

**PENGARUH *GLUTATHIONE* TERHADAP KUALITAS SEMEN KAMBING BOER
POST THAWINGDALAM PENGECER YANG MENGANDUNG
*DIMETILSULFOXIDE (DMSO)***

Fitri Rizqi Amalia¹⁾, Suyadi²⁾ dan Achadiyah Rachmawati²⁾

1). Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

2). Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

ABSTRACT

The purpose of the study was to know the effect of glutathione on quality of post thawing Boer goat spermatozoa. Semen was collected twice a week using artificial vagina from goats aged of 2 to 2.5 years with body weight 70-90 kg. Semen was diluted in Tris aminomethane medium, containing 10% (v/v) egg yolk and 7,5% dimethylsulfoxide (DMSO) in 100 ml. Semen diluents were added with glutathione with doses of 0; 6; 13 and 19 mM as treatments P₀, P₁, P₂ and P₃ respectively. Data were analysed by randomized block design with 4 treatments with 10 replications. The result showed that percentage of motility before freezing and viability after diluting in 6 mM glutathione (69.00% and 93.80%) were significantly higher (P<0.01) than 0; 13 and 19 mM (68.00, 65.00, 66.50% and 86.80, 91.65, 84.65%, respectively). The percentage of motility after diluting and post thawing in 6 mM (75.00% and 29.50%) were significantly higher (P<0.05) than 0; 13 and 19 mM (75.00, 73.00, 73.50% and 27.50, 26.50, 27.00%, respectively). The percentage of viability before freezing, post thawing and abnormality sperm were not significantly different (P>0.05). Therefore, it was concluded that the addition 6 mM glutathione gave the highest motility and viability Boer Goat sperm.

Key Word: Glutathione , extender and quality Boer Goat semen

**PENGARUH *GLUTATHIONE* TERHADAP KUALITAS SEMEN KAMBING BOER
POST THAWINGDALAM PENGECER YANG MENGANDUNG
*DIMETILSULFOXIDE (DMSO)***

Fitri Rizqi Amalia¹⁾, Suyadi²⁾ and Achadiyah Rachmawati²⁾

1). Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

2). Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan *glutathione* terhadap kualitas semen kambing boer *post thawing*. Semen ditampung dua kali per minggu dengan menggunakan vagina buatan dari tiga ekor pejantan kambing Boer berumur 2-2,5 tahun dengan bobot antara 70-90 kg. Larutan pengencer yang digunakan adalah Tris *aminomethane* yang mengandung 10% (v/v) kuning telur dan 7,5% *dimethylsulfoxide (DMSO)* sebanyak 100 ml. Pengencer semen ditambah *glutathione* masing-masing dengan dosis 0; 6; 13 dan 19 mM sebagai perlakuan P₀, P₁, P₂ dan P₃. Metode yang digunakan adalah percobaan dengan pola Rancangan Acak Kelompok dengan 4 perlakuan dengan 10 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa selama pendinginan dan viabilitas spermatozoa setelah

pengenceran dapat meningkatkan ($P < 0,01$) dengan penambahan *glutathione* 6 mM, masing-masing 69,00% dan 93,80% dibandingkan penambahan 0; 13 dan 19 mM *glutathione* yang hasilnya secara berturut-turut 68,00; 65,00; 66,50% dan 86,80; 91,65; 84,65%), serta persentase motilitas spermatozoa setelah pengenceran dan *post thawing* dapat meningkat ($P < 0,05$) dengan penambahan *glutathione* 6 mM, masing-masing 75,00% dan 29,50% dibandingkan penambahan 0; 13 dan 19 mM *glutathione* yang hasilnya secara berturut-turut (75,00; 73,00; 73,50% dan 27,50; 26,50; 27,00%), tetapi penambahan *glutathione* (0; 6; 13 dan 16 mM) tidak berpengaruh ($P > 0,05$) terhadap persentase viabilitas spermatozoa selama pendinginan dan *post thawing*, serta abnormalitas setelah pengenceran, pendinginan dan *post thawing*. Dapat disimpulkan bahwa penambahan *glutathione* 6 mM dapat memberikan hasil yang optimal untuk motilitas dan viabilitas setelah pengenceran, pendinginan dan *post thawing*.

