

**PEMANFAATAN SARI WORTEL SEBAGAI PENGENCER ALTERNATIF  
SPERMATOZOA EPIDIDIMIS SAPI BALI**  
*[Utilization of Carrot Extract as an Alternative Extender  
of Epididymal Spermatozoa of Bali Bull]*

**F. Parera, Z. Prihatiny, D. F. Souhoka, dan M. Rizal**

*Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233*

*E-mail: feronicaparera@yahoo.com*

*Received January 19, 2009; Accepted February 28, 2009*

**ABSTRACT**

The aim of this research was to examine the effectivity of carrot extract as an alternative extender of Bali bull epididymal spermatozoa stored at 3–5°C. Six testis with epididymi of Bali bulls were obtained from slaughterhouse. Spermatozoa from six epididymi were collected by the combination of slicing, flushing and tissues pressure of cauda epididymi with physiological saline. Collected-spermatozoa was diluted by tris extender containing 20% egg yolk (control), 80% carrot extract + 20% egg yolk (CE20), 70% carrot extract + 30% egg yolk (CE30), and 60% carrot extract + 40% egg yolk (CE40), respectively. Diluted-spermatozoa was stored in refrigerator at 3–5°C. Quality of diluted-spermatozoa including the percentages of spermatozoa motility and live were evaluated everyday during storage at 3–5°C for five days. Data were analyzed using completely randomized design with four treatments and six replications. Results of this study showed that viability of epididymal spermatozoa could be maintained better in Tris extender rather than in carrot extract extender. At day-6 of storage, the percentages of spermatozoa motility and live of control (40.83 and 59.16%) were significantly ( $P<0.05$ ) higher than those of CE20 (27.5 and 49%), CE30 (30.83 and 49.5%), and CE40 (27.5 and 47.83%). At day-4 storage, percentage of spermatozoa motility of CE30 (45%) was significantly ( $P<0.05$ ) higher than that of CE20 (40%) and CE40 (40%). In conclusion, carrot extract-egg yolk was effective to use as an alternative extender of Bali bull epididymal spermatozoa stored at 3–5°C.

*Keywords: Carrot Extract, Alternative Extender, Epididymal Spermatozoa, Bali Bull*

**PENDAHULUAN**

Spermatozoa yang digunakan untuk keperluan IB pada umumnya adalah spermatozoa hasil ejakulasi yang ditampung dengan vagina buatan. Namun sebenarnya ada alternatif lain sebagai sumber spermatozoa yaitu spermatozoa asal cauda epididimis. Cauda epididimis merupakan tempat penyimpanan spermatozoa sebelum diejakulasikan (Toelihere, 1981). Spermatozoa yang terdapat pada cauda epididimis merupakan spermatozoa yang sudah matang karena telah mengalami proses pematangan pada bagian caput dan corpus (Toelihere, 1981; Hafez dan Hafez, 2000). Menurut Rizal *et. al.* (2004) upaya pengolahan spermatozoa yang dikoleksi dari epididimis dalam bentuk semen cair atau beku untuk

keperluan aplikasi berbagai teknologi reproduksi, menjadi metode alternatif yang dapat diterapkan pada ternak atau hewan yang memiliki kualitas genetik unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya. Selanjutnya dinyatakan bahwa metode ini juga menjadi alternatif dalam upaya penyelamatan plasma nutfah ternak atau hewan jantan yang mati secara mendadak serta hewan-hewan langka dan buas.

Epididimis dianggap hanya sebagai limbah rumah pemotongan hewan (RPH) selama ini dan belum dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif sumber spermatozoa untuk memenuhi kebutuhan dalam penerapan teknologi reproduksi. Dengan demikian, penelitian pengolahan spermatozoa yang dikoleksi dari epididimis sapi Bali yang telah dipotong di RPH merupakan model yang dapat diterapkan untuk

mengoptimalkan potensi pejantan sapi Bali yang unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya dengan alat bantu, atau mati secara mendadak.

