

PENGARUH PROLINE, CARNITINE TERHADAP DAYA HIDUP SPERMATOZOA YANG DISIMPAN DALAM SUHU 5°C (*CHILLING SEMEN*)

POLMER SITUMORANG, E. TRIWULANINGSIH, A. LUBIS, W. CAROLINE, dan T. SUGIARTI

*Balai Penelitian Ternak
P.O. Box 221, Bogor 16002, Indonesia*

(Diterima dewan redaksi 27 Nopember 2000)

ABSTRACT

SITUMORANG, P., E. TRIWULANINGSIH, A. LUBIS, W. CAROLINE, and T. SUGIARTI. 2001. The effects of proline, carnitine on the viability of sperm stored at 5°C (chilled semen). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(1):1-6.

An experiment was carried out to evaluate the addition of proline, carnitine in Tris-extender on the viability of bull sperm following storage at 5°C. Semen was collected by means of artificial vagina (AV), diluted in Tris-extender containing 5% V/V egg yolk (EY) and 4% V/V glycerol to get a final concentration of 50 million sperms/ml. Diluted semen cooled to 5°C for 45 minute and stored at those temperature for 1, 3, 10, and 13 days. In the first activity the addition of 15, 30 and 60 mM carnitine in Tris-extender while in the second activity the inclusion of 15, 30, and 60 mM proline on the viability of sperm was investigated. Addition of carnitine to Tris-extender significantly increase ($P<0.05$) the viability of sperm after storage for more than 3 days. At 3 days of storage, the mean %M and %L were 27.3, 38.8, 33.5, 53.0, 31.8, 47.0, and 30.5, 46.8 for control 15, 30, and 60 mM carnitine respectively. The similar results was obtained for 7 days of storage where the mean %M and %L for control (12.5 and 27.3) was significantly lower ($P<0.05$) than those 15, 30, and 60 mM carnitine (15.0, 33.5, 18.8, 36.5, 17.5, 36.3). The superiority of carnitine was maintained for 10 days of storage, where the mean %L were 23.5, 28.8, 31.5, and 30.3 for control; 15; 30; and 60 mM respectively. There was no any significant within concentration of carnitine tested (15 to 60 mM). The condition of apical ridge was not significantly affected by carnitine. In the second activity, inclusion of proline to Tris-extender statistically ($P<0.05$) improved the viability of sperm after storage for 7 and 13 days. After 7 days of storage the mean %M and %L were 31.4, 36.4, 38.8, 40.4, 36.6, 42.7, and 34.8, 43.3 for control; 15, 30, and 60 mM proline respectively. The significant effects of proline was remain for 13 days of storage where the mean %M and %L were 24.6, 32.9, 28.6, 37.5, 29.1, 39.8, and 30.1, 37.3 for control; 15, 30, and 60 mM proline respectively. There was no significant difference within the concentration of proline. Condition of apical ridge was not significantly affected by proline.

Key words: Sperm, viability, carnitine, proline

ABSTRAK

SITUMORANG, P., E. TRIWULANINGSIH, A. LUBIS, W. CAROLINE, and T. SUGIARTI. 2001. Pengaruh proline, carnitine terhadap daya hidup spermatozoa yang disimpan dalam suhu 5°C (*chilling semen*). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(1):1-6.

