktasi (Anonim 2002). Metode pendekatan dalam program persilangan ini ialah menerapkan teknologi inseminasi buatan (IB). Penerapan teknologi IB pada kambing hingga saat ini masih belum sesuai dengan yang diharapkan dan ini ditandai dengan angka kebuntingan rendah, terutama apabila menggunakan semen beku. Berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa angka kebuntingan pada kambing yang diperoleh dengan menggunakan semen beku bervariasi dari 40-46% (Ritar & Salamon 1983; Ritar *et al.* 1990; Ritar & Ball 1993).

Kualitas semen beku rendah merupakan salah satu faktor penyebab rendahnya angka kebuntingan pada kambing. Selama proses pembuatan semen beku dari penampungan, pengenceran, ekuilibrasi, dan penyimpanan dalam wadah berisi N_2 cair mengalami serangkaian perubahan, yaitu perubahan suhu, perubahan tekanan osmotik, dan pembentukan serta pelarutan es pada lingkungan ekstraseluler (Watson 1995, 2000). Akibatnya terjadi kerusakan pada membran plasma dan akrosom, kerusakan pembungkus mitokondria dan aksonem, pelepasan berbagai enzim, penurunan lipoprotein dan asam amino, serta penurunan aktivitas proteolitik akrosom (Salamon & Maxwell 2000) yang menurunkan integritas fungsional, viabilitas dan kapasitas pembuahan spermatozoa.

Salah satu upaya yang ditempuh ialah menggunakan pengencer semen yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya selama proses kriopreservasi. Prinsip dasar pengencer semen harus mengandung unsur-unsur yang mirip sifat fisik dan kimia semen, tidak mengandung zat-zat yang meracuni sperma dan membatasi kemampuan fertilisasi spermatozoa. Standar baku pengencer semen kambing telah ada (Evans & Maxwell 1987), namun berbagai hasil penelitian menunjukkan keragaman hasil yang diperoleh (Deka & Rao 1987; Situmorang 1990; Azawi *et al.* 1993).

Penelitian ini bertujuan menguji pengencer semen terbaik yang dapat mempertahankan kualitas semen beku kambing Saanen.

BAHAN DAN METODE

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

‡Alamat kini: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sulawesi Selatan, Jalan P. Kemerdekaan Km. 17.5 Sudiang, Makassar 90242
*Penulis untuk korespondensi, Tel. +62-411-42030

Metode Kerja. Ada empat kriteria yang digunakan untuk menilai kualitas semen beku kambing Saanen, yaitu motilitas, daya hidup, dan keutuhan membran plasma serta tudung akrosom. Semen ditampung satu kali seminggu selama delapan minggu berturut-turut dengan menggunakan vagina buatan. Segera setelah penampungan, dilakukan evaluasi secara makroskopi (volume, warna, kekentalan, dan pH) dan mikroskopi (gerakan massa, konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase hidup, dan persentase abnormalitas).

Semen yang telah memenuhi syarat diencerkan dalam empat bagian sesuai dengan kelompok perlakuan, yaitu menggunakan tris-fruktosa-kuning telur, tris-laktosa-kuning telur, laktosa-kuning telur, dan sitrat-laktosa-kuning telur (Tabel 1). Jumlah larutan pengencer yang digunakan (dalam ml) ialah:

$$\frac{\text{volume semen} \times \text{\% motilitas} \times \text{konsentrasi sperma}}{\text{dosis IB}/0.25} - \text{volume semen}$$

Semen yang telah diencerkan dikemas dalam *ministraw* (sistem *Minitüb*) dan diekuilibrasi pada suhu 3-5°C selama empat jam dalam lemari pendingin. Proses pembekuan diawali dengan penempatan *Minitüb* pada rak 3-5 cm di atas permukaan N_2 cair selama 10-15 menit, kemudian minitüb disimpan dalam wadah berisi N_2 cair (suhu -196°C). Pencairan kembali semen beku dilakukan menggunakan air pada suhu 37°C selama kurang lebih 30 detik.

Pengamatan. Peubah kualitas semen beku yang diamati meliputi motilitas spermatozoa, spermatozoa hidup, keutuhan membran plasma serta tudung akrosom spermatozoa sebelum pembekuan (sesudah pengenceran dan ekuilibrasi) dan sesudah pembekuan (sesudah pencairan kembali). Perbedaan antarjenis pengencer untuk setiap peubah di tiap tahap pengamatan diuji dengan uji Duncan.