Kata kunci: *Glutathione* , pengencer dan kualitas semen kambing boer

PENDAHULUAN

Peningkatan produktivitas kambing Boer dengan cara perkawinan alami masih belum efektif di kalangan peternak rakyat. Hal ini disebabkan oleh peternak umumnya hanya memiliki jumlah pejantan yang terbatas untuk dikawinkan dengan kambing betinanya, sehingga menyebabkan rendahnya produktivitas kambing Boer. Kambing boer merupakan salah satu kambing pedaging yang mempunyai pertumbuhan cepat. Kambing ini dapat mencapai bobot 35-45 kg pada umur 5-6 bulan dengan pertambahan bobot badan harian 0,02-0,04 kg per hari. Kambing boer mempunyai ciri-ciri fisik, yaitu tubuhnya yang lebar, berkaki pendek, berhidung cembung, bertelinga panjang menggantung, berkepala warna coklat kemerahan atau coklat muda hingga coklat tua (Lu, 2001). Banyak peternak Indonesia berlomba-lomba untuk memelihara kambing boer karena keunggulan yang ada. Salah satu cara untuk memperoleh bibit kambing boer yang unggul adalah dengan teknologi Inseminasi Buatan (IB) yang dapat mempercepat perkembangan populasi dan meningkatkan mutu genetik ternak.

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB, antara lain: kualitas semen beku, keterampilan inseminator, kondisi fisiologi dari betina dan waktu pelaksanaan IB. Pelaksanaan IB rawan akan kegagalan, salah satu faktor kegagalan dalam pelaksanaan IB disebabkan oleh kualitas semen beku yang rendah sehingga berdampak pada motilitas spermatozoa yang rendah pula. Guna menjaga kualitas spermatozoa yang terdapat dalam *straw* tetap terjaga diperlukan nitrogen cair yang cukup untuk penyimpanan semen beku dan krioprotektan yang terkandung di dalam pengencer. Ketersediaan nitrogen cair dalam kontainer harus mencukupi atau 1/3 kontainer harus terisi dengan nitrogen cair (Putranti dkk. 2010).

Media pengencer untuk semen beku harus mengandung krioprotektan guna melindungi spermatozoa. Krioprotektan yang sering digunakan untuk pengencer semen beku adalah krioprotektan ekstraseluler, seperti kuning telur, dan intraseluler seperti gliserol, *dimethylsulfoxide* (DMSO) dan *Etylen Glycol*. Salah satu jenis media pengencer untuk semen kambing adalah Tris *aminomethane* kuning telur. Pengencer ini mengandung krioprotektan ekstraseluler

berupa kuning telur yang mengandung lipoprotein dan lesitin yang berfungsi sebagai pelindung (krioprotektan) pada pembekuan semen. Kuning telur sebagai bahan krioprotektan esktraseluler berfungsi sebagai media penyedia makanan, sumber energi dan pelindung esktraseluler spermatozoa dari *cold shock* (Ihsan, 2011). Penambahan krioprotektan di dalam media pengencer seperti *dimethylsulfoxide* (*DMSO*) merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi rendahnya kualitas semen beku kambing akibat *cold shock*. Hal ini didasarkan pada peranan krioprotektan adalah mencegah terbentuknya kristal es dan menstabilkan membran plasma selama proses pembekuan (Kusumaningrum dkk., 2002).

Masalah yang sering timbul pada proses pembekuan semen adalah rusaknya membran plasma spermatozoa akibat terbentuknya peroksidasi lipid. Keadaan ini terjadi karena membran spermatozoa banyak mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap kerusakan peroksidasi (Maxwell dan Watson, 1996). Sikka (1996) menyatakan bahwa spermatozoa mamalia kaya akan asam lemak tidak jenuh dan sangat mudah terkena *Reactive Oxygen Species* (*ROS*) yang dapat mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa serta meningkatkan kerusakan morfologi yang berpengaruh terhadap kapasitas spermatozoa dan reaksi akrosom. Peroksidasi lemak pada membran plasma merupakan mekanisme kunci dari *ROS* yang mengakibatkan kerusakan spermatozoa dan infertilitas.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengubah radikal bebas yang

ada menjadi molekul yang kurang mempunyai dampak negatif, misalnya *α-tokoferol*, *glutathione* dan vitamin C. *Glutathione* adalah antioksidan sulfhydryl (-SH), antitoksin dan kofaktor enzim yang mempunyai sifat menetralkan radikal bebas (Kidd, 1997).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu diadakan penelitian mengenai penambahan *glutathione* terhadap kualitas semen Kambing Boer *post thawing* menggunakan pengencer Tris *aminomethane* kuning telur yang mengandung *DMSO* yang diharapkan dapat mengurangi dan mencegah timbulnya radikal bebas yang merusak membran plasma, sehingga kualitas semen beku kambing boer dapat dipertahankan sampai saat IB dilakukan