Penelitian dilakukan untuk melihat pengaruh penambahan proline, carnitine ke dalam pengencer Tris terhadap daya hidup spermatozoa setelah penyimpanan pada 5°C. Semen ditampung dengan vagina buatan (VB) dan diencerkan pada pengencer Tris-citrat yang mengandung 5% V/V kuning telur (KT) dan 4% V/V gliserol untuk mendapat konsentrasi akhir 50 juta spermatozoa/ml. Semen encer kemudian didinginkan ke-5°C selama 45 menit dan disimpan selama 1, 3, 10, dan 13 hari. Pengaruh penambahan 15, 30, dan 60 mM carnitine (Kegiatan 1) dan 15, 30, dan 60 mM proline (Kegiatan 2) kedalam Tris-citrat terhadap persentase motile (%M), spermatozoa yang hidup (%H), dan kondisi *apical ridge* diteliti. Penambahan carnitine ke dalam Tris-citrat nyata meningkatkan ($P<0,05$) daya hidup spermatozoa setelah penyimpanan lebih dari 3 hari. Pada 3 hari penyimpanan, rataan %M dan %H adalah 27,3 & 38,8; 33,5 & 53,0; 31,8 & 47,0; dan 30,5 & 46,8 untuk berturut-turut kontrol 15, 30 dan 60 mM carnitine. Hasil yang sama didapat pada 7 hari penyimpanan dimana rataan %M dan %H untuk kontrol (12,5 & 27,3) adalah nyata lebih rendah ($P<0,05$) dibanding perlakuan 15, 30, dan 60 mM carnitine (15,0 & 33,5; 18,8 & 36,5; 17,5 & 36,3). Pengaruh positif carnitine masih dipertahankan pada penyimpanan 10 hari dimana rataan %H adalah 23,5; 28,8; 31,5; dan 30,3% untuk berturut-turut kontrol, 15, 30, dan 60 mM. Tidak didapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi carnitine dari 15 sampai 60 mM yang diuji. Kondisi *apical ridge* tidak nyata secara statistik dipengaruhi oleh carnitine. Pada kegiatan kedua, penambahan proline kedalam Tris-citrat nyata secara statistik ($P<0,05$) meningkatkan daya hidup spermatozoa setelah penyimpanan 7 dan 13 hari. Setelah 7 hari penyimpanan, rataan %M dan %H adalah berturut-turut 31,4 & 36,4; 38,8 & 40,4; 36,6 & 42,7; dan 34,8 & 43,3 untuk kontrol, 15, 30, dan 60 mM proline. Pengaruh yang nyata dari proline masih terdapat setelah penyimpanan selama 13 hari dimana rataan %M dan %H adalah 24,6 & 32,9; 28,6 & 37,5; 29,1 & 39,8 dan 30,1 & 37,3 untuk berturut-turut kontrol, 15, 30, dan 60 mM proline. Tidak didapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi proline dari 15 sampai 60 mM. Pengaruh proline terhadap kondisi *apical ridge* tidak nyata berbeda secara statistik.