Motilitas spermatozoa yang bergerak ke depan (progresif) diukur menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Nilai yang diberikan mulai 0 persen bila tidak ada spermatozoa yang bergerak hingga 100 persen bila semua spermatozoa bergerak ke depan.

Spermatozoa hidup, membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Spermatozoa hidup ditandai oleh kepala transparan yakni tidak berwarna bila diwarnai dengan zat warna eosin (Toelihere 1985). Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai dengan ekor spermatozoa membengkok bila dipaparkan dengan larutan HOS-test (Jeyendran *et al.* 1984). Spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh ditandai dengan tudung akrosom (bagian ujung kepala spermatozoa) berwarna hitam bila dipaparkan dengan larutan formalin 1%-NaCl fisiologi (modifikasi metode Saacke & White 1972).

Tabel 1. Komposisi berbagai pengencer semen yang digunakan dalam penelitian

Bahan pengencer	Jenis pengencer			
	TFKT	TLKT	LKT	SLKT
Tris (tris (hidroksi metil) amino metan) (g)	2.96	2.96	-	-
Asam sitrat (g)	1.65	1.65	-	-
Natrium sitrat (g)	-	-	-	2.96
Fruktosa (g)	2.0	2.0	0.124	2.0
Laktosa (g)	-	1.08	9.3	1.08
Gliserol (g)	6.0	6.0	6.0	6.0
Kuning telur (ml)	20	20	20	20
Penisilin (IU/ml)	1000	1000	1000	1000
Streptomisin (μg/ml)	1000	1000	1000	1000
Aquabidest (ml) *ad.*	100	100	100	1000

TFKT: Tris-fruktosa-kuning telur, TLKT: Tris-laktosa-kuning telur, LKT: Laktosa-kuning telur, SLKT: Sitrat-laktosa-kuning telur

HASIL

Evaluasi Karakteristik Semen Segar. Pengamatan karakteristik semen segar (baik secara makroskopi maupun mikroskopi) ialah untuk menentukan dosis pengenceran semen dan kelayakan semen untuk diproses dalam pembuatan semen beku. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kuantitas dan kualitas semen segar kambing Saanen yang digunakan memenuhi persyaratan minimal yang telah ditetapkan untuk proses lebih lanjut, terutama dalam pembuatan semen beku (Tabel 2). Karakteristik semen segar kambing Saanen yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan yang dilaporkan oleh Karagiannidis *et al.* (2000) yaitu volume semen rata-rata 1.15 ml, konsentrasi spermatozoa 3.63 × 10^9 sel/ml, total spermatozoa per ejakulat 4.09 × 10^9 sel/ml, motilitas spermatozoa 64.40% dan abnormalitas spermatozoa 8.41%. Sebagai pembanding, volume semen kambing Peranakan Etawah rata-rata 1.08 ml, warna putih sampai krem, konsistensi kental, konsentrasi spermatozoa 2.80 × 10^9 sel/ml, pH 7.07, gerakan massa +++, motilitas 74.29%, hidup 83.43%, abnormalitas 9.57%, membran plasma utuh 81.45% dan tudung akrosom utuh 78.07% (Tambing *et al.* 2000).

Pengaruh Perlakuan terhadap Kualitas Semen. Pengaruh jenis pengencer semen belum menunjukkan perbedaan ($P > 0.05$) dalam motilitas spermatozoa, baik sesudah pengenceran maupun sesudah ekuilibrasi (Tabel 3). Sesudah pencairan kembali terjadi penurunan dan persentase motilitas spermatozoa dengan pengencer semen TLKT lebih tinggi ($P < 0.05$) dibandingkan dengan pengencer TFKT, LKT, dan SLKT. Tingkat penurunan motilitas spermatozoa dari pengenceran sampai pencairan kembali lebih rendah ($P < 0.05$) menggunakan pengencer semen TLKT (24.17%) dibandingkan pengencer semen TFKT (28.33%), pengencer semen LKT (30.00%) dan pengencer semen SLKT (32.08%), yang antar ketiganya tidak berbeda ($P > 0.05$).

