

PENGARUH PENAMBAHAN GLUTATION KE DALAM PENGECER TRIS TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR DOMBA GARUT

Muhammad Rizal¹

INTISARI

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kualitas semen domba Garut yang dipreservasi dengan pengencer TRIS dan penambahan berbagai konsentrasi glutation. Semen ditampung dari empat ekor pejantan domba Garut menggunakan vagina buatan satu kali dalam satu minggu. Segera setelah dievaluasi, semen dibagi ke dalam tiga buah tabung reaksi dan masing-masing diencerkan dengan pengencer TRIS + 0 g (kontrol), 0,05 g (G10,05) dan 0,10 g (G10,10) glutation per 100 ml pengencer. Semen yang telah diencerkan disimpan di dalam lemari es (suhu 5°C). Sampel semen cair dievaluasi kualitasnya meliputi persentase motilitas, hidup, dan membran plasma utuh (MPU) setiap 24 jam selama 120 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan glutation tidak nyata ($P > 0,05$) meningkatkan persentase motilitas dan persentase hidup sperma hingga 120 jam penyimpanan. Penambahan glutation nyata ($P < 0,05$) meningkatkan persentase MPU sperma pada jam ke-72 dan ke-120 penyimpanan.

(Kata kunci: Semen cair, Glutation, Domba Garut, Membran plasma).

Buletin Peternakan 27 (2) : 63 - 72 , 2003

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Ambon 97233.

THE EFFECTS OF GLUTATHIONE ADDITION IN TRIS EXTENDER ON CHILLED-SEMEN QUALITY OF GARUT RAMS

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the quality of chilled-semen of Garut rams preserved with TRIS extender and addition various glutathione concentrations. Semen was collected from four Garut rams using artificial vagina once a week. Immediately after initial evaluation, semen was divided into three parts and diluted with TRIS extender + 0 g (control), 0.05 g (G10.05), and 0.10 g (G10.10) glutathione per 100 ml, respectively. Extended-semen was stored in refrigerator (temperature 5°C). Quality of chilled-semen including: motility, live sperm, and intact plasma membrane were evaluated every 24 hour for 120 hours. The results indicated that addition of glutathione did not significantly ($P>0.05$) enhance motility and live sperm for 120 hours storage. Addition of glutathione did significantly ($P<0.05$) enhance intact plasma membrane lasting for 72 and 120 hours.

(Key words: Chilled-semen, Garut rams, Glutathione, Plasma membrane)

Pendahuluan

Domba Garut merupakan salah satu jenis domba daerah tropis yang tergolong prolific serta memiliki berat badan yang relatif lebih besar dibandingkan dengan domba lokal Indonesia yang lain. Berat badan domba jantan dewasa sekitar 60 – 80 kg, bahkan dapat mencapai lebih dari 100 kg, sehingga memiliki potensi yang besar sebagai ternak penghasil daging atau sebagai donor semen untuk memperbaiki performans domba lokal yang lain melalui program inseminasi buatan (IB).

Aplikasi teknologi IB pada ternak domba untuk meningkatkan produktivitas, perbaikan mutu genetik, dan efisiensi hingga saat ini belum memberikan hasil sesuai dengan yang diharapkan. Kurang baiknya kualitas semen yang digunakan serta kesulitan mendeposisikan semen seperti yang dilakukan pada ternak besar, merupakan salah satu faktor yang menyebabkan rendahnya keberhasilan IB pada domba.

Pengolahan semen merupakan salah satu tahap kritis dalam rangkaian pelaksanaan program IB. Ini terkait dengan upaya untuk menjaga daya hidup dan kualitas sperma selama proses pengolahan semen, yang di dalamnya terdapat beberapa perlakuan yang

sebenarnya kurang menguntungkan bagi kelangsungan hidup sperma. Dalam proses pengolahan semen dapat terjadi kerusakan-kerusakan pada bagian sel sperma seperti membran plasma karena semen kontak dengan udara luar yang mengandung banyak oksigen. Ini mengakibatkan meningkatnya metabolisme dan konsentrasi radikal bebas dan senyawa-senyawa oksigen reaktif di dalam semen.