Pada beberapa spesies hewan dan ternak, upaya penyelamatan material genetik berupa pemanfaatan spermatozoa yang dikoleksi dari epididimis sudah banyak dilakukan dan hasilnya cukup menjanjikan, di antaranya pada monyet (Tollner *et. al.*, 1990; Sankai *et. al.*, 1994; Feradis *et. al.*, 2001), domba (Graham, 1994; Rizal, 2006), sapi (Graham, 1994), mencit dan tikus (Songsasen *et. al.*, 1998; An *et. al.*, 1999; Kishikawa, 1999), babi (Kikuchi *et. al.*, 1998), kuda (Squires *et. al.*, 2000), llama dan alpaca (Bravo *et. al.*, 2000), rusa (Garde *et. al.*, 2000; Soler *et. al.*, 2003), kerbau Afrika (Herold *et. al.*, 2004; Herold *et. al.*, 2006), dan kerbau belang (Rizal *et. al.*, 2007; Herdis *et. al.*, 2008).

Pengetahuan tentang pengenceran dan preservasi semen sangat penting dalam proses IB, sebab semen yang tidak diencerkan dan dipreservasi pada suhu kamar harus digunakan dalam waktu tidak lebih dari dua jam sesudah penampungan (Toelihere, 1981). Pengenceran dapat memperbanyak volume semen sehingga memungkinkan untuk melakukan IB terhadap betina dalam jumlah lebih banyak dari satu ejakulat. Bahan pengencer yang baik adalah murah, sederhana, praktis dibuat dan memiliki daya preservasi yang tinggi. Guna memenuhi kebutuhan ini, maka telah dilakukan berbagai cara dalam mencari jenis dan komposisi pengencer yang tepat untuk mengencerkan semen sapi Bali. Jenis pengencer yang biasa digunakan adalah pengencer yang bersifat kimiawi sintetik dan mengandung unsur-unsur yang berfungsi sebagai sumber energi, penyangga (*buffer*), mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, melindungi terhadap pengaruh buruk kejutan dingin (*cold shock*), mencegah pertumbuhan kuman dan memperbanyak volume.

Buah-buahan dan sayur-sayuran yang tumbuh di Indonesia memiliki zat-zat gizi penting untuk kehidupan sel dan berfungsi sebagai penyeimbang dalam diet karena mengandung protein, vitamin, mineral, dan energi yang cukup tinggi. Wortel adalah salah satu jenis sayuran yang mudah ditemui dan mengandung zat-zat penting yang dibutuhkan oleh sel, di antaranya karbohidrat yang dapat digunakan oleh spermatozoa sebagai substrat sumber energi, vitamin C dan  $\beta$ -

karoten sebagai senyawa antioksidan, dan berbagai mineral.

Pemanfaatan wortel sebagai bahan pengencer telah dilaporkan dengan hasil yang baik dalam proses preservasi semen domba Garut (Yulnawati *et. al.*, 2005). Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji efektivitas sari wortel sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C. Diharapkan hasil penelitian ini menjadi informasi dalam upaya pemanfaatan bahan-bahan alami sebagai pengencer semen alternatif yang murah dan mudah diperoleh, selain bahan pengencer yang bersifat kimiawi sintetik.

## MATERI DAN METODE

Epididimis sebanyak enam buah (sebagai jumlah ulangan) beserta testis sapi Bali diperoleh dari RPH di Mardika, Ambon. Epididimis dipisahkan dari testis dan dibilas dengan larutan NaCl fisiologis. Selanjutnya spermatozoa dikoleksi dengan kombinasi teknik *slicing*, pembilasan, dan penekanan (bilas-tekan) pada setiap jaringan cauda epididimis (Rizal, 2006) menggunakan larutan NaCl fisiologis. Sebelum dibilas-tekan dengan larutan NaCl fisiologis, spermatozoa disedot dengan pipet eritrosit untuk dihitung konsentrasinya. Spermatozoa dikoleksi pada pagi hari sekitar jam 07.00, sedangkan sapi dipotong pada malam hari sekitar jam 12.00 (testis beserta epididimis disimpan pada suhu ruang tanpa perlakuan).

Bahan pengencer yang digunakan adalah sari wortel kuning telur sebagai perlakuan dan Tris kuning telur sebagai kontrol. Untuk membuat sari wortel, diperlukan wortel segar yang dikupas dan dicuci bersih kemudian diproses dengan *juicer*. Hasil proses *juicer* tersebut kemudian disaring dengan kertas saring sebanyak dua kali. Sari wortel murni tersebut kemudian dicampur akuabidestilata dengan perbandingan 1:1 agar tidak terlalu kental. Setelah sari wortel siap, kemudian ditambahkan kuning telur dengan tiga tingkatan perbandingan yaitu 20, 30, dan 40%. Selanjutnya pengencer ditambahkan penisilin dan streptomisin masing-masing sebanyak 1.000 IU per mililiter pengencer.