Tabel 2. Karakteristik semen segar

Karakteristik	Nilai rataan	Persyaratan
Volume (ml)	1.13 ± 037	-
Warna	Krem	-
Konsistensi	Kental	-
Konsentrasi spermatozoa (x 106 sel/ml)	2900.38 ± 534.02	2000
Total spermatozoa/ejakulat (x 10^6)	3298.25 ± 1222.14	-
pH	7.13 ± 0.24	-
Gerakan massa	+++	+++
Motilitas (%)	72.50 ± 2.92	70
Hidup (%)	84.91 ± 2.88	≥ 80
Abnormalitas (%)	7.86 ± 2.32	< 15
Membran plasma utuh (%)	82.81 ± 3.67	-
Tudung akrosom utuh (%)	82.33 ± 4.10	-

++: Semen memiliki gelombang besar, banyak, gelap, tebel, dan aktif bagaikan gumpalan awan hitam pekat

Persentase hidup spermatozoa tidak dipengaruhi oleh jenis pengencer semen (P > 0.05) sesudah pengenceran dan sesudah ekuilibrasi (Tabel 4). Sesudah pencairan kembali, persentase hidup spermatozoa menggunakan pengencer semen TLKT lebih tinggi (P < 0.05) dibandingkan pengencer semen TFKT, LKT, dan SLKT dengan tingkat penurunan persentase hidup spermatozoa dari pengenceran sampai pencairan kembali (18.57%) lebih rendah (P < 0.05).

Hal yang sama terjadi dalam persentase keutuhan membran plasma spermatozoa (Tabel 5). Sesudah pencairan kembali, persentase membran plasma utuh spermatozoa pada pengencer semen TLKT lebih tinggi (P < 0.05) dibandingan menggunakan pengencer semen TFKT, LKT, dan SLKT. Demikian pula tingkat penurunan persentase membran plasma utuh spermatozoa dari pengenceran sampai pencairan kembali lebih rendah (P < 0.05) dengan pengencer semen TLKT (19.58%).

Pengaruh jenis pengencer semen terhadap keutuhan tudung akrosom spermatozoa mengikuti pola yang sama (Tabel 6). Sesudah pencairan kembali, persentase tudung akrosom utuh spermatozoa lebih tinggi (P < 0.05) menggunakan pengencer semen TLKT dibandingkan dengan pengencer semen TFKT, LKT, dan SLKT. Tingkat penurunan persentase tudung akrosom utuh spermatozoa dari pengenceran sampai pencairan kembali lebih rendah (P < 0.05) menggunakan pengencer semen TLKT (22.66%). Persentase tudung akrosom utuh spermatozoa sesudah pencairan kembali maupun tingkat penurunannya dari pengenceran sampai pencairan kembali tidak berbeda (P > 0.05) antar penggunaan pengencer semen TFKT dan LKT, tapi berbeda (P < 0.05) dengan pengencer semen SLKT.

PEMBAHASAN

Dari pengamatan persentase motilitas, hidup, membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa semen beku kambing Saanen membuktikan bahwa pengencer tris-laktosa-kuning telur lebih mampu melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat pengaruh perubahan suhu, perubahan tekanan osmotik dan pembentukan kristal-kristal es dalam lingkungan sel spermatozoa, dengan akibat kualitas kualitas semen lebih baik setelah pencairan kembali seperti yang dilaporkan oleh Singh *et al.* (1995, 1996) dan Kostaman *et al.* (2000).

Kelebihan pengencer semen tris-laktosa-kuning telur terkait dengan dosis dan komposisi bahan penyusunnya yang dapat menyediakan kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa dibandingkan ketiga pengencer semen yang lain. Komponen dasar pengencer semen yang baik harus mengandung substansi ion-ion untuk mempertahankan osmolaritas dan memproteksi medium, sumber lipoprotein untuk mencegah kejutan dingin, komponen krioprotektan untuk meminimalkan kerusakan akibat pembentukan kristal-kristal es, sumber energi dan bahan tambahan lainnya, yang kesemuanya terdapat dalam pengencer semen tris-laktosa-kuning telur.