Kerusakan pada membran plasma sel disebabkan oleh terbentuknya radikal bebas yang merupakan salah satu produk metabolisme itu sendiri. Reaksi antara radikal bebas dengan lipida terutama asam lemak tak jenuh yang banyak menyusun membran plasma sel sperma akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipida. Apabila reaksi awal ini tidak dikendalikan, maka akan terjadi reaksi secara terus menerus (otokatalitik) (Suryohudoyo, 2000) yang pada akhirnya akan merusak sebagian besar atau seluruh membran plasma sel sperma. Apabila membran plasma sel rusak, akan mengganggu seluruh proses biokemis di dalam sel yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel sperma itu sendiri.

Penambahan antioksidan di dalam pengencer semen merupakan salah satu upaya untuk mengurangi terjadinya reaksi peroksidasi lipida. Upaya peningkatan kualitas

sperma dengan menambahkan antioksidan di dalam pengencer semen telah banyak dilaporkan, seperti vitamin C pada semen beku sapi (Beconi *et al.*, 1993), vitamin E dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) pada semen beku domba *St. Croix* (Feradis, 1999), α -tokoferol pada semen beku kambing peranakan Etawah (Werdhany *et al.*, 2000), serta vitamin C dan E pada semen kelinci (Yousef *et al.*, 2003). Pada domba Garut, penambahan vitamin E (Kusno, 2002) dan BHT (Ikhsanuddin, 2002) tidak nyata meningkatkan kualitas semen cair, akan tetapi nyata meningkatkan kualitas semen beku (Herdis *et al.*, 2002).

Glutation merupakan salah satu senyawa antioksidan berupa komponen sulfidril non protein di dalam sel yang dapat membersihkan radikal bebas hidroksil yang sangat reaktif dan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipida pada membran sel (Suryohudoyo, 2000; Tuminah, 2000) dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif (Rajmakers *et al.*, 2003; Hemachand dan Saha, 2003), sehingga memungkinkan digunakan di dalam pengencer semen. Menurut Takahashi *et al.* (1997) serta De Matos dan Furnus (2000) glutation dapat mengurangi terjadinya reaksi reduksi-oksidasi (redoks) di dalam sel yang menyebabkan rusaknya DNA akibat meningkatnya hidrogen peroksida. Glutation berfungsi mencegah terjadinya peroksidasi lipida membran sel sperma selama proses pengolahan semen, sehingga dapat meningkatkan motilitas dan integritas membran plasma sel (Holt, 2000).

Pada penelitian ini dicoba menambahkan berbagai konsentrasi glutation di dalam pengencer TRIS dengan harapan dapat melindungi sperma dari serangan zat oksidan dan radikal bebas selama proses preservasi semen domba Garut.

Materi dan Metode

Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah empat ekor pejantan domba Garut dewasa kelamin dengan kondisi tubuh dan kesehatan yang baik, berat badan rata-rata $83,17 \pm 9,8$ kg (kisaran 70,5 – 97,5 kg) dan umur sekitar tiga hingga lima tahun sebagai sumber semen yang diuji kualitasnya. Pejantan dikandangkan secara individu dan diberikan pakan berupa rumput dan leguminosa segar sebanyak 7 – 9 kg per ekor per hari. Untuk menjaga kesehatan, pejantan dimandikan setiap minggu.

Metode percobaan

Semen ditampung menggunakan vagina buatan satu kali dalam satu minggu. Semen ditampung dua hingga tiga ejakulat setiap ekor domba kemudian dicampur. Segera setelah ditampung, semen dinilai secara makroskopik dan mikroskopik. Penilaian makroskopik meliputi volume, warna, konsistensi (kekentalan), dan derajat keasaman (pH). Penilaian mikroskopik meliputi gerakan massa, persentase motilitas, persentase hidup, konsentrasi, persentase abnormalitas, dan persentase membran plasma utuh (MPU).

