LONGIVITAS DAN *RECOVERY RATE* PASCA *THAWING* SEMEN BEKU SAPI *FRESIAN HOLSTEIN* MENGGUNAKAN BAHAN PENGENCER YANG BERBEDA

Arifiantini, I., T. L. Yusuf, dan Graha N[1]

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pengencer semen yang terbaik antara tris raffinosa kuning telur endapan resep dari salah satu Balai Inseminasi Buatan (TS), tris fruktosa kuning telur buatan lokal FKH IPB (TF), dan pengencer paten AndroMed (Minitub Germany) yang menggunakan lesitin dari kacang kedelai (KK) terhadap longivitas dan pemulihan spermatozoa setelah pembekuan *(recovery rate)*. Semen dikoleksi dari tiga ekor sapi *Friesian holstein* (FH) jantan sebanyak 18 ejakulat menggunakan vagina buatan. Ejakulat tersebut dievaluasi dan diencerkan dengan pengencer TS, TF, dan KK. Kemudian semen dikemas menggunakan *straw* minitub dengan konsentrasi 25.10^6 per 0,3 ml spermatozoa. *Straw* diekuilibrasi pada suhu 4°C, kemudian dibekukan dalam uap N_2 cair selama 15 menit, dan disimpan dalam kontainer nitrogen cair (-196°C). Setelah 24 jam penyimpanan, semen diencerkan pada suhu 37°C selama 30 detik, kemudian diinkubasi dalam *water bath* (37°C) selama 9 jam untuk mengevaluasi longivitas dan *recovery rate* (RR). Variabel kualitas yang diamati adalah sperma motil pasca *thawing*. Longivitas spermatozoa pasca *thawing* pada bahan pengencer KK (6 jam) sangat berbeda nyata lebih lama dibandingkan kedua pengencer yang lain ($P<0,01$), sedangkan antara pengencer TF dan TS memiliki longivitas yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$). *Recovery rate* (RR) spermatozoa pada pengencer KK (69,56%) lebih tinggi daripada pengencer TS (63.48%) dan TF (59,40%). Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pengencer KK mempunyai longivitas dan RR terbaik dibandingkan pengencer TS dan TF pada semen beku sapi FH.

(Kata kunci : Longivitas, *Recovery rate*, Bahan pengencer semen, *Thawing)*.

Buletin Peternakan 29 (2) : 53 - 61, 2005

[1]Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

LONGEVITY AND RECOVERY RATE OF FREEZE FRESIAN HOLSTEIN BULL SEMEN ON DIFFERENT EXTENDER

ABSTRACT

This experiment was designed to make comparison between three different extenders among tris raffinose egg yolk (TS), tris fructose egg yolk (TF) and commercial extender AndroMed (minitub, Germany) based on soya lechitin (KK) for frozen bull semen on the longevity and recovery rate (RR). Semen was collected using an artificial vagina from 18 ejaculates of 3 Friesian Holstein (FH) bulls. Each ejaculate was divided into 3 parts and diluted in KK, TS and TF. Extended semen was placed into straw minitub with the concentration of 25 million cells/ 0.3 ml, equilibrated, frozen and stored in liquid nitrogen (N_2) at -196°C. Semen was thawed after 24 hours storage at 37°C for 30 seconds and placed into water bath at 37°C for 9 hours to evaluate sperm longevity and recovery rate. Sperm motility post thawed estimated regularly to measured longevity and recovery rate (RR). Sperm longevity of the KK extender (6 hours) was highly longer ($P < 0.01$) than other extender. There was no significant different between TS and TF extender ($P > 0.05$). Recovery rate of post thawed semen in extender KK (69.56%) highly significantly better when compared to TS (63.48%) and TF (59.40%). The conclusion was that KK extender caused longevity and RR better than the two other extenders.

(Key word : Longevity, Recovery rate, Extender, Thawing).

