

Pengaruh Kolesterol Terhadap Daya Hidup dan Fertilitas Spermatozoa Sapi

POLMER SITUMORANG

Balai Penelitian Ternak, PO BOX 221, Bogor 16002, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 22 Desember 2002)

ABSTRACT

SITUMORANG, P. 2002. The effects of cholesterol on the viability and fertility of bull spermatozoa. *JITV* 7(4): 251-258.

This study was conducted to evaluate the effect of cholesterol on the viability and fertility of chilled and deep-frozen bull spermatozoa. Semen was collected by means of artificial vagina, diluted in Tris-Citrat diluent and cooled to 5°C for 60 minutes. Following an equilibration for 4 hours, semen was frozen at 5 cm above surface of liquid nitrogen for 10 minutes. The experiment was 2 x 3 factorial designed with two level of egg yolk (10 and 20% v/v) and 3 level of cholesterol (0; 0.5 and 1.0 mg/ml). The viability of spermatozoa was evaluated after the temperature reduced to 5°C, stored at 5°C for 1, 3 and 7 days and after thawing. For fertility test, cows were artificially inseminated (AI) using chilled and frozen semen on the onset or 6 hours of oestrus. Rectal palpation was conducted 3 months after AI to determine the pregnancy. The percentages motile of chilled semen was higher in 0.5 mg/ml than those of 0.0 or 1.0 mg/ml cholesterol but this difference was not significant. After thawing, the effects of cholesterol on the percentage motile was significant ($P < 0.05$). The mean percentage motile was 47.5; 51.5 and 56.0 for 0.0; 0.5 and 1.0 mg/ml cholesterol respectively. The percentage of live sperm and intact apical ridge was higher in cholesterol however this effects was not significant. The effects level of egg yolk and its interaction with cholesterol on the viability was not significant. The percentage of pregnant was higher in 1.0 mg/ml and the mean percentage of pregnant was 45.8; 48.2 and 55.7 for 0.0; 0.5 and 1.0 mg/ml cholesterol respectively. Percentage of pregnant was higher for chilled semen than those of frozen semen (54.3 vs 45.5). In conclusion the addition of 1 mg/ml cholesterol increase the percentage of motile after thawing and pregnancy of cows inseminated with chilled and frozen semen.

Key words: Semen, viability, cholesterol, pregnant

ABSTRAK

SITUMORANG, P. 2002. Pengaruh kolesterol terhadap daya hidup dan fertilitas spermatozoa sapi. *JITV* 7(4): 251-258.

Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh kolesterol terhadap daya hidup dan fertilitas semen dingin dan semen beku sapi. Semen ditampung dengan vagina buatan, diencerkan dengan pengencer Tris-citrat dan didinginkan sampai suhu 5°C selama 60 menit. Setelah ekuilibrisasi selama 4 jam semen dibekukan dengan meletakkan straw 5 cm diatas permukaan nitrogen cair selama 10 menit. Rancangan penelitian adalah faktorial 2 x 3 dengan 2 tingkat kuning telur (10 dan 20% v/v) dan 3 tingkat kolesterol (0; 0,5 dan 1,0 mg/ml). Daya hidup spermatozoa dievaluasi setelah suhu 5°C, disimpan pada suhu 5°C selama 1,3 dan 7 hari dan setelah dicairkan kembali. Uji fertilitas, sapi diinseminasi buatan (IB) dengan semen dingin atau semen beku pada waktu birahi atau 6 jam setelah birahi. Palpasi rektal untuk mengetahui kebuntingan dilakukan 3 bulan setelah IB. Persentase motil sperma lebih tinggi pada 0,5 mg/ml dibandingkan dengan 0,0 maupun 1,0 mg/ml kolesterol, tetapi perbedaan tidak nyata secara statistik. Pengaruh kolesterol terhadap persentase motil setelah dicairkan kembali nyata secara statistik ($P < 0,05$). Rataan persentase motil adalah 47,5; 51,5 dan 56,0 untuk berturut-turut 0,0; 0,5 dan 1, mg/ml kolesterol. Persentase hidup dan tudung akrosom utuh lebih tinggi pada perlakuan kolesterol tetapi perbedaan tidak nyata secara statistik. Pengaruh tingkat kuning telur dan interaksinya dengan kolesterol terhadap daya hidup tidak nyata secara statistik. Persentase kebuntingan lebih tinggi pada 1 mg/ml kolesterol dan rata-rata persentase bunting adalah 45,8; 48,2 dan 55,7 untuk berturut-turut 0,0; 0,5 dan 1,0 mg/ml kolesterol. Persentase kebuntingan lebih tinggi pada semen dingin dibandingkan dengan semen beku (54,3 vs 45,5). Kesimpulan, penambahan 1 mg/ml kolesterol meningkatkan persentase motil setelah *thawing* dan persentase kebuntingan sapi yang di IB dengan semen dingin maupun beku.