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan semen segar kambing boer yang dikoleksi dari tiga ekor kambing Boer berumur \pm 2-2,5 tahun, satu ekor betina dewasa pemancing, pengencer semen (Tris *aminomethane*, asam sitrat, fruktosa, kuning telur, aquabides, *streptomysin*, penisilin, *DMSO*), pewarna eosin-negrosin, NaCl 3%, *glutathione*, nitrogen cair, vaselin, alkohol 70%, dan aquabidest).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: satu set vagina buatan kambing, kontainer, mikroskop, termometer, termos, gelas obyektif dan penutup, tabung *Eppendorf*, labu erlenmeyer, *beaker glass*, *hand tally counter*, gelas ukur, timbangan analitik, lemari es, pengaduk, kertas saring, kertas lakmus, *haemocytometer*, pipet hisap, pipet ukur, dan tabung reaksi.

Penelitian ini menggunakan metode percobaan laboratorium, data yang diperoleh dianalisis dengan rancangan acak kelompok dengan 4 perlakuan dosis *Glutathione* PO = 0; 6; 13 dan 19 mM dan 10 ulangan apabila terdapat perbedaan nyata maupun sangat nyata dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) (Yitnosumarto, 1993). *Glutathione* diencerkan dengan pengencer Tris aminomethane kuning telur dengan komposisi 10% kuning telur dan 7,5% DMSO (v/v).

Penampungan semen dilakukan dengan metode vagina buatan (Toelihere, 1993). Volume semen yang didapat dibagi menjadi empat bagian yang sama, selanjutnya diencerkan dengan pengencer yang telah disiapkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 15 menit kemudian dievaluasi motilitas individu, viabilitas dan abnormalitas kemudian dilakukan *filling* dan *sealing straw*. *Straw* yang telah siap disimpan dalam lemari es dengan suhu konstan (5°C) selama 30 menit untuk ekuilibrasasi. Setelah ekuilibrasasi, semen dalam tabung reaksi dievaluasi kembali dan *straw* yang diinkubasi diupak di atas nitrogen cair dengan ketinggian 4 cm selama 9 menit, kemudian dimasukkan kedalam kontainer nitrogen cair (temperatur -196°C) untuk dibekukan. Pencairan kembali semen yang telah dibekukan dilakukan setelah >24 jam berada dalam kontainer dengan cara mencelupkan *straw* ke dalam air bersuhu 27°C selama 30 detik kemudian dievaluasi kembali motilitas individu, viabilitas dan abnormalitasnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar

Rataan kualitas semen segar kambing boer hasil pengamatan selama penelitian dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Rataan Kualitas Semen Segar Kambing Boer

Pengamatan	Rataan
Volume (ml/ejakulasi)	0,75±0,12
Konsistensi	Kental
Warna	PK
Bau	Khas
pH	7
Motilitas massa	3+
Motilitas individu (%)	80
Viabilitas (%)	85,15±8,29
Abnormalitas (%)	11,70±5,04
Konsentrasi (juta/ml)	6213±2039,57

Tabel 1 memperlihatkan bahwa secara makroskopis volume semen segar kambing boer berdasarkan hasil pengamatan adalah 0,75±0,21 ml/ejakulasi. Volume ini lebih besar dari hasil penelitian Mahmilia dkk. (2006) yakni sebesar 0,53±0,21, sedangkan Ihsan (2011) menyebutkan volume semen segar kambing Boer sebesar 1,00±0,30 ml/ejakulasi dan 1,4 ml (Hartono, 2008). Konsistensi semen segar kambing boer dari hasil pengamatan adalah kental, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Mahmilia dkk (2006) yang menyebutkan bahwa konsistensi semen segar Kambing boer kental sampai encer. Susilawati (2011) menyebutkan bahwa konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa.

Warna semen segar hasil pengamatan adalah putih kekuningan. Warna semen hasil pengamatan adalah putih kekuningan, hal ini menunjukkan bahwa

konsentrasi semen segar kambing boer cukup tinggi. Warna kekuning-kuningan disebabkan oleh adanya pigmen riboflavin yang dibawa oleh satu gen autosomal resesif dan tidak mempengaruhi terhadap fertilitas (Toelihere, 1993).

