OPTIMASI KUALITAS SEMEN BEKU DOMBA GARUT MELALUI PENAMBAHAN TREHALOSA KE DALAM PENGENCER KUNING TELUR

(An Optimation of Garut RamsFrozen Semen Quality by Addition of Threhalose in the Egg Yolk Extender)

Herdis[1], M. Rizal[2], A. Boediono[3], R. I. Arifiantini[3], T. Saili[4], A. S. Aku[4], dan Yulnawati[5]

[1] Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Jakarta

[2] Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Pattimura, Ambon

[3]Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

[4]Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Haluoleo, Kendari

[5]Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan trehalosa terhadap kualitas semen beku domba Garut. Semen dikoleksi seminggu sekali menggunakan vagina buatan dari enam ekor domba Garut jantan dewasa kelamin. Semen diekuilibrasi pada suhu 5°C selana empat jam, semen kemudian dibekukan dan disimpan dalam nitrogen cair. Pencairan kembali (*thawing*) dilakukan pada suhu 37°C selama 30 detik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase spermatozoa motil pada penambahan trehalosa 0,2% (53,75 ± 4,79%) dan 0,4% (50,83 ± 4,92%) lebih tinggi dan berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan kontrol (40,83 ± 3,76%). Pada parameter persentase hidup dan persentase membran plasma utuh spermatozoa menunjukkan penambahan trehalosa 0,2% (66,00 ± 5,51% and 59,50 ± 4,73%) dan trehalosa 0,4% (65,67 ± 3,44% and 57,75 ± 3,77%) berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan kontrol (52,67 ± 1,51% and 49,40 ± 2,19%). Penelitian menyimpulkan bahwa penambahan trehalosa 0,2% merupakan dosis optimal pada proses pembekuan semen domba Garut.

Kata kunci: trehalosa, semen beku, domba Garut

ABSTRACT

The research was carried out to observe the effect of trehalose addition on the quality of frozen semen of Garut rams. Semen was collected once a week using artificial vagina from six mature Garut rams. Semen was equilibrated at 5°C for four hours, was frozen and was stored in liquid nitrogen. The thawing was carried out at 37°C for 30 seconds. The results showed that the percentages of progressive motile sperm by addition of trehalose 0.2% (53.75 ± 4.79%) and 0.4% (50.83 ± 4.92%) were significantly different (P<0.05) than control (40.83 ± 3.76%). The percentages of viable sperm and intact plasma membrane by addition of trehalose 0.2% (66.00 ± 5.51% and 59.50 ± 4.73%) and trehalose 0.4% (65.67 ± 3.44% and 57.75 ± 3.77%) were significantly different (P<0.05) than control (52.67 ± 1.51% and 49.40 ± 2.19%). In conclusion, the addition of trehalose 0.2% is the optimum dose to improve the quality frozen semen in Garut rams.

Keywords: trehalose, frozen semen, Garut rams

PENDAHULUAN

Melalui teknologi pengolahan semen, potensi domba pejantan unggul dapat dioptimalkan karena semen yang diperoleh dari pejantan unggul dapat diolah sehingga lebih banyak jumlah domba betina yang dapat dikawinkan. Penelitian tentang pengencer semen untuk pengolahan semen, khususnya untuk semen domba Garut, masih terus perlu dikembangkan. Sebagai bahan pengencer semen, tris *hidroxymethil aminomethan* ($C_4H_{11}NO_3$) telah digunakan sebagai komponen dasar pengencer semen pada sapi, domba dan babi (Rizal *et al.*, 2003; Aisen *et al.*, 2002; El-Alamy *et al.*, 2001).

Semen merupakan cairan yang mengandung spermatozoa dan plasma semen yang dihasilkan oleh kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap. Pada proses pembekuan semen, masalah yang sering timbul adalah pengaruh kejutan dingin *(cold shock)* terhadap sel yang dibekukan dan perubahan kondisi intra-seluler akibat pengeluaran air yang berhubungan dengan pembentukkan kristal-kristal es.

Salah satu usaha untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan cara pemberian zat krioprotektan ke dalam medium pengencer semen sehingga hanya sedikit spermatozoa yang rusak selama proses pembekuan. Krioprotektan merupakan suatu zat kimia non elektrolit yang berfungsi mereduksi kematian spermatozoa pada proses pembekuan, baik yang berupa efek larutan maupun pembentukan kristal es ekstraseluler dan intraseluler sehingga dapat menjaga viabilitas sel setelah pembekuan.

