

Koleksi dan Preservasi Sperma Garangan (*Herpestes javanicus*)**Collection and Preservation of the Sperm Garangan (*Herpestes javanicus*)****Alvien Nuraini¹, Ni Luh Putu Rischa Phadmacanty², Yulianto²**¹Jurusan Biologi Universitas Negeri, Jember²Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong, Bogor

Email: rischa_phadmacanty@yahoo.co.id

Abstract

Cryopreservation technique can be used to preserve animal cell, plant, or other genetic materials including frozen semen. *Herpestes javanicus* is one of wild animals with a large number but no data about the sperm quality and technique how to preserve it. This research is proposed to know sperm quality of *H. javanicus* and the technique to preserve it. In this research, the three different methods were used to collect sperms. Those methods were electroejaculator, flushing and maceration/cutting, respectively. The sperm was then analyzed for quality, such as: volume, pH, viscosity, colour, smell, motility, concentration, viability, morphology and morphometry. Then the sperms were preserved in tris citrate glucose egg yolk extender by different concentrations. The result showed that the best method for collecting sperms was by maceration/cuting method, and the best extender for sperms was low concentration of tris cytrate glucose egg yolk.

Keywords: cryopreservation, *Herpestes javanicus*, sperm quality, preserve method, extender**Abstrak**

Teknik kriopreservasi dapat digunakan untuk mengawetkan sel hewan, tumbuhan, atau materi genetik lainnya termasuk sperma. *Herpestes javanicus* merupakan salah satu satwa liar yang banyak ditemukan namun belum ada data mengenai kualitas sperma dan teknik untuk penyimpanannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas sperma dan teknik untuk penyimpanannya. Pada penelitian ini digunakan tiga metode untuk mengkoleksi sperma yaitu metode elektroejakulator, *flushing* dan maserasi/*cutting*. Selanjutnya, sperma dianalisis kualitasnya, yaitu: volume, pH, konsistensi, warna, bau, gerakan spermatozoa, konsentrasi spermatozoa, viabilitas, morfologi dan morfometri spermatozoa. Spermatozoa disimpan dalam ekstender tris sitrat glukosa kuning telur dengan konsentrasi yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa metode terbaik untuk mengkoleksi sperma adalah maserasi/*cutting* testis, dan ekstender terbaik untuk menyimpan sperma *H. javanicus* adalah tris sitrat glukosa kuning telur dengan konsentrasi rendah.

Kata kunci: kriopreservasi, *Herpestes javanicus*, kualitas sperma, metode pengawetan, ekstender

Pendahuluan

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan populasi dan kualitas genetik suatu satwa. Selain IB, terdapat pula metode lain seperti fertilisasi *in vitro* yang merupakan metode terbaru saat ini. Fertilisasi *in vitro* sangat efektif digunakan karena dapat menghasilkan embrio dalam jumlah banyak dalam waktu yang singkat namun biaya yang dibutuhkan sangatlah tinggi sehingga belum banyak diaplikasikan. Saat ini, cara IB merupakan satu-satunya cara yang paling mudah dilakukan dengan biaya yang tidak terlalu tinggi sehingga merupakan pilihan yang tepat bagi peternak di Indonesia (Arifiantini, 2012).

Dalam pelaksanaan IB tentunya membutuhkan suatu rangkaian kegiatan yang tentunya sangat mempengaruhi keberhasilan proses IB tersebut. Proses tersebut diantaranya adalah seleksi induk jantan untuk memperoleh semen kualitas unggul, koleksi semen, evaluasi semen, preservasi atau kriopreservasi, deteksi birahi, pelaksanaan IB, evaluasi keberhasilan IB, dan pelaporan pada peternak (Arifiantini, 2012).

Kriopreservasi merupakan suatu teknik penyimpanan sel hewan maupun tumbuhan dalam keadaan beku dengan cara mereduksi aktivitas metabolisme tanpa mempengaruhi fungsi dan bentuk organela di dalam sel. Proses kriopreservasi sperma dapat dilakukan menggunakan tiga cara, yaitu dengan cara pembekuan lambat (*slow freezing*), pembekuan cepat (*rapid freezing*) dan pembekuan sangat cepat (*ultra rapid freezing*). Proses kriopreservasi dilakukan dengan cara disimpan pada suhu sangat rendah, yaitu -196°C

dalam nitrogen cair. Prinsip utama proses kriopreservasi ini adalah mengeluarkan cairan dari dalam sel dengan cepat sebelum terjadi pembekuan intraseluler (Gazali dan Tambing, 2002; Kostaman dan Setioko, 2011).