Tabel 3. Rataan persentase motilitas spermatozoa dari penampungan sampai pengenceran kembali pada berbagai jenis pengencer semen

Tahapan pengamatan	Jenis pengencer semen			
	TFKT	TLKT	LKT	SLKT
Penampungan	72.31 ± 2.92			
Sesudah pengenceran	71.67 ± 2.58a	72.50 ± 2.74a	70.83 ± 2.04a	70.42 ± 2.46a
Sesudah ekulibrasi	61.67 ± 2.58a	62.50 ± 2.24a	61.67 ± 2.58a	60.00 ± 3.16a
Sesudah pencairan kembali	43.33 ± 2.58b	48.33 ± 2.58a	40.83 ± 2.04bc	38.33 ± 3.76c
Penurunan dari pengenceran sampai pencairan kembali	28.33 ± 2.58b	24.17 ± 3.76a	30.00 ± 0.00bc	32.08 ± 2.92c

TFKT: Tris-fruktosa-kuning telur, TLKT: Tris-laktosa-kuning telur, LKT: Laktosa-kuning telur, SLKT: Sitrat-laktosa-kuning telur. Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P < 0.05)

Tabel 4. Rataan persentase hidup spermatozoa dari penampungan sampai pencairan kembali pada berbagai jenis pengencer semen

Tahapan pengamatan	Jenis pengencer semen			
	TFKT	TLKT	LKT	SLKT
Penampungan	84.91 ± 2.88			
Sesudah pengenceran	77.95 ± 3.58a	76.87 ± 3.05a	78.30 ± 3.69a	76.37 ± 1.56a
Sesudah ekulibrasi	73.42 ± 4.00a	71.39 ± 3.92a	73.63 ± 3.87a	68.68 ± 4.85a
Sesudah pencairan kembali	50.71 ± 3.37b	58.31 ± 2.42a	50.63 ± 3.81b	47.32 ± 2.35b
Penurunan dari pengenceran sampai pencairan kembali	27.25 ± 4.50b	18.57 ± 3.07a	27.67 ± 2.70b	29.04 ± 2.83b

TFKT: Tris-fruktosa-kuning telur, TLKT: Tris-laktosa-kuning telur, LKT: Laktosa-kuning telur, SLKT: Sitrat-laktosa-kuning telur. Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P < 0.05)

Tabel 5. Rataan persentase membran plasma utuh spermatozoa dari penampungan sampai pencairan kembali pada berbagai jenis pengencer semen

Tahapan pengamatan	Jenis pengencer semen			
	TFKT	TLKT	LKT	SLKT
Penampungan	82.81 ± 3.67			
Sesudah pengenceran	76.59 ± 6.16a	78.19 ± 5.53a	79.20 ± 5.69a	76.49 ± 3.26a
Sesudah ekulibrasi	68.42 ± 3.58a	70.19 ± 3.99a	70.31 ± 3.96a	67.74 ± 2.83a
Sesudah pencairan kembali	50.05 ± 3.46b	58.61 ± 3.96a	49.25 ± 3.99b	49.05 ± 3.40b
Penurunan dari pengenceran sampai pencairan kembali	26.54 ± 4.10b	19.58 ± 4.23a	29.94 ± 4.75b	27.44 ± 1.79b

TFKT: Tris-fruktosa-kuning telur, TLKT: Tris-laktosa-kuning telur, LKT: Laktosa-kuning telur, SLKT: Sitrat-laktosa-kuning telur. Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P < 0.05)

Tabel 6. Rataan persentase tudung akrosom utuh spermatozoa dari penampungan sampai pencairan kembali pada berbagai pengencer semen

Tahapan pengamatan	Jenis pengencer semen			
	TFKT	TLKT	LKT	SLKT
Penampungan	82.33 ± 4.10			
Sesudah pengenceran	77.19 ± 3.51a	78.14 ± 4.44a	77.87 ± 2.24a	77.19 ± 3.51a
Sesudah ekulibrasi	71.62 ± 1.99a	72.22 ± 2.39a	69.95 ± 3.63a	69.20 ± 1.80a
Sesudah pencairan kembali	49.41 ± 2.37b	55.48 ± 3.81a	48.83 ± 4.54bc	45.03 ± 1.25c
Penurunan dari pengenceran sampai pencairan kembali	27.78 ± 4.96b	22.66 ± 4.29a	29.94 ± 4.75b	32.16 ± 3.30c

TFKT: Tris-fruktosa-kuning telur, TLKT: Tris-laktosa-kuning telur, LKT: Laktosa-kuning telur, SLKT: Sitrat-laktosa-kuning telur. Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0.05$)

Kelebihan tris (dan sitrat) ialah berkapasitas penyangga yang baik untuk mempertahankan osmolaritas karena mengandung garam dan asam amino. Mathew *et al.* (1984) mengatakan tris sebagai penyangga amine telah digunakan secara efektif untuk mempertahankan pH secara fisiologik, sedangkan fruktosa berperan menghasilkan energi berupa ATP (mengandung fosfat anorganik) untuk kontraksi fibril-fibril yang dapat menghasilkan gerak spermatozoa.

