

## Efektivitas Berbagai Konsentrasi Laktosa dalam Pengencer Tris terhadap Viabilitas Semen Cair Kambing Saanen

SURYA NATAL TAMBING<sup>1</sup>, I-K. SUTAMA<sup>2</sup> dan R.I. ARIFANTINI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>BPTP Sulawesi Selatan, Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 17.5 Sudiang, Makassar 90242

<sup>2</sup>Balai Penelitian Ternak, PO BOX 221, Bogor 16002

<sup>3</sup>Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan-IPB, Bogor 16680

(Diterima dewan redaksi 3 Juli 2003)

### ABSTRACT

TAMBING, S.N., I-K. SUTAMA, and R.I. ARIFANTINI. 2003. Effectivity of various concentration of lactose in Tris extender on liquid semen viability of Saanen bucks. *JITV* 8(2): 84-90.

The objective of this study is to determine the best concentration of lactose in Tris extender in maintaining liquid semen viability of Saanen bucks stored at 5°C. Four heads of Saanen bucks of 2-4 years old were used as semen source. Semen was collected once a week using an artificial vagina. Variance analysis was conducted based on completely randomized design with three treatments, i.e 30, 60, and 90 mM lactose (L<sub>30</sub>, L<sub>60</sub> and L<sub>90</sub>). Duncan test was used to observe the different between treatment. Results indicated that the mean percentage of motility, live sperm, intact plasma membrane, and intact acrosomal cap of liquid semen in treatment L<sub>30</sub> (70.83; 78.20; 79.56 and 81.20% respectively) were significantly higher (P<0.05) than treatment L<sub>60</sub> (67.08; 73.73; 75.01 and 76.87% respectively) and treatment L<sub>90</sub> (61.50; 71.88; 69.08 and 71.33% respectively). After storage for 48 hours at 5°C apparently the mean percentage of motility, live sperm, intact plasma membrane and intact acrosomal cap in treatment L<sub>30</sub> were significantly higher (P<0.05) than those of in treatment L<sub>60</sub> and L<sub>90</sub>. Decreasing percentage of motility, live sperm, intact plasma membrane, and intact acrosomal cap during storage at 5°C from 0 until 48 hour in treatment L<sub>30</sub> (42.83; 19.75; 40.84 and 39.00% respectively) were significantly lower (P<0.05) than those of in treatment L<sub>60</sub> (55.41; 23.06; 50.14; and 50.90% respectively) and treatment L<sub>90</sub> (54.83; 29.93; 50.14 and 50.97% respectively). It was concluded that supplementation 30 mM lactose in Tris extender could maintain liquid semen viability in Saanen bucks.

**Key words:** Saanen bucks, lactose, liquid semen

### ABSTRAK

TAMBING, S.N., I-K. SUTAMA dan R.I. ARIFANTINI. 2003. Efektivitas berbagai konsentrasi laktosa dalam pengencer Tris terhadap viabilitas semen cair kambing Saanen. *JITV* 8(2): 84-90.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi laktosa terbaik dalam pengencer Tris yang dapat mempertahankan viabilitas semen cair kambing Saanen serta kaitannya dengan penyimpanan semen pada suhu 5°C. Empat ekor kambing Saanen jantan berumur 2-4 tahun digunakan sebagai sumber semen. Penampungan semen dilakukan sekali dalam seminggu dengan menggunakan vagina buatan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan, yaitu konsentrasi laktosa 30 mM (L<sub>30</sub>), 60 mM (L<sub>60</sub>) dan 90 mM (L<sub>90</sub>). Perbedaan antar perlakuan digunakan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rataan persentase motilitas, spermatozoa hidup, membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh semen cair pada perlakuan L<sub>30</sub> (masing-masing: 70,83; 78,20; 79,56 dan 81,20%) nyata (P<0,05) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> (masing-masing: 67,08; 73,73; 75,01 dan 76,87%) dan perlakuan L<sub>90</sub> (masing-masing: 61,50; 71,88; 69,08 dan 71,33%). Setelah penyimpanan pada suhu 5°C selama 48 jam ternyata rataan persentase motilitas, spermatozoa hidup, membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh pada perlakuan L<sub>30</sub> nyata (P<0,05) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> dan perlakuan L<sub>90</sub>. Penurunan persentase motilitas, spermatozoa hidup, membran plasma utuh, dan tudung akrosom utuh selama penyimpanan pada suhu 5°C dari 0 jam hingga 48 jam pada perlakuan L<sub>30</sub> (masing-masing: 42,83; 19,75; 40,85 dan 39,00%) nyata (P<0,05) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> (masing-masing: 55,41; 23,06; 50,14 dan 50,90%) dan perlakuan L<sub>90</sub> (masing-masing: 54,83; 29,93; 50,14; dan 50,97%). Disimpulkan bahwa penambahan laktosa sebesar 30 mM dalam pengencer Tris dapat mempertahankan viabilitas semen cair kambing Saanen.

