

Penggunaan Susu Skim dan Asam Lemak Essensial sebagai Alternatif Cara Memperbaiki Kualitas Nutrisi Yoghurt

(The Use of Skim Milk and Essential Fatty Acids as an Alternative Method on Improving Yoghurt Nutrition Quality)

T. Yuni Astuti dan T. Setyawardani

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

Abstract

The objective of the research was to investigate the effects of addition of different levels lemuru seafish oil on skim milk-based yoghurt in order to produce good quality and marketable yoghurt. The experiment consisted of lemuru seafish oil fractionation based on its freeing point and the addition of extracted lemuru seafish oil to skim milk-based yoghurt at 0.50%; 1%; 1.50%; 2%. Yoghurt with 0% lemuru seafish oil was included as a control. A Completely Randomised Design was employed and each treatment has 5 replicates. Results showed that: (a) the addition of lemuru seafish oil up to 2% affected lactic acid contents of yoghurt but still within the normal range, (b) consumers preferred the smell and taste of yoghurt with 2% lemuru seafish oil; but they preferred the texture of yoghurt with 0.50% lemuru seafish oil, (c) the addition of lemuru seafish oil to skim milk-based yoghurt increased the nutritional quality of the products, especially the amount of omega 3 and omega 6 fatty acids. In order to get an ideal ratio between omega 3 and omega 6 fatty acids (4:1), it was recommended to further investigate the use of lemuru seafish oil on milk products and the addition of omega 3 fatty acids from different sources as well as the shelf life of yoghurt with added lemuru seafish oil.

Key Words : Yoghurt, lemuru seafish oil, essential fatty acids

Pendahuluan

Yoghurt merupakan produk olahan susu melalui proses fermentasi dengan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Produk ini telah dikenal luas dan disukai masyarakat, karena (1) dapat meningkatkan dan memperbaiki daya cerna protein dan lemak; (2) merangsang pengeluaran sekresi pencernaan seperti air liur, cairan lambung, empedu dan pancreas; dan (3) meringankan reaksi alergi terhadap susu (Roginski, 1988).

Bahan baku yang sudah lazim digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah susu bubuk atau susu segar utuh (*whole milk*) atau susu skim. Akan tetapi konsumen lebih menyukai yoghurt dari susu *whole milk*, karena lebih menarik dari segi rasa, aroma maupun tekstur. Kendala utama penggunaan yoghurt bagi konsumen adalah

tingginya kandungan asam lemak jenuh dan kandungan asam lemak esensial yang rendah. Akibatnya bagi orang tertentu mengkonsumsi yoghurt menimbulkan kekhawatiran, karena sifat asam lemak jenuh bila dikonsumsi dapat meningkatkan kadar kolesterol tubuh, yang membawa akibat tekanan darah tinggi, penyakit jantung koroner (*aterisclerosis*) atau penyempitan pembuluh darah pada otak (*stroke*). Fungsi asam lemak tak jenuh rantai panjang bagi manusia adalah diperlukan untuk regenerasi sel, sedangkan turunan asam lemak *eicosopentaenoat* adalah untuk sintesis hormon-hormon prostaglandin yang berperan dalam pengaturan sistem syaraf dan peredaran darah dalam tubuh (Harvard, 1994).

Asam lemak tak jenuh rantai panjang (termasuk kelompok asam lemak esensial) meliputi; *linolenat* (omega-3), *linoleat* (omega-6), *oleat* (omega-9), *eicosapentaenoat* (EPA- omega-3), *decosaheptaenoat* (DHA-omega-3). Asam-

asam lemak tersebut banyak terdapat pada minyak ikan laut terutama ikan tuna dan lemuru, dimana asam lemak essensial pada ikan lemuru yang paling banyak adalah linoleat atau omega-3 (Tabel 3). Akan tetapi bila minyak ikan secara utuh langsung ditambahkan dalam susu atau yoghurt, maka asam lemak jenuh yang ada dalam ikan lemuru akan terbawa dalam yoghurt (susu), disamping itu akan timbul bau amis. Oleh karena itu asam-asam lemak essensial yang akan ditambahkan perlu difraksinasi terlebih dahulu. Salah satu cara fraksinasi yang mudah dan murah adalah berdasarkan suhu titik beku lemak (Haagsma *et al.*, 1982). Pada suhu rendah asam lemak tak jenuh rantai panjang tetap cair dan asam lemak jenuh akan membeku.