Tabel 1. Komposisi pengencer TRIS (*TRIS extender composition*)

Bahan (<i>Ingredients</i>)	Jumlah (<i>Total</i>)
TRIS (hidroksimetil) aminometana ^a (g)	3,32
Asam sitrat-monohidrat ^a (<i>Citric acid monohydric</i>) (g)	1,86
D(-)Fruktosa ^a (<i>D. Fructosa</i>) (g)	1,37
Akuabidestilata ^b (<i>Water</i>) (ml)	100
Kuning telur ^c (<i>Yolk</i>) (ml, v/v)	20
Penisilin-G ^d (<i>Penicilijne</i>) (IU/ml)	1000
Streptomisin sulfat ^d (<i>Streptomisine-sulphate</i>) (μ g/ml)	1000

^a: Merck, Germany, ^b: Supracointra, Indonesia, ^c: telur ayam ras (*Chicken egg*), ^d: Meiji, Japan.

Semen segar yang memenuhi syarat (motilitas $\geq 70\%$, konsentrasi ≥ 2000 juta sel per ml, gerakan massa ++ atau +++, dan abnormalitas $<15\%$) (Rizal *et al.*, 2002) diencerkan dengan pengencer TRIS (Tabel 1). Perlakuan penambahan glutation (GSH, Merck, Germany) yang dicobakan adalah: pengencer TRIS + 0 g (kontrol), 0,05 g (G10,05), dan 0,10 g (G10,10) glutation per 100 ml pengencer. Jumlah pengencer yang digunakan ditentukan berdasarkan persamaan yang dikemukakan Toelihere (1993), sebagai berikut:

$$JP \text{ (ml)} = \frac{VS \times PM \times K}{100 \times 10^6} \times 0,2 - VS$$

Keterangan :

- JP : Jumlah pengencer
 VS : Volume semen
 PM : Persentase motilitas
 K : Konsentrasi

Semen yang telah diencerkan disimpan di dalam lemari es (suhu 5°C) dan dievaluasi kualitasnya setiap 24 jam selama 120 jam. Parameter kualitas semen yang dievaluasi adalah persentase motilitas, persentase hidup, dan persentase MPU.

Persentase motilitas: persentase sperma yang bergerak progresif ke depan. Ditentukan secara subjektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Angka yang diberikan berkisar antara 0% hingga 100% dengan skala 5%.

Persentase hidup: persentase sperma yang hidup. Ditentukan dengan menggunakan

pewarnaan eosin (Toelihere, 1993). Sperma yang hidup ditandai oleh kepala yang berwarna putih, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala yang berwarna merah. Jumlah sperma yang dievaluasi minimal 200.

Persentase MPU: persentase sperma yang memiliki membran plasma utuh. Ditentukan dengan menggunakan metode *osmotic resistance test* (Revell dan Mrode, 1994). Sperma yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor yang melingkar atau menggembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor yang lurus, apabila semen dipaparkan di dalam larutan hiposmotik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Sperma sebanyak minimal 200 dievaluasi dengan mikroskop pembesaran 400 kali.

Analisis data

Data dianalisis dengan analisis ragam dalam bentuk rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan dan jumlah penampungan semen sebanyak enam kali sebagai ulangan. Perbedaan antarperlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1993).

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik semen segar

Evaluasi terhadap kuantitas dan kualitas semen segar dimaksudkan untuk mengetahui kadar pengenceran yang dibutuhkan serta untuk menentukan apakah semen tersebut layak atau tidak diproses lebih lanjut. Kuantitas dan kualitas semen yang diperoleh menunjukkan karakteristik semen segar domba Garut (Tabel 2).