Terdapat dua kelompok krioprotektan yang apabila dilihat dari sifat fisika kimia dan membran selnya yaitu krioprotektan intraseluler dan ekstraseluler. Krioprotektan intraseluler yaitu krioprotektan yang dapat keluar masuk membran sel dan biasanya memiliki ukuran molekul kecil seperti *gliserol, dimethylsulfosida (DMSO), etilene glikol (EG)* dan *2 propanediol.* Krioprotektan ekstraseluler biasanya mempunyai molekul besar sehingga tidak menembus membran sel seperti monosakarida, disakarida, protein, lipoprotein, kuning telur, serum darah dan susu (Feradis, 1999).

Menurut Rizal *et al.* (2003) gula baik monosakarida maupun disakarida dan polisakarida dapat berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa dan dapat digunakan sebagai krioprotektan ekstraseluler yang berperan dalam melindungi spermatozoa selama proses pembekuan. Selain itu dalam larutan pengencer semen, gula berfungsi mempertahankan tekanan osmosis larutan pengencer yang sangat penting dalam mempertahankan daya hidup spermatozoa (Yildiz *et al.*, 2000). Beberapa jenis gula telah digunakan dalam usaha memperbaiki kualitas semen beku domba, seperti glukosa (Molinia *et al.*, 1993), laktosa (Rizal *et al.*, 2003) dan maltosa (Herdis, 2005).

Disakarida ($C_{12}H_{22}O_{11}$) terdiri dari dua monosakarida yang bergabung dengan mengeluarkan satu molekul air. Sebagai gula disakarida, trehalosa banyak ditemukan dalam jamur dan rumput laut. Trehalosa telah diteliti sebagai krioprotektan esktraseluler pada pembekuan spermatozoa sapi (Woelders *et al.*, 1997), spermatozoa anjing (Yildiz *et al.*, 2000) dan kambing (Aboagla dan Terada, 2003).

Pada penelitian ini dilakukan penambahan berbagai dosis trehalosa ke dalam pengencer Tris-kuning telur pada proses pembekuan semen domba Garut. Hasil penelitian diharapkan bermanfaat dalam membantu mengembangkan populasi dan potensi domba Garut sebagai plasma nutfah domba Indonesia.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Teknologi Budidaya Peternakan Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Budidaya Pertanian Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) dan peternakan domba Garut Lesan Putra di kecamatan Ciomas kotamadya Bogor.

Bahan Penelitian

Ternak percobaan yang digunakan terdiri atas enam ekor domba Garut jantan unggul sebagai sumber penghasil semen. Domba Garut jantan berumur sekitar 4 tahun dengan berat badan sekitar 80 kg. Domba Garut jantan dikandangkan dalam kandang individu. Pakan yang diberikan berupa hijauan rumput segar sekitar 8 kg per ekor per hari, sedangkan konsentrat diberikan sekitar 0,8 kg per ekor per hari.

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari

semen domba ga
telur dengan ko
(*hydroxymethyl*) a
K27219882003), 1
Germany, cat. K2
(Merck, Germany,
100.000 IU penisil
50 mg streptomisi
A), akuabidesti
Indonesia).
Bahan lai
telur ayam ras,
3.9K19690004)
hipoosmotik, tr
Germany, cat. K
Germany, cat. 5C
Germany), KY
Indonesia), nitrog
Peralatan
adalah timbanga
tabung, termome
pipet tetes, ge
perlengkapannya
gelas penutup, h
waterbath, lemar
cair dan lain-lain.
Metode Penelitia
Semen di
menggunakan v
diperoleh kemud
dan mikroskopis.
pemeriksaan v
Pemeriksaan m
gerakan massa, k
persentase motil
membran plasma
akrosom utuh (T
Setelah
memenuhi sya
perlakuan yang d
1. Pengencer Tr
Trehalosa (T_0).
2. Pengencer Tri
0,2% ($T_{0,2}$).
3. Pengencer Tri
0,4% ($T_{0,4}$).
Setelah

semen domba garut, pengencer semen tris-kuning telur dengan komposisi pengencer : 2,42 g tris (*hydroxymethyl*) aminomethan (Merck, Germany, cat. K27219882003), 1,28 g asam sitrat monohidrat (Merck, Germany, cat. K22939944632), 2,16 g D(-) fruktosa (Merck, Germany, cat. K27917123038), gliserol 5%, 100.000 IU penisilin-G (Meiji, Japan, cat. APG 0598 J), 50 mg streptomisin sulfat (Meiji, Japan, cat. SSL 1095 A), akuabidestilata ad 100 ml (Supracointra, Indonesia).