Pada dasarnya, tujuan utama teknik kriopreservasi adalah melestarikan plasma nutfah yang hampir kepunahan dan mendukung teknik inseminasi buatan pada ternak. Teknik penyimpanan sperma tanpa pembekuan disebut dengan preservasi. Pada umumnya, preservasi digunakan untuk penyimpanan dalam jangka waktu yang pendek, tetapi kualitas sperma hasil preservasi tidak sebaik kualitas sperma hasil kriopreservasi karena banyak sperma yang mati. Sebelum dilakukan teknik kriopreservasi ataupun preservasi perlu dilakukan pengujian kualitas sperma sehingga dapat diketahui sperma tersebut layak atau tidak untuk kriopreservasi. Jenis ekstender yang digunakan dan teknik yang tepat juga sangat mempengaruhi proses kriopreservasi sperma.

Garangan (*Herpestes javanicus*) merupakan satwa yang hidup bebas di alam dan termasuk salah satu hewan yang tidak dilindungi di Indonesia serta tidak termasuk dalam daftar jenis satwa buru pada Lampiran Keputusan Menteri Kehutanan dan Perkebunan Nomor:461/Kpts-II/1999 tentang penetapan musim berburu jenis-jenis satwa buru di taman buru dan areal buru. Status konservasi garangan berdasarkan *IUCN Red List of Threatened Species* adalah rendah. Walaupun bukan merupakan kategori satwa yang dilindungi, *H. javanicus* juga memiliki potensi penurunan populasi karena peranannya sebagai satwa buru dan berkurangnya habitat spesies tersebut karena pemukiman. Selain

itu belum ada data mengenai kualitas spermatozoa dan metode preservasi yang tepat untuk spesies tersebut, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mencari metode yang tepat dalam melakukan preservasi sperma garangan.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilakukan pada 2 Juli -12 Agustus 2012 di Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong, Bogor, Jawa Barat. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain elektroejaculator,

mikroskop, gelas objek, gelas penutup dan pipet, *hemocytometer improved* Neurbauer, kertas, *universal indicator* (Merck), *hand counter*, lemari es, gunting, spuit, siringe, skalpel dan pinset. Sedangkan bahan yang digunakan adalah satu ekor garangan, ketamin, xilazin, kloroform, lubrikan, ekstender dengan konsentrasi bufer tris dan glukosa yang berbeda (Tabel 1), pewarna Williams, pewarna eosin nigrosin, aquades, tabung, NaCl fisiologis dan alkohol.

Tabel 1. Komposisi ekstender

No	Komposisi	Ekstender A	Ekstender B
1.	Tris bu fer:		
	Tris aminomethan	2, 4 gr	0, 4 gr
	Asam sitrat	1, 4 gr	0, 2 gr
2.	Glukosa	0, 8 gr	0, 1 gr
3.	Kuning telur	1, 0 ml	1, 0 ml
4.	Peni silin	1, 0 µl	1, 0 µl
5.	Streptomis in	3, 5 µl	3, 5 µl

Koleksi semen dilakukan dengan elektroejaculator dan *epidydimal recovery* yang meliputi maserasi/*cutting* dan *flushing* epididimis.

1. Elektroejaculator

Untuk metode penanganan koleksi semen dengan menggunakan elektroejaculator yaitu dengan cara garangan dibius dengan ketamin-xilazin 1:1 sebanyak masing-masing 0, 2 ml. Sebelum dilakukan koleksi sperma, dilakukan pembersihan *preputium* kemudian dilakukan rangsaangan dengan elektroejaculator. Cara

penggunaan elektroejaculator adalah sebagai berikut: *Probe* ejakulator diolesi dengan lubrikan kemudian dimasukkan pada bagian anal garangan. Voltase yang digunakan pada proses elektroejakulasi garangan adalah 5 volt dengan tahapan yang bertingkat setiap 3 detik. Tabung diposisikan pada penis untuk menampung semen yang keluar.