Tabel 2. Karakteristik semen segar domba Garut
(*Characteristics of fresh semen of Garut rams*)

Parameter (<i>Variables</i>)	Ukuran (<i>Size</i>)
Volume (<i>Volume</i>), (ml)	1,1 ± 0,38
Warna (<i>Color</i>)	Krem
Derajat keasaman, (pH)	7,0 ± 0,11
Konsistensi/kekentalan (<i>Consistency</i>)	Kental
Gerakan massa (<i>Mass movement</i>)	+++
Konsentrasi (<i>Concentration</i>), ($\times 10^6$ /ml)	3652,00 ± 503,80
Persentase motilitas, (%)	78,33 ± 2,46
Persentase hidup (<i>Live sperm</i>), (%)	87,50 ± 3,45
Persentase abnormalitas (<i>Abnormality</i>), (%)	6,20 ± 1,17
Persentase membran plasma utuh, MPU (<i>Intact plasma membrane</i>), (%)	87,83 ± 1,57

Hasil penelitian menunjukkan volume semen yang diperoleh (rata-rata 1,1 ml) lebih tinggi daripada yang dilaporkan Inoune *et al* (2001) bahwa volume semen domba Garut rata-rata 0,76 ml (kisaran 0,3 - 2 ml) dan Herdis *et al* (2002) yakni hanya 0,7 ml. Warna semen yang krem, dan konsistensi kental, sesuai dengan yang dilaporkan Ax *et al* (2000), Qomariyah *et al*. (2001), dan Rizal *et al* (2002). Sedangkan menurut Inoune *et al* (2001) semen segar domba Garut memiliki 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 2490,60 juta sperma/ml (kisaran 950 - 4080 juta sperma/ml).

Hasil penelitian Feradis (1999) pada domba St Croix didapatkan volume rata-rata 1,66 ml, pH 6,8, konsentrasi 3785 juta sperma/ml, persentase motilitas 81,67%, persentase hidup 89,33%, persentase abnormalitas 8,33%, dan persentase MPU 86,33%. Moses *et al*. (1997) dan Varcancel *et al*. (1997) melaporkan persentase MPU semen segar domba adalah sebesar 70% dan 73%.

Berdasarkan karakteristik semen segar yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa

semen segar yang dihasilkan oleh domba-domba percobaan memiliki kuantitas dan kualitas yang baik, sehingga memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut, baik dalam bentuk semen cair maupun semen beku.

Pengaruh penambahan glutation terhadap persentase motilitas sperma

Motilitas atau daya gerak progresif ke depan menjadi hal yang sangat penting bagi sperma karena merupakan salah satu faktor utama yang menunjukkan kemampuan sperma untuk membuahi sel telur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan glutation ke dalam pengencer TRIS tidak nyata ($P > 0,05$) meningkatkan persentase motilitas sperma mulai dari jam ke-24 hingga jam ke-120 penyimpanan pada suhu 5°C (Tabel 3). Hal yang sama juga dilaporkan bahwa antioksidan vitamin E (Kusno, 2002), vitamin E dan BHT (Ikhsanuddin, 2002) tidak secara nyata meningkatkan persentase motilitas sperma domba Garut hingga jam ke-96 penyimpanan pada suhu 5°C. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Werdhany *et al*. (2000) bahwa penambahan vitamin E tidak nyata meningkatkan persentase motilitas semen cair kambing Peranakan Etawah.

Tabel 3. Pengaruh level glutathion terhadap persentase sperma pada berbagai pengamatan (*Effect of glutathione on percentage of sperm motility at different length of observations*)

Perlakuan (Treatment)	Lama pengamatan, jam (<i>Length of observation, hours</i>)				
	24	48	72	96	120
	%				
Kontrol (<i>Control</i>)	78,33 ± 2,36	70,00 ± 2,89	55,00 ± 3,53	41,25 ± 6,49	30,83 ± 5,33
Gl0,05	78,33 ± 2,36	71,67 ± 3,73	55,00 ± 3,53	43,75 ± 7,39	35,83 ± 6,72
Gl0,10	78,33 ± 2,36	72,50 ± 2,50	58,75 ± 2,16	45,00 ± 3,53	34,17 ± 4,49

Tabel 4. Pengaruh level glutathion terhadap persentase hidup sperma pada berbagai lama pengamatan (*Effect of glutathione on percentage of live sperm at different length at observations*)