Bau semen segar kambing boer hasil pengamatan adalah bau khas semen. Bau tersebut menunjukkan bahwa semen tersebut normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan prosesing semen. Kartasudjana (2001) menyebutkan bahwa semen yang normal umumnya memiliki bau yang khas dari hewan tersebut, apabila terdapat bau busuk menunjukkan adanya nanah. pH semen segar kambing boer hasil pengamatan didapatkan nilai sebesar 7 yang sesuai dengan pendapat Hartono (2008) menyebutkan pH semen segar kambing boer sebesar 7.

Rataan konsentrasi spermatozoa yang didapatkan selama pengamatan sebesar $6213 \pm 2039,57$ juta/ml. Mahmilia dkk (2006) dan Hartono (2008) menambahkan bahwa konsentrasi spermatozoa kambing Boer berturut-turut sebesar $2575,70 \pm 431,46$ dan $4242,50 \pm 1201,54$ juta/ml. Adanya perbedaan antara rataan konsentrasi yang jauh lebih besar diduga adanya perbedaan habitat, hal ini sesuai dengan pendapat Devendra dan Burn (1994) yang menyebutkan bahwa perbedaan rumpun dan habitat dapat mempengaruhi volume ejakulasi, konsentrasi sperma dan persentase hidup spermatozoa.

Motilitas massa semen segar hasil pengamatan adalah 3+, hal ini sependapat dengan Ihsan (2011) menyebutkan motilitas massa semen segar kambing boer adalah 3+.

Mahmilia dkk. (2006) menambahkan motilitas massa semen segar kambing boer antara 2+ sampai 3+. Motilitas individu semen segar Kambing boer hasil pengamatan sebesar 80%. Hasil tersebut telah sesuai dengan penelitian Mahmilia dkk. (2006) yang menyebutkan rataan motilitas individu semen segar kambing Boer sebesar $80,03 \pm 6,83\%$. Hasil rataan motilitas hasil pengamatan telah memenuhi standar sebagai semen yang baik.

Rataan viabilitas semen segar kambing boer hasil pengamatan adalah $85,25 \pm 8,30\%$. Hasil ini sejalan dengan penelitian Ihsan (2011) yang menyebutkan bahwa viabilitas semen segar kambing boer sebesar $85,50 \pm 3,60\%$. Nilai rataan abnormalitas semen segar kambing boer hasil pengamatan sebesar $8,75 \pm 5,05\%$. Kisaran rataan persentase abnormalitas spermatozoa ini sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2000) menyebutkan bahwa abnormalitas spermatozoa pada kambing berkisar 5-20%. Kualitas semen segar yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen yang mempunyai kualitas baik, hal ini bertujuan agar spermatozoa lebih mampu bertahan selama prosesing semen beku.

Pengaruh *Glutathione* terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Boer Selama Prosesing Semen Beku

Berdasarkan uji kualitas semen kambing boer setelah penambahan *glutathione* dalam pengencer Tris *aminomethane* kuning telur yang mengandung *DMSO* didapatkan nilai motilitas sebagai berikut (Tabel 2).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa setelah proses pengenceran, pendinginan (suhu 5°C) dan *post thawing*, penambahan *Glutathione* 6 mM dalam pengencer Tris *aminomethane* kuning telur yang mengandung *DMSO* dapat

mempertahankan ($P<0,01$) terhadap motilitas spermatozoa kambing boer selama pendinginan dan mempertahankan ($P<0,05$) selama proses setelah pengenceran dan *post thawing*.

Tabel 2. Persentase Motilitas Spermatozoa Kambing Boer selama Prosesing Semen pada Masing-Masing Perlakuan

Prosesing Semen	Kadar <i>Glutathione</i> (mM)			
	0	6	13	19
Setelah pengenceran (%)	75,00±0 ^b	75,00±0 ^b	73,00±2,58 ^a	73,50±2,11 ^a
Pendinginan (%)	68,00±2,58 ^B	69,00±2,10 ^B	65,00±2,88 ^A	66,50±2,10 ^{AB}
Post thawing (%)	27,50±4,40 ^{ab}	29,50±2,58 ^b	26,50±2,10 ^a	27,00±2,58 ^a

Keterangan : Notasi a-b yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$) Notasi A-B berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P<0,01$)