2. *Epidydimal recovery*

Untuk metode *epidydimal recovery*, hewan dibius hingga mati dengan kloroform dan

dinekropsi untuk diambil bagian testis dan epididimisnya.

a. Maserasi/*cutting* epididimis

Dalam proses *cutting*, epididimis dibersihkan dan pembuluh darah ditekan untuk menghindari perdarahan. Ekstraksi dilakukan dengan memotong epididimis dengan skalpel kemudian cairan putih yang keluar dari tubulus yang dipotong ditampung ke dalam tabung (Martinez-Pastor *et al.*, 2006).

b. *Flushing* epididimis

Proses *flushing* didahului dengan pembersihan organ, yaitu epididimis dan bagian kauda serta vas deferens dipindahkan dengan cara memotong bagian dekat batas antara bagian korpus dan proksimal kauda. Kemudian disuntik dengan siringe 1 ml yang berisi ekstender lalu dilanjutkan dengan perfusi ekstender. Perfusi terus dilakukan hingga semua komponen dalam cauda epididimis keluar. Sampel yang diperoleh disimpan dalam tabung (Martinez-Pastor *et al.*, 2006).

Menurut Arifiantini (2012) uji kualitas semen dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis meliputi:

1. Volume

Pengukuran volume dilakukan dengan cara melihat skala pada tabung penampung semen.

2. Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) semen diukur dengan menggunakan pH *indicator paper* dengan kisaran yang sempit, yaitu 6,4-8 sehingga diperoleh nilai pH yang akurat.

3. Konsistensi atau derajat kekentalan

Konsistensi dinilai dengan cara memiringkan tabung yang berisi semen dan mengembalikan tabung pada posisi semula. Konsistensi dapat dinilai berdasarkan kecepatan semen kembali ke dasar tabung penampung. Kategori penilaian antara lain:

- Encer: Semen akan segera kembali ke dasar tabung
- Sedang: Semen akan segera kembali ke dasar tabung dengan kecepatan yang lebih lambat dibandingkan yang pertama dan sebagian semen masih menempel di dinding tabung
- Kental: Semen kembali ke dasar tabung secara perlahan dan menyisakan sebagian semen dipinggiran tabung

4. Warna

Warna diketahui dengan melihat secara langsung warna semen tersebut, yaitu putih, krem, atau kuning.

5. Bau

Bau semen dapat diketahui dengan cara mengibaskan tangan ke arah hidung pada mulut tabung penampung. Bau semen normal adalah anyir atau amis.

Evaluasi semen juga dilakukan secara mikroskopis yang meliputi:

1. Gerakan spermatozoa

Gerakan spermatozoa dinilai dengan cara melihat gerakan spermatozoa secara individu baik dalam hal kecepatan atau perbandingan antara pergerakan aktif progresif dan gerakan lainnya. Dalam evaluasi, semen diencerkan dengan NaCl fisiologis.

2. Konsentrasi spermatozoa

Perhitungan konsentrasi spermatozoa dilakukan dengan *counting chamber* dengan cara mengencerkan semen dengan perbandingan tertentu kemudian semen dihisap menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam *counting chamber* kemudian jumlah spermatozoa dihitung untuk setiap *chamber* secara diagonal dalam kotak yang paling kecil. Konsentrasi spermatozoa dapat diketahui dengan menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah spermatozoa/ml} = N \times 5 \times \text{FP} \times 10.000$$

Keterangan:

N : Jumlah rata-rata spermatozoa per *chamber*

FP : Faktor pengenceran

5 : Faktor koreksi

10.000 : Faktor koreksi yang dibutuhkan karena kedalaman *coverslip* 0,0001 ml/*chamber*

3. Rasio spermatozoa hidup dan mati (viabilitas)

Untuk mengetahui rasio spermatozoa hidup dan mati digunakan pewarnaan eosin nigrosin. Hasil pewarnaan tersebut akan menunjukkan sperma yang hidup dengan ciri-ciri bagian kepala tidak terwarnai, tetapi spermatozoa yang mati terwarnai. Untuk menghitung rasio spermatozoa hidup dan mati dilakukan dengan cara pengamatan pada 10 lapangan pandang dengan jumlah spermatozoa minimal 200 sel, kemudian dihitung yang hidup dan mati. Untuk persentasenya dapat digunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase spermatozoa hidup} = \frac{\text{jumlah sperma hidup}}{\text{total spermatozoa}} \times 100\%$$