Perlakuan (Treatment)	Lama pengamatan, jam (<i>Length of observation, hours</i>)				
	24	48	72	96	120
	%				
Kontrol (<i>Control</i>)	85,17 ± 2,91	77,83 ± 3,43	63,50 ± 3,53 ^a	52,75 ± 5,12	47,00 ± 6,48
Gl0,05	87,17 ± 2,11	81,83 ± 2,54	67,25 ± 3,53 ^a	56,75 ± 5,36	53,67 ± 8,14
Gl0,10	87,17 ± 2,41	82,00 ± 2,77	74,75 ± 2,16 ^b	58,50 ± 2,87	51,33 ± 6,15

^{a,b} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)
 (^{a,b} Mean within the same coloumn with different superscripts are significantly different ($P < 0,05$))

Namun demikian penambahan glutathion sebanyak 0,05 dan 0,10 g per 100 ml pengencer dapat meningkatkan persentase motilitas sperma mulai dari jam ke-48 hingga jam ke-120 penyimpanan. Pada jam ke-120, persentase motilitas tertinggi dicapai pada perlakuan Gl0,05 yakni sebesar rata-rata 35,85% yang diikuti oleh perlakuan Gl0,10 yakni sebesar 34,17%, sedangkan kontrol hanya sebesar 30,83% (Tabel 3). Peningkatan sebesar 5,85% ini cukup berarti karena di dalam semen terkandung jutaan sperma.

Hasil yang diperoleh berbeda dengan yang dilaporkan Holt (2000) bahwa penambahan glutathion ke dalam pengencer meningkatkan kualitas semen beku. Pada saat *thawing* terjadi peningkatan suhu yang sangat ekstrim dan semen kontak dengan oksigen, sehingga metabolisme dan konsentrasi radikal bebas meningkat dengan sangat cepat. Pada keadaan seperti ini glutathion akan memberikan peranan yang sangat signifikan dalam mencegah terjadinya peroksidasi lipida pada membran plasma sel, yang pada akhirnya juga

dapat mempertahankan motilitas sperma. Kondisi yang ekstrim seperti ini tidak terjadi pada penyimpanan semen di dalam lemari es (suhu 5°C).

Pengaruh penambahan glutathion terhadap persentase hidup sperma

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara umum penambahan glutathion tidak nyata ($P > 0,05$) meningkatkan persentase hidup sperma hingga penyimpanan selama 120 jam. Pada jam ke-72 penyimpanan, perlakuan Gl0,10 nyata ($P < 0,05$) meningkatkan persentase hidup sperma dibandingkan dengan perlakuan Gl0,05 dan kontrol (Tabel 4).

Hasil yang diperoleh berbeda dengan yang dilaporkan Leboeuf *et al.* (2000) bahwa penambahan glutathion peroksidase (1 unit/ml) dapat meningkatkan daya hidup sperma domba dan kambing hingga 12 hari penyimpanan pada suhu 5°C. Perbedaan ini diduga disebabkan karena bahan yang digunakan berbeda, dimana peneliti tersebut menggunakan glutathion dalam bentuk enzim,

sedangkan pada penelitian ini glutatone yang digunakan berupa tripeptida. Ternak percobaan yang berbeda juga akan memberikan respons yang berbeda.

Pengaruh penambahan glutatone terhadap persentase membran plasma utuh sperma

Membran plasma yang utuh mutlak harus dimiliki sperma yang baik, karena membran plasma memegang peranan yang sangat penting bagi sel sperma. Selain menjaga organel-organel sel dari kerusakan secara fisik, membran plasma juga berfungsi dalam mengatur lalu lintas keluar masuk sel substrat dan elektron yang dibutuhkan dalam berlangsungnya seluruh proses biokemis yang terjadi di dalam sel. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa kerusakan membran plasma adalah merupakan awal dari proses kematian sel itu sendiri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada jam ke-24, 48, dan 96 penyimpanan, penambahan glutatone tidak nyata ($P > 0,05$) meningkatkan persentase MPU sperma. Namun pada jam ke-72 dan 120, penambahan glutatone nyata ($P < 0,05$) meningkatkan persentase MPU sperma (Tabel 5).