Kata kunci: Semen, daya hidup, kolesterol, kebuntingan

PENDAHULUAN

Pendinginan dan pembekuan dapat menurunkan daya hidup dan fertilitas spermatozoa (PARKS dan EHRENWALD, 1990; WATSON, 1995) sebagai konsekuensi dari perubahan struktur membran. Membran sel merupakan susunan dua lapis phospholipid yang berintegrasi dengan protein dan

permukaannya terikat dengan glikoprotein dan glikolipid (SINGER dan NICOLSON, 1972). Daya tahan membran spermatozoa terhadap pengaruhkejut dingin (*cold shock*) sangat dipengaruhi oleh kuantitas dan kualitas asam lemak dan perbandingan antara asam lemak tak jenuh dan jenuh. Kelompok ternak yang mempunyai perbandingan lemak tak jenuh dan jenuh yang tinggi seperti misalnya sapi dan domba lebih

sensitif terhadap pendinginan dibandingkan dengan kelompok ternak dengan ratio perbandingan yang rendah seperti anjing, manusia dan unggas (EVAN dan SETCHELL, 1979). Pemberian phospholipid dan kuning telur pada pengencer telah terbukti dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa sapi selama pendinginan dan pembekuan (MAXWELL dan SALAMON, 1993; SITUMORANG, 2003). Disamping phospholipid, kolesterol juga berperan penting dalam stabilisasi membran (CHAPMAN, 1985; SUBOWO, 1995). Kandungan kolesterol yang rendah dalam plasma semen dan spermatozoa menyebabkan kerentanan spermatozoa terhadap kejutan dingin (WHITE, 1993). Makin tinggi rasio kolesterol dan phospholipid (K/PL) pada semen unggas maka makin tahan terhadap pendinginan dan pembekuan (HOSHI *et al.*, 1990). Oleh karena itu, kolesterol merupakan faktor penting untuk mempertahankan sifat-sifat membran (VOET dan VOET, 1990) dan penambahan kolesterol pada pengencer semen diharapkan akan meningkatkan daya hidup spermatozoa yang akhirnya akan meningkatkan persentase kebuntingan.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Reproduksi, Balai Penelitian Ternak (Balitnak) Ciawi, dan KUD Tandangsari Sumedang, Jawa Barat selama 12 bulan dari bulan April 2001 sampai April 2002. Pada tingkat laboratorium (Balitnak), menggunakan dua (2) ekor sapi jantan Freshian Holstein (FH) dewasa dengan bobot hidup masing-masing 580 dan 730 kg. Sapi dikandangkan secara individu pada kandang dengan ukuran 2 x 3 m, diberi pakan hijauan berupa rumput gajah dan air minum secara *ad lib.* sedangkan konsentrat komersial dengan protein kasar 14% sebanyak 8 kg ekor⁻¹ hari⁻¹ diberikan sebagai suplementasi.