**Kata kunci:** Kambing Saanen, laktosa, semen cair

### PENDAHULUAN

Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi susu kambing lokal dapat ditempuh melalui pendekatan aspek pemuliaan, yaitu melalui persilangan dengan kambing bergenetik unggul dalam produksi susu, seperti kambing Saanen. Kambing ini berasal dari

lembah Saanen di Swiss, dan termasuk jenis kambing berukuran besar. Dilaporkan bahwa produksi susu kambing Saanen dapat mencapai 5930 pounds atau 2695,3 kg selama satu masa laktasi (ANONIMOUS, 2002).

Inseminasi buatan (IB) adalah salah satu alat bantu dalam penerapan program pemuliaan. Teknologi IB

mempunyai peranan penting dalam sistem pemuliaan ternak kambing terutama untuk mengontrol reproduksi dan meningkatkan potensi genetik hasil persilangannya (produksi susu dan daging). Ada dua tujuan utama penerapan teknologi IB pada kambing, yaitu mengoptimalkan program seleksi dan merupakan sarana untuk mengontrol waktu kelahiran (LEBOEUF *et al.*, 1998).

Salah satu faktor pendukung dalam upaya mengoptimalkan program IB pada ternak kambing adalah tersedianya *semen* beku yang memenuhi standar minimal. Saat ini sangat sulit untuk mendapatkan *semen* beku kambing yang memenuhi standar minimal yang layak digunakan dalam program IB. Hal ini disebabkan terjadi serangkaian kejadian berupa pembentukan kristal-kristal es, baik intra maupun ekstraseluler dan kejutan dingin selama proses kriopreservasi, serta ditemukannya enzim fosfolipase A dalam plasma *semen* yang bersifat toksik pada *semen*. Sebagai konsekuensinya, kualitas *semen* setelah *thawing* menjadi rendah. Apabila ini digunakan dalam program IB akan menghasilkan angka kebuntingan yang rendah. ROCA *et al.* (1997) menyatakan bahwa inseminasi dengan teknik intra-serviks menggunakan *semen* beku kambing menghasilkan jumlah spermatozoa melewati cincin serviks sangat rendah dan akibatnya angka pembuahan rendah. Angka kebuntingan yang diperoleh dari hasil IB dengan menggunakan *semen* beku antara 40,9-46,7% (RITAR dan SALAMON, 1983; RITAR *et al.*, 1990; RITAR dan BALL, 1993; NGANGI, 2002).

Penggunaan *semen* cair dalam program IB merupakan alternatif untuk mengantisipasi sulitnya mendapatkan *semen* beku kambing yang memenuhi standar minimal. Dari berbagai penelitian menunjukkan angka kebuntingan pada kambing yang diperoleh dengan menggunakan *semen* cair dalam program IB antara 62,5-73,1% dengan konsentrasi spermatozoa 60-120 juta/0,5 ml (RITAR dan SALAMON, 1983; ROCA *et al.*, 1997). Walaupun proses penyimpanan *semen* cair kambing umumnya dilakukan pada suhu 4-5°C, namun permasalahannya adalah komposisi, tonisitas dan karakteristik dari pengencer yang dibutuhkan untuk penyimpanan *semen* cair pada kambing belum banyak dilaporkan (LEBOEUF *et al.*, 2000).