Dalam rangka memenuhi selera konsumen, maka perlu dibuat yoghurt yang kaya akan asam lemak essensial. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah pembuatan yoghurt dengan bahan dasar susu bebas lemak (susu skim) kemudian ditambah asam-asam lemak essensial dari ikan lemuru. Diharapkan dengan cara ini diperoleh produk yoghurt yang dapat dikonsumsi oleh semua orang dan mampu memperbaiki kualitas makanan karena mengandung asam lemak essensial yang dibutuhkan oleh tubuh.

Metode Penelitian

Percobaan dilaksanakan 5 Agustus sampai 19 Nopember 2004, di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak dan Laboratorium Produksi Ternak Perah Fakultas Peternakan, Laboratorium MIPA Unsoed Purwokerto, dan LAKFIP UGM Yogyakarta.

Bahan utama yang digunakan adalah susu skim, starter yoghurt (yang merupakan campuran kultur murni bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) dengan bahan pelengkap air, gula, asam lemak esensial yang difraksinasi dari minyak ikan lemuru. Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat pengujian

peroksida, seperangkat alat pengujian asam laktat, dan kromatografi gas.

Penelitian dilaksanakan dengan metode eksperimental, dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Perlakuan yang diberikan adalah penambahan asam lemak esensial pada susu skim sebagai bahan pembuatan yoghurt dengan empat taraf (0,50%, 1%, 1,50%, dan 2%) dan kontrol (tanpa penambahan asam lemak essensial), dan masing masing perlakuan diulang 5 kali, dengan model matematis; $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$ Sehingga terdapat lima perlakuan, yaitu :

- A₀ : yoghurt tanpa penambahan asam lemak essensial
- A₁ : yoghurt dengan penambahan asam lemak essensial sejumlah 0,50%
- A₂ : yoghurt dengan penambahan asam lemak essensial sejumlah 1,00%
- A₃ : yoghurt dengan penambahan asam lemak essensial sejumlah 1,50%
- A₄ : yoghurt dengan penambahan asam lemak essensial sejumlah 2,00%

Data dianalisis dengan analisis ragam menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap (Steel and Torrie, 1991), dilanjutkan dengan uji ortogonal polinomial. Sedangkan untuk pengujian organoleptik dilanjutkan dengan uji BNT.

Peubah yang diukur adalah a) kadar asam laktat, b) pengujian sensoris oleh panelis semi terlatih, meliputi bau, rasa dan tekstur (Kartika, 1988), c) profil asam lemak (Kromatografi Gas).

Hasil dan Pembahasan

Kandungan Asam Laktat Yoghurt

Hasil perhitungan rata-rata kandungan asam laktat dalam yoghurt adalah 0,65%. Nilai tersebut masih merupakan kisaran kandungan asam laktat yang normal dalam yoghurt. Menurut Setiyawati dan Rahayu (1992), kandungan asam laktat yoghurt berkisar antara 0,65 – 1,10%. Sebenarnya jumlah asam laktat tersebut masih bisa

ditingkatkan karena derajat keasaman dari produk yoghurt dalam penelitian ini masih cukup tinggi (rata-rata pH = 4,75) dengan waktu inkubasi selama 18 jam. Diduga apabila waktu inkubasi diperpanjang maka proses penguraian laktosa menjadi asam laktat oleh bakteri pembentuk asam (*Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*) sebagai starter dalam pembuatan yoghurt dapat lebih banyak sehingga derajat keasaman juga lebih rendah.

Perhitungan analisis ragam dari penambahan minyak ikan lemuru dalam proses pembuatan yoghurt berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kandungan asam laktat. Respon pengaruh perlakuan tersebut lebih nyata ditunjukkan oleh kurva regresi kubik dengan persamaan : $Y = 0,59 + 0,30 X - 0,35 X^2 + 0,11 X^3$ dan besarnya koefisien determinasi $R^2 = 43,71\%$.