4. Morfologi spermatozoa

Untuk melihat dan menentukan morfologi

spermatozoa digunakan pewarnaan eosin nigrosin kemudian dilihat morfologinya di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

5. Morfometri spermatozoa

Morfometri spermatozoa dilakukan dengan pewarnaan Williams kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Pengukuran spermatozoa dilakukan dengan *software* ImageG. Bagian yang diukur adalah panjang kepala dan panjang ekor.

Untuk pengenceran semen digunakan tris sitrat glukosa kuning telur sengan konsentrasi yang berbeda (Tabel 1) dengan perbandingan antara semen dan tris sitrat glikosa kuning telur 1:2. Kemudian disimpan di dalam kulkas pada suhu 4° C dan diamati motilitasnya pada jam tertentu.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian koleksi semen garangan dengan metode elektroejakulator dan *epididymal recovery* tertera pada Tabel 2. Hasil menunjukkan bahwa tidak diperoleh sperma melalui metode elektroejakulator. Hal ini dimungkinkan karena belum diketahuinya voltase optimum dalam proses sampling sperma *H. javanicus*, sehingga diperlukan adanya penelitian lanjutan untuk memperoleh sperma yang optimum dengan metode elektroejakulator.

Sperma yang diperoleh dari hasil sampling kemudian dilakukan pengujian secara makroskopis dan mikroskopis. Pada pengujian makroskopis, parameter yang dapat diamati adalah warna semen. Semen *H. javanicus* berwarna krem keputihan yang

merupakan warna sperma normal. Untuk parameter volume, konsistensi dan pH tidak dapat diukur karena telah dilakukan penambahan NaCl fisiologis pada saat koleksi. Berdasarkan uji mikroskopis diperoleh hasil bahwa motilitas sperma *H. javanicus*

melalui koleksi maserasi testis memiliki persentase yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan persentase motilitas sperma yang dikoleksi melalui metode *flushing*, begitu pula dengan persentase viabilitasnya.

Tabel 2. Kualitas sperma garangan (*H. javanicus*) pada kauda epididimis

No.	Parameter	Hasil	Keterangan
1	Pembiusan		
	a Berat badan hewan	1,02 gr	
	b. Obat bius yang digunakan	<ul style="list-style-type: none"> • ketamin • xilazin • khloroform 	Metode elektroejakulator Nekropsi
2	Teknik penampungan semen	<ul style="list-style-type: none"> • elektroejakulator • <i>flushing</i> • maserasi 	Tidak ada semen tertampung Semen tertampung sedikit Semen tertampung lebih banyak
3	Morfologi hewan		
	a Panjang badan	72,0 cm	
	b Panjang ekor	28,0 cm	
	c Ukuran telinga	18,0 mm	
	d Panjang testis kanan	15,6 mm	
	e Panjang testis kiri	15,3 mm	
	f. Lebar testis kanan	12,1 mm	
	g. Lebar testis kiri	12,1 mm	
4	Makroskopis		
	a Volume	-	
	b. Warna	Krem keputihan	
	c. Konsistensi	-	
	d. pH	-	
5	Mikroskopis		
	a. Gerakan massa	++	
	b. Motilitas (%)	<ul style="list-style-type: none"> • 60% • 40% 	Metode maserasi/ <i>cutting</i> Metode <i>flushing</i>
	c. Viabilitas (%)	<ul style="list-style-type: none"> • 71,3% • 71,2 % 	Metode maserasi/ <i>cutting</i> Metode <i>flushing</i>
	d Konsentrasi	$69 \times 10^6 / 0.01 \text{ ml}$	