Ketersediaan sumber energi yang berasal dari karbohidrat merupakan salah satu prasyarat untuk pengencer *semen* yang baik. Laktosa dapat digunakan sebagai salah satu sumber energi bagi *semen* selama proses penyimpanan. Laktosa tergolong dalam disakarida dan mempunyai peranan sebagai sumber energi, membantu pengeluaran air dari dalam sel sehingga mengurangi kemampuan air untuk membentuk kristal-kristal es, sebagai penyangga osmotik untuk menghindari pembengkakan sel, dan menstabilkan

membran sel. VISHWANATH dan SHANNON (2000) menyatakan bahwa golongan karbohidrat (khususnya disakarida) mempunyai kemampuan menggantikan molekul air secara normal dalam kelompok polar *hydrated* dan sifat-sifat ini akan membantu menstabilkan membran sel selama transisi melalui zone temperatur kritis, serta mengubah sifat mekanik dari pengencer melalui peningkatan viskositas.

Penggunaan laktosa dalam pengencer *semen* cair kambing, khususnya *semen* kambing Saanen belum banyak dilaporkan, sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi salah satu informasi dasar dalam program preservasi *semen* kambing Saanen.

## MATERI DAN METODE

### Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah empat ekor kambing Saanen jantan berumur 2-4 tahun sebagai sumber *semen*. Semua ternak yang digunakan sehat ditinjau dari aspek performans reproduksi. Ternak ditempatkan dalam kandang individu, yang masing-masing dilengkapi dengan palaka dan tempat minum. Pakan yang diberikan berupa rumput gajah 2 kg ekor<sup>-1</sup> hari<sup>-1</sup>, ampas bir 1500 g ekor<sup>-1</sup> hari<sup>-1</sup> dan konsentrat 700 g ekor<sup>-1</sup> hari<sup>-1</sup>. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

### Metode penelitian

Penampungan *semen* dilakukan dengan menggunakan vagina buatan sekali seminggu. Segera setelah penampungan dilakukan evaluasi *semen* secara mikroskopis meliputi: volume, warna, kekentalan dan pH; dan mikroskopis meliputi: gerakan massa, konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase hidup, persentase abnormalitas, persentase membran plasma utuh dan persentase tudung akrosom utuh. *Semen* yang diencerkan harus memiliki persyaratan, yaitu minimal persentase motilitas 70%, konsentrasi  $2 \times 10^9$  sel/ml, gerakan massa +++, persentase hidup 80% dan persentase abnormalitas <15% (EVANS dan MAXWELL, 1987).

*Semen* yang telah memenuhi persyaratan selanjutnya diencerkan dalam pengencer Tris (Tabel 1) hingga mencapai 100 ml. Pengenceran *semen* menggunakan sistem satu tahap pada suhu kamar, dengan konsentrasi spermatozoa 100 juta sel per straw (0,25). Adapun perlakuan dalam penelitian ini adalah konsentrasi laktosa 30 mM (L<sub>30</sub>), 60 mM (L<sub>60</sub>) dan 90 mM (L<sub>90</sub>). Jumlah larutan pengencer yang digunakan (dalam ml) adalah:

$$\text{Jumlah larutan pengencer (ml)} = \frac{\text{Volume semen} \times \text{konsentrasi sperma} \times \% \text{ motilitas}}{100 \text{ juta}/0,25} - \text{volume semen}$$

**Tabel 1.** Komposisi pengencer yang digunakan dalam penelitian

Komposisi bahan pengencer	Perlakuan		
	L <sub>30</sub>	L <sub>60</sub>	L <sub>90</sub>
Tris (g)	2.96	2.96	2.96
Asam sitrat (g)	1.65	1.65	1.65
Fruktosa (g)	2.0	2.0	2.0
Laktosa (mM)	30	60	90
Kuning telur (ml)	20	20	20
Penisilin (IU/ml)	1000	1000	1000
Streptomisin ( $\mu$ g/ml)	1000	1000	1000
Aquabidest (ml) <i>ad.</i>	100	100	100

*Semen* yang telah diencerkan selanjutnya disimpan pada suhu 3-5°C di dalam lemari es. Pengamatan terhadap viabilitas *semen* cair dilakukan pada 0, 24 dan 48 jam penyimpanan dalam lemari es.