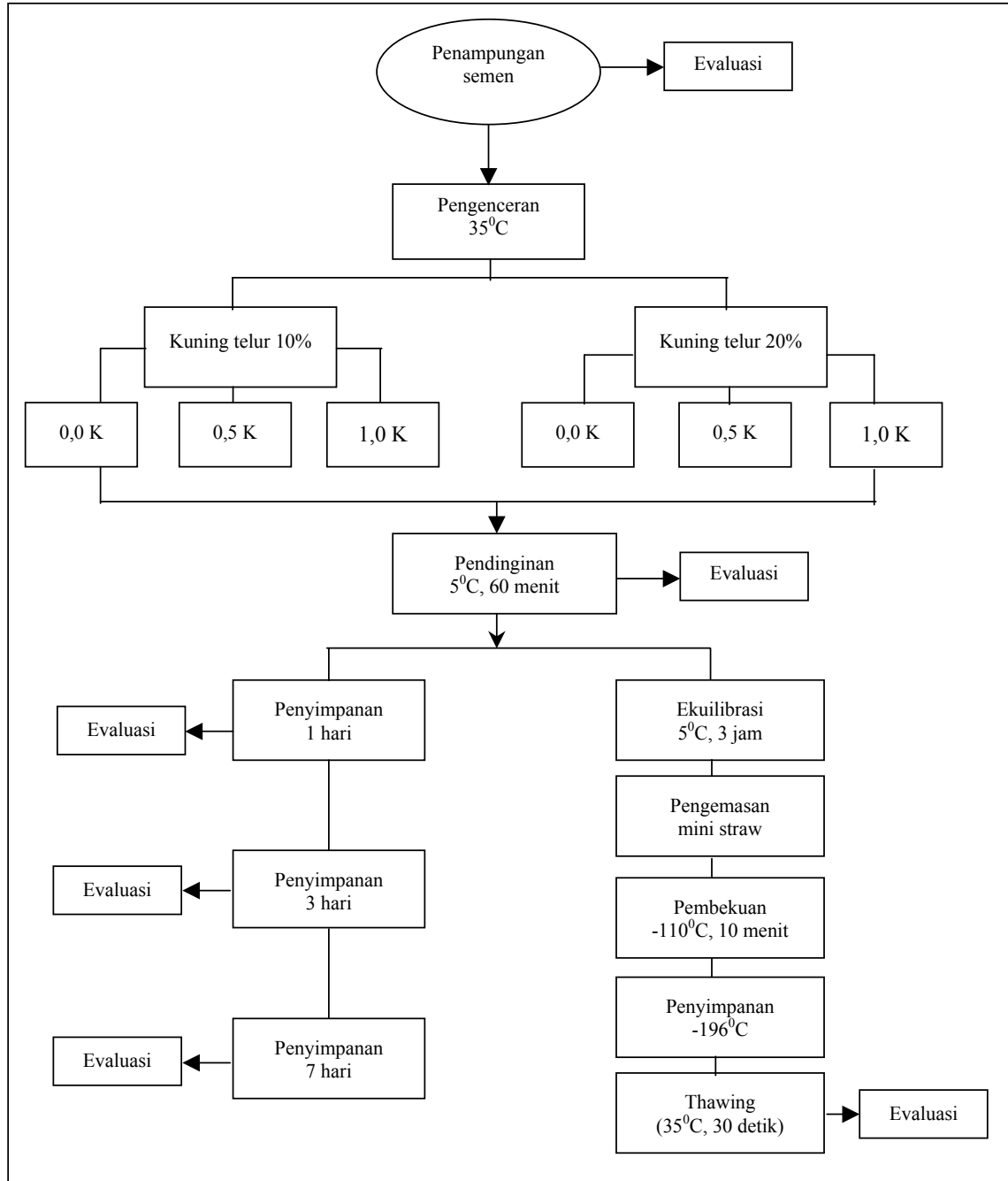
Rancangan penelitian adalah rancangan acak lengkap pola faktorial 2 x 3 dengan dua tingkat kuning telur (10 dan 20% v/v) dan tiga tingkat kolesterol (*Sigma*, Cat. no C3292) (0; 0,5 dan 1,0 mg/ml). Semen ditampung dengan menggunakan vagina buatan (VB) dengan frekuensi penampungan 1 x seminggu. Setelah penampungan, semen dibawa ke laboratorium dan dievaluasi secara makroskopis yang meliputi volume maupun mikroskopis meliputi konsentrasi, persentase motil (% M), sperma hidup (% H) tudung akrosom utuh (% TAU) dan tudung akrosom rusak (% TAR) dan hanya semen dengan kualitas baik digunakan pada penelitian. Semen kemudian diencerkan dengan menggunakan pengencer Tris-Citrat bagian A yang

mengandung 2,4% v/v gliserol dan tiga tingkat kolesterol (0; 0,5; dan 1 mg/ml) pada suhu 35°C. Semen kemudian diturunkan temperaturnya secara perlahan-lahan dari 35°C ke 5°C dengan menggunakan mesin pendingin selama kurang lebih 60 menit. Selama pendinginan, pengencer Tris-Citrat bagian B yang mengandung 12,4% v/v gliserol dan tiga tingkat kolesterol (0; 0,5; dan 1 mg/ml) ditambahkan dalam 3 kali penambahan dengan volume yang sama dan total volume bagian B sama dengan pengencer bagian A untuk mendapatkan total konsentrasi spermatozoa 100 juta/ml. Setelah suhu mencapai 5°C, sampel semen dibagi dua yaitu sebagian disimpan pada kulkas selama 1, 3 dan 7 hari dan sebagian lain diekuilibrasikan selama 3 jam pada suhu yang sama. Kemudian dimasukkan ke dalam mini straw (0,25 ml), didiamkan selama 1 jam sebelum pembekuan. Pembekuan dilakukan dengan meletakkan rak berisi straw 5 cm di atas permukaan nitrogen cair (-110°C) selama 10 menit dan kemudian dicemplungkan ke nitrogen cair (-196°C) untuk penyimpanan. Setelah penyimpanan selama tidak kurang dari 7 hari semen dicairkan kembali dengan memasukkan straw ke air dengan suhu 35°C selama 30 detik dan rangkaian prosedur kerja terlihat pada Gambar 1.

Parameter yang diukur untuk menentukan daya hidup spermatozoa adalah % M, % H, % TAU dan tudung akrosom rusak % TAR. Daya hidup spermatozoa dievaluasi setelah suhu diturunkan ke 5°C, penyimpanan selama 1, 3 dan 7 hari pada suhu yang sama dan setelah pencairan kembali (*Thawing*). Data yang diperoleh dianalisa secara statistik mengikuti STEEL dan TORRIE (1993).