Perlakuan kontrol yang digunakan adalah pengencer Tris yang mengandung 20% kuning telur. Komposisi pengencer dasar Tris terdiri atas: 3,87 g Tris(hidroksimetil)aminometan, 2,17 g asam sitrat,

1,56 g fruktosa yang dilarutkan dengan akuabidestilata hingga mencapai volume 100 ml, kemudian ditambahkan penisilin dan streptomisin masing-masing sebanyak 1.000 IU per mililiter pengencer (Balai Inseminasi Buatan, Lembang). Dengan demikian terdapat empat jenis perlakuan, yakni: pengencer Tris sebagai kontrol (Tris), pengencer 80% sari wortel + 20% kuning telur (SW20), pengencer 70% sari wortel + 30% kuning telur (SW30), dan pengencer 60% sari wortel + 40% kuning telur (SW40).

Spermatozoa hasil koleksi ditambahkan ke dalam masing-masing keempat jenis pengencer perlakuan di dalam tabung reaksi hingga mencapai konsentrasi 15 juta spermatozoa motil per mililiter. Selanjutnya tabung reaksi ditutup rapat dan dimasukkan ke gelas piala yang berisi air bersih dan dipreservasi di dalam lemari es (*refrigerator*) yang bersuhu sekitar 3–5°C. Contoh masing-masing perlakuan dievaluasi kualitasnya setiap hari hingga persentase motilitas spermatozoa 40%.

Peubah kualitas spermatozoa yang diamati adalah persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa. Sebelum diencerkan, spermatozoa segar dievaluasi kualitasnya yang meliputi: konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas, persentase hidup, persentase abnormalitas, dan persentase butiran sitoplasma (*cytoplasmic droplet*).

sedangkan yang mati ditandai oleh kepala berwarna merah. Sebanyak minimum 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x.

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

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Spermatozoa Epididimis Segar Sapi Bali

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa segar cauda epididimis sapi Bali adalah  $7.181 \times 10^6$  sel/ml (Tabel 1). Sementara itu, konsentrasi spermatozoa pada semen hasil ejakulasi berkisar antara 800 dan  $2.000 \times 10^6$  sel/ml (Hafez dan Hafez, 2000). Konsentrasi spermatozoa di dalam cauda epididimis sangat tinggi, karena spermatozoa yang ada di dalam epididimis belum mendapat penambahan plasma semen. Konsentrasi spermatozoa cauda epididimis pada hewan mamalia sebesar  $10\text{--}50 \times 10^9$  sel/ml (Senger, 1999) dan rata-rata  $13.993,33 \times 10^6$  sel/ml pada domba Garut (Rizal *et. al.*, 2004).

Tabel 1. Karakteristik Spermatozoa Epididimis Segar Sapi Bali

Peubah kualitas spermatozoa	Rata-rata $\pm$ SD	Kisaran
Konsentrasi spermatozoa (juta/ml)	$7.181,67 \pm 483,23$	6.660 – 8.170
Persentase motilitas (%)	$70,00 \pm 0,00$	70
Persentase hidup (%)	$82,00 \pm 1,73$	80 – 85
Persentase abnormalitas (%)	$9,83 \pm 1,07$	8 – 11
Persentase butiran sitoplasma (%)	$10,67 \pm 1,10$	10 – 12

Persentase motilitas: persentase spermatozoa yang bergerak progresif (bergerak ke depan). Dievaluasi secara subyektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x (Rasul *et. al.*, 2001). Angka yang diberikan berkisar antara 0 dan 100% dengan skala 5%.

Persentase hidup: persentase spermatozoa yang hidup. Dievaluasi dengan pewarnaan 2% eosin B (Toelihere, 1981). Spermatozoa yang hidup ditandai oleh kepala berwarna putih atau transparan,

Persentase motilitas dan hidup spermatozoa masing-masing rata-rata 70 dan 82%. Persentase abnormalitas dan butiran sitoplasma spermatozoa segar cauda sapi Bali yang diperoleh dalam penelitian ini adalah masing-masing 9,83 dan 10,67% (Tabel 1). Hasil ini sesuai dengan pendapat Hafez dan Hafez (2000) yang menyebutkan bahwa persentase motilitas spermatozoa sapi rata-rata adalah 40–75%, tetapi lebih tinggi daripada pendapat Toelihere (1981) yaitu 65%. Hasil beberapa penelitian dilaporkan bahwa

persentase motilitas spermatozoa cauda epididimis segar adalah 64% pada monyet ekor panjang (Feradis *et. al.*, 2001), 66% pada kuda (Squires *et. al.*, 2000), dan 70–75% pada domba Garut (Rizal, 2005). Kemampuan pergerakan (motilitas) spermatozoa cauda epididimis sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi, karena spermatozoa telah mengalami proses pematangan di dalam caput dan corpus epididimis.