Pendahuluan

Peningkatan konsumsi daging sapi per kapita penduduk Indonesia cenderung meningkat seiring bertambahnya jumlah penduduk. Konsumsi daging per kapita tahun 2006 diperkirakan 1,633 kg/tahun (Tanari, 2001). Sementara itu, pada sisi lain, pertumbuhan populasi ternak secara nasional tidak mampu mengimbangi peningkatan permintaan sehingga berakibat adanya kelebihan permintaan. Dalam rangka menanggulangi masalah tersebut, ditempuh berbagai upaya. Salah satu upaya yang ditempuh untuk meningkatkan jumlah populasi ternak dan perbaikan mutu genetik adalah dengan menerapkan inseminasi buatan.

Inseminasi buatan (IB) adalah pemasukan semen ke dalam saluran kelamin betina dengan menggunakan alat-alat buatan manusia. Adanya penerapan IB akan meningkatkan nilai guna induk jantan. Dengan menggunakan teknik IB satu pejantan unggul dapat mengawini ribuan betina (Campbell *et al.*, 2003) tetapi jika kawin secara alami pejantan hanya mampu mengawini 30-50 betina. Selain itu, IB akan memperbaiki mutu genetik 3-4 kali lebih cepat daripada kawin alam.

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan IB adalah kualitas semen yang digunakan (Webb, 2004). Untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa *in vitro* dan mengoptimalkan semen pada saat IB, dibutuhkan bahan pengencer semen yang baik. Seperti diketahui bahwa jenis pengencer semen sangat bervariasi dan masing-masing memiliki keistimewaan (Paulenz *et al.,* 2002). Dengan adanya perbedaan jenis bahan pengencer, maka pertanyaan yang selalu muncul adalah pengencer semen manakah yang paling baik. Penelitian ini bertujuan untuk mencari pengencer semen terbaik agar semen beku yang dihasilkan semakin berkualitas.

Materi dan Metode

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Unit Rehabilitasi dan Reproduksi (URR) Departemen Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Institut

Pertanian Bogor (IPB) pada bulan Februari sampai September 2004.

Persiapan bahan pengencer

Pembuatan pengencer TS. Pengencer TS dibuat tiga hari sebelum penampungan dengan komposisi seperti yang terdapat pada Tabel 1. Campuran disimpan dalam gelas ukur pada temperatur 4°C dan pada hari penampungan diambil supernatannya saja.

Pembuatan pengencer KK. Pengencer KK dibuat pada hari penampungan. Cara pembuatannya adalah dengan mencampurkan *stock* pengencer komersial yang mengandung kacang kedelai dengan aquabidest 1 banding 4 lalu dihomogenkan.

Pembuatan Pengencer TF. Pengencer TF dibuat sebelum melakukan penampungan. Cara pembuatan pengencer ini dengan mencampurkan semua bahan kimia yang terdapat pada Tabel 1 kemudian dihomogenkan.

Penampungan semen. Penelitian ini menggunakan 18 ejakulat dari tiga ekor sapi FH yang telah dewasa kelamin dengan bobot badan 800-900 kg. Pakan yang diberikan berupa hijauan rumput sebanyak 10% dan konsentrat sebanyak 1% dari bobot badan. Air minum diberikan secara *ad libitum*. Semen ditampung menggunakan vagina buatan dua kali seminggu pada pagi hari. Semen yang dikoleksi dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi.

Evaluasi semen

Semen dievaluasi secara makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan makroskopik antara lain: volume semen yang dilakukan dengan melihat skala pada tabung penampung, derajat keasaman (pH) yang dilihat dengan menggunakan *pH indicator paper* (Merck skala 6,4-10), konsistensi, dan warna semen. Pemeriksaan mikroskopik meliputi: gerakan massa, persentase sperma motil dengan menambahkan NaCl fisiologis dan dinilai secara estimasi dari lima lapang pandang, dan persentase sperma hidup dan abnormal yang dilakukan menggunakan preparat differensial dengan pewarnaan eosin negrosin. Persentase sperma hidup dan abnormal dihitung sejumlah 200 sel. Konsentrasi sperma dihitung menggunakan kotak hitung Neubauer.