Berdasarkan uji lanjut Duncan penambahan *glutathione* dengan 6 mM memberikan hasil yang terbaik untuk mempertahankan motilitas spermatozoa kambing boer selama proses prosesing semen yang berawal dari setelah pengenceran, pendinginan dan *post thawing* yang rata-rata hasilnya sebesar 75, 69 dan 29,5%. Penambahan *glutathione* 6 mM menunjukkan nilai motilitas 75% saat pengenceran. Penambahan *glutathione* sebanyak 13 mM dan 19 mM sedikit mengalami penurunan yang nilainya dibawah kontrol sebesar 73% dan 73,5%. Meskipun terdapat sedikit penurunan, motilitas spermatozoa masih dalam kisaran normal dan layak untuk proses semen beku. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Suzana (2002) menyebutkan bahwa untuk tujuan pembekuan paling sedikit dibutuhkan 70% spermatozoa hidup dan motil. Rizal dan Herdis (2005) menyebutkan bahwa persentase motilitas spermatozoa asal cauda

epididimis domba setelah diencerkan antara 50-80%. Selama proses pendinginan terjadi penurunan motilitas karena adanya perubahan suhu yang membuat spermatozoa harus beradaptasi dari suhu 37 °C menjadi 5°C dan didiamkan selama 30 menit dan dikenal dengan istilah ekuilibrasi. Waktu ekuilibrasi tersebut relatif singkat karena secara normal waktu yang digunakan untuk ekuilibrasi mencapai empat jam. Menurut Hafez (2000) menyebutkan ekuilibrasi dapat mencegah pengaruh negatif gliserol terhadap antibiotika yang ditambahkan ke dalam pengencer dan lama waktu yang disarankan berkisar 4–6 jam.

Penambahan *glutathione* dengan konsentrasi 6 mM memberikan hasil terbaik selama prosesing semen, meskipun setelah proses pembekuan motilitas spermatozoa kambing boer hanya mencapai 29,5%. Tolihere (1993) menyebutkan bahwa semen beku yang layak digunakan untuk program

IB harus memiliki persentase motilitas paling sedikit 40%. Penurunan motilitas yang signifikan ini diduga karena waktu ekulibrasi yang relatif singkat, kurangnya konsentrasi kuning telur dalam pengencer dan kurang sesuainya jenis krioprotektan yang digunakan. Pengencer yang digunakan adalah Tris *aminomethane* kuning telur yang mengandung *DMSO*, dalam hal ini kuning telur di dalam pengencer berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler bersama-sama dengan gula-gula sederhana seperti sukrosa, rafinosa dan laktosa. Kuning telur yang ditambahkan adalah 10% dan penambahan *DMSO* didalam pengencer dimaksudkan untuk mempertahankan spermatozoa karena *DMSO* berfungsi sebagai krioprotektan intraseluler, namun ternyata penggunaannya dirasa kurang tepat untuk pembekuan semen kambing Boer. Hal ini didukung oleh pendapat Kusumaningrum dkk. (2002) yang menyebutkan bahwa untuk pembekuan semen mamalia krioprotektan yang paling umum digunakan adalah gliserol, sementara itu krioprotektan seperti

seperti *dimethylformalimide (DMF)*, *dimethylsulfoxide (DMSO)*, *Dimethylacetamide (DMA)* dan trehalosa lebih cocok untuk semen unggas.

Situmorang (2002) yang melaporkan bahwa untuk semen cair (5°C) cukup digunakan kuning telur 10% (v/v) dan untuk semen beku 20% (v/v). Ihsan (2011) menambahkan kuning telur itik dapat digunakan sebagai pengencer semen kambing boer dengan konsentrasi 20-30%, namun untuk digunakan sebagai semen cair dapat digunakan minimal 10%.

Pengaruh *Glutathione* terhadap Viabilitas Spermatozoa Kambing Boer Selama Prosesing Semen Beku

Berdasarkan uji kualitas semen kambing boer setelah penambahan *glutathione* menggunakan pengencer tris *aminomethane* kuning telur yang mengandung *DMSO* didapatkan nilai viabilitas spermatozoa Kambing boer sebagai berikut (Tabel 3).

Tabel 3. Presentase Viabilitas spermatozoa Kambing Boer setelah Prosesing Semen pada Masing-masing Perlakuan

Prosesing Semen	Kadar <i>Glutathione</i> (mM)			
	0	6	13	19
Setelah pengenceran (%)	86,80±7,29 ^{AB}	93,80±3,19 ^C	91,65±3,64 ^{BC}	84,65±4,19 ^A
Pendinginan (%)	89,90±5,20	90,77±4,09	88,3±4,45	84,50±8,13
<i>Post thawing</i> (%)	21,5±10,43	28,19±10,32	23,7±11,77	22,7±11,16

Keterangan : Notasi A-C berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata (P<0,01)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa setelah proses pengenceran, pendinginan (suhu 5°C) dan *post thawing* menunjukkan bahwa penambahan

glutathione 6 mM dalam pengencer Tris *aminomethane* kuning telur yang mengandung *DMSO* dapat mempertahankan (P<0,01) terhadap viabilitas spermatozoa

kambing boer setelah proses pengenceran. Penambahan *glutathione* dari semua perlakuan tidak mampu mempertahankan ($P>0,05$) terhadap viabilitas pendinginan dan *post thawing*.