Persentase MPU lebih tinggi pada perlakuan penambahan glutatone dibandingkan

dengan kontrol karena glutatone dapat meminimalkan terjadinya reaksi peroksidasi lipida akibat radikal bebas yang menyebabkan rusaknya membran plasma sel sperma. Serangan radikal bebas terutama terjadi saat pemeriksaan semen karena terjadi peningkatan suhu dan kontak dengan udara luar yang mengandung oksigen dalam konsentrasi yang cukup tinggi.

Peningkatan kualitas semen dengan penambahan glutatone ke dalam pengencer telah dilaporkan pada semen beku sapi (Slaweta dan Laskowska, 1987; Earl *et al.*, 1997), semen beku kambing (Sinha *et al.*, 1996). Gadea *et al.* (2000) melaporkan bahwa penambahan glutatone sebanyak 1 mM dan 5 mM ke dalam pengencer semen beku babi yang telah *dithawing* akan meningkatkan kemampuan penetrasi sperma terhadap sel telur dan pembentukan pronukleus jantan. Hal ini disebabkan karena glutatone dapat melindungi membran plasma sel dari kerusakan akibat serangan radikal bebas (Suryohudoyo, 2000).

Mekanisme kerja glutatone dalam mencegah terjadinya reaksi peroksidasi lipida pada membran plasma sel sperma adalah sebagai berikut :

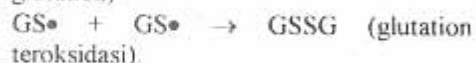
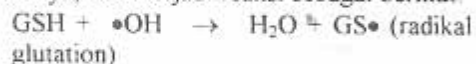
Tabel 5. Pengaruh level glutatone terhadap persentase membran plasma utuh sperma pada berbagai lama pengamatan (*Effect of glutathione levels on sperm intact membrane at different length at observation*)

Perlakuan (Treatment)	Lama pengamatan, jam (Length of observation, hours)				
	24	48	72	96	120
	%				
Kontrol (Control)	83,67 ± 2,28	75,17 ± 2,27	63,50 ± 3,84 ^a	49,25 ± 4,08	44,83 ± 4,63 ^d
Gl0,05	84,50 ± 2,87	77,67 ± 2,36	67,50 ± 3,28 ^a	53,00 ± 5,24	52,50 ± 4,50 ^b
Gl0,10	85,00 ± 2,45	78,50 ± 3,73	70,00 ± 1,22 ^b	54,00 ± 5,34	52,00 ± 3,16 ^b

^{a,b} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)
^{a,b} Mean within the same coloumn with different superscripts are significantly different ($P < 0,05$).

Kalau bertemu dengan hidrogen peroksida (H_2O_2), akan terjadi reaksi sebagai berikut: $GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$. Hidrogen peroksida memang bukan radikal bebas, akan tetapi sebagai salah satu zat oksidan, dia juga dapat menimbulkan akibat yang sama dengan akibat yang ditimbulkan oleh radikal bebas.

Kalau bertemu dengan radikal bebas hidroksil ($\bullet OH$) yang dikenal sebagai salah satu senyawa oksigen reaktif yang paling berbahaya, akan terjadi reaksi sebagai berikut:



Reaksi yang ditimbulkan oleh radikal bebas pada membran plasma (terutama pada asam lemak tak jenuh) akan membentuk radikal baru, yang jika bertemu dengan molekul lain akan terjadi lagi reaksi dan membentuk radikal baru juga. Demikian seterusnya sehingga terjadi reaksi berantai (*chain reaction*) (Suryohudoyo, 2000), dan apabila ini terjadi pada membran plasma sel sperma, reaksi itu akan berhenti jika seluruh membran plasma sel telah mengalami kerusakan, atau dicegah dengan senyawa antioksidan seperti glutation. Pada bagan tersebut di atas terlihat bahwa reaksi akan berhenti karena dua radikal glutation ($GS\bullet$) akan bereaksi membentuk glutation teroksidasi ($GSSG$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang positif antara ketiga parameter kualitas sperma yang dievaluasi. Fenomena ini dapat dijelaskan sebagai berikut: jika selama proses preservasi semen, membran plasma sel sperma dapat dipertahankan keutuhannya sebagai pengaruh positif dari penambahan glutation ke dalam pengencer, maka akan memberikan efek yang baik pula terhadap motilitas dan daya hidup sperma. Motilitas sperma sangat bergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme. Metabolisme dapat berlangsung dengan baik apabila membran plasma sel sperma ada dalam

keadaan yang utuh, sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas keluar masuk sel semua senyawa dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Selain itu membran plasma sel juga berfungsi menjaga organel-organel yang terdapat di dalam sel dari kerusakan secara fisik selama proses pengolahan semen. Hal ini terlihat mulai pada jam ke-72 hingga jam ke-120 penyimpanan. Persentase MPU secara nyata meningkat pada perlakuan penambahan glutation (Tabel 5) yang juga diikuti dengan peningkatan nilai persentase motilitas (Tabel 3) dan persentase hidup sperma (Tabel 4) yang cukup berarti.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

Penambahan glutation ke dalam pengencer TRIS tidak dapat meningkatkan persentase motilitas dan persentase hidup sperma domba Garut selama 120 jam penyimpanan pada suhu $5^\circ C$.

Persentase MPU sperma pada jam ke-72 dan 120 penyimpanan pada suhu $5^\circ C$ nyata lebih tinggi pada perlakuan penambahan glutation sebanyak 0,05 dan 0,10 g per 100 ml dibandingkan dengan kontrol.

Ucapan Terima Kasih

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

Daftar Pustaka

- Ax, R. L., M. Dally, B. A. Didion, R. W. Lenz, C. C. Love, D. D. Varner, B. Hafez, and M. E. Bellin. 2000. Semen evaluation. In: *Reproduction in Farm*

- Animals 7th ed., E.S.E. Hafez and B. Hafez (eds) Lippincott Williams, Baltimore, USA. pp. 365-375.
- Beconi, M. T., C. R. Francia, N. G. Mora, and M. A. Affranchino. 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology* 40:841-851.
- De Matos, D. G. and C. C. Furnus. 2000. The importance of having high glutathione (GSH) level after bovine in vitro maturation on embryo development. Effect of beta-mercaptoethanol, cysteine and cystine. *Theriogenology* 53:761-771.
- Earl, C. R., J. Kelly, J. Rowe, and D. T. Armstrong. 1997. Glutathione treatment of bovine sperm enhances in vitro blastocyst production rates. *Theriogenology* 47:255. Abstract.
- Feradis. 1999. Penggunaan antioksidan dalam pengencer semen beku dan metode sinkronisasi estrus pada program inseminasi buatan domba St. Croix. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Gadea, J., E. Selles, S. Ruiz, P. Coy, R. Romar, C. Matas, and I. Campos. 2000. Effect of the presence of glutathione in the thawing diluent on the penetrability capacity of porcine oocytes in vitro. *Proceedings 14th ICAR, Stockholm 2-6 July 2000*. p. 17:11. Abstract.
- Hemachand, T. and C. Saha. 2003. Functional role of sperm surface glutathione S-transferases and extracellular glutathione in the haploid spermatozoa under oxidative stress. *FEBS Letters* 26999:1-5.
- Herdis, I., Kusuma, M., Surachman, M., Rizal, I., K. Utama, I. Inounu, B. Purwantara, dan I. Arifiantini. 2002. Peningkatan kualitas semen beku domba Garut melalui penambahan α -tokoferol ke dalam pengencer susu skim kuning telur. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 7 (1):12-17.
- Holt, W. V. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim Reprod Sci* 62:3-22.
- Ikhsanuddin, L. M. 2002. Efektivitas penambahan antioksidan terhadap kualitas semen cair domba Garut. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, 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"*. Puslitbang Peternakan. Hlm 64-73.
- Kusno, U. 2002. Efektivitas berbagai dosis α -tokoferol dalam pengencer TRIS kuning telur terhadap motilitas dan integritas membran plasma spermatozoa semen domba Garut. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Leboeuf, B., B. Restall, and S. Salamon. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 62:113-141.
- Moses, D. F., A. Varcacel, L. J. Perez, and M. A. de Las Heras. 1997. Intracellular ATP concentration are maintained in freezing-resistant ram spermatozoa. *Cryo Letters* 17:287-294.
- Qomariyah, S., Mihardja, dan R. Idi. 2001. Pengaruh kombinasi kuning telur dengan air kelapa terhadap daya tahan hidup dan abnormalitas spermatozoa domba Priangan pada penyimpanan 5°C. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Balitbang Pertanian, Departemen Pertanian*. Bogor, 17-18 September 2001. Hlm 172-177.