Pengenceran, pengemasan dan pembekuan semen

Semen yang mempunyai kualitas yang baik (> 70% sperma motil) dibagi menjadi tiga bagian dengan volume yang sama dan diencerkan dengan metode satu tahap menggunakan pengencer TS, TF dan KK.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer yang digunakan (*Extender composition*)

Komposisi bahan (*Compotition of ingredient*)	TS	TF	KK
Tris aminomethan (g) [1]	1,6	3,87	-
Asam sitrat (*Citric acid*) (g)[1]	0,9	2,17	-
Laktosa (*Lactose*) (g)[1]	1,4	-	-
Raffinosa (*Raffinose*) (g)[2]	2,5	-	-
Fruktosa (*Fructose*) (g)[1]	-	1,56	-
Kuning telur (*Egg yolk*) (ml)[3]	20	20	-
Penicillin (IU)[4]	100.000	100.000	-
Streptomycin (mg)[4]	100	100	-
Gliserol (*Glycerol*) [1]	6	6,4	-
Pengencer Komersial (*Commercial extender*)[5]	-	-	20
Aquabidest (ml) *ad*	100	100	100

1) Merck; 2) BDH; 3) telur ayam ras (*Egg chicken*); 4) Meiji; 5) Andromed® Minitub Jerman.

Pengenceran dilakukan dengan penghitungan sebagai berikut :

$$\text{Volume Total} = \frac{a \times b \times c}{d}$$

a : Volume semen
b : Konsentrasi spermatozoa (ml)
c : Persentase sperma motil
d : Volume straw minitub

Setelah itu semen dikemas dalam straw minitub dengan konsentrasi 25 juta sel spermatozoa/0,3 ml, diekuilibrasi selama 4 jam pada suhu 4°C, dibekukan di atas uap N_2 cair selama 10-15 menit, dan disimpan dalam kontainer yang berisi N_2 cair (-196°C).

***Thawing* semen beku**

Thawing semen beku dilakukan 24 jam setelah penyimpanan, pada suhu 37°C selama 30 detik. Setelah itu, semen dimasukkan ke dalam tabung dan diinkubasi dalam *water bath* (37°C). Sperma diamati motilitasnya menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400X. Persentase sperma motil dihitung dengan skala 0-5% dimulai dari 0% hingga 100%. Motilitas dihitung setiap jam dari jam ke-0 sampai jam ke-9 hingga motilitas mencapai 0% untuk mengetahui *longivitas* sperma. Sedangkan untuk mendapatkan nilai RR (Garner dan Hafez, 2000) dilakukan penghitungan sebagai berikut:

$$RR = \frac{a}{b} \times 100\%$$

a : Persentase sperma motil pasca *thawing*
b : Persentase sperma motil pada semen segar

Analisis data

Percobaan ini dirancang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola searah. Penelitian ini dilakukan dengan ulangan sebanyak 6 kali (18 ejakulat). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis variansi dengan program minitab 13.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik semen segar

Hasil penelitian dari 18 ejakulat sapi FH masih berada pada kisaran normal dan dikategorikan semen yang berkualitas cukup baik (Tabel 2).

Dari hasil pemeriksaan makroskopis semen segar diperoleh volume semen rata-rata 6,60 ml, dengan warna kuning krem, konsistensi sedang, dan pH 6,58. Pemeriksaan mikroskopis menunjukkan gerakan massa spermatozoa berkisar antara ++ sampai +++, konsentrasi spermatozoa 991,32 juta sel/ml. Persentase sperma motil yang diperoleh sebesar 72,63% dan persentase sperma hidup sebesar 85,16% serta sperma abnormal dengan 5,90

Tabel 2. Karakteristik semen segar sapi FH *(Characteristic of FH fresh semen)*

Karakteristik semen (*Characteristicts of semen*)	Nilai rataan (*Mean*)
Volume (ml)	6,60 ± 2,12
Warna (*Colour*)	kuning krem (*Yellowiss cream*)
Konsistensi (*Consistency*)	Sedang (*Medium*)
pH (*pH*)	6,58
Gerakan massa (*Mass mobility*)	++/+++
Konsentrasi sperma (juta^{-ml}) (*Sperm concentration*)	991,32 ±14,14
Motilitas sperma (*Sperm motility*) (%)	72,63
Sperma hidup (*Life sperm*) (%)	86,16 ± 2,78
Abnormalitas sperma (*Sperm abnormality*) (%)	5,90 ± 1,60