Uji fertilitas

Sebanyak 84 ekor sapi milik KUD Tandang Sari Sumedang, Jawa Barat diinseminasi buatan dengan semen dingin yang mengandung 10% v/v kuning telur dan 0; 0,5 dan 1,0 mg/ml kolesterol yang terlebih dahulu disimpan pada kulkas selama 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 hari. Delapan puluh delapan (88) ekor sapi lainnya diinseminasi dengan semen beku yang mengandung 20% v/v kuning telur dan 0; 0,5 dan 1 mg/ml kolesterol. Sapi dipelihara oleh para peternak anggota koperasi yang bersangkutan, dengan manajemen pemeliharaan yang berlaku pada KUD. Waktu IB dilakukan pada saat laporan birahi atau selambat-lambatnya 6 jam setelah pelaporan oleh inseminator yang sudah terlatih. Palpasi rektal dilakukan 3 bulan setelah IB untuk menentukan tingkat kebuntingan dan hasil yang diperoleh dianalisa secara deskriptif.



Gambar 1. Rangkaian prosedur kerja

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daya hidup spermatozoa

Rataan volume (ml), % M, % H, % TAU, % TAR dan konsentrasi dari 12 kali penampungan untuk kedua sapi yang digunakan pada penelitian ini adalah berturut

turut 6,1; 70,5; 78,9; 75,8; 7,5 dan $1,84 \times 10^9$ dan 8,5; 72,8; 79,3; 79,5; 6,7 dan $1,81 \times 10^9$. Secara keseluruhan kualitas dan kuantitas semen tersebut masih dianggap normal dan hasil ini selaras dengan hasil yang dilaporkan oleh HAFEZ (1993) yang mendapatkan volume berkisar antara 5-10 ml dengan rata-rata konsentrasi $1-2 \times 10^9$. Tidak didapat perbedaan pada

rataan % M, % H, % TAU, % TAR dan konsentrasi spermatozoa dari kedua sapi penelitian. Perbedaan ($P < 0,05$) hanya didapat pada volume semen yang disebabkan oleh perbedaan bobot hidup sapi yang berbeda.

Pengaruh penambahan kolesterol dan kuning telur terhadap persentase motil dan sperma hidup semen yang telah didinginkan ke 5°C dan setelah penyimpanan selama 1, 3 dan 7 hari terlihat pada Tabel 1. Didapat kecenderungan bahwa penambahan kolesterol 0,5 mg/ml pada pengencer Tris yang mengandung 10 maupun 20% kuning telur dapat meningkatkan persentase motil maupun jumlah sperma hidup akan tetapi perbedaan ini tidak nyata secara statistik ($P > 0,05$). Penambahan kolesterol yang lebih tinggi yaitu 1,0 mg/ml cenderung menurunkan persentase motil dan sperma yang hidup. Pengaruh kolesterol terhadap persentase motil yang tidak nyata pada penelitian ini sangat logis karena temperatur masih 5°C dimana pengaruh kejut dingin belum nyata. Pengaruh yang tidak baik dari kolesterol yang tinggi (1 mg/ml) disebabkan komposisi dari pengencer yang berubah dan

secara langsung akan mempengaruhi fungsi pengencer tersebut. Salah satu perubahan yang mungkin terjadi adalah penurunan pH dan peningkatan tekanan osmosa dari larutan pengencer. Penelitian terdahulu menunjukkan hilangnya kolesterol dari membran sel akan meningkatkan pH intraselular sperma hamster, sapi, dan tikus (WORKING dan MEIZEL, 1983; ZENG *et al.*, 1996). Perubahan lain dari pengencer adalah perubahan komposisi lemak, khususnya phospholipid dan protein, dimana penambahan kolesterol akan mengikat lipoprotein (DAVIS, 1978; EHRENWALD *et al.*, 1988; RAVNIK *et al.*, 1992), sehingga sebagai konsekuensinya adalah fungsi pengencer sebagai pelindung membran akan berkurang. Penurunan persentase motil dan sperma hidup dapat juga disebabkan terikatnya kolesterol pada membran plasma sehingga mempengaruhi fluiditas dari membran dan terganggunya transportasi molekul-molekul dan makanan yang dibutuhkan untuk metabolisme. ZARINTASH dan CROSS (1996) melaporkan fluiditas membran dipengaruhi oleh konsentrasi kolesterol membran yang bersangkutan.