Bahan lain yang digunakan adalah kuning telur ayam ras, NaCl (Merck, Germany, cat. 3.9K19690004) fisiologis, NaCl 3%, larutan hipoosmotik, trehalosa, formaldehida (Merck, Germany, cat. K25421403828), eosin B (Merck, Germany, cat. 509 K5003834), negrosin (Merck, Germany), KY jelly (Johnson and Johnson, Indonesia), nitrogen cair, alkohol dan lain-lain.

Peralatan yang digunakan pada percobaan adalah timbangan mikro, tabung reaksi, rak tempat tabung, termometer, gelas piala, gelas erlenmeyer, pipet tetes, gelas ukur, vagina buatan dan perlengkapannya, mikroskop cahaya, gelas objek, gelas penutup, haemositometer, pH meter, bunsen, *waterbath*, lemari es, *styrofoam*, kontainer nitrogen cair dan lain-lain.

Metode Penelitian

Semen ditampung sekali seminggu dengan menggunakan vagina buatan. Semen segar yang diperoleh kemudian dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi pemeriksaan volume, warna dan kekentalan. Pemeriksaan mikroskopis meliputi pemeriksaan gerakan massa, konsentrasi, morfologi spermatozoa, persentase motilitas, persentase hidup, persentase membran plasma utuh (MPU) dan persentase tudung akrosom utuh (TAU).

Setelah dievaluasi, semen segar yang memenuhi syarat diencerkan sesuai dengan perlakuan yang diberikan yakni :

1. Pengencer Tris kuning telur tanpa penambahan Trehalosa (T_0).
2. Pengencer Tris kuning telur ditambah Trehalosa 0,2% ($T_{0,2}$).
3. Pengencer Tris kuning telur ditambah Trehalosa 0,4% ($T_{0,4}$).

Setelah diencerkan secara merata, sampel dikemas ke dalam *straw* yang berukuran 0,25 ml. Proses ekuilibrasi dilakukan dengan menyimpan *straw* yang berisi semen di dalam lemari es dengan suhu mendekati 5°C selama 4 jam. Pembekuan semen dilakukan dengan menempatkan *straw* pada rak di dalam uap nitrogen cair sekitar 10 cm diatas permukaan nitrogen cair selama 15 menit. Pencairan kembali (*thawing*) dilakukan dengan memasukan *straw* pada air yang bersuhu 37°C selama 30 detik.

Guna mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kualitas semen beku, dilakukan evaluasi pada tahap semen segar, tahap setelah pengenceran, tahap setelah ekuilibrasi dan tahap setelah pencairan kembali (*thawing*). Parameter yang diukur untuk setiap tahap evaluasi terdiri atas persentase motilitas (%M), persentase spermatozoa hidup (%H), persentase membran plasma utuh (%MPU) dan persentase tudung akrosom utuh spermatozoa (%TAU).

Persentase motilitas merupakan persentase spermatozoa yang bergerak progresif ke depan. Evaluasi dilakukan dengan cara mengamati spermatozoa pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Angka yang diberikan berkisar antara 0% hingga 100% dengan skala 5% (Toelihere 1993).

Persentase hidup dievaluasi dengan menggunakan pewarnaan eosin (Toelihere 1993). Spermatozoa yang hidup ditandai oleh kepala yang tidak menyerap zat warna, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala yang berwarna merah. Evaluasi dilakukan pada minimal 200 spermatozoa diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali.

Persentase TAU : evaluasi dilakukan terhadap keutuhan tudung akrosom spermatozoa yang ditandai oleh ujung kepala spermatozoa yang berwarna hitam tebal, apabila semen dipaparkan di dalam larutan NaCl fisiologik yang mengandung 1% formalin (Saacke dan White 1972). Evaluasi dilakukan pada minimal 200 spermatozoa diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali.