Key words: Spermatozoa, daya hidup, carnitine, proline

PENDAHULUAN

Teknologi inseminasi buatan (IB) sebagai prasarana untuk meningkatkan produksi ternak telah secara luas dilaporkan, khususnya pada ternak sapi perah dimana manajemen yang sangat intensif telah digunakan. Pada ternak sapi potong intensitas penggunaan IB masih rendah sebagai konsekuensi manajemen yang masih ekstensif. Program IB sangat ditentukan oleh persentase kebuntingan yang dihasilkan, dimana kebuntingan ini dipengaruhi oleh kualitas semen (faktor pejantan), kualitas sel telur yang sangat berhubungan dengan kondisi dan status reproduksi ternak betina (faktor betina) dan waktu inseminasi. Waktu inseminasi semakin penting artinya karena daya hidup spermatozoa diluar tubuh setelah ejakulasi (*post-ejaculation*) sangat pendek sehingga pengawetan semen merupakan problema pertama yang dihadapi dalam pelaksanaan IB. Pengawetan semen dengan pembekuan telah banyak dilaporkan akan tetapi persentase kebuntingan dengan menggunakan semen beku masih lebih rendah dibanding semen cair ataupun segar, sebagai akibat kerusakan membran sel yang terjadi selama pembekuan (HAMMERSTEDT, 1993). SITUMORANG dan MARTIN (1983) melaporkan hubungan yang sangat nyata antara ultra-struktur membran dengan tingkat fertilitas dimana kerusakan membran ini hanya dapat dilihat dengan menggunakan elektron mikroskop. Kurang lebih 30% spermatozoa akan mati selama pembekuan (GOLDMAN, *et al.*, 1991) dan spermatozoa yang berhasil lolos hidup sangat sensitif terhadap lingkungan dan mempunyai daya hidup yang pendek setelah pencairan kembali (*post-thawed*), dan mempunyai fertilitas yang rendah (PARKS dan GRAHAM, 1992). Untuk menghindari hal tersebut penggunaan semen cair (*liquid semen*) baik dalam suhu penyimpanan ruangan maupun 5°C merupakan alternatif yang perlu mendapat perhatian. Faktor pembatas penggunaan semen cair adalah daya hidup spermatozoa yang masih terbatas. Penggunaan CUE-Tris yang mengandung 5% kuning telur telah dilaporkan oleh DAVIS *et al.* (1963), dan FOOTE, (1970) dan kemudian ditingkatkan oleh SHANON *et al.* (1980). Keterbatasan daya hidup spermatozoa pada penyimpanan diatas suhu 5°C diduga berhubungan dengan defisit enersi dan kerusakan membran sebagai hasil reaksi peroxida dari lemak. Hal yang berbeda didapat pada ekor epididymis dari hampir semua ternak mamalia, dimana spermatozoa dapat bertahan hidup 2-3 minggu (BEDFORD, 1975). Karena itu penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian substrat yang didapat tinggi pada epididymis maupun rete-testis yaitu carnitine (HINTON *et al.*, 1979) ataupun proline (TUCK *et al.*, 1970 yang dikutip oleh SETCHELL *et al.*, 1993) terhadap daya hidup ejakulat-spermatozoa yang telah disimpan pada suhu 5°C.

MATERI DAN METODE

Ternak

Penelitian dilakukan di Balai Penelitian Ternak Ciawi dengan menggunakan masing masing satu ekor sapi FH dan PO jantan dewasa umur (2-3 tahun) dengan berat badan berkisar 400-550 kg. Ternak dikandangkan secara individu pada kandang dengan ukuran 2x3 m. Pakan hijauan berupa rumput gajah dan air diberikan secara *ad libitum* sedang konsentrat komersial (KPS) sebanyak 8 kg/ekor/hari diberikan sebagai suplementasi.

Penampungan semen

Semen ditampung dengan menggunakan vagina buatan (VB) dengan frekuensi penampungan 2 x seminggu dengan menggunakan sapi betina sebagai pemancing. Secepatnya setelah penampungan, semen dibawa ke laboratorium reproduksi Balitnak dan waktu antara penampungan sampai pengenceran tidak pernah lebih dari 15 menit.

Pengenceran

Semen diencerkan pada suhu 35°C dengan pengencer Tris-Citrat bagian A (Konsentrasi glycerol 2,4%V/V) dan mengandung 0, 15, 30, dan 60 mM carnitine untuk kegiatan pertama dan 0, 15, 30, dan 60 mM proline untuk kegiatan kedua. Semen kemudian diturunkan temperaturnya secara perlahan-lahan dengan menggunakan mesin pendingin dan waktu yang diperlukan untuk menurunkan suhu dari 35°C ke 5°C kurang lebih 45 menit. Pengencer Tris-Citrat bagian B (konsentrasi glycerol 5,6% V/V) ditambahkan dalam 3 kali penambahan dengan volume yang sama yaitu setelah temperatur 15, 10, dan 5°C sehingga total volume pengencer bagian A sama dengan pengencer bagian B dan total konsentrasi spermatozoa akhir 50 juta/cc.

Peubah yang dievaluasi

Persentase motile (%M), persentase spermatozoa yang hidup (%H), persentase spermatozoa dengan *apical ridge* yang baik (%IAR) dan persentase spermatozoa dengan *apical ridge* yang rusak/patah (%BAR).