Pemeriksaan semen beku pasca *thawing*

***Recovery rate* semen beku pasca *thawing*.** *Recovery rate* (RR) adalah kemampuan pemulihan spermatozoa setelah pembekuan dengan membandingkan persentase sperma motil pada semen segar dengan pasca *thawing* (Garner dan Hafez, 2000). Hasil penelitian menunjukkan RR semen beku pada masing-masing pengencer seperti pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semen beku pasca *thawing* pada pengencer KK memiliki RR sangat nyata (P<0.01) lebih tinggi (69.56%) dibanding pengencer TS (63.48%) dan TF (59.40%). Sedangkan pengencer TS dan TF memiliki RR semen beku pasca *thawing* yang tidak berbeda nyata (P>0,05).

Longivitas semen beku pasca *thawing*. Longivitas atau daya tahan hidup adalah kemampuan spermatozoa bertahan pada temperatur tertentu. Pada penelitian ini semen beku pasca *thawing* akan disimpan pada suhu 37°C dan diamati motilitasnya tiap jam. Perbandingan persentase sperma motil dengan masing-masing pengencer dari jam ke-0 sampai jam ke-9 pasca *thawing* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. *Recovery rate* semen beku sapi FH pasca *thawing*
(Recovery rate after thawing FH frozen semen)

Pengencer (*Extender*)	Motilitas sperma (*Sperm motility*) (%)		*Recovery rate* (%)
	Semen segar *(Fresh semen)*	Pasca *thawing* *(Post thowing)*	
KK	72,63	50,20±7,07[a]	69,56±11,32[a]
TS		46,04±3,54[b]	63,48±9,25[b]
TF		43,02±7,68[b]	59,40±11,24[b]

[a,b] Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01). *(Different superscript at the same coloumn indicating significant differences (P<0,01))*
KK(Pengencer yang mengandung kacang kedelai) *(Soybean containing extender)*: TS (Tris Raffinose); TF (Tris Fructose).

Tabel 4. Sperma motil (%) pasca *thawing* pada tiap jam pengamatan dengan tiga macam bahan pengencer (*After thawing motility on every hour evaluation using three different extender)*

Jam pengamatan *(Observation time)*	Motilitas sperma *(Sperm motility)* (%)		
	KK	TS	TF
0	50,20±7,07[a]	46,04±3,54[b]	43,02±7,68[b]
1	43,49±7,07[a]	38,21±3,54[b]	34,72±7,07[b]
2	34,34±7,07[a]	29,34±0[b]	25,75±14,14[b]
3	26,51±14,14[a]	17,45±10,61[b]	16,51±14,14[b]
4	20,81±17,68[a]	10,09±7,07[b]	10,61±8,49[b]
5	17,68±15,57[a]	5,47±3,54[b]	3,53±3,11[b]
6	10,57±7,07[a]	2,74±0[b]	1,23±0[b]
7	6,89±3,54[a]	1,42±0[b]	0,75±0[b]
8	3,68±3,54[a]	0,47±0[b]	0,09±0[b]
9	0	0	0

[a,b] Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0.01) *(Different superscript at the same raw indicating significant differences (P<0,01))*
KK (Pengencer yang mengandung kacang kedelai) *(Soybean containing extender)*; TS (Tris Raffinose); TF (Tris Fructose).

Tabel 5. Longivitas semen beku sapi FH pasca *thawing* hingga motilitas 10% *(Longevity of FH bull frozen semen after thawing until 10% motility)*

Jenis pengencer *(Kind of extender)*	Longivitas (jam) *(Longitivity (hours))*
KK	6[a]
TS	4[b]
TF	4[b]

[a,b] Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0.01) *(Different superscript at the same coloumn indicating significant differences (P<0,01))* KK (Pengencer yang mengandung kacang kedelai) *(Soybean containing extender)*; TS (Tris Raffinose); TF (*Tris Fructose)*.

Berdasarkan hasil pengamatan pasca *thawing* jam ke-0, pengencer KK memiliki persentase sperma motil (50,20%) yang sangat nyata lebih tinggi (P<0,01) dibandingkan pengencer TS (46,04%) dan TF (43,02%). Sedangkan persentase sperma motil tiap jam pengamatan pada pengencer TS dan TF tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P>0,05).