Persentase MPU : evaluasi dilakukan terhadap keutuhan membran plasma spermatozoa. Evaluasi dilakukan dengan menggunakan metode *hypoosmotic swelling test* (HOS Test). Pengujian dilakukan dengan cara mencampur 0,1 ml semen dengan 9,9 ml medium hipoosmotik. Medium hipoosmotik dibuat dengan melarutkan 0,3 g fruktosa dan 0,7 g Na Citrat ke dalam 100 ml aquabidestilata. Setelah dicampurkan, sediaan diinkubasi dalam *waterbath* bersuhu 37°C selama 30 menit (Rodriquez-gil *et al.* 1994). Evaluasi dilakukan dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 400 kali. Penilaian dilakukan dengan sistim skor 0% sampai 100%.

Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis ragam rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan enam kali ulangan. Perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Pada proses pembekuan semen, kualitas semen segar sangat menentukan kualitas semen setelah dibekukan. Guna dapat di proses lebih lanjut semen segar harus mempunyai persentase spermatozoa motil minimal 70% dan konsentrasi spermatozoa lebih dari 3000 juta spermatozoa/ml (Eiman *et al,*.2004). Tabel 1 menunjukkan secara lengkap karakteristik semen segar domba garut yang diperoleh pada penelitian. Persyaratan ini sangat penting sehingga sewaktu pencairan kembali (*thawing*) semen masih mengandung spermatozoa motil dan normal yang layak untuk diinseminasikan dengan fertilitas yang tinggi.

Hasil penelitian menunjukkan warna semen domba Garut yang ditampung berwarna putih susu dengan konsistensi kental. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian pada domba ekor tipis yang menyatakan bahwa warna semen domba putih susu dengan konsistensi kental.

Tabel 1. Rata-rata Karakteristik Semen Segar Domba Garut

Peubah	Ukuran
Volume (ml)	0,82 ± 0,16
Warna	Krem
Derajat keasaman (pH)	6,89 ± 0,11
Konsistensi (kekentalan)	Kental
Gerakan massa	+++
Konsentrasi (x 10^6/ml)	4368 ± 303
Persentase motilitas (%)	74,17 ± 2,24
Persentase hidup (%)	86,60 ± 2,30
Persentase abnormalitas (%)	2,67 ± 1,15
Persentase tudung akrosom utuh, TAU (%)	85,00 ± 2,00
Persentase membran plasma utuh, MPU (%)	85,00 ± 1,00

Evaluasi terhadap presentase motilitas diperoleh 74,17%. Hasil yang diperoleh lebih rendah dibandingkan hasil penelitian pada domba St. Croix yakni 81,67% (Feradis, 1999). Persentase motilitas yang diperoleh tidak berbeda dengan laporan peneliti sebelumnya 74,17% (Yulnawati, 2002) dan 75,00% (Kristanto, 2004).

Volume semen domba Garut rata-rata 0,82 ml, hasil ini tidak berbeda jauh dengan laporan sebelumnya yakni 0,84 ml (Yulnawati, 2002) dan 0,86 ml (Farhan, 2003). Hasil penelitian Rizal *et al.* (2003) melaporkan bahwa persentase motilitas, TAU, dan MPU semen segar domba Garut berturut-turut 76,67%; 84,50%; dan 87,33%. Menurut Inounu *et al.* (2001), volume semen domba garut rata-rata 0,76 ml (kisaran 0,3 – 2 ml), warna bening hingga krem, konsistensi encer hingga kental, gerakan massa rata-rata 2,81 (kisaran 1 – 4), persentase motilitas rata-rata 58,08% (kisaran 10 – 80%), persentase hidup rata-rata 64,32% (kisaran 19 – 95%), dan konsentrasi rata-rata 2.490,60 juta sperma/ml (kisaran 950 – 4.080 juta sperma/ml).

Berdasarkan nilai karakteristik semen yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa semen segar domba percobaan memiliki kualitas yang baik sehingga layak diproses lebih lanjut, baik dalam bentuk semen cair maupun semen beku.

Kualitas Sperma Setelah Proses Pengolahan Semen

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan kualitas spermatozoa domba garut yang nyata dari tahap pengenceran ke tahap setelah pencairan (*post thawing*). Keadaan ini menunjukkan bahwa selama proses pembekuan dan pencairan kembali terjadi pengrusakan kualitas spermatozoa yang ditandai oleh adanya penurunan persentase motilitas, persentase spermatozoa hidup, persentase tudung akrosom utuh dan persentase membran plasma utuh spermatozoa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan trehalosa ke dalam pengencer tris-kuning telur mampu meningkatkan kualitas semen beku domba garut. Analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan trehalosa berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap persentase motilitas, persentase spermatozoa hidup dan persentase MPU pada tahap setelah *thawing*. Pada parameter TAU, penambahan trehalosa cenderung meningkatkan keutuhan tudung akrosom namun tidak berbeda secara statistik. Tabel 2 menunjukkan rataan kualitas spermatozoa domba garut pada setiap tahap pembekuan.