Berdasarkan uji lanjut Duncan penambahan *glutathione* dengan 6 mM memberikan hasil yang terbaik untuk mempertahankan viabilitas spermatozoa kambing boer selama proses prosesing semen yang berawal dari setelah pengenceran dan pendinginan, dan menunjukkan persentase viabilitas tertinggi pada *post thawing* yang rata-rata hasilnya berturut-turut sebesar 75,69 dan 29,50%. Syarifuddin dkk. (2012) menyebutkan penambahan 1 mM *glutathione* menjadi efektif karena dapat mengurangi peningkatan ROS selama kultur in vitro yang dapat menyebabkan kerusakan sel spermatozoa. Penurunan nilai viabilitas yang signifikan saat *post thawing* diduga spermatozoa disimpan dalam suhu (-196 °C) sehingga memungkinkan adanya perubahan fisik selama proses pembekuan dan terjadi kontak antara semen dan udara pada saat prosesing semen menyebabkan radikal bebas. Santoso (2010) menyebutkan bahwa proses pembekuan menyebabkan kerusakan membran spermatozoa akibat dari pembentukan kristal-kristal es yang menyebabkan perbedaan tekanan osmotik diluar dan didalam sel. Adanya *glutathione* dalam medium pengencer diharapkan dapat mengurangi kerusakan membran spermatozoa akibat peroksida lipid walaupun pada saat *post thawing* nilai viabilitasnya sangat rendah.

Syariffudin dkk. (2012) menyebutkan konsentrasi *glutathione* yang memberikan hasil terbaik adalah 1 mM, hal ini disebabkan karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi yang tepat dan pada konsentrasi ini kemungkinan terjadi keseimbangan antara reaksi pengikatan radikal bebas oleh *glutathione* dimana pada konsentrasi ini akan terbentuk GSSG oleh enzim *GSH-peroksidase* dengan GSSG menjadi *GSH* oleh enzim *GSH-reduktase*. Penambahan *glutathione* yang kurang sesuai mengakibatkan peningkatan ROS selama kultur in vitro yang dapat menyebabkan kerusakan sel spermatozoa.

Penambahan *glutathione* 6 mM merupakan penambahan yang tepat karena terbukti dari nilai viabilitas yang paling tinggi dibandingkan dengan 0, 13 dan 19 mM selama prosesing semen. Kidd (1997) menyebutkan bahwa *glutathione* adalah antioksidan penting yang dapat memproteksi mitokondria dari kerusakan akibat radikal bebas. Triwulaningsing dkk. (2003) menambahkan bahwa penambahan antioksidan *glutathione* lebih efektif dibandingkan dengan 0,1% vitamin E, karena pada hari ke 4 dan 8 didapat persentase hidup spermatozoa masing-masing sebesar 66,42 % dan 54,11%. Penambahan *glutathione* 13 dan 19 mM kurang efisien diduga, karena konsentrasi tersebut terlalu banyak. Menurut Uysal dan Bucak (2007) penambahan konsentrasi *glutathione* yang berlebih dapat menimbulkan efek negatif atau efek toksik dari *glutathione* menyebabkan kematian spermatozoa.

Pengaruh *Glutathione* terhadap Abnormalitas Spermatozoa Kambing Boer Selama Prosesing Semen Beku

Berdasarkan uji kualitas semen kambing boer setelah penambahan

Tabel 4. Peresentase Abnormalitas spermatozoa Kambing Boer setelah Prosesing Semen pada Masing-Masing Perlakuan

Prosesing Semen	Kadar <i>Glutathione</i> (mM)			
	0	6	13	19
Setelah pengenceran (%)	9,00±4,11	7,65±2,51	8,95±3,27	11,35±6,79
Pendinginan (%)	14,20±6,92	11,8±7,68	12,32±4,45	9,90±6,00
<i>Post thawing</i> (%)	14,9±6,89	21,0±11,55	14,45±6,94	17,43±7,60