Longivitas sperma pasca *thawing* pada pengencer KK menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01) lebih lama (6 jam) dibanding pengencer yang lain (4 jam). Sedangkan longivitas sperma pasca *thawing* pada pengencer TS dan TF tidak berbeda nyata (P>0,05).

Semen segar

Dari hasil yang telah dikemukakan terlihat bahwa semen segar sapi FH yang digunakan dalam penelitian ini, memiliki kualitas yang cukup baik. Hal ini terlihat dari pemeriksaan makroskopis semen segar yang didapatkan masih dalam kisaran normal. Menurut Garner dan Hafez (2000), volume semen sapi setiap satu kali ejakulasi berkisar antara 5-8ml. Volume yang diperoleh sedikit berbeda. Hal ini bisa saja terjadi karena perbedaan individu ternak, umur, musim, nutrisi, bangsa ternak, frekuensi ejakulat, libido, dan kondisi ternak itu sendiri.

Warna semen yang diperoleh selama penelitian adalah kuning krem. Menurut Bearden dan Fuquay (1997), biasanya ejakulat normal semen sapi berwarna putih krem. Semen sapi bisa saja berwarna kuning disebabkan banyaknya pigmen riboflavin dan pigmen ini tidak mempengaruhi kesuburan spermatozoa. Derajat keasaman (pH) semen yang diperoleh selama penelitian masih berada pada kisaran pH semen sapi menurut Garner dan Hafez (2000), yaitu 6,4-7,8. Derajat keasaman memegang peranan yang penting karena mempengaruhi viabilitas spermatozoa. Menurut Holm dan Wishart (1998), penurunan pH internal spermatozoa akan mempengaruhi pengaturan fungsi spermatozoa mamalia dan non mamalia seperti reaksi akrosom dan motilitas.

Pada pemeriksaan secara mikroskopis semen segar selama penelitian, diperoleh gerakan massa spermatozoa berkisar antara ++ sampai +++ ditandai dengan awan hitam yang tidak begitu gelap tebal dengan gerakan yang cepat berpindah. Nilai yang diperoleh ini, menurut Partodihardjo (1987), dikategorikan dalam semen yang berkualitas baik, artinya spermatozoa tersebut cukup aktif.

Rataan konsentrasi spermatozoa yang diperoleh juga masih berada dalam kisaran nilai yang dikemukakan oleh Campbell *et al.* (2003), yang menyatakan bahwa konsentrasi spermatozoa pada sapi jantan dewasa berkisar antara 800-1.200 juta/ml semen. Begitu juga yang dikemukakan oleh Garner dan Hafez (2000), bahwa konsentrasi spermatozoa/ml semen sekitar 800-2.000 juta. Tingginya konsentrasi spermatozoa tampak pada warna semen tersebut (Rouge, 2003). Jumlah spermatozoa per unit volume penting untuk mengetahui jumlah bahan pengencer yang ditambahkan dan berapa banyak jumlah betina yang dapat diinseminasi (Campbell *et al.*, 2003).

Persentase sperma motil yang diperoleh selama penelitian juga merupakan nilai yang masih berada dalam kisaran normal menurut Garner dan Hafez (2000), yaitu antara 40-75%. Campbell *et al.* (2003), menyatakan bahwa spermatozoa dengan motilitas yang sangat baik berkisar antara 70-80%. Motilitas merupakan uji kualitas yang penting karena fertilitas erat kaitannya dengan sperma motil yang diinseminasikan. Motilitas spermatozoa akan menurun jika terpapar oleh cahaya tetapi akan meningkat di dalam cairan uterus. Motilitas merupakan faktor yang sangat menentukan bagi spermatozoa untuk melewati serviks, bahkan motilitas yang progresif membantu spermatozoa untuk dapat menembus kumulus ooforus dan zona pelucida ovum sehingga fertilisasi dapat terjadi (Garner dan Hafez, 2000).

Rataan persentase sperma hidup yang diperoleh selama penelitian adalah 83,38-88,94%. Persentase sperma hidup lebih tinggi daripada persentase sperma motil (Bearden dan Fuquay 1997) karena sperma yang hidup belum tentu motil, tetapi sejumlah sperma yang tidak motil terkadang masih hidup (Campbell *et al.*, 2003). Sperma yang mati mengurangi konsentrasi sperma yang fertil, juga toksik bagi sperma lain yang masih hidup.