Tabel 2. Rataan Kualitas Spermatozoa Domba Garut pada Setiap Tahap Pembekuan

Parameter	Perlakuan	Tahap Pengolahan Semen: Pasca Pengenceran	Pasca Ekuilibrasi	Pasca thawing
		....................%	....................%	....................%
Motilitas	Kontrol ($T_{0,2}$).	74,17± 2,04	65,83 ±4,92	40,83 ± 3,76^{a}
	Trehalosa 0,2 g/100 ml ($T_{0,2}$)	74,17± 2,04	66,67 ± 5,16	53,75 ± 4,79^{b}
	Trehalosa 0,4 g/100 ml ($T_{0,4}$)	74,17± 2,04	66,67 ± 5,16	50,83 ± 4,92^{b}
Persentase Hidup	Kontrol ($T_{0,2}$).	80,83± 1,94	76,67 ± 2,80	52,67 ± 1,51^{a}
	Trehalosa 0,2 g/100 ml ($T_{0,2}$)	81,83± 2,07	76,00 ± 3,16	66,00 ± 5,51^{b}
	Trehalosa 0,4 g/100 ml ($T_{0,4}$)	81,00± 1,41	76,17 ± 2,56	65,67 ± 3,44^{b}
Membran Plasma utuh	Kontrol ($T_{0,2}$).	81,67± 2,16	76,67 ± 2,42	49,40 ± 2,19^{a}
	Trehalosa 0,2 g/100 ml ($T_{0,2}$)	82,00± 1,87	76,67 ± 3,01	59,50 ± 4,73^{b}
	Trehalosa 0,4 g/100 ml ($T_{0,4}$)	80,17± 1,60	77,67 ± 1,63	57,75 ± 3,77^{b}
Tudung Akrosom Utuh	Kontrol ($T_{0,2}$).	80,50± 1,76	76,67 ± 4,08	54,60 ± 3,29^{a}
	Trehalosa 0,2 g/100 ml ($T_{0,2}$)	81,60± 1,67	77,33 ± 2,16	57,20 ± 6,76^{a}
	Trehalosa 0,4 g/100 ml ($T_{0,4}$)	81,50± 1,76	78,00 ± 2,10	61,40 ± 4,93^{a}

a,b,c,d dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P<0.05$).

Motilitas merupakan kemampuan gerak maju individu spermatozoa di dalam lingkungan zat cair. Pergerakan ini penting dalam membantu spermatozoa menembus sel-sel pelindung yang mengelilingi sel telur, melewati mukosa pada serviks dan masuk ke dalam uterus saat di inseminasi. Hasil penelitian menunjukkan pada tahap setelah *thawing*, rata-rata persentase motilitas pada perlakuan trehalosa 0,2% dan 0,4% (53,75% dan 50,83%) lebih tinggi berbeda nyata ($P<0,05$) dibandingkan perlakuan kontrol (40,83%). Hasil ini menunjukkan bahwa trehalosa yang ditambahkan pada pengencer semen tris terbukti berfungsi sebagai sumber energi. Sebagai sumber energi, disakarida termasuk trehalosa akan dimetabolisir melalui jalur glikolisis atau dilanjutkan dengan reaksi asam trikarboksilat (siklus Krebs), sehingga dihasilkan energi berupa ATP yang akan dimanfaatkan oleh sperma dalam pergerakan motilitas (Rizal, 2005).

Penelitian membuktikan trehalosa dapat berfungsi baik sebagai krioprotektan ekstraseluler pada proses pembekuan semen beku domba garut. Keadaan ini ditandai dengan lebih tingginya nilai persentase MPU pada perlakuan trehalosa 0,2% dan 0,4% (59,50% dan 57,75%) berbeda nyata ($P<0,05$) dibandingkan kontrol (49,40%). Hasil yang diperoleh pada penelitian mendukung hasil penelitian penggunaan gula sebagai krioprotektan ekstraseluler yang dilaporkan pada semen babi dengan penambahan 184,96 mM glukosa (de los Reyes, 2000), pada semen domba garut dengan penambahan 60 mM laktosa (Rizal *et al.*, 2003) dan 1,2% maltosa (Herdis, 2005) serta penambahan trehalosa pada semen beku anjing (Yildiz *et al.*, 2000) dan kambing (Aboagla dan Terada, 2003).