Abnormalitas yang terdapat pada spermatozoa asal cauda epididimis sapi Bali dalam penelitian ini masih normal dan dapat digunakan untuk proses selanjutnya, karena menurut Bearden dan Fuquay (1997) angka morfologi abnormal 8–10% tidak memberi pengaruh yang cukup berarti bagi fertilitas, tetapi jika abnormalitas lebih dari 25% dari satu ejakulat maka penurunan fertilitas tidak dapat diantisipasi. Spermatozoa menjadi matang di dalam epididimis dan sisa sitoplasma (*cytoplasmic droplet*) berpindah dari pangkal kepala (*proximal droplet*) ke ujung bawah bagian tengah spermatozoa (*distal droplet*) dan akhirnya menghilang sebelum ejakulasi (Toelihere, 1985). Persentase butiran sitoplasma pada penelitian ini umumnya didapatkan berposisi pada bagian distal. Ini menunjukkan bahwa proses pematangan spermatozoa yang terjadi di dalam caput dan corpus epididimis belum berlangsung secara sempurna untuk semua spermatozoa. Akan tetapi, hal ini tidak berpengaruh terhadap kemampuan spermatozoa membuahi oosit, dan jumlahnya sedikit (hanya 10–12%). Spermatozoa cauda epididimis memiliki kemampuan membuahi oosit yang relatif sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Senger, 1999; Hafez dan Hafez, 2000).

Berdasarkan pada data seluruh peubah kualitas spermatozoa yang diamati, diketahui bahwa spermatozoa cauda epididimis yang dikoleksi layak untuk digunakan dalam proses selanjutnya, yaitu digunakan sebagai semen cair atau diproses menjadi semen beku.

### **Kualitas Spermatozoa Epididimis setelah Pengenceran dan Preservasi**

Motilitas spermatozoa merupakan indikator utama yang menjadi patokan dalam penilaian kualitas spermatozoa untuk keperluan IB. Selama lima hari pengamatan, persentase motilitas spermatozoa secara umum menunjukkan penurunan. Pada hari keenam preservasi, spermatozoa yang diencerkan dengan

perlakuan Tris menunjukkan persentase motilitas dan hidup spermatozoa (40,83 dan 59,16%) nyata ( $P < 0,05$ ) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan SW20 (27,5 dan 49%), SW30 (30,83 dan 49,5%), dan SW40 (27,5 dan 47,83%) (Tabel 2).

Keunggulan pengencer Tris dibandingkan dengan sari wortel disebabkan oleh unsur-unsur yang terkandung di dalam pengencer Tris lebih mampu bertahan dari proses kerusakan selama preservasi daripada unsur-unsur yang terkandung di dalam wortel, sehingga kemampuan dalam mempreservasi spermatozoa lebih baik. Dengan demikian zat-zat nutrien yang masih baik terutama karbohidrat dapat dimetabolisir menjadi energi berupa *adenosine triphosphate* (ATP). *Adenosine triphosphate* tersebut selanjutnya dimanfaatkan oleh spermatozoa dalam proses pergerakannya. Hasil penelitian pada sapi Frisian Holstein (FH) (Situmorang, 1992), domba priangan (Herdiawan, 2004), dan domba Garut (Yulnawati *et. al.*, 2005) juga menunjukkan bahwa pengencer Tris merupakan yang paling baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa yang sudah diencerkan dan dipreservasi pada suhu 3–5°C.