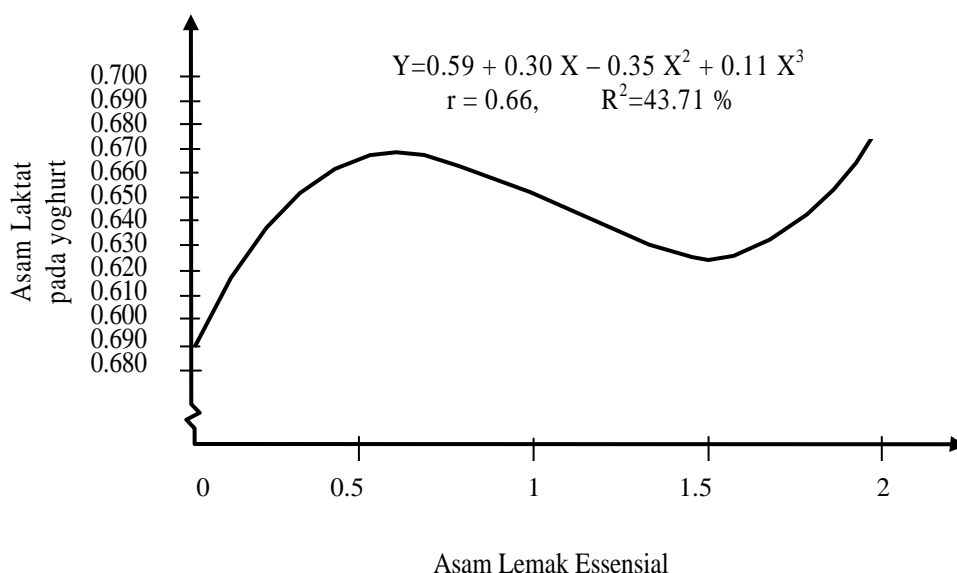
Berdasarkan persamaan dan grafiknya (Gambar 1) asam laktat dalam yoghurt yang dihasilkan pada penambahan asam lemak essensial 0,065% sebesar 0,669% yang merupakan titik

balik maksimum, selanjutnya penambahan asam lemak essensial 1,48% akan menghasilkan asam laktat dalam yoghurt 0,63%, dan merupakan titik balik minimum. Artinya penambahan asam lemak essensial dalam proses pembuatan yoghurt berbahan susu skim sampai level 0,67% dapat meningkatkan pembentukan asam laktat (dari proses penguraian laktosa). Namun setelah level tersebut (0,67%) penguraian laktosa menjadi asam laktat akan terhambat sampai penambahan dengan level 1,48%. Diharapkan dengan penguraian laktosa yang semakin baik konsumen *lactosa intolerance* dapat teratasi.

Tingkat Kesukaan Konsumen

Pengukuran tingkat kesukaan konsumen terhadap yoghurt dilakukan dengan uji organoleptik yang meliputi uji bau, rasa, dan tekstur. Rataan hasil uji organoleptik tertera pada Tabel 1.

Hasil uji analisis ragam organoleptik produk yoghurt oleh para panelis (semi terlatih) berdasarkan baunya memperlihatkan bahwa



Gambar 1. Grafik respon pengaruh aras minyak ikan terhadap kandungan asam laktat yoghurt.

Tabel 1. Rataan hasil uji organoleptik produk yoghurt dengan penambahan asam lemak essensial

Jenis uji	Level (%)				
	0	0,50	1,00	1,50	2
Bau	2,40 ^a	2,70 ^{ab}	2,80 ^{ab}	3,20 ^b	3,40 ^b
Rasa	2,20 ^a	2,80 ^{ab}	3,00 ^{abc}	3,40 ^{bc}	3,60 ^c
Tekstur	2,00 ^a	3,70 ^{ab}	2,80 ^{ab}	3,20 ^b	2,50 ^c

^{abc} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan ada perbedaan pada $P < 0,05$

Tabel 2. Rataan persentase kadar lemak total yoghurt dengan berbagai level penambahan lemak ikan