Menurut Rizal (2005), sebagai krioprotektan ekstraseluler gula disakarida membantu pengeluaran air dari dalam sel sehingga mengurangi pembentukan kristal-kristal es intraseluler. Gula disakarida juga dapat mengurangi kerusakan membran plasma sel spermatozoa selama proses pengolahan semen, terutama pada periode-periode kritis yakni saat pembekuan dan *thawing*. Menurut Salamon dan Maxwell (2000), laktosa sebagai gula disakarida lebih efektif dalam menurunkan suhu kristalisasi selama pembekuan semen dibandingkan dengan golongan monosakarida sehingga pembentukan kristal es dapat diminimumkan. Selanjutnya dinyatakan bahwa laktosa yang membeku berbentuk seperti kaca (*glass*) yang tidak tajam, sehingga tidak merusak membran plasma sel secara mekanik. Selain itu laktosa dapat menjaga keseimbangan osmotik ekstra dan intraseluler, mengurangi toksisitas kimia, pemasukan air dan gliserol yang berlebihan ke dalam sel.

Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses metabolisme dan berhubungan dengan motilitas serta daya hidup spermatozoa yang dihasilkan.Metabolisme akan berlangsung dengan dengan baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh, sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas masuk dan keluar dari sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Hal ini terjadi karena di dalam membran plasma sel terdapat banyak makromolekul seperti protein, lipoprotein, glikoprotein, dan lain-lain yang dapat berfungsi sebagai enzim, reseptor, saluran, atau pembawa (*carrier*). Makromolekul-makromolekul ini yang memfasilitasi lalu lintas masuk dan keluar dari sel seluruh substrat dan elektrolit tersebut. Substrat dan elektrolit harus difasilitasi karena mereka tidak dapat menembus secara difusi bebas membran plasma sel sperma yang bersifat semipermeabel. Selain itu, membran plasma juga berfungsi melindungi organel-organel yang terdapat di dalam sel dari perusakan secara mekanik, termasuk vesikel akrosom yang berada tepat di bawah membran plasma sel di daerah ujung kepala sperma (Rizal, 2005).

Hasil yang diperoleh pada penelitian sesuai dengan pendapat Yildiz *et al.* (2000) yang menyatakan kombinasi monosakarida dan disakarida dengan konsentrasi yang sesuai dapat memberikan perlindungan yang lebih baik dibandingkan penggunaan monosakarida atau disakarida secara tersendiri. Dalam penelitian yang dilakukan monosakarida yang digunakan adalah fruktosa sedangkan disakarida yang digunakan adalah maltosa.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan :

1. Penambahan trehalosa 0,2% ke dalam pengencer Tris-kuning telur 20% mampu meningkatkan kualitas semen beku domba Garut.
2. Trehalosa terbukti dapat digunakan sebagai sumber energi dan krioprotektan ektraseluler pada proses pembekuan semen domba Garut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Jakarta dan peternakan domba "Lesan Putra" PT. Sarbi Moerhani Lestari, Ciomas, Bogor atas dukungan dana, hewan percobaan, dan fasilitas-fasilitas pendukung lainnya sehingga penelitian ini dapat berlangsung dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Aboagla, E.M.E. and T. Terada. 2003. Trehalose-enhanced fluidity of the goat sperm membrane and its protection during freezing. Biol. Reprod. (*In Press*).

Aisen, E.G., V.H
Cryopres
ram froz
concentr
1808.

de los Reyes, M.,
C. Barros
spermato
permeabl
Internat
Reproduc
p. 161. A

Eiman M., E. Ab
egg yoll
cryopres
spermatoz

El-Alamy M.A. ar
spermatoz
multiple s
65:245-25

Farhan. 2003.
Alternatif
Fakultas P
Bogor.

Feradis. 1999,
Pengence
Sinkronisa
Buatan Do
Program
Bogor.