Pengencer Tris mengandung zat nutrien yang lebih lengkap dan konsentrasi yang cukup dalam melindungi spermatozoa selama preservasi dibandingkan dengan sari wortel, karena senyawa-senyawa tersebut memang diperuntukkan bagi upaya preservasi semen. Sebagai contoh, di dalam pengencer Tris terdapat asam sitrat yang berfungsi sebagai zat penyangga. Zat penyangga diperlukan untuk mencegah penurunan pH medium secara drastis, sehingga berdampak baik terhadap daya hidup spermatozoa. Foote (1980) mengemukakan bahwa di dalam pengencer Tris terdapat bahan-bahan yang dapat mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik, menjaga keseimbangan elektrolit, mengikat butir-butir lemak, sebagai sumber energi, melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*, dan meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa. Tris-kuning telur merupakan pengencer yang baik untuk proses pembekuan semen (Roca, 1997) dan preservasi pada suhu 15°C (Roca, 2000) jika ditinjau dari viabilitas dan daya fertilitasnya. Salisbury dan van Demark (1985) berpendapat bahwa penurunan motilitas spermatozoa disebabkan karena terbentuknya asam laktat dalam spermatozoa, sehingga akan menyebabkan proses metabolisme dan respirasi akan

Tabel 2. Persentase Motilitas dan Hidup Spermatozoa Epididimis Sapi Bali yang Dipreservasi pada Suhu 3–5°C

Peubah	Perlakuan	Penyimpanan hari ke-					
		1	2	3	4	5	6
Persentase motilitas (%)	Kontrol	70,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	65,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	60,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	53,33 ± 2,58 <sup>a</sup>	47,50 ± 4,18 <sup>a</sup>	40,83 ± 5,84 <sup>a</sup>
	SW20	70,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	55,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	45,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	40,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	34,16 ± 2,04 <sup>b</sup>	27,50 ± 4,18 <sup>b</sup>
	SW30	70,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	55,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	50,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	45,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	38,33 ± 2,58 <sup>b</sup>	30,83 ± 3,76 <sup>b</sup>
	SW40	70,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	55,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	45,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	40,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	34,16 ± 2,04 <sup>b</sup>	27,50 ± 4,18 <sup>b</sup>
Persentase hidup (%)	Kontrol	81,16 ± 2,64 <sup>a</sup>	74,33 ± 7,09 <sup>a</sup>	68,16 ± 4,71 <sup>a</sup>	65,83 ± 4,91 <sup>a</sup>	62,66 ± 5,12 <sup>a</sup>	59,16 ± 3,87 <sup>a</sup>
	SW20	76,50 ± 1,76 <sup>a</sup>	63,00 ± 2,19 <sup>b</sup>	57,16 ± 1,60 <sup>b</sup>	54,50 ± 1,64 <sup>b</sup>	52,33 ± 1,86 <sup>b</sup>	49,00 ± 3,16 <sup>b</sup>
	SW30	77,83 ± 1,47 <sup>a</sup>	63,33 ± 2,66 <sup>b</sup>	59,00 ± 1,09 <sup>b</sup>	55,83 ± 1,47 <sup>b</sup>	53,16 ± 1,47 <sup>b</sup>	49,50 ± 2,07 <sup>b</sup>
	SW40	76,83 ± 2,14 <sup>a</sup>	61,66 ± 1,63 <sup>b</sup>	57,16 ± 1,60 <sup>b</sup>	53,83 ± 1,94 <sup>b</sup>	51,16 ± 1,33 <sup>b</sup>	47,83 ± 1,33 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c</sup> Superskrip dalam kolom yang sama masing-masing peubah, menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Kontrol: Pengencer yang terdiri atas 80% pengencer dasar Tris + 20% kuning telur

SW20: Pengencer yang terdiri atas 80% sari wortel + 20% kuning telur

SW30: Pengencer yang terdiri atas 70% sari wortel + 30% kuning telur

SW40: Pengencer yang terdiri atas 60% sari wortel + 40% kuning telur.

terhambat, dan akan menurunkan daya tahan hidup spermatozoa. Derajat keasaman medium yang tetap baik akan berpengaruh baik pula terhadap daya hidup spermatozoa. Menurut Toelihere (1981) daya hidup spermatozoa rendah dengan menurunnya derajat keasaman medium pengencer (medium bersifat asam). Penyimpanan semen di dalam lemari es termasuk dalam keadaan anerob (tanpa oksigen), sehingga hasil akhir proses metabolisme adalah asam laktat. Dalam keadaan seperti ini peranan zat penyangga sangat penting untuk mencegah terjadinya penurunan pH medium yang terlalu drastis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa asal cauda epididimis sapi Bali pada perlakuan pengencer Tris tetap dapat dipertahankan sebesar 40% selama lima hari preservasi pada suhu 3–5°C, dan masih layak dimanfaatkan dalam program IB. Sari wortel tetap dapat digunakan menjadi pengencer semen alternatif dalam upaya preservasi semen pada suhu 3–5°C sebelum dimanfaatkan dalam program IB. Dalam penelitian ini pengencer sari wortel kuning telur mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa asal cauda epididimis sapi Bali sebesar 40–45% selama tiga hari preservasi pada suhu 3–5°C (Tabel 2). Pada penelitian yang dilakukan