#### Parameter yang diamati

Parameter viabilitas *semen* cair yang diamati adalah persentase motilitas, hidup, membran plasma utuh (MPU) dan persentase tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa masing-masing setelah pengenceran, dan pada saat penyimpanan dalam lemari es (0, 24 dan 48 jam).

Motilitas spermatozoa ditandai oleh spermatozoa bergerak ke depan (progresif) dihitung secara subjektif pada 10 lapang pandang yang berbeda dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Spermatozoa hidup ditandai oleh kepala yang transparan atau tidak berwarna, sedangkan yang mati berwarna merah bila diwarnai dengan zat pewarna eosin. MPU ditandai dengan ekor spermatozoa melingkar atau membengkak, sedangkan yang rusak ditandai dengan ekor lurus bila semen dipaparkan dalam larutan hiposmotik. TAU ditandai dengan ujung kepala berwarna hitam, sedangkan yang rusak berwarna putih bila dipaparkan dengan larutan formalin 1%. Jumlah spermatozoa yang dievaluasi minimal 200 dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali.

#### Analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan jumlah penampungan sebanyak enam kali sebagai ulangan. Perbedaan antar perlakuan digunakan uji Duncan (STEEL dan TORRIE, 1993).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik *semen* segar

Pengamatan kuantitas dan kualitas *semen* segar secara makroskopis dan mikroskopis dimaksudkan untuk mengetahui layak tidaknya *semen* tersebut diproses lebih lanjut dan menentukan kadar pengenceran *semen*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kuantitas dan kualitas *semen* segar yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya (Tabel 2). Sebagai pembanding, volume *semen* kambing Peranakan Etawah rata-rata 0,95 ml, konsistensi kental, warna putih sampai krem, konsentrasi spermatozoa 2,94 milyar/ml, pH 7,13, gerakan massa +++, persentase motilitas 72,79%, persentase hidup spermatozoa 82,54% dan persentase abnormalitas spermatozoa 10,17% (TAMBING *et al.*, 2001).

Berdasarkan pada pengamatan karakteristik *semen* segar terlihat bahwa kuantitas dan kualitas *semen* segar kambing Saanen percobaan layak untuk digunakan sebagai sumber *semen* terutama untuk proses pembuatan *semen* cair.

### Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas *semen* cair

Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas *semen* sesudah pengenceran memberikan respon yang berbeda, dimana rataan persentase motilitas, hidup, MPU dan TAU spermatozoa *semen* cair pada perlakuan L<sub>30</sub> nyata ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> dan L<sub>90</sub> (Tabel 3). Hal ini mengindikasikan penambahan laktosa sebesar 30 mM dalam pengencer Tris optimal dalam mempertahankan tekanan osmotik pengencer sehingga tingkat *recovery* spermatozoa

menjadi lebih baik. Sebagaimana dikatakan MOLINIA *et al.* (1994) bahwa penambahan karbohidrat dalam pengencer dengan konsentrasi optimal akan memperbaiki *recovery* spermatozoa dan ini sebagai akibat langsung dari pengaruh osmolaritas pengencer dan bukan pengaruh krioprotektif.