Penambahan gliserol dalam pengencer semen tris-laktosa-kuning telur dimaksudkan untuk meminimalkan kerusakan akibat pembentukan kristal-kristal es intraseluler. Sebagai agen krioprotektan intraseluler, gliserol akan berdifusi, menembus dan memasuki spermatozoa dan akan digunakan spermatozoa untuk aktivitas metabolisme oksidatif, menggantikan sebagian air yang bebas dan mendesak keluar elektrolit intraseluler dan mengurangi daya merusaknya terhadap spermatozoa dengan mengubah kristal-kristal es yang terbentuk (Toelihere 1985). Selanjutnya di dalam membran plasma, gliserol akan mengikat gugus pusat dari fosfolipid sehingga menurunkan ketidakstabilan membran dan berinteraksi dengan membran untuk mengikat protein dan glikoprotein sehingga menyebabkan partikel-partikel intra membran terkumpul (Parks & Graham 1992).

Laktosa yang ada dalam pengencer semen mempunyai peranan sebagai krioprotektan ekstraseluler untuk membantu pengeluaran air dari dalam sel (dehidrasi) sehingga mengurangi kemampuan air untuk membentuk kristal-kristal es, penyangga osmotik untuk menghindari pembengkakan sel, dan menstabilkan membran sel. Laktosa ditemukan lebih efektif dalam menurunkan suhu kristalisasi selama pembekuan dibandingkan golongan monosakarida sehingga pembentukan kristal es diminimalkan (Salamon & Maxwell 2000). Viswanath dan Shannon (2000) mengatakan bahwa krioprotektan ekstraseluler dari golongan karbohidrat (seperti laktosa) mempunyai kemampuan menggantikan molekul air secara normal dalam kelompok polar *hydrated* dan sifat-sifat ini akan membantu menstabilkan membran sel selama masa transisi melalui zone temperatur kritis, serta mengubah sifat mekanik dari pengencer melalui peningkatan viskositas. Selanjutnya Aisen *et al.* (2002) mengatakan golongan disakarida (seperti laktosa) berperan menggantikan air pada permukaan membran-pengencer, serta dapat berinteraksi langsung dengan gugus pusat fosfolipid polar selama pembekuan, dan menurunkan interaksi ikatan van der Waals diantara rantai karbon.

Khasiat kuning telur dalam pengencer semen tris-laktosa-kuning telur terletak pada fraksi *low density lipoprotein* (LDL), khususnya fosfolipid yang dikandungnya dan telah diidentifikasi sebagai komponen efektif dalam melindungi spermatozoa terhadap pengaruh kejutan dingin, sedangkan antibiotika ditambahkan dalam pengencer semen dimaksudkan untuk menghindari kuman-kuman mengontaminasi sperma dan mengontrol mikroorganisme yang ada dalam semen yang disimpan pada suhu tinggi. Toelihere (1985) mengatakan bahwa antibiotika efektif menghambat pertumbuhan kuman di dalam semen yang diencerkan.

Efek negatif yang ditimbulkan bila terjadi perubahan tekanan osmotik pengencer ke arah hiper atau hipotonik, yaitu merusak membran plasma sel spermatozoa sehingga proses metabolisme spermatozoa terganggu dan pada akhirnya akan menurunkan motilitas spermatozoa. Adanya perbedaan tekanan osmotik di dalam dan di luar sel spermatozoa menyebabkan air akan mengalir ke daerah yang bertekanan osmotik tinggi, dan akan menimbulkan gejala *osmotic-shock* pada spermatozoa. Gejala *osmotic-shock* memainkan peranan yang sangat penting terhadap kerusakan membran sel spermatozoa selama proses pembekuan semen (Parks & Graham 1992). Tanda-tanda adanya *osmotic-shock* adalah peningkatan kejadian spermatozoa dengan ekor melingkar, menurunkan viabilitas dan integritas membran plasma spermatozoa (Correa *et al.* 1996). Hal inilah yang menyebabkan kualitas semen kambing Saanen setelah pencairan kembali pada pengencer tris-fruktosa-kuning telur, laktosa-kuning telur dan sitrat-laktosa-kuning telur menjadi rendah. Hal yang sama dilaporkan oleh Situmorang (1990) dan Azawi *et al.* (1993) menggunakan pengencer laktosa-kuning telur dan sitrat-kuning telur sebagai pengencer semen kambing menghasilkan kualitas semen rendah sesudah pencairan kembali.