Jumlah sperma abnormal yang diperoleh juga masih berada dalam kisaran nilai yang dikemukakan oleh Campbell *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa semen yang berkualitas tinggi mengandung maksimal 5-15% sperma abnormal. Menurut Bearden dan Fuquay (1997), semen biasanya mengandung 5% spermatozoa yang abnormal, fertilitas tidak akan terganggu sampai tingkat abnormal 20-25%. Sperma yang abnormal tidak menunjukkan motilitas yang progresif. Sperma abnormal biasanya disebabkan oleh kejutan dingin atau panas, sinar-X, ketidakseimbangan nutrisi, dan endokrin.

Pengaruh pengencer terhadap longivitas dan *Recovery Rate* (RR) Semen beku pasca *Thawing*

Menurut Garner dan Hafez (2000), semen yang dibekukan akan mengalami kerusakan sekitar 40%. Kerusakan sel selama proses pembekuan dan *thawing* disebabkan karena terjadinya peroksidasi lipid pada spermatozoa sehingga dapat menurunkan daya hidup (Alvarez dan Storey, 1982). Kerusakan pertama pada membran sel spermatozoa terjadi pada proses pembekuan dan *thawing* antara suhu -15 sampai -60°C tetapi tidak terjadi selama penyimpanan di nitrogen cair (Park dan Graham, 1993). Pendinginan dan pemanasan kembali akan merusak lipoprotein yang ada pada membran sperma. Persentase sperma motil pasca *thawing* minimal 30% untuk dapat diinseminasikan (Campbell *et al.*, 2003). Jadi berdasarkan teori ini semen dengan semua jenis pengencer masih layak digunakan dalam IB. Hal ini terlihat pada Tabel 4 yang menunjukkan persentase sperma motil pasca thawing jam ke-0 rata-rata lebih dari 40%.

Menurut Salisbury dan Vandemark (1985), longivitas akan diperpanjang bila dalam larutan pencuci spermatozoa ditambahkan phospholipid dalam bentuk lecithin kacang kedelai dan kuning telur. Jadi berdasarkan teori ini, pengencer KK, TS, dan TF sama-sama mampu memperpanjang longivitas sperma. Tetapi hasil dari analisis statistik, pengencer KK memiliki longivitas (6 jam) dan RR (50,20%) sangat nyata lebih tinggi ($P<0,01$) daripada pengencer yang lain. Sedangkan pengencer TS dan TF tidak berbeda nyata ($P>0,05$) (Tabel 3 dan 5). Hal ini menunjukkan bahwa pengencer yang berbeda bahan dasarnya akan mempengaruhi kemampuan sperma untuk kembali lagi dan bertahan hidup secara *in vitro*. Perbedaan ini bisa saja disebabkan oleh bahan pengencer KK yang mengandung lecithin kacang kedelai diperkirakan lebih mampu melindungi sperma dari pengaruh buruk pembekuan daripada kuning telur. Selain mengandung lecithin kacang kedelai, pengencer KK diduga mengandung komponen dan komposisi bahan yang lebih sesuai untuk semen beku sapi.

Kedua semen beku yang menggunakan pengencer TS dan TF memiliki RR dan longivitas lebih rendah daripada semen dengan pengencer KK. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh komposisinya berbeda dengan Pengencer KK, kemungkinan lain karena kuning telur yang terkandung dalam pengencer tersebut. Menurut Moussa *et al.* (2002), substansi yang terdapat dalam kuning telur ada yang menghambat respirasi dan mengurangi persentase sperma motil. Berdasarkan teori ini terbukti bahwa semen dengan pengencer TS dan TF yang menggunakan kuning telur memiliki RR lebih rendah dibandingkan dengan pengencer KK. Selanjutnya masih menurut Moussa *et al.* (2002), substansi yang dibutuhkan sperma dari kuning telur dalam proses pembekuan semen adalah *Low Density Lipoprotein* (LDL). Untuk mendapatkan LDL tersebut harus diultrasentrifugasi. Dalam penelitian ini, kuning telur yang digunakan adalah seluruh komponen kuning telur termasuk substansi *high density lipoprotein* (HDL) yang dapat menghambat respirasi dan motilitas spermatozoa. Pada pengencer TS dengan metode Masuda, meskipun terjadi pengendapan butiran-butiran kuning telur tetapi belum bisa dikatakan bahwa yang terdapat dalam pengencer TS hanya substansi LDL. Hal ini terbukti pada saat pengamatan masih banyak terlihat butiran-butiran molekul yang kasar dan diduga akan menghambat pergerakan spermatozoa secara progresif.