Dari hasil penelitian ini juga terlihat bahwa peningkatan konsentrasi laktosa dalam pengencer Tris akan menyebabkan rataan persentase motilitas, hidup, MPU dan TAU spermatozoa menurun. Hal ini mungkin disebabkan pada konsentrasi laktosa yang lebih tinggi menyebabkan terjadi perubahan tekanan osmotik pada pengencer ke arah hipertonik. Pengencer yang bersifat hipertonik menandakan bahwa molekul-molekul atau partikel-partikel di luar sel lebih banyak daripada di dalam sel. Akibatnya terjadi pengeluaran air dari dalam

sel untuk mengencerkan molekul-molekul di luar sel, sehingga sel akan mengkerut (SUPRIATNA dan PASARIBU, 1992). Efek yang ditimbulkan bila sel mengkerut adalah terjadi kerusakan pada organel-organel intraseluler, sehingga viabilitas spermatozoa menjadi rendah. Hal inilah yang mungkin terjadi pada perlakuan L<sub>60</sub> dan L<sub>90</sub> sehingga viabilitas *semen* cair lebih rendah dibandingkan dengan pada perlakuan L<sub>30</sub>. Sebaliknya hasil penelitian SINGH *et al.* (1995; 1996) menunjukkan bahwa penambahan laktosa sebesar 180 mM dalam pengencer Tris menghasilkan kualitas *semen* cair kambing Beetal lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi laktosa 60 mM dan 120 mM. Sebagai pembandingan, penambahan laktosa 70 mM dalam pengencer Tris menghasilkan kualitas *semen* anjing yang terbaik setelah pengenceran (YILDIZ *et al.*, 2000).

**Tabel 2.** Karakteristik *semen* segar

Parameter	Rataan nilai	Referensi
Volume (ml)	0,98 ± 0,45	1,15 <sup>b</sup>
Konsentrasi sperma (x 10 <sup>6</sup> /ml)	3366,7 ± 70,63	3630 <sup>b</sup>
Total sperm/ejakulat (x 10 <sup>6</sup> )	3211,5 ± 117,31	4090 <sup>b</sup>
Warna	krem	-
Konsistensi	kental	-
Gerakan massa	+++	+++ <sup>a</sup>
pH	6,85 ± 0,29	-
Motilitas (%)	71,67 ± 2,58	85,41 <sup>c</sup>
Hidup (%)	85,79 ± 3,94	-
Abnormalitas (%)	9,68 ± 4,45	8,41 <sup>b</sup>
Tudung akrosom utuh (%)	85,37 ± 4,62	-
Membran plasma utuh (%)	82,40 ± 5,08	-

<sup>a</sup>AHMED *et al.* (1997)

<sup>b</sup>KARAGIANNIDIS *et al.* (2000)

<sup>c</sup>AZERÊDO *et al.* (2001)

**Tabel 3.** Viabilitas *semen* cair pada berbagai konsentrasi laktosa dalam pengencer tris pada suhu kamar

Parameter (%)	Perlakuan		
	L <sub>30</sub>	L <sub>60</sub>	L <sub>90</sub>
Motilitas	70,83 ± 2,58 <sup>a</sup>	67,08 ± 3,68 <sup>b</sup>	61,50 ± 3,32 <sup>c</sup>
Hidup	78,20 ± 2,33 <sup>a</sup>	73,73 ± 1,30 <sup>b</sup>	71,88 ± 4,37 <sup>b</sup>
MPU	79,56 ± 3,50 <sup>a</sup>	75,01 ± 3,86 <sup>b</sup>	69,08 ± 3,67 <sup>c</sup>
TAU	81,20 ± 4,59 <sup>a</sup>	76,87 ± 4,84 <sup>b</sup>	71,33 ± 4,37 <sup>c</sup>

Nilai dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P<0,05)

Selanjutnya setelah penyimpanan pada suhu 5°C dalam lemari es terlihat bahwa rata-rata persentase motilitas dan hidup spermatozoa pada perlakuan L<sub>30</sub> nyata (P<0,05) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> dan L<sub>90</sub> hingga 48 jam penyimpanan (Tabel 4). Hal ini didukung lagi oleh tingkat penurunan motilitas dan hidup spermatozoa dari 0-48 jam penyimpanan pada perlakuan L<sub>30</sub> (masing-masing 42,83 dan 19,75%) nyata (P<0,05) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> (masing-masing 55,41 dan 23,06%) dan L<sub>90</sub> (masing-masing 54,83 dan 29,93%).