Tabel 1. Pengaruh kolesterol, kuning telur terhadap persentase motil (% M) dan sperma hidup (% H) pada 5°C dan setelah penyimpanan 1, 3 dan 7 hari pada suhu yang sama

Waktu evaluasi	Daya hidup	Kuning telur (%)	Kolesterol (mg/ml)			Rataan
			0,0	0,5	1,0	
0	% M	10	63,0	60,0	59,3	60,8
		20	65,0	64,0	61,5	63,5
		Rataan	64,0	62,0	60,4	
	% H	10	69,2	67,7	67,7	68,2
		20	64,0	68,1	70,6	67,6
		Rataan	66,6	67,9	69,1	
1	% M	10	49,0	50,7	50,0	49,9
		20	48,8	54,2	47,5	50,2
		Rataan	49,3	52,4	48,9	
	% H	10	56,8	61,7	62,4	60,3
		20	61,8	62,8	58,1	60,9
		Rataan	59,3	62,3	60,3	
3	% M	10	44,0	45,4	40,9	43,4
		20	42,3	41,9	39,0	41,1
		Rataan	43,2	43,7	40,0	
	% H	10	56,4	56,6	51,9	55,0
		20	53,8	56,0	51,8	53,9
		Rataan	55,1	56,3	51,9	
7	% M	10	28,2	28,6	23,5	26,8
		20	21,2	24,8	22,2	22,1
		Rataan	24,7	26,7	21,9	
	% H	10	41,8	46,7	42,1	43,5
		20	40,6	42,9	39,2	41,0
		Rataan	41,2	44,8	40,7	

Pemberian kolesterol nyata secara statistik ($P < 0,05$) mempengaruhi %M semen beku (Tabel 3). Hasil ini membuktikan bahwa kolesterol berperan menstabilkan membran selama pembekuan dan tingkat kolesterol sebanyak 1 mg/ml nyata secara statistik ($P < 0,05$) lebih baik dibandingkan dengan 0,0 dan 0,5 mg/ml. Pengaruh kejut dingin terjadi pada penurunan suhu ke 0°C maupun -70°C dan kedua kondisi ini dialami oleh spermatozoa selama pembekuan ke -196°C , sehingga penambahan kolesterol efektif melindungi spermatozoa selama pembekuan. Hasil ini mendukung laporan terdahulu yang menunjukkan bahwa konsentrasi kolesterol yang lebih tinggi pada spermatozoa seperti misalnya ayam, itik dan manusia lebih tahan terhadap pengaruh pendinginan maupun pembekuan dibandingkan dengan spermatozoa domba dan sapi dengan kolesterol yang lebih rendah (DARIN-BENNET dan WHITE 1977; WHITE, 1993). Walaupun tidak nyata secara statistik, pengaruh kolesterol cenderung meningkatkan %TAU dan sebaliknya menurunkan %TAR dari semen dingin (Tabel 2) maupun semen beku (Tabel 3). Hasil ini menunjukkan bahwa kolesterol memegang peran dalam stabilisasi membran dan membran akrosom lebih responsif terhadap kolesterol dibandingkan dengan plasma membran. Hasil ini selaras dengan hasil yang dilaporkan oleh CROSS (1998) yang menyimpulkan bahwa kolesterol pada spermatozoa mamalia berhubungan dengan reaksi akrosom dan fertilitas secara *in vitro*. DAVIS *et al.* (1979) juga menunjukkan ratio kolesterol dan fosfolipid pada membran spermatozoa sapi adalah 0,4 dan penurunan ratio ini akan menstimulasi terjadinya kapasitasi.

Pengaruh tingkat kuning telur terhadap daya hidup spermatozoa setelah pendinginan maupun pembekuan terlihat pada Tabel 2 dan 3. Walaupun ada tendensi tingkat kuning telur 10% v/v lebih baik dibandingkan dengan 20% v/v untuk semen dingin akan tetapi perbedaan ini tidak nyata secara statistik. Hasil yang sebanding dilaporkan oleh SITUMORANG (2003), dimana peningkatan konsentrasi kuning telur dari 10 ke 20% v/v pada pengencer Tris-citrat tidak memberikan perlindungan yang lebih baik pada semen dingin. Hasil penelitian ini konsisten dengan anggapan bahwa kuning telur mengandung substrat yang dapat melindungi spermatozoa selama pendinginan tapi juga mengandung substrat penghambat terutama pada penyimpanan semen dalam bentuk cair. Hasil yang didapat pada semen beku berbeda dengan hasil penelitian terdahulu (SITUMORANG, 2003) yang melaporkan tingkat kuning telur 20% nyata lebih baik dibandingkan dengan tingkat 10%.

Perbedaan yang didapat disebabkan adanya kecenderungan interaksi antara kuning telur dan kolesterol dimana pengaruh kuning telur pada pengencer tanpa kolesterol lebih nyata dibandingkan

dengan pengencer dengan 0,5 maupun 1 mg/ml kolesterol. Kondisi tersebut mengakibatkan pengaruh kuning telur secara keseluruhan menjadi tidak nyata. Pengaruh interaksi antara tingkat kuning telur dan kolesterol terhadap daya hidup spermatozoa dingin maupun beku tidak menunjukkan perbedaan yang nyata secara statistik.