Perbedaan motilitas pada kedua metode tersebut disebabkan pada saat dilakukan koleksi sperma dengan metode *flushing* terjadi kontak langsung antara sperma dengan udara luar dan cahaya. Dengan demikian, ada kemungkinan, bahwa banyak spermatozoa yang mati selama proses penampungan. Sedangkan, sperma yang dikoleksi melalui metode maserasi langsung bercampur dengan NaCl fisiologis setelah dilakukan pencacahan pada bagian kauda epididimis, dapat meminimalisir terjadinya kontak secara langsung antara sperma dengan udara luar. Meskipun demikian, pada metode *flushing*, ada keuntungannya, yaitu pada pemeriksaan di bawah mikroskop, spermatozoa terlihat lebih bersih sehingga memudahkan dalam pengamatan. Sedangkan, untuk pengamatan motilitas sperma yang dikoleksi melalui metode maserasi lebih sulit dilakukan karena banyak kotoran (debris) hasil cacahan yang terikut sehingga pada pemeriksaan di bawah mikroskop hasilnya kurang baik.

Pengukuran sel spermatozoa bertujuan untuk mengetahui karakteristik ukuran spermatozoa garangan (*H. javanicus*). Pengukuran yang dilakukan antara lain adalah panjang kepala, lebar kepala, panjang *midpiece*, panjang ekor dan panjang total. Pengukuran morfometri 200 sperma tersebut diperoleh hasil rata-rata panjang kepala 4,44 um, lebar kepala 2,98 um, panjang *midpiece* 3,44 um, panjang ekor 50,62 um dan panjang total 61,47 um. Menurut Feradis (2010), panjang keseluruhan sperma hewan peliharaan berkisar antara 50-70 um sehingga diketahui bahwa morfometri sperma garangan hampir sama dengan hewan peliharaan. Arruda *et al.* (2002) berpendapat, bahwa

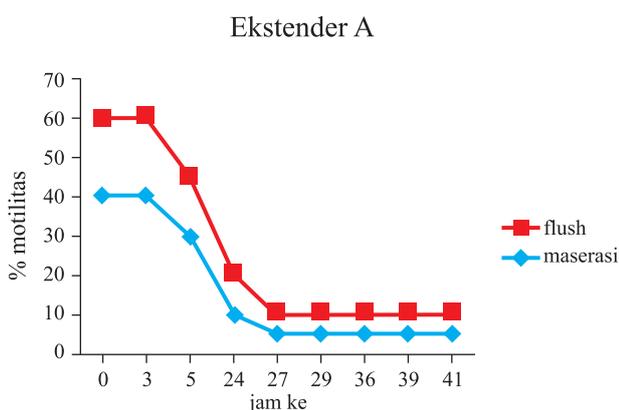
pengetahuan tentang morfometri spermatozoa dilakukan untuk pengkajian terhadap upaya kriopreservasi semen. Dengan demikian, diperlukan pengukuran terhadap spermatozoa garangan agar diketahui karakteristik panjang spermatozoa sebagai data pendukung sebelum dilakukan teknik kriopreservasi semen.

Semen segar yang telah diuji kualitasnya kemudian segera diencerkan dalam larutan pengencer (ekstender). Ekstender berfungsi untuk mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses kriopreservasi. Pada penelitian ini digunakan buffer tris sitrat glukosa kuning telur yang umum digunakan dalam proses kriopreservasi sperma namun dengan komposisi yang berbeda sehingga dapat diperoleh komposisi yang tepat untuk kriopreservasi sperma karnivora, khususnya garangan. Penambahan bufer dalam ekstender berfungsi untuk mengontrol pH dengan bahan yang biasa dipakai adalah natrium sitrat dan tris. Selain itu, bufer juga berfungsi menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme spermatozoa (Rizal dkk., 2003).

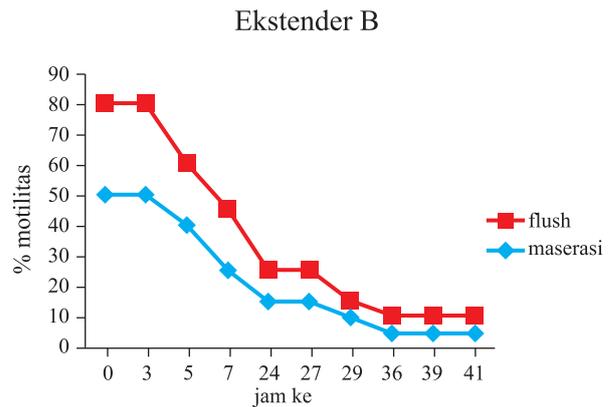
Selain bufer, dalam ekstender biasanya dilakukan penambahan gula yang berfungsi sebagai substrat untuk sumber energi dan krioprotektan ekstraseluler sehingga dapat menunjang kehidupan spermatozoa selama proses pengawetan. Gula terbukti dapat memperbaiki kualitas semen beku, seperti sukrosa pada semen beku sapi, trehalosa dan EDTA pada semen beku domba Pampinta, serta dekstrosa, rafinosa, trehalosa, dan sukrosa pada semen domba Garut (Rizal dkk., 2003).