Analisa statistik

Seluruh data yang didapat dianalisa secara statistik dengan rancangan acak lengkap (RAL) mengikuti metoda STEEL dan TORRIE (1991) dan nilai yang berbeda diuji dengan uji jarak Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara keseluruhan karakteristik semen yang tertampung dari pejantan dalam penelitian ini masih dikategorikan baik dimana volume semen, persentase motile, spermatozoa yang hidup dan konsentrasi adalah berkisar antara 3-10 cc, 50-80%, 50-85 %, dan $0,8-2,5 \times 10^9$ spermatozoa/cc dan 1-4 cc, 50-80%, 55-85%, dan $1,0-4,2 \times 10^9$ spermatozoa/cc untuk berturut-turut sapi FH dan PO. Persentase *apical ridge* yang baik (%IAR) bervariasi dan relatif rendah yaitu 35-70% dan 50-80% untuk masing masing FH dan PO. Kualitas semen ini sesuai dengan yang telah dilaporkan oleh FOOTE (1980) yang melaporkan bahwa kisaran volume, konsentrasi, dan persentase motile semen dari sapi adalah 5-8 cc, 800-2000 juta, dan 65-95%. Rataan persentase spermatozoa dengan *apical ridge* baik (%IAR) pada penelitian ini cenderung rendah yaitu <60% untuk sapi FH dan <70% untuk PO. Rendahnya %IAR mungkin berhubungan dengan umur pejantan yang digunakan masih terlalu muda (<3 tahun) atau faktor individu. Didapat variasi yang cukup tinggi pada volume, konsentrasi, dan persentase motile yang disebabkan variasi kualitas makanan rumput Gajah yang diberikan selama penelitian. Volume semen yang lebih tinggi didapat pada sapi FH dibanding PO yang disebabkan

perbedaan bangsa sapi dan berat badan, dimana berat badan sapi FH jauh lebih besar dibanding sapi PO.

Pengaruh carnitine terhadap daya hidup spermatozoa terlihat pada Tabel 1 dan 2. Penurunan kualitas semen sangat nyata setelah penyimpanan 3 hari dimana lebih dari 40% dari spermatozoa yang hidup atau motile menjadi mati, dan penurunan kualitas ini makin jelas setelah penyimpanan 10 hari dimana hanya sedikit spermatozoa yang masih motile. Jumlah spermatozoa yang hidup pada waktu yang sama relatif lebih tinggi (>20%) yang membuktikan bahwa spermatozoa yang masih hidup akan tetapi tidak motile atau bergerak tidak lurus kedepan (berputar). Secara keseluruhan penambahan carnitine dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa terutama setelah penyimpanan di atas 3 hari. Rataan persentase motile didapat nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) pada perlakuan carnitine dibanding kontrol pada penyimpanan 3 dan 7 hari, sedang persentase spermatozoa yang hidup didapat lebih tinggi ($P < 0,05$) sampai penyimpanan 10 hari. Tidak didapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi 15, 30, maupun 60 mM pada semua peubah yang diuji. Kondisi akrosom yang dievaluasi dengan melihat kondisi *apical ridge* menunjukkan tendensi %IAR lebih tinggi pada perlakuan carnitine terutama pada konsentrasi yang lebih tinggi (60 mM) akan tetapi perbedaan ini tidak nyata secara statistik.

Tabel 1. Pengaruh carnitine terhadap persentase motile (%M) dan spermatozoa yang hidup (%H) setelah 5°C maupun setelah penyimpanan pada 5°C selama 1, 3, 7, dan 10 hari