- Raijmakers, M. T. M., H. M. J. Roelofs, E. A. P. Steegers, R. P. M. Steegers-Theunissen, T. P. J. Mulder, M.F.C.M. Knapen, W.Y. Wong, and W.H.M. Peters. 2003. Glutathione and glutathione S-transferases A1-1 and P1-1 in seminal plasma may play a role in protecting against oxidative damage to spermatozoa. *Fertil Steril* 79:169-172.
- Revell, S. G. and R. A. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim Reprod Sci* 36:77-86.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T. L. Yusuf, B. Purwantara, dan P. Situmorang. 2002. Kualitas semen beku domba Garut dalam berbagai konsentrasi gliserol. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 7(3):194-199.
- Sinha, M. P., A. K. Sinha, B. K. Singh, and R. L. Prasad. 1996. The effect of glutathione on the motility, enzyme leakage and fertility of goat semen. *Anim Reprod Sci* 41:237-243.
- Slaweta, R. and T. Laskowska. 1987. The effect of glutathione on the motility and fertility of frozen bull sperm. *Anim Reprod Sci* 13:249-253.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Suryohudoyo, P. 2000. Oksidan, antioksidan, dan radikal bebas. Dalam: Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler, P. Suryohudoyo (ed). CV Sagung Seto, Jakarta. Hlm 31-47.
- Sutama, I. K., B. Setiadi, P. Situmorang, U. Adiaty, I. G. M. Budiarsana, T. Kostaman, Maulana, Mulyawan, dan R. Sukmana. 2001. Uji kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah dan kambing Boer. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Bagian "Proyek Rekayasa Teknologi Peternakan/ARMP II". Puslitbang Peternakan. Hlm 88-111.
- Takahashi, M., N. Saka, Y. Kanai, and A. Okano. 1997. Depletion of glutathione causes DNA damage and increase of hydrogen peroxide levels in bovine embryos. *Theriogenology* 47:321. Abstract.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak Angkasa, Bandung.
- Tuminah, S. 2000. Radikal bebas dan antioksidan, kaitannya dengan nutrisi dan penyakit kronis. *Cermin Dunia Kedokteran* 128:49-51.
- Varcareel, A., M. A. de Las Heras, L. Peres, D.F. Moses, and H. Baldassare. 1997. Assesment of the acrosomal status of membrane intact ram spermatozoa after freezing and thawing by simultaneous lectin/hoechst 33258 staining. *Anim Reprod Sci* 45:229-309.
- Werdhany, I.W., M. R. Toelihere, I. Supriatna, dan I.K. Sutama. 2000. Efek pemberian berbagai konsentrasi α -tokoferol sebagai antioksidan dalam pengencer Tris sitrat terhadap motilitas sperma kambing peranakan Etawah. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Puslitbang Peternakan. Bogor, 18-19 Oktober 1999. Hlm 244-252.
- Yousef, M. I., G. A. Abdallah, and K. I. Kamel. 2003. Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim Reprod Sci* 76:99-111.