Ekstender yang digunakan dicampur sperma dengan perbandingan antara sperma dan ekstender

adalah 1:2 kemudian diuji motilitasnya, disimpan dalam suhu 4° C dan diamati kembali motilitasnya pada jam-jam tertentu. Hasil menunjukkan, bahwa ekstender B memiliki kemampuan yang lebih baik dalam mempertahankan motilitas sperma dibandingkan ekstender A (Gambar 1 dan 2). Tabel 1 menunjukkan, bahwa komposisi glukosa dalam ekstender B lebih sedikit daripada ekstender A, tetapi hasil menunjukkan bahwa ekstender B dapat mempertahankan spermatozoa lebih lama daripada ekstender A. Komposisi glukosa yang lebih tinggi ternyata tidak cukup dapat mempertahankan spermatozoa untuk tetap motil. Konsentrasi tris dan asam sitrat dalam ekstender yang tinggi tidak dapat mempertahankan motilitas sperma lebih baik dibandingkan ekstender dengan komposisi tris dan asam sitrat yang rendah. Motilitas sperma sangat dipengaruhi oleh nutrisi yang tepat bagi sperma tersebut, misalnya pada plasma semen, namun belum ada penelitian mengenai komposisi plasma semen sehingga belum diketahui pula komposisi ekstender yang spesifik untuk spesies tersebut.



Gambar 1. Motilitas sperma dalam ekstender A pada waktu tertentu.



Gambar 2. Motilitas sperma dalam ekstender B pada waktu tertentu.

Persentase semen garangan (*H. javanicu*) yang diperoleh melalui teknik maserasi dan teknik *flushing* yang disimpan dalam extender A cenderung stabil pada pengamatan jam ke-0 dan jam ke-3, kemudian mengalami penurunan persentase pada jam ke-5 dan jam ke-24. Penurunan persentase motilitas yang terjadi pada pengamatan jam tersebut adalah 20% pada semen hasil maserasi dan 5% pada semen hasil *flushing*. Sedangkan, pada jam ke-27 sampai jam ke-41, semen garangan terus mengalami penurunan persentase motilitas secara drastis sampai 5% dan lebih yang pada akhirnya persentase motilitasnya kurang dari 5% sehingga pengamatan motilitas pada semen dalam ekstender A dihentikan.

Persentase semen garangan yang diperoleh melalui teknik maserasi dan *flushing* yang disimpan dalam ekstender B juga mengalami persentase motilitas yang stabil pada jam ke-0 dan jam ke-3. Pada jam ke-5 sampai jam ke-36, persentase motilitas pada semen *H. javanicus* juga mengalami penurunan yang berturut-turut. Persentase penurunan yang terjadi baik pada semen yang didapat melalui teknik maserasi maupun semen yang didapat dari teknik *flushing* adalah sekitar 10%.

Penurunan persentase semen mencapai kurang dari 5% baru terjadi pada jam ke-39 dan jam ke-41. Hal ini tentu berbeda dengan persentase semen yang disimpan dalam ekstender A yang lebih banyak dan lebih cepat mengalami penurunan motilitas daripada semen yang disimpan dalam ekstender B. Selain itu, semen garangan yang disimpan dalam ekstender B memiliki kemampuan hidup dan persentase motilitas yang lebih tinggi daripada semen yang disimpan dalam ekstender A. Hal ini disebabkan penurunan persentase motilitas semen yang disimpan dalam ekstender B baru terjadi pada jam ke-39 dan jam ke-41. Sedangkan penurunan persentase motilitas pada semen yang disimpan dalam ekstender A mulai terjadi pada jam ke-27 sampai jam ke-41.