Parameter	Waktu evaluasi	Carnitine (mM)			
		0	15	30	60
% Motile	0 jam	52,5	52,9	52,9	52,5
	1 hari	51,1	53,8	51,3	52,5
	3 hari	27,3 ^b	33,5 ^a	31,8 ^a	30,5 ^a
	7 hari	12,5 ^b	15,0 ^a	18,8 ^a	17,5 ^a
	10 hari	8,8	10,0	11,3	10,5
% Hidup	0 jam	63,3	61,4	64,5	62,0
	1 hari	56,0	59,6	59,9	57,4
	3 hari	38,8 ^b	53,0 ^a	47,0 ^a	46,8 ^a
	7 hari	27,3 ^b	33,5 ^a	36,5 ^a	36,3 ^a
	10 hari	23,5 ^b	28,8 ^a	31,5 ^a	30,3 ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata secara statistik ($P < 0,05$)

Tabel 2. Pengaruh carnitine terhadap persentase spermatozoa dengan *apical ridge* yang baik (%IAR) dan *apical ridge* yang rusak/patah (%BAR) setelah 5°C maupun setelah penyimpanan pada 5°C selama 1, 3, 7, dan 10 hari

Parameter	Waktu evaluasi	Carnitine (mM)			
		0	15	30	60
% IAR	0 jam	53,1	51,8	55,6	55,3
	1 hari	47,0	44,5	50,8	55,5
	3 hari	33,3	32,0	36,8	37,8
	7 hari	29,5	28,0	31,3	34,5
	10 hari	19,5	18,9	20,5	22,4
% BAR	0 jam	31,8	30,6	34,0	38,0
	1 hari	40,5	42,3	40,0	40,8
	3 hari	62,3	63,8	59,0	45,8
	7 hari	64,1	65,5	61,5	55,1
	10 hari	73,5	73,2	72,5	70,5

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata secara statistik ($P < 0,05$)

Tabel 3. Pengaruh proline terhadap persentase motile (%M) dan seperma yang hidup (%H) setelah 5°C maupun setelah penyimpanan pada 5°C selama 1, 3, 7, dan 13 hari

Parameter	Waktu evaluasi	Proline (mM)			
		0	15	30	60
% Motile	0 jam	59,4	59,4	60,7	62,0
	1 hari	55,0	59,4	57,0	58,4
	3 hari	50,0	47,7	48,1	45,5
	7 hari	31,4 ^a	38,8 ^b	36,6 ^b	34,8 ^b
	13 hari	24,6 ^a	28,6 ^b	29,1 ^b	30,1 ^b
% Hidup	0 jam	73,6	72,7	71,9	67,0
	1 hari	69,2	71,6	67,8	68,8
	3 hari	54,6	53,3	58,5	55,3
	7 hari	36,4 ^a	40,4 ^b	42,7	43,3 ^b
	13 hari	32,9 ^a	37,5 ^b	39,8 ^b	37,3 ^b

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata secara statistik ($P < 0,05$)

Pengaruh proline terhadap daya hidup spermatozoa terlihat pada Tabel 3 dan 4. Persentase motile yang lebih tinggi sudah mulai terlihat pada penyimpanan 1 dan 3 hari akan tetapi perbedaan yang nyata secara statistik ($P < 0,05$) baru terdapat pada penyimpanan yang lebih lama yaitu setelah penyimpanan 7 dan 13 hari. Kurang lebih 30% masih motile dan lebih dari 35% masih hidup pada penyimpanan 13 hari. Ada kecenderungan %IAR lebih tinggi pada pemberian proline akan tetapi perbedaan ini tidak nyata secara statistik. Tidak didapat perbedaan yang nyata antara pemberian proline dengan konsentrasi 15, 30, maupun 60 mM. Daya hidup spermatozoa menurun secara nyata

setelah penyimpanan lebih dari 3 hari dimana lebih dari 40% persentase motile dan spermatozoa yang hidup menurun selama penyimpanan. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh peneliti terdahulu bahwa spermatozoa berbeda dengan sel lainnya dimana tidak dapat mensintesa enersi dan memperbaiki kerusakan yang terjadi selama penyimpanan maupun pendinginan. Beberapa peneliti melaporkan bahwa tingkat metabolisme spermatozoa sangat tergantung dari temperatur (HAMMERSTEDT dan HAY, 1980; HAMMERSTEDT dan LARDY 1983; INSKEEP dan HAMMERSTEDT, 1985). Lebih lanjut dilaporkan tingkat metabolisme spermatozoa pada temperatur 20°C hanya

berkisar 10-20% dari temperatur 37°C. MAXWELL dan SALAMON (1993) melaporkan daya hidup spermatozoa akan menurun selama penyimpanan pada suhu 5°C pada seluruh jenis pengencer yang digunakan.