Demikian juga pada keutuhan membran plasma dan tudung akrosom spermatozoa setelah penyimpanan pada suhu 5°C dalam lemari es, terlihat bahwa rata-rata persentase MPU dan TAU spermatozoa pada perlakuan L<sub>30</sub> nyata (P<0,05) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> dan L<sub>90</sub> (Tabel 5). Hal ini didukung lagi oleh tingkat penurunan persentase MPU dan TAU spermatozoa dari 0-48 jam penyimpanan pada perlakuan L<sub>30</sub> (masing-masing 40,84 dan 39,00%) nyata (P<0,05) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> (masing-masing 50,14 dan 50,90%) dan L<sub>90</sub> (masing-masing 50,14 dan 50,97%).

**Tabel 4.** Rataan persentase motilitas (%M) dan hidup (%H) spermatozoa semen cair dan tingkat penurunannya selama penyimpanan pada suhu 5°C

Karakteristik semen	Lama penyimpanan (jam)	Perlakuan			Rataan
		L <sub>30</sub>	L <sub>60</sub>	L <sub>90</sub>	
% M	0	70,83 ± 2,58 <sup>a</sup>	67,08 ± 3,68 <sup>b</sup>	61,50 ± 3,32 <sup>c</sup>	66,47 ± 3,19
	24	44,50 ± 4,73 <sup>a</sup>	35,75 ± 4,54 <sup>b</sup>	29,67 ± 2,89 <sup>c</sup>	36,64 ± 4,05
	48	28,00 ± 4,40 <sup>a</sup>	11,67 ± 4,64 <sup>b</sup>	6,67 ± 2,89 <sup>c</sup>	15,45 ± 3,98
	Rataan	47,77 ± 3,90	38,17 ± 4,29	32,61 ± 3,03	
	Penurunan dari 0 - 48 jam	42,83 ± 3,21 <sup>a</sup>	55,41 ± 3,51 <sup>b</sup>	54,83 ± 2,55 <sup>b</sup>	
% H	0	78,20 ± 2,33 <sup>a</sup>	73,73 ± 1,30 <sup>b</sup>	71,88 ± 4,37 <sup>b</sup>	64,60 ± 2,67
	24	67,96 ± 3,55 <sup>a</sup>	62,54 ± 4,73 <sup>b</sup>	54,51 ± 4,02 <sup>b</sup>	61,67 ± 4,10
	48	58,45 ± 3,34 <sup>a</sup>	50,67 ± 3,10 <sup>b</sup>	41,95 ± 3,11 <sup>c</sup>	50,36 ± 3,18
	Rataan	68,20 ± 3,07	62,31 ± 3,04	56,11 ± 3,83	
	Penurunan dari 0 - 48 jam	19,75 ± 2,85 <sup>a</sup>	23,06 ± 2,30 <sup>b</sup>	29,93 ± 3,54 <sup>c</sup>	

Nilai dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P<0,05)

**Tabel 5.** Rataan persentase MPU dan TAU spermatozoa semen cair dan penurunannya selama penyimpanan pada suhu 5°C

Karakteristik semen	Lama penyimpanan (jam)	Perlakuan			Rataan
		L <sub>30</sub>	L <sub>60</sub>	L <sub>90</sub>	
% MPU	0	79,56 ± 3,50 <sup>a</sup>	75,01 ± 3,86 <sup>b</sup>	69,08 ± 3,67 <sup>c</sup>	74,55 ± 3,68
	24	56,53 ± 4,19 <sup>a</sup>	47,56 ± 2,50 <sup>b</sup>	24,92 ± 1,33 <sup>c</sup>	43,00 ± 2,67
	48	38,72 ± 2,80 <sup>b</sup>	24,87 ± 0,34 <sup>b</sup>	18,94 ± 3,15 <sup>c</sup>	27,51 ± 2,10
	Rataan	58,27 ± 3,50	49,15 ± 2,23	37,65 ± 2,72	
	Penurunan dari 0 - 48 jam	40,84 ± 3,10 <sup>a</sup>	50,14 ± 2,15 <sup>b</sup>	50,14 ± 3,51 <sup>b</sup>	
% TAU	0	81,20 ± 4,59 <sup>a</sup>	76,87 ± 4,84 <sup>b</sup>	71,33 ± 6,37 <sup>c</sup>	76,47 ± 5,27
	24	59,83 ± 4,23 <sup>a</sup>	49,70 ± 4,29 <sup>b</sup>	35,83 ± 0,61 <sup>c</sup>	48,45 ± 3,04
	48	42,20 ± 2,78 <sup>a</sup>	25,97 ± 0,39 <sup>b</sup>	20,36 ± 3,00 <sup>c</sup>	29,51 ± 2,06
	Rataan	61,08 ± 3,87	50,85 ± 3,17	42,51 ± 3,33	
	Penurunan dari 0 - 48 jam	39,00 ± 3,70 <sup>a</sup>	50,90 ± 3,61 <sup>b</sup>	50,97 ± 4,68 <sup>b</sup>	