Longivitas dan RR sperma pasca *thawing* pada pengencer TS dan TF tidak berbeda nyata (P>0,05). Hal ini diduga karena bahan dasar kuning telur dan *buffer* yang digunakan sama, yaitu tris, walaupun teknik pembuatan dan gulanya berbeda. Hasil penelitian Suwarso (1999) menunjukkan bahwa raffinosa merupakan jenis gula yang baik untuk semen beku kambing dibandingkan gula yang lain tetapi ternyata dari hasil penelitian ini tidak berlaku untuk semen beku sapi FH.

Kesimpulan dan Saran

Semen beku dengan pengencer komersil lecithin kacang kedelai (KK) memiliki *recovery rate* pasca *thawing* lebih tinggi serta memiliki longivitas pasca *thawing* lebih lama daripada jenis pengencer tris TS dan TF.

Pengencer TS dan TF memiliki kualitas yang sama dalam hal *recovery rate* dan longivitas.

Perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh endapan kuning telur pada berbagai pengencer tris dan perlunya mencari jenis lecithin dari tumbuhan lain yang dapat menggantikan kacang kedelai karena Indonesia masih mengimpor.

Perlu dilakukan usaha sendiri (lokal) untuk membuat pengencer yang berbahan dasar lecithin kacang kedelai karena pengencer komersil tersebut impor dari Jerman, sedangkan pengencer TF (buatan lokal FKH IPB) bisa digunakan untuk menggantikan tris endapan (TS) yang selama ini sudah memasyarakat.

Daftar Pustaka

Alvarez J. G. and B. T. Storey. 1982. Spontaneous lipid per oxidation in rabbit epididymal spermatozoa, its effect on sperm motility. Biologi Reproduksi. 27:1102-1108.

Bearden H. J. and J. W. Fuquay. 1997. Semen collection. In: Applied Animal Reproduction. 4th Ed. Missisippi State University. New Jersey. 147-157.

Campbell J. R., K. L. Campbell, and M. D. Kenealy. 2003. Artificial insemination. In: Anim. Sci. 4th Ed. Mc Graw-Hill. New York.

Garner, D. L., E. and S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In: Reproduction in Farm Animals. 7th Ed B Hafez/ESE Hafez. Lippincott Williams & Wilkins. USA. 96-109.

Holm L. and Wishart G. J. 1998. The Effect of pH on the motility of spermatozoa from chicken, turkey and quail. Anim. Reprod., Vol. 54:45-54.

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.

Parks, J. E. and J. K. Graham. 1992. Effect of cryopreservation procedures on sperm membranes. Theriogenology. 38:209-222

Partodihardjo, S. 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.

Paulenz, H. Soderquist, L. R. Perez-Pe, and K. A. Berg. 2002. Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. Theriogenology.57:823-836.

Rouge M. 2003. Sperm Motility. http://arbl.cvmbs.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/semeneval/motility.html.

Salisbury G. W. and N. L. Vandemark. 1985. Fisiologi dan Reproduksi Inseminasi Buatan pada Sapi. Penerjemah R Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

Suwarso. 1999. Peranan raffinosa dalam pengencer tris-sitrat kuning telur terhadap semen beku kambing Peranakan Etawah [tesis]. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Tanari, M. 2001. Usaha Pengembangan Sapi Bali sebagai Ternak Lokal dalam Menunjang Pemenuhan Kebutuhan Protein asal Hewani di Indonesia. http://rudycit.250x.com/sem1-012/m-tanari.htm.

Webb, D. W. 2004. Artificial Insemination in Dairy Cattle. http://edis.ifas.ufl.edu/BODYDSO 89#table-1.