Rendahnya persentase motilitas spermatozoa setelah penyimpanan lebih dari 3 hari mengakibatkan penghitungan konsentrasi spermatozoa per inseminasi untuk mendapatkan fertilitas yang baik perlu mendapat perhatian. Untuk mendapatkan fertilitas dengan penggunaan semen beku diperlukan minimal 10 juta spermatozoa hidup per inseminasi (FOOTE dan PARKS, 1993), sedang untuk semen segar diperlukan hanya 2,5 juta. Kalau didalam penelitian ini didapat persentase motile masih sekitar 30% pada penyimpanan 13 hari pada perlakuan proline maka total spermatozoa per inseminasi sekitar $50 \times 30\% \times 0,25 = 3,75$ juta. Jumlah ini masih lebih besar dari 2,5 juta spermatozoa yang diperlukan pada penggunaan semen segar dan untuk ini perlu diteliti dalam rangka aplikasi penggunaan semen cair (*chilling semen*).

Dari 2 substrat epididymis (carnitine dan proline) yang diuji dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kedua substrat tersebut dapat meningkatkan persentase motile dan spermatozoa yang hidup semen cair pada penyimpanan yang lebih lama (> 3 hari penyimpanan). Hasil yang didapat pada penelitian ini selaras dengan apa yang dilaporkan oleh peneliti terdahulu yang menunjukkan bahwa carnitine dan proline didapat tinggi pada epididymis dan diduga berhubungan dengan kemampuan daya hidup spermatozoa yang lebih panjang dari semua ternak mamalia (SETCHELL *et al.*, 1993). Walaupun carnitine maupun proline dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa sapi akan tetapi hasil yang didapat pada penelitian ini tidak setinggi yang dilaporkan pada kondisi epididymis tersebut. Perbedaan ini dapat dihubungkan dengan perbedaan

spermatozoa yang digunakan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa didapat perbedaan yang nyata dari respons spermatozoa dari epididymis dengan spermatozoa dari ejakulat (CASSIERI *et al.*, 1976; INSKEEP dan HAMMERSTEDT, 1982). Penyebab perbedaan ini masih belum jelas akan tetapi perubahan respons spermatozoa cauda epididymis dan dari ejakulat terjadi setelah pengenceran spermatozoa dengan sekresi kelenjar reproduksi (ampulla, vesikal seminalis, prostata, dan *cowper*), dan perubahan ini sifatnya menetap (*irreversible*). Tidak didapat perbedaan dalam persentase *apical ridge* (%IAR) yang baik maupun %BAR menunjukkan mekanisme pengaruh carnitine dan proline mungkin hanya melalui sistem metabolisme sel saja. Hasil ini sesuai dengan laporan peneliti terdahulu bahwa carnitine dapat mengubah metabolisme dari sperma epididymis (CASSILAS, 1972; HAMILTON dan OLSON, 1976; HAMMERSTEDT, 1982) dan menggertak motilitas ejakulat spermatozoa manusia dan sapi (DEANE *et al.*, 1989). Proline dilaporkan dapat memproteksi sel hidup dari kerusakan akibat tekanan osmosa dan denaturasi protein akibat perubahan temperatur dan pembekuan (SANCHESS-PATTIDA *et al.*, 1992). Konsentrasi yang terbaik pada penelitian ini adalah antara 15-30 mM sedang penambahan di atas konsentrasi tersebut kurang bermanfaat. Hasil ini selaras dengan hasil yang menunjukkan bahwa pengaruh carnitine terhadap motilitas spermatozoa sangat kompleks dimana motilitas dari spermatozoa tikus dapat ditingkatkan pada pemberian 6 mM sedang penambahan di atas 9 mM akan menurunkan motilitas (HINTON *et al.*, 1979). Hasil yang sama dilaporkan oleh TURNER dan GILES (1981) bahwa pemberian 60 mM carnitine dapat menghambat motilitas sperma cauda epididymis tikus dan hambatan ini sifatnya permanen (*irreversible*).