Pengencer semen tris-laktosa-kuning telur ternyata efektif melindungi spermatozoa dari kerusakan ultrastruktural, biokimia maupun fungsional selama proses kriopreservasi untuk mempertahankan motilitas, daya hidup, membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa semen beku kambing Saanen.

DAFTAR PUSTAKA

Aisen EG, Medina VH, Venturino A. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalosa concentrations. *Theriogenology* 57:1801-1808.

Anonim. 2002. American dairy goat breed description. http://www.goatwb.com/discover/dairy/saanen.shtml. [19 Jun 2002].

Azawi OI, Al-Dahash SYA, Juma FT. 1993. Effect of different diluents on Shami goat semen. *Small Rum Res* 9:347-352.

Correa JR, Rodriquez MC, Patterson DJ, Zavos PM. 1996. Thawing and processing of cryopreserved bovine spermatozoa at various temperatures and their effects on sperm viability, osmotic shock and sperm membrane functional integrity. *Theriogenology* 46:413-420.

Deka BC, Rao AR. 1987. Effect of extenders and thawing methods on post thawing preservation of goat semen. *Indian Vet J* 64:591-594.

Evans G, Maxwell WMC. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. London: Butterworths.

Jeyendran RS, Van der Van HH, Perez PM, Crabo BG, Zaneveld LJD. 1984. Development of an assay to assessthe functional integrity of the human sperm membran and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil* 70:219-228.

Karagiannidis A, Varsakeli S, Karatzas G. 2000. Characteristics and seasonal variation in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology* 53:1285-1293.

Kostaman T, Sutama IK, Situmorang P, Budiarsana IGM. 2000. Pengaruh jenis pengencer dan waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*. Bogor, 18-19 Sep 2000. hlm 156-163.

Mathew J, Raja CKSV, Nair KP. 1984. Preservation of buck semen Indonesia tris yolk diluent. *Indian Vet J* 61:964-968.

Parks JE, Graham JK. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology* 38:209-222.

Ritar AJ, Ball PD. 1993. The effect of freeze-thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. *Anim Reprod Sci* 31:249-263.

Ritar AJ, Ball PD, O'May PJ. 1990. Artificial insemination of Cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age females. *Reprod Fertil Dev* 2:377-384.

Ritar AJ, Salamon S. 1983. Fertility of fresh and frozen-thawed semen of the Angora goat. *Aust J Biol Sci* 36:49-59.

Saacke RG, White JM. 1972. Semen quality tests and their relationship to fertility. Di dalam: *Proceeding 4th Tech. Conf. on AI and Reprod., NAAB*. hlm 22-27.

Salamon S, Maxwell WMC. 2000. Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci* 62:77-111.

Singh MP, Sinha AK, Singh BK. 1995. Effect cryoprotectants on certain seminals attributes and on the fertility of buck spermatozoa. *Theriogenology* 43:1047-1053.

Singh MP, Sinha AK, Singh BK, Prasad RL. 1996. Effect of cryoprotectants on release of various enzymes from buck spermatozoa during freezing. *Theriogenology* 45:405-416.

Situmorang P. 1990. The effect of diluent on the viability of washed and unwashed goat spermatozoa. *Ilmu dan Peternakan* 4:270-273.

Tambing SN, Toelihere MR, Yusuf TL, Sutama IK. 2000. Penagruh gliserol dalam pengencer Tris terhadap kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah. *JITV* 5:84-91.

Toelihere MR. 1985. *Insemination Buatan pada Ternak*. Bandung: Angkasa.

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

Watson PF. 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and assesment of their post-thawing function. *Reprod Fertil Dev* 7:871-891.

Watson PF. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 60-61:481-492.