Nilai dengan huruf berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata (P<0,05)

Tingginya motilitas dan daya hidup *semen* cair kambing setelah penyimpanan pada suhu 5°C pada perlakuan L<sub>30</sub> dibandingkan dengan L<sub>60</sub> dan L<sub>90</sub> mengindikasikan bahwa penambahan laktosa 30 mM dalam pengencer Tris optimal menyediakan substrat energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa selama penyimpanan pada suhu 5°C (proses pendinginan). Selama berlangsungnya proses pendinginan, akan terjadi penurunan aktivitas spermatozoa sehingga perlu dijaga jangan sampai rusak. Oleh karena itu, perlu tersedia energi yang optimal dalam pengencer, yang mana akan digunakan oleh spermatozoa untuk tetap hidup dan bergerak aktif. Karbohidrat (khususnya golongan disakarida) disamping berperan sebagai krioprotektan dan mempertahankan tekanan osmotik pengencer serta keutuhan membran plasma, juga menyediakan substrat energi untuk kebutuhan spermatozoa selama proses penyimpanan (YILDIZ *et al.*, 2000; SALAMON dan MAXWELL, 2000).

Selain itu, pada perlakuan L<sub>30</sub> menyebabkan persentase MPU dan TAU spermatozoa lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan L<sub>60</sub> dan L<sub>90</sub> selama penyimpanan pada suhu 5°C. Hal ini disebabkan pada konsentrasi L<sub>30</sub> telah optimal melindungi membran plasma dari kerusakan selama proses pendinginan. Sebagaimana diketahui, bahwa salah satu sifat laktosa adalah senyawa pereduksi yang akan menetralkan kerja hidrogen peroksida, yang mana diketahui dapat merusak ikatan ganda asam lemak tak jenuh dari fosfolipid *bilayer* membran plasma spermatozoa. Akibatnya membran plasma spermatozoa tetap stabil dan utuh, yang sekaligus juga melindungi tudung akrosom dari kerusakan selama proses pendinginan.

Rendahnya viabilitas *semen* cair pada perlakuan L<sub>60</sub> dan L<sub>90</sub> selama penyimpanan pada suhu 5°C lebih disebabkan pada faktor perubahan tekanan osmotik pengencer. Tingginya konsentrasi laktosa melebihi konsentrasi optimal akan mengakibatkan tekanan osmotik pengencer berubah ke arah hipertonik. Efek yang ditimbulkan adalah muncul gejala *osmotic-shock* pada spermatozoa, yang ditandai dengan kerusakan pada membran plasma spermatozoa sehingga proses metabolisme terganggu dan pada akhirnya menurunkan motilitas spermatozoa. Tanda-tanda adanya *osmotic-shock* adalah penurunan viabilitas dan integritas membran plasma spermatozoa (CORREA *et al.*, 1996).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa penambahan laktosa sebesar 30 mM dalam pengencer Tris dapat melindungi spermatozoa dari berbagai cekaman selama penyimpanan pada suhu 5°C dalam lemari es, sehingga dapat mempertahankan viabilitas *semen* cair (motilitas, daya hidup, MPU dan TAU spermatozoa) kambing Saanen. Perlu penelitian