Persentase kebuntingan

Masing masing 12 ekor sapi diinseminasi buatan dengan menggunakan semen dingin yang telah disimpan selama 1 sampai dengan 7 hari dan 88 ekor diinseminasi buatan menggunakan semen beku. Penyimpanan sampai 7 hari tidak nyata mempengaruhi persentase kebuntingan, dimana persentase kebuntingan adalah 57,3; 60,1; 63,1; 55,0; 55,1; 62,5 dan 59,9% untuk semen yang telah disimpan berturut-turut 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 hari. Daya hidup spermatozoa menurun dengan bertambahnya waktu penyimpanan pada suhu 5°C (Tabel 2 dan 3), namun konsentrasi spermatozoa yang motil sampai penyimpanan 7 hari masih cukup tinggi yaitu $26,8 \times 100 \text{ juta} \times 0,25 = 6,7 \text{ juta}$. FOOTE dan PARKS (1993) melaporkan persentase kebuntingan dengan menggunakan semen cair pada pengencer CUE tidak berbeda nyata antara konsentrasi spermatozoa 4 dan 8 juta. Lebih lanjut SHANNON *et al.* (1984) melaporkan persentase kebuntingan tidak menurun dengan menurunkan konsentrasi spermatozoa sampai ke 2,5 juta pada pengencer CUE yang mengandung asam caproic. Hasil yang didapat pada penelitian ini sebanding dengan hasil sebelumnya yang dilaporkan oleh SITUMORANG *et al.* (2001) dimana tidak didapat penurunan yang nyata pada persentase kebuntingan sapi perah yang diinseminasi buatan dengan semen dingin sampai penyimpanan 7 hari. Pengaruh kolesterol terhadap persentase kebuntingan terlihat pada Tabel 4. Penambahan kolesterol sejumlah 1 mg/ml dapat meningkatkan persentase kebuntingan sapi yang di IB dengan semen dingin maupun semen beku. Pengaruh kolesterol terhadap persentase kebuntingan lebih disebabkan kemampuan kolesterol mencegah kapasitasi atau setidaknya dapat memperlambat kapasitasi dibandingkan dengan pengaruhnya terhadap persentase motil.

Hal ini terbukti dengan persentase kebuntingan yang didapat pada semen dingin lebih tinggi pada perlakuan 1 mg/ml dibandingkan dengan pada perlakuan 0,5 mg/ml, walaupun % M cenderung lebih tinggi pada perlakuan 0,5 mg/ml. Kondisi tudung akrosom memegang peran yang penting untuk menentukan tingkat fertilitas spermatozoa. Hasil yang sebanding dilaporkan oleh SITUMORANG (1985) yang menunjukkan bahwa persentase kebuntingan yang rendah dari pejantan tertentu tidak selalu berhubungan

Tabel 2. Pengaruh kolesterol, kuning telur terhadap persentase tudung akrosom utuh (%TAU) dan rusak (%TAR) pada 5°C dan setelah penyimpanan 1, 3 dan 7 hari pada suhu yang sama

Waktu evaluasi	Daya hidup	Kuning telur (%)	Kolesterol (mg/ml)			Rataan
			0,0	0,5	1,0	
0	% M	10	21,2	23,7	17,9	20,9
		20	26,6	22,8	22,2	24,0
		Rataan	24,9	23,2	20,4	
	% H	10	66,2	68,9	69,9	68,4
		20	62,8	70,1	69,7	67,6
		Rataan	64,5	69,5	69,8	
1	% M	10	23,6	23,4	25,4	24,2
		20	25,9	23,9	27,0	25,7
		Rataan	25,1	23,6	26,3	
	% H	10	66,2	64,6	65,6	65,5
		20	60,7	64,8	68,9	64,8
		Rataan	63,5	64,7	67,3	
3	% M	10	33,4	32,9	29,0	31,5
		20	33,2	27,5	26,8	29,4
		Rataan	33,2	30,0	27,7	
	% H	10	52,2	50,0	52,4	51,5
		20	50,0	54,0	57,5	53,8
		Rataan	51,1	52,0	55,0	
7	% M	10	46,0	31,6	40,6	38,6
		20	36,5	35,6	37,6	36,6
		Rataan	39,4	33,7	38,8	
	% H	10	40,6	43,0	45,0	42,9
		20	39,7	42,0	46,4	42,7
		Rataan	40,2	42,5	45,7	

Tabel 3. Pengaruh kolesterol dan kuning telur terhadap persentase motil (%M), hidup (H) dan tudung akrosom utuh (%TAU) spermatozoa setelah pencairan kembali