sebelumnya oleh Yulnawati *et. al.* (2005) pada semen domba Garut, dengan menggunakan pengencer dasar sari wortel dan sari melon juga diperoleh hasil yang sama dengan penelitian ini. Sari wortel dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengencer alternatif karena selain mengandung karbohidrat sebagai substrat sumber energi, juga terdapat vitamin C dan  $\beta$  karoten yang berfungsi sebagai senyawa antioksidan. Menurut Yousef *et. al.* (2003) senyawa antioksidan berfungsi mengikat radikal bebas yang dapat merusak membran plasma sel melalui reaksi peroksidasi lipid, dan berakibat kematian spermatozoa.

Pada hari keempat preservasi didapatkan bahwa persentase motilitas spermatozoa asal cauda epididimis sapi Bali yang diencerkan dengan pengencer SW30 (45%) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan pengencer SW20 (40%) dan SW40 (40%). Hal ini menunjukkan bahwa perbandingan 70% sari wortel dengan 30% kuning telur merupakan kombinasi optimum dalam mempertahankan motilitas spermatozoa asal cauda epididimis sapi Bali selama tiga hari preservasi pada suhu 3–5°C. Meskipun demikian, ketiga jenis perlakuan ini (SW20, SW30, dan SW40) tetap memenuhi syarat untuk dimanfaatkan dalam program IB setelah dipreservasi selama tiga hari, karena masih

memiliki persentase motilitas antara 40 dan 45%. Menurut Evans dan Maxwell (1987) semen yang memenuhi syarat kualitas digunakan dalam program IB harus memiliki persentase motilitas spermatozoa minimum 40%.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa sari wortel-kuning telur efektif untuk dimanfaatkan sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C. Pengencer 70% sari wortel dengan 30% kuning telur merupakan komposisi terbaik sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi Bali.

## DAFTAR PUSTAKA

- An, T.Z., S. Wada, K. Edashge, K. Sakurai, and M. Kasai. 1999. Viable spermatozoa can be recovered from refrigerated mice up to 7 days after death. *Cryobiology* 38:27-34.
- Bravo, P.W., V. Alarcon, and R.H. Bondurant. 2000. Epididymal spermatozoa characteristics and its use on artificial insemination of llamas and alpacas. *Proceedings 14<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction*. Stockholm, 2-6 July 2000. Volume 2. P.92 (Abstracts).
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1997. *Applied Animal Reproduction* 4<sup>th</sup> Ed. Prentice Hall, Upper Saddle, New Jersey.
- Evans, G and W.M.C. Maxwell. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths Pty Limited, Collingwood, Victoria.
- Feradis, A.H., D. Pawitri, I.K. Suatha, M. Rizal Amin, T.L. Yusuf, D. Sajuthi, I.N. Budiarsa, and E.S. Hayes. 2001. Cryopreservation of epididymal spermatozoa collected by needle biopsy from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Primatol.* 30:100-106.
- Foote, R.H. 1980. Artificial insemination. In: E.S.E. Hafez (ed) *Reproduction in Farm Animals* 4<sup>th</sup> Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Garde, J., E. Anel, A. Garcia-Diaz, J.C. Boixo, A. Soler, P. De Paz, A. Lopez-Saer, C. Guerra, and L. Anel. 2000. Evaluation of two glycerol concentrations in freezing of electroejaculated and epididymal spermatozoa from iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*). *Proceedings 14<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction*. Stockholm, 2-6 July 2000. Volume 2. P.142 (Abstracts).
- Graham, J.K. 1994. Effect of seminal plasma on the motility of epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during cryopreservation process. *Theriogenology* 46:1151-1162.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animals* 7<sup>th</sup> Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 9:98-107.
- Herdis, M. Surachman, Yulnawati, M. Rizal, dan H. Maheshwari. 2008. Viabilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kerbau belang pada penambahan maltosa dalam pengencer AndroMed<sup>®</sup>. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 33:101-106.
- Herold, F.C., J.E. Aurich, and D. Gerber. 2004. Epididymal sperm from the African buffalo (*Syncerus caffer*) can be frozen successfully with Andromed and Triladyl<sup>™</sup> but the addition of bovine seminal plasma is detrimental. *Theriogenology* 61:715-724.
- Herold, F.C., K. de Haas, B. Colenbrander, and D. Gerber. 2006. Comparison of equilibration times when freezing epididymal sperm from African buffalo (*Syncerus caffer*) using Triladyl<sup>™</sup> or AndroMed<sup>®</sup>. *Theriogenology* 66:1123-1130.
- Kikuchi, K., T. Nagai, N. Kashiwazaki, H. Ikeda, J. Noguchi, A. Shimada, E. Soloy, and H. Kaneko. 1998. Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4°C. *Theriogenology* 50:615-623.
- Kishikawa, H., H. Tateno, and R. Yanagimachi. 1999. Fertility of mouse spermatozoa retrieved from cadavers and maintained at 4°C. *J. Reprod. Fertil* 116:217-222.
- Rasul, Z., N. Ahmad, and M. Anzar. 2001. Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. *J. Androl.* 22:278-283.