Herdis. 2005. Opt
Aplikasi Te
Garut (*Ovi*
Pascasarjan

Inounu, I., N. Hid
Hastono, E
Pengaruh
terhadap p
domba l
pengamata

t. Substrat dan
eka tidak dapat
ıran plasma sel
el. Selain itu,
ıdungi organel-
dari perusakan
akrosom yang
na sel di daerah

enelitian sesuai
ang menyatakan
ıkarida dengan
memberikan
dibandingkan
sakarida secara
ang dilakukan
dalah fruktosa
unakan adalah

lakukan dapat

lalam pengencer
ı meningkatkan
it.
n sebagai sumber
luler pada proses

SIH

kasih pada Badan
i (BPPT), Jakarta
'utra" PT. Sarbi
r atas dukungan
ısilitas-fasilitas
elitian ini dapat

A

:003. Trehalose-
sperm membrane
freezing. Biol.

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.

de los Reyes, M., L. Saenz, L. Lapiere, J. Crosby, and C. Barros. 2000. In vitro evaluation of boar spermatozoa frozen with permeable and non permeable cryoprotectant. Proceeding 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm 2-6 July 2000. 17:33, p. 161. Abstract Vol.2.

Eiman M., E. Aboagla, T. Terada. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. Theriogenology 62:1160-1172.

El-Alamy M.A. and R.H. Foote. 2001. Freezability of spermatozoa from finn and dorset rams in multiple semen extenders. Anim. Reprod. Sci. 65:245-254.

Farhan. 2003. Kajian Nira Sebagai Pengencer Alternatif Semen Domba Garut. Skripsi. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Feradis. 1999, Penggunaan Antioksidan dalam Pengencer Semen Beku dan Metode Sinkronisasi Estrus pada Program Inseminasi Buatan Domba *St. Croix*. Disertasi. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Herdis. 2005. Optimalisasi Inseminasi Buatan Melalui Aplikasi Teknologi Laserpunktur pada Domba Garut (*Ovis aries*). 2005. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Inounu, I., N. Hidajati, S.N. Jarmani, D. Priyanto, Hastono, B. Setiadi, dan Subandriyo. 2001. Pengaruh interaksi genetik dan lingkungan terhadap produksi domba persilangan dan domba lokal pada beberapa lokasi pengamatan: evaluasi kualitas semen domba hasil persilangan. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Bagian "Proyek Rekayasa Teknologi Peternakan/ARMP II". Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Hlm 64-73.

Kristanto, T. 2004. Peranan Gliserol dan Fetal Bovine Serum dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Leboeuf B, Restall B, Salamon S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. Anim. Reprod. Sci. 62:113-141.

Molinia, F.C., G. Evans, P.I. Quintana Casares and W.M.C. Maxwell. 1993. Effect of monosaccharides and disaccharides in tris based diluents on motility, acrosome integrity and fertility of pellet frozen ram spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 36:113-122.

Mulyono, S. 2000. Teknik Pembibitan Kambing dan Domba. Cetakan ke-3. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.

Saacke, R.G. and J.M. White. 1972. Semen quality tests and their relationship to fertility. Proceeding 4th Tech. Conf. on AI and Reprod., NAAB, pp. 22-27.

Salamon, S. and W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. Anim. Reprod. Sci. 62:77-111.

Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

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. 2005. Fertilitas Spermatozoa Ejakulat dan Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Rodriguez-Gil Je, Montserrat A., Rigau T. 1994. Effects of hypoosmotic incubation on acrosome and tail structure on canine spermatozoa. Theriogenology 42: 815-830.

Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa, Bandung.

Woelders, H., A. Matthij, and B. Engel. 1997. Effects of trehalose and sucrose, osmolality of the freezing medium, and cooling rate on viability and intactness of bull sperm after freezing and thawing. Cryobiology 35:93-105.

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.

Yulnawati. 2002. Pemanfaatan Sari Buah Melon dan Sari Wortel Sebagai Pengencer Alternatif Semen Domba Garut. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

PENG
TEF
JU
(Effect of S

Penelitia
jumlah koloni m
puluh delapan e
sebagai berikut :
EDK-air panas p
pada level 1,8 g/
level 1,8 g/kg (P
feses kering mat
nol/kg ransum c
Namun, pemberi
EDK berpengaru
bacillus sp dan
Pemberian 9 g E
hasil penelitian i
maka EDK yang
g EDK-metanol

Kata kun

The prese
feces production
layers (strain RI
other groups wer
kg (P_2), diets plu
diets plus methan
SAE-methanol s
SAE inclusion h
number of *Salmo*
and *Streptococc*
to reduce *Salmo*
was effective to

Keywords