lebih lanjut tingkat keberhasilan penggunaan *semen* cair yang dihasilkan ini di lapangan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Proyek PAATP-Badan Litbang Pertanian yang memberikan bantuan dana sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
2. Laboratorium Ruminansia Kecil-Balai Penelitian Ternak, Bogor dan Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR)-FKH, IPB yang telah memberikan fasilitas dan kemudahan-kemudahan lainnya untuk pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- AHMED, M.M.M., S.A. MAKAWI, and A.A. GADIR. 1997. Reproductive performance Saanen bucks under tropical climate. *Small Rumin. Res.* 26:151-155.
- ANONIMOUS. 2002. American Dairy Goat Breed Description. <http://www.goatweb.com/discover/dairy/saanen.shtml>. [19 Juni 2002].
- AZERÉDO, G.A., C.R. ESPER and K.T. RESENDE. 2001. Evaluation of plasma membrane integrity of frozen-thawed goat spermatozoa with or without seminal plasma. *Small Rumin. Res.* 41 : 257-263.
- CORREA, J.R., M.C. RODRIGUEZ, D.J. PATTERSON, and P.M. ZAVOS. 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.
- EVANS, G. and W.M.C. MAXWELL. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths, London. 194 hal.
- KARAGIANNIDIS, A., S. VARSAKELI and G. KARATZAS. 2000. Characteristics and seasonal variation in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology.* 53: 1285-1293.
- LEBOEUF, B., E. MANFREDI, P. BOUE, A. PIACÈRE, G. BRICE, G. BARIL, C. BROQUA, P. HUMBLOT and M. TERQUI. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livestock Prod. Sci.* 55: 193-203.
- LEBOEUF, B., B. RESTALL and S. SALAMON. 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. 1994. Effect of monosaccharides in Tris-based diluent on motility, acrosome integrity and fertility of pellet frozen ram spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 36: 113-122.

- NGANGI, L.R. 2002. Efektivitas lama Pemberian Implan Progesteron Intravaginal dan Waktu Inseminasi terhadap Penampilan Reproduksi Kambing Peranakan Etawah. Tesis. Program Pascasarjana-IPB, Bogor. 76 hal.
- RITAR, A.J., and S. SALAMON. 1983. Fertility of fresh and frozen-thawed semen of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.* 36: 49-59.
- RITAR, A.J., P.D. BALL and P.J. O'MAY. 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 of females. *Reprod. Fertil. Dev.* 2: 377-384.
- RITAR, A.J. and P.D. BALL. 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.
- ROCA, J., J.A. CARRIZOSA, I. COMPOS, A. LAFUENTE, J.M. VAZQUEZ and E. MARTINEZ. 1997. Viability and fertility of unwashed Murciano-Granadina goat spermatozoa diluted in tris-egg yolk extender and stored at 5°C. *Small Rumin. Res.* 25: 147-153.
- SALAMON, S. and W.M.C. MAXWELL. 2000. Storage of ram spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 77-111.
- SINGH, M.P., A.K. SINHA and B.K. SINGH. 1995. Effect cryoprotectants on certain seminal attributes and on the fertility of buck spermatozoa. *Theriogenology.* 43: 1047-1053.
- SINGH, M.P., A.K. SINHA, B.K. SINGH and R.L. PRASAD. 1996. Effect of cryoprotectants on release of various enzymes from buck spermatozoa during freezing. *Theriogenology.* 45: 405-416.
- STEEL, R.G.D. dan J.H. TORRIE. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- SUPRIATNA, I. dan F.H. PASARIBU. 1992. In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio dan Pembekuan Embrio. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- TAMBING, S.N., M.R. TOELIHIRE, T.L. YUSUF dan I.K. SUTAMA. 2001. Kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah setelah ekuilibrasi. *Hayati.* 8: 70-75.
- VISWANATH, R. and P. SHANNON. 2000. Storage of bovine semen in liquid frozen state. *Anim. Reprod. 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.