Tabel 4. Pengaruh proline terhadap persentase sperma dengan *apical ridge* yang baik (%IAR) dan *apical ridge* yang rusak (%BAR) setelah 5°C maupun setelah penyimpanan pada 5°C selama 1, 3, 7, dan 13 hari

Parameter	Waktu evaluasi	Proline (mM)			
		0	15	30	60
% IAR	0 jam	55,3	59,0	52,0	55,9
	1 hari	52,2	43,0	49,1	46,8
	3 hari	39,2	44,7	37,6	39,7
	7 hari	43,3	36,0	36,5	34,2
	13 hari	29,7	25,1	30,9	31,4
% BAR	0 jam	28,2	24,7	29,2	29,1
	1 hari	36,2	42,8	40,3	40,5
	3 hari	49,0	49,0	49,1	45,7
	7 hari	41,1	57,5	47,9	53,3
	13 hari	58,3	61,7	53,8	59,9

Keterangan: Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata secara statistik ($P < 0,05$)

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian carnitine dan proline dapat meningkatkan daya hidup ejakulat spermatozoa (%M dan %H) terutama pada penyimpanan di atas 3 hari pada suhu 5°C. Tidak didapat perbedaan yang nyata antara konsentrasi 15 sampai dengan 60 mM, bahkan ada tendensi %M dan %H menurun pada pemberian 60 mM. Kedua substrat hanya mempengaruhi metabolisme spermatozoa dan tidak mempengaruhi kondisi akrosom. Evaluasi daya hidup spermatozoa *in vitro* menunjukkan bahwa kualitas semen masih layak untuk digunakan sampai penyimpanan lebih dari 10 hari pada suhu 5°C. Akan tetapi sebelum aplikasi dilakukan secara luas pada tingkat lapangan maka perlu dilakukan uji kebuntingan. Karena penggunaan sapi hidup memerlukan biaya yang besar maka uji fertilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi IVF yang relatif lebih murah.