Daya hidup	Kuning telur (%)	Kolesterol (mg/ml)			Rataan
		0,0	0,5	1,0	
% M	10	46,0	52,0	56,0	51,3
	20	49,0	51,0	56,0	52,0
	Rataan	47,5 ^a	51,5 ^a	56,1 ^b	
% H	10	68,5	74,8	74,0	72,4
	20	74,4	75,8	74,2	74,8
	Rataan	71,5	75,3	74,1	
% TAU	10	58,0	66,4	64,6	63,0
	20	66,4	65,0	66,6	65,9
	Rataan	62,2	65,7	65,4	

Nilai dengan superskrip berbeda dalam baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Tabel 4. Pengaruh penambahan kolesterol pada semen cair dan semen beku terhadap persentase kebuntingan

Perlakuan	Jenis semen				Rata-rata (%)
	Semen dingin		Semen beku		
	n	%	n	%	
Kontrol	22	50,0	20	41,7	45,8
0,5 mg K	24	50,0	32	46,3	48,2
1,0 mg K	38	62,9	36	48,5	55,7
<i>Rataan</i>		<i>54,3</i>		<i>45,5</i>	

n : Jumlah ternak yang diinseminasi buatan

dengan persentase motil akan tetapi lebih berhubungan dengan kondisi membran. Persentase motil dan sperma yang hidup dari perlakuan kolesterol 0,5 mg/ml cenderung lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kolesterol 1 mg/ml, akan tetapi persentase spermatozoa dengan tudung akrosom utuh selalu lebih tinggi pada perlakuan kolesterol 1 mg/ml. Konsekuensinya persentase kebuntingan pada perlakuan kolesterol 1 mg/ml cenderung lebih tinggi pula. SITUMORANG *et al.* (2003) melaporkan peningkatan konsentrasi kolesterol yang lebih tinggi yaitu 2 mg/ml pada semen dingin, ternyata tidak memberikan hasil kebuntingan yang lebih tinggi dan bahkan cenderung lebih rendah. Oleh karena itu konsentrasi 1 mg/ml kolesterol merupakan konsentrasi yang optimal untuk semen dingin. Pada semen beku pemberian kolesterol dapat meningkatkan persentase kebuntingan melalui kemampuannya melindungi membran dari pengaruh buruk kejutan dingin, stabilitas membran maupun melalui mekanisme pencegahan kapasitas. Hal ini jelas terlihat dari persentase kebuntingan yang lebih tinggi didapat pada perlakuan kolesterol 0,5 mg/ml dibandingkan dengan perlakuan kolesterol 0,0 mg/ml tanpa diikuti perbedaan % M. Penambahan kolesterol 1 mg/ml nyata secara statistik meningkatkan % M yang diikuti persentase kebuntingan yang lebih tinggi pula (Tabel 4).

Persentase kebuntingan yang lebih tinggi dengan semen dingin dibandingkan dengan semen beku pada penelitian ini selaras dengan hasil penelitian terdahulu (SITUMORANG *et al.*, 2001). Hasil ini membuktikan bahwa pembekuan dapat menurunkan fertilitas sperma (HAMMERSTEDT, 1993; PARKS dan GRAHAM, 1992). Keunggulan dari semen dingin atas semen beku yang didapat pada penelitian ini lebih tinggi (8,7%) bila dibandingkan dengan penelitian yang terdahulu (SITUMORANG *et al.*, 2001) yang hanya 6,6%. Perbedaan kedua hasil tersebut disebabkan oleh dua hal yaitu: (1) konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini menggunakan dosis 100 juta/ml sedang penelitian terdahulu hanya menggunakan 50 juta/ml. dan (2) adanya pemberian/penambahan kolesterol 1 mg/ml dalam semen yang dipergunakan pada penelitian ini.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini tidak didapatkan pengaruh yang nyata dari penambahan kolesterol sampai dengan 1 mg/ml. Persentase spermatozoa yang hidup maupun spermatozoa dengan tudung akrosom utuh tidak dipengaruhi oleh penambahan kolesterol. Persentase kebuntingan didapat lebih tinggi pada perlakuan kolesterol dengan tingkat 1 mg/ml, baik pada penggunaan semen dingin maupun semen beku. Hasil kebuntingan yang lebih tinggi didapat pada penggunaan semen dingin dibandingkan dengan semen beku. Tidak ada pengaruh penyimpanan semen dingin sampai 7 hari pada suhu 5°C terhadap persentase kebuntingan.