- Rizal, M., Herdis dan A. Boediono. 2004. Daya hidup sperma epididimis domba setelah disimpan pada suhu rendah (5°C). *Jurnal Animal Production* 6:30-36.
- Rizal, M. 2005. Fertilitas Spermatozoa Ejakulat dan Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan. Disertasi. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rizal, M. 2006. Fertilitas semen beku hasil ejakulasi dan spermatozoa beku asal cauda epididimis domba Garut. *Jurnal Sain Veteriner* 24:49-57.
- Rizal, M., Herdis, Yulnawati dan H. Maheshwari. 2007. Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang dikriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. *Jurnal Veteriner* 8:188-193.
- Roca, J. 1997. Viability and fertility of unwashed Murciano Granadina goat spermatozoa diluted in Tris egg yolk extender and stored at 5°C. *Small Ruminant Research* 25:147-153.
- Roca, J., S. Martinez, J.M. Vazquez, X. Lucas, I. Parrilla, and E.A. Martinez. 2000. Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15°C. *Anim. Reprod. Sci.* 64:103-112.
- Salisbury, G.W. dan N.L. van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sankai, T., K. Terao, R. Yanagimachi, F. Cho, and Y. Yoshikawa. 1994. Cryopreservation of epididymal spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Reprod. Fertil.* 101:273-278.
- Senger, P.L. 1999. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conception Inc., Pullman.
- Situmorang, P. 1992. Pengaruh pengencer, gliserol dan tingkat kuning telur terhadap daya hidup spermatozoa. *Ilmu dan Peternakan* 5:20-25.
- Soler, A.J., M.D. Perez-Gusman, and J.J. Garde. 2003. Storage of red deer epididymides for four days at 5°C: effects on sperm motility, viability, and morphology integrity. *J. Exp. Zool.* 295A:188-199.
- Songsasen, N., J. Tong, and S.P. Leibo. 1998. Birth of live mice derived by in vitro fertilization with spermatozoa retrieved up to twenty-four hours after death. *J. Exp. Zool.* 280:189-196.
- Squires, E.L., C. Gomez-Cuetara, and J.K. Graham. 2000. Effect of seminal plasma on cryopreserving epididymal and ejaculated stallion spermatozoa. *Proceedings 14<sup>th</sup> Internaaional Congress on Animal Reproduction*. Stockholm, 2-6 July 2000. Volume 2. P.166 (Abstracts).
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. (Diterjemahkan oleh B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Toelihere, M.R. 1981. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Tollner, T.L., C.A. van de Voort, J.W. Overstreet, and E.Z. Drobnis. 1990. Cryopreservation of epididymal spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Reprod. Fertil.* 90:347-352.
- Yousef, M.I., G.A. Abdullah and K.I. Kamel. 2003. Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbit. *Anim. Reprod. Sci.* 76:99-111.
- Yulnawati, M.A. Setiadi dan Herdis. 2005. Pemanfaatan sari buah melon dan sari wortel sebagai media pengencer alternatif Semen cair domba Garut. *Protein* 12:151-160.