DAFTAR PUSTAKA

- BEDFORD, J.M. 1975. Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. *In: Handbook of Physiology. Section 7 Endocrinology. Vol 5. Male Reproduction System.* (Eds D.W Hamilton and R.O Greep). pp. 303-317.
- CASCIERI, M., R.P. AMANN, and R.H. HAMMERSTEDT. 1976. Adenine nucleotide changes at initiation of bull sperm motility. *J. Biol. Chem.* 251:787-793.
- CASILLAS, E.R. 1972. The distribution of carnitine in male reproductive tissues and its effects on palmitate oxidation by spermatozoal particles. *Biochem. Biophys. Acta* 200:545-551.
- DAVIS, I.S., R.W. BRATTON, and R.H. FOOTE. 1963. Livability of bovine spermatozoa at 5°C in Tris-buffered and Citrate-buffered egg yolk-glycerol extender. *J. Dairy Sci.* 46:333-336.
- DEANA, R., F. RIGONI, M. FRANSCESCONI, L. CAVALLINI, P. ARSLAN, and N. SILIPRANDI. 1989. Effects of L-carnitine and L-aminocarnitine on calcium transport, motility, and enzyme release from ejaculated bovine spermatozoa. *Biol. Reprod.* 41:949-955.
- FOOTE, R.H. 1970. Fertility of bull semen at high extension rate in Tris-buffered extender. *J. Dairy Sci.* 53:1478-1482.
- FOOTE, R.H. 1980. Artificial insemination. *In: Reproduction in Farm Animals.* 4th ed. E.S.E Hafez. Philadelphia, Lea & Febiger.
- FOOTE, R.H. and E.J. PARKS. 1993. Factors affecting preservation and fertility of bull sperm: a brief review. *Reprod. Fert. Dev.* 5:665-773.
- GOLDMAN, E.E., J.E. ELLINGTON, F.B. FARREL, and R.H. FOOTE. 1991. Use of fresh and frozen thawed bull sperm *in vitro*. *Theriogenology* 35:204.
- HAMILTON, D.W. and G.E. OLSON. 1976. Effects of carnitine on oxygen uptake and utilization of palmitate by ejaculated bull spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 46:195-202.
- HAMMERSTEDT, R.H. and S.R. HAY. 1980. Effects of incubation temperature on motility and cAMP content of bovine sperm. *Arch. Biochem. Biophys.* 266:111-123.
- HAMMERSTEDT, R.H. and H.A. LARDY. 1983. The effects of substrate cycling on the ATP yield of sperm glycolysis. *J. Biol. Chem.* 258:8759-8768.
- HAMMERSTEDT, R.H. 1993. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation: A review of the effects on design and storage preservation system. *Reprod. Fert. Dev.* 5:675-690.
- HINTON, B.T., D.E. BROOKS, H.M. DOTT, and B.P. SETCHELL. 1979. Effects of carnitine and some related compounds on the motility of rat spermatozoa from the caput epididymis. *J. Reprod. Fert.* 61:59-64.
- INSKEEP, P.B. and R.H. HAMMERSTEDT 1985. Endogenous metabolism of sperm in response to altered cellular ATP requirements. *J. Cell Physiol.* 123:180-190.
- INSKEEP, P.B., S.F.MAGARGEE, and P.B. HAMMERSTEDT. 1985. Alteration in motility and metabolism associated with sperm interaction with accessory sex gland fluids. *Arch. Biochem. Biophys.* 241:1-9.
- INSKEEP, P.B. and R.H. HAMMERSTEDT. 1982. Changes in metabolism of ram sperm associated with epididymal transit or induce of exogenous carnitine. *Biol. Reprod.* 27:1109-1118.
- MAXWELL, W.M.C. and S. SALAMON. 1993. Liquid storage of ram semen: a review. *Reprod. Fert. Dev.* 5:613-618.
- PARKS, J.E. and J.K. GRAHAM. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology* 38:209-222.
- SANCHEZ-PARTIDA, L.G., W.M.C. MAXWELL, L.G. PALEG, and B.P. SETCHELL. 1992. Proline and glycine betaine in cryoprotective diluents for ram spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.* 4:113-118.
- SHANON, P., P. CURSON, and A.P. RHODES. 1984. Relationship between total spermatozoa per insemination and fertility of bovine semen stored in caprogen at ambient temperature. *NZ J. Agric. Res.* 27:35-41.
- SITUMORANG, P. and I.C.A. MARTIN. 1983. Examination of ultrastructure of bull spermatozoa in relation to function. *Proc. Of Fifteenth Ann. Conf. of Aust. Soc. for Reprod. Biol. (ASRB)*. Canberra, Australia. pp. 37.
- STETCHELL, B.P., L.G. SANCHEZ-PARTIDA, and A. CHIRUSSYUHUR. 1993. Epididymal constituents and related substances in the storage of spermatozoa; a review. *Rep. Fertility Dev.* 5:601-612.
- STEEL, R.G.D. and J.H. TORRIE. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika.* PT Gramedia Utama, Jakarta.
- TURNER, T.T. and R.D. GILES. 1981. The effects of carnitine, glycerylphosphorylcholine, caffeine, and egg yolk on the motility of rat epididymal spermatozoa. *Gamete Res.* 4:283-295.