DAFTAR PUSTAKA

- CHAPMAN, D. 1985. Protein-lipid interaction in model and natural biomembranes. *In: Biological Membranes*, D CHAPMAN (Ed.). Academic Press: New York pp 179-229.
- CROSS, N. L. 1998. Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biology of Reprod.* 59:7-11.
- DARIN-BENNET, A. and I.G. WHITE. 1977. Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology* 14: 466-470.
- 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.
- DAVIS, B.K. 1978. Inhibition of fertilizing capacity in mammalian spermatozoa by natural and synthetic vesicles. *In: Symposium on the Pharmacological effects of lipids.* KABARA J. J. (Ed.). The American Oil Chemists Society. pp 145-157.
- DAVIS, B.K., R. BYRNE, and B. HUNGUND. 1979. Studies on the mechanism of capacitation. II. Evidence for lipid transfer between plasma membrane of rat sperm and serum albumin during capacitation *in vitro. Biochim Biophys Acta* 558:257-266.

- EHRENWALD, P., J.E. PARKS, and R.H. FOOTE. 1988. Cholesterol efflux from bovine sperm. I. Induction of the acrosome reaction with lysophosphatidylcholine after reducing sperm cholesterol. *Gamete Res.* 29: 145-157.
- EVANS, R.W, and B.P. SETCHELL. 1979. Lipid changes during maturation in ram spermatozoa collected at different times of the year. *J. Reprod. Fert.* 57:197-203.
- 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.
- HAFEZ. 1993. *Reproduction In Farm Animals*. 6th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- 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. Div.* 5:675-690.
- HOSHI, K., A.T. YANAGIDA, K. YOSHIMATSU, and A. SATO. 1990. Variation in cholesterol/phospholipid ratio in human spermatozoa and its relationship with capacitation. *Human Reprod.* 5 : 71-74.
- 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 E. EHRENWALD.1990. Cholesterol efflux from mammalian sperm and its potential role in capacitation. In: B.D. BAVISTER, J. CUMMINS and E.R.S ROLDAN. Eds. "*Fertilization in; Mammals*". pp 155-167.
- PARKS, J. E. and J. K. GRAHAM. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology* 38: 209-222.
- RAVNIK, S.E., P.W. ZARUTSKIE, and C.H. MULLER. 1992. Purification and characterization of a human follicular fluid lipid transfer protein that stimulates human sperm capacitation. *Biol. Reprod.*47:1126-1133.
- SHANON, P., P. CURSON, and A.P. RHODES. 1984. Relationship between total membranes. per insemination and fertility of bovine semen stored in caprogen at ambient temperature. *NZ J. Agric. Res.* 27: 35-41.
- SINGER, S.J., and G.L NICOLSON. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175: 720-731.
- SITUMORANG, P. 1985. Deep-freezing of bull and ram semen and assessment of deep-frozen semen relating cytological characteristics of spermatozoa to their fertilizing capacity. PhD. Thesis, University of Sydney, Australia.
- SITUMORANG, P., E. TRIWULANINGSIH., A. LUBIS., T. SUGIARTI, dan C. WIWIE. 2001. Optimalisasi penggunaan chilling semen untuk meningkatkan persentase kebuntingan sapi perah. Laporan Akhir T. A. 2000-2001. Balai Penelitian Ternak Ciawi, Bogor.
- SITUMORANG, P. 2003. The effects of inclusion of exogenous phospholipid in Tris diluent containing different level of egg yolk on the viability of bull spermatozoa. *JITV* 7(3): 181-187.
- SITUMORANG, P., A. R. SETIOKO., T. SUGIARTI., E. TRIWULANINGSIH, D. A KUSUMANINGRUM, R. G. SIANTURI, I. G. PUTU dan A. LUBIS. 2002. Pengaruh Penambahan Kolesterol Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Sapi, Itik dan Entog. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor. pp 236-239.
- STEEL, R.G.D., and J.H TORRIE. 1993. Prinsip dan prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik. Terjemahan Bambang Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- SUBOWO. 1995. *Biologi Sel*. Penerbit Angkasa Bandung, pp.41-64.
- VOET, D, and VOET, J.G. 1990. *Biochemistry*. John Wiley and Sonc, Inc. Canada. pp. 278-279.
- WATSON, P.F. 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *J. Reprod. Fert. Dev.* 7:871-891.
- WHITE, I. G. 1993. Lipids and calcium uptake of sperm in relation to cold and preservation: a review. *J. Reprod. Fertil. Dev.* 5:639-658.
- WORKING, P.K. and S. MEIZEL. 1983. Correlation of increased intra acrosomal pH with the hamster sperm acrosome reaction. *J. Exp. Zool.* 227:97-107
- ZARINTASH, R.J, and CROSS, N. L. 1996. The unesterified cholesterol content of human sperm regulates respons of the acrosome to the agonist, progesterone. *Biol. Reprod* 55: 19-24.
- ZENG, Y., J.A. OBERDORF, and H.M. FLORMAN. 1996. pH regulation in mouse sperm: identification of Na, Cl and HCO₃ dependent and arylaminobenzoate-dependent regulatory mechanisms and characterization of their roles in sperm capacitation. *Dev. Biol.* 173:510-520.