Penurunan motilitas spermatozoa ini dapat disebabkan oleh radikal bebas dan semakin menurunnya kualitas pengencer akibat pengaruh penimbunan asam laktat hasil proses metabolisme. Radikal bebas merupakan hasil dari metabolisme normal, yaitu hasil proses transport elektron dari mitokondria yang dapat menyebabkan reaksi peroksidasi lemak sehingga dapat mematikan spermatozoa. Radikal bebas memiliki daya rusak yang tinggi terhadap asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen utama fosfolipid membran plasma spermatozoa (Nazlie dan Imam, 2006).

Menurunnya kualitas pengencer disebabkan oleh pengencer menjadi semakin asam akibat pengaruh penimbunan asam laktat hasil proses metabolisme. Faktor suasana asam pada pengencer akibat hasil metabolisme spermatozoa dan semakin bertambah banyaknya radikal bebas yang terbentuk,

dapat mengakibatkan fungsi lesitin dan lipoprotein tidak cukup efektif lagi sehingga akan mempercepat kerusakan membran plasma spermatozoa.

Kerusakan membran plasma dapat menurunkan kualitas sperma baik karena radikal bebas maupun karena menurunnya kualitas pengencer. Hal ini karena terjadinya abnormalitas fungsi organela yang berfungsi sebagai penghasil energi untuk pergerakan spermatozoa. Dalam hal kualitas sperma, membran plasma, motilitas dan daya hidup merupakan unsur yang saling mempengaruhi dalam menentukan kualitas spermatozoa. Apabila membran plasma rusak, maka akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme sehingga produksi ATP sebagai sumber energi pada spermatozoa menjadi berkurang. Sedangkan, apabila konsentrasi radikal bebas di sekitar spermatozoa cukup banyak maka motilitas spermatozoa akan menurun dan berakibat pada kematian spermatozoa (Yulnawati dan Setiadi, 2005).

Disimpulkan, bahwa sel spermatozoa garangan (*H. javanicus*) memiliki karakteristik tersendiri yang penting diketahui sebelum dilakukan kriopreservasi semen. Pengencer tris sitrat glukosa kuning telur dengan konsentrasi rendah merupakan bahan pengencer yang lebih baik digunakan untuk melakukan preservasi semen garangan pada suhu simpan 4° C karena lebih mampu mempertahankan persentase motilitas sel spermatozoa daripada pengencer dengan konsentrasi pekat. Namun perlu dilakukan penelitian lanjutan guna mengetahui komposisi kimia plasma semen sehingga dapat diperoleh komposisi ekstender yang menyerupai komposisi plasma semen.

Daftar Pustaka

- Arifiantini, R.I. (2012) Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. IPB Press. Bogor.
- Arruda, R.P., Ball, B.A., Gravance, C.G., Gracia, A.R. and Liv, I.K.M. (2002) Effect of extender and cyoprotectants on stallion sperm head morphometry. *Theriogenology* 58: 253-256.
- Feradis (2010) Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Gazali, M dan Tambing, S. N. (2002) Kriopreservasi sel spermatozoa. *Hayati* 9: 27-32.
- Kostaman, T. dan Setioko, A. R. (2011) Perkembangan penelitian teknik kriopreservasi untuk penyimpanan smen unggas. *Wartazoa* 21: 145-152.
- Martinez-Pastor *et al.* (2006) Comparison of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. *Theriogenologi* 65: 471-485
- Nazlie, S. dan Iman, S. (2006) Konsentrasi dan kualitas spermatozoa kucing domestik (*Felis catus*) yang diambil dari epididimis dan ductus defferens setelah preservasi pada suhu 4⁰ C. *J. Biota*. XI: 34-39.
- Nelis, D. W. (1989) *Herpestes auro-punctatus*. *Mammalian spec.* 342: 1-6.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, Purwantara, B dan Situmorang, P (2003) Kriopreservasi semen domba garut dalam pengencer tris dengan laktosa yang berbeda. *Media Kedokteran Hewan* 19: 79-83.
- Yulnawati dan Setiadi, A. (2005) Motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kucing selama penyimpanan pada suhu 4° C. *Media Kedokteran Hewan*.21: 100-104.