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa setelah proses pengenceran, pendinginan (suhu 5°C) dan *post thawing* menunjukkan bahwa penambahan *glutathione* tidak dapat menurunkan nilai abnormalitas ($P>0,05$) spermatozoa kambing boer. Perbedaan konsentrasi *glutathione* selama prosesing semen terhadap abnormalitas spermatozoa diduga karena pada setiap proses terdapat perubahan suhu sehingga menyebabkan spermatozoa harus menyesuaikan dengan kondisi yang ada yang memungkinkan terjadi stres dingin (*cold shock*) yang mengakibatkan tingginya persentase abnormalitas spermatozoa. Yani dkk, (2001) menyatakan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka semakin tinggi persentase abnormalitas yang disebabkan oleh stres dingin dan ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama penyimpanan pada suhu 5°C. Arifiantini, Yusuf dan Graha (2005) menambahkan spermatozoa yang abnormal tidak menunjukkan motilitas yang progresif. Spermatozoa abnormal biasanya

glutathione menggunakan pengencer Tris *aminomethane* kuning telur yang mengandung *DMSO* didapatkan nilai abnormalitas spermatozoa kambing boer sebagai berikut (Tabel 4).

disebabkan oleh kejutan dingin atau panas, sinar-X, ketidakseimbangan nutrisi, dan endokrin.

Peningkatan abnormalitas selama prosesing semen juga diduga adanya abnormalitas sekunder yang dilakukan saat prosesing semen dan juga karena peroksida lipid. Rizal dan Herdis (2006) menyebutkan bahwa abnormalitas sekunder lebih banyak berupa terpisahnya ekor dari kepala akibat terputus saat pembuatan preparat untuk keperluan evaluasi. Alawiyah dan Hartono (2006) menyebutkan bahwa peroksidasi lipid akan menyebabkan kerusakan struktur dan terganggunya metabolisme spermatozoa yang berakibat spermatozoa mati. Nilai abnormalitas selama prosesing semen masuk dalam kategori cukup untuk pelaksanaan IB. Menurut Garner dan Hafez (2000) persentase abnormalitas spermatozoa yang baik untuk IB memiliki kriteria abnormalitas spermatozoa 5-20%, berbeda dengan pendapat Hartono (2008) yang menyebutkan bahwa semen Kambing boer yang dibekukan masih memperlihatkan kualitas yang baik dan dapat digunakan untuk

pelaksanaan IB apabila nilai abnormalitasnya berkisar 4,62-6,56%.

KESIMPULAN

Penambahan *glutathione* dalam pengencer yang mengandung *DMSO* berpengaruh terhadap motilitas setelah pengenceran, pendinginan, *post thawing* dan viabilitas spermatozoa setelah pengenceran, namun tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas pendinginan dan *post thawing* serta abnormalitas selama prosesing semen serta *glutathione* 6 mM dalam pengencer yang mengandung *DMSO* memberikan hasil yang optimal terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing boer setelah pengenceran, pendinginan dan *post thawing*.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian penambahan *glutathione* 6 mM dalam pengencer efektif untuk menjaga kualitas spermatozoa kambing boer, namun perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai penambahan konsentrasi kuning telur dalam pengencer lebih dari 10% dan memperpanjang waktu ekuilibrase lebih dari 30 menit untuk mempertahankan kualitas semen kambing boer *post thawing*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, I., T. L. Yusuf, dan Graha N. 2005. Longivitas dan Recoveryrate Pasca Thawing Semen Beku Sapi Fresian Holstein Menggunakan Bahan Pengencer Yang Berbeda. *Buletin Peternakan* Vol. 29 (2): 53-61.
- Devendra, C. dan M. Burn.1994. Produksi Kambing di daerah Tropis.ITB. Bandung.
- Djanuar.1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi.Terjemahan dari Physiology of Reproduction and Artifical Insemination of Cattle.G. W. Salisbury and N. L. VanDemark.Gadjah Mada University Press.Yogyakarta.
- Garner, DL and Hafez ESE 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma.p. 96-109.In Hafez, B and E.S.E. Hafez (eds.) Reproduction In Farm Animal. 7th ed. Lippincott & Wilkins, Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 2000.Reproduction in Farm Animals.6th Ed. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Hartono, M. 2008. Optimalisasi Penambahan Vitamin E Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Untuk Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Boer.*J.Indon.Trop.Anim.Agric.* 33 [1]: 11-19.
- Ihsan, M. N. 2011. Penggunaan Telur Itik Sebagai Pengencer Semen Kambing.*J. Ternak Tropika* Vol. 12, No.1: 10-14.
- Kartasudjana, R. Teknik Inseminasi Buatan Pada Ternak.Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta
- Kidd, P. M. 1997. *Glutathione* : Systemic Protectant Against Oxidative and