Level penambahan minyak ikan (%)	Kadar lemak total yoghurt (%)
0	3,35
0,50	3,59
1,00	3,61
1,50	3,74
2,00	4,51

produk tanpa penambahan asam lemak essensial (A_0) berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) dengan yoghurt yang ditambah asam lemak essensial 1,50% (A_3) dan 2% (A_4) dengan skor rata-rata A_3 (3,20) dan A_4 (3,40) termasuk kategori agak asam. Tetapi produk tanpa penambahan asam lemak essensial (A_0) dan produk dengan penambahan asam lemak essensial 0,50% (A_1) dan 1% (A_2) mempunyai bau yang relatif sama. Rataan nilai kesukaan konsumen tertinggi pada produk dengan penambahan asam lemak essensial 2%.

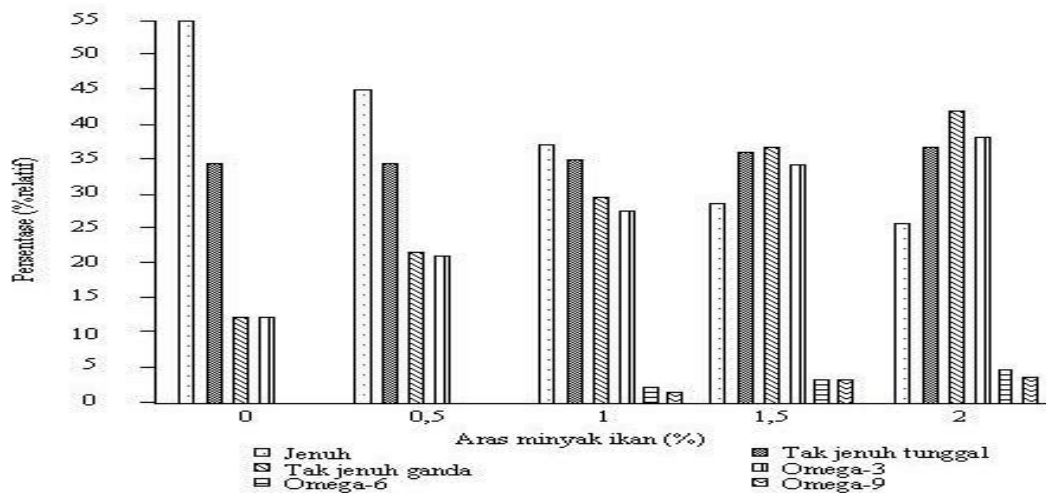
Rataan rasa produk yoghurt tertinggi pada level 2% (A_4) yaitu sebesar 3,60 dengan kategori asam dan tidak manis. Yoghurt tanpa penambahan asam lemak essensial (A_0) mempunyai rasa sangat berbeda dengan produk dengan level 2% (A_4); produk tanpa penambahan asam lemak essensial (A_0) tidak mempunyai perbedaan rasa dengan produk yang ditambah asam lemak essensial level 0,50% (A_1), sedangkan produk yang ditambah asam lemak essensial level 1% (A_2), level 1,50%

(A_3), dan level 2% (A_4) memiliki rasa yang relatif sama. Sampel A_0 dan A_1 memiliki rasa yang berbeda dengan sampel A_2 , A_3 , dan A_4 . Artinya panelis masih bisa menerima rasa dari produk yoghurt yang ditambah asam lemak essensial sampai level 2%.

Rataan tekstur produk yoghurt memiliki skor tertinggi pada produk dengan penambahan asam lemak essensial level 0,50% (A_1), yaitu dengan skor 3,70 (termasuk kategori lembut), kemudian diikuti dengan produk yang ditambah asam lemak essensial level 1% (A_2), level 2% (A_4), level 1,50% (A_3), dan tanpa penambahan asam lemak essensial (A_0). Pengujian tekstur dari para panelis diperoleh produk tanpa penambahan asam lemak essensial (A_0) teksturnya berbeda dengan produk yang ditambah asam lemak essensial level 0,50% (A_1) dan level 1% (A_2), tetapi tekstur produk tanpa penambahan asam lemak essensial (A_0) dan level 1% (A_2