- Free Radical Damage. *Alternative Medicine Review*. Vol. 2. No.3: 155-176.
- Kusumaningrum, D. A., P. Situmorang., E. Triwulaningsih dan R. G. Sianturi. 2007. Penambahan Plasma Semen Sapi dan Antioksidan Glutathione untuk Meningkatkan Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (Bubalus Bubalis). Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 2007. Bogor. 188-194.
- Kusumaningrum D.A., P. Situmorang, A.R. Setioko, T. Sugiarti, E. Triwulanningsih Dan R.G. Sianturi. 2002. Pengaruh Jenis dan Aras Krioprotektan Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Entog. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Lu, C. D. 2001. Boer Goat Production: Progress and Perspective. Office of Vice Chancellor for Academic Affairs, University of Hawai'i, Hilo, Hawai'i 96720, USA.
- Mahmilia, F., Doloksaribu.. M dan Pamungkas. F. A. 2006. Karakteristik Semen Kambing Boer.Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2006.533-536.
- Maxwell, W.M.C And P.F. Watson. 1996. Recent Progress in The Preservation of Ram Semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* 42:55-65.
- Mishra, B., M. G. S. Alam., M. A. M. Y. Khandokar., S. Mazumder and M. N. Munsii. 2010. Qualities of Goat Semen in Tris-Citrate-Glucose Extender Containing *Glutathione* . *J. Bangladesh Veterinarian*. Vol. 27. No. 2: 46-55.
- Putranti, O. D., Kustono dan Ismaya. 2010. Pengaruh Penambahan Crude Tannin Pada Sperma Cair Kambing Peranakan Ettawa yang Disimpan Selama 14 Hari Terhadap Viabilitas Spermatozoa. *Buletin Peternakan* Vol. 34(1): 1-7.
- Rizal, M dan Herdis.2006. Inseminasi Buatan pada Domba.Bogor : PT Rineka Cipta
- Santoso, E. B. 2010. Kualitas Semen Beku Rusa (*Cervus Timorensis*) pada Fase Fisiologis Ranggah Keras Menggunakan Pengencer Andromed dan Skim Kuning Telur.Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Setioko. A. R., Situmorang. P., Triwulanningsih. E ., Sugiarti. T dan Kusumaningrum. D. A. 2002. Pengaruh Krioprotektan dan Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas dan Fertilitas Spermatozoa Itik dan Entog.*JITV* Vol. 7. No.4: 237-243.
- Sikka, S. 1996. Oxidative Stress And Role of Antioxidants In Normal And Abnormal Sperm Function. *Frontiers in Bioscience* 1: 78-86.
- Situmorang. 2002. The Effect of Inclusion of Exogenous Phospholipids in Tris-Diluent Containing a Different Level of Egg Yolk on The Viability of Bull Spermatozoa. *JITV* 7:181-187.

- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. UB Press. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suzana, E. 2002. Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Potong yang telah Didistribusikan ke Lapang. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Syarifuddin, A., Desak, N. D. I. L dan Wayan, B. 2012. Efektivitas Penambahan Berbagai Konsentrasi *Glutathione* terhadap Daya Hidup dan Motilitas Spermatozoa Sapi Bali Post Thawing. *Indonesia Medicus Veterinus*. ISSN : 2301-7848: 173 – 185.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung
- Triwulaningsih, E., P. Situmorang., T. Sugiarti., R.G. Sianturi., dan D. A. Kusumaningrum. 2003. The Effect of *Glutathione* Addition in Sperm Diluents on The Quality of Bovine Chilled Semen. *J. of Agriculture*. Vol. 1. No. 1: 64-69.
- Uysal, O dan Bucak, M. N. 2007. Effects of Oxidized *Glutathione* ,Bovine Serum Albumin, Cysteine and Lycopene nn The Quality of Frozen-Thawed Ram Semen. *Acta Vet. Brno*. 76: 383-390.
- Yani, A., Nuryadi, dan T. Pratiwi. 2001. Pengaruh Tingkat Substitusi Santan Kelapa pada Pengencer Santan Kelapa terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Etawa (PE). Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Yitnosumarto, S. 1993. Percobaan, Perancangan, Analisis dan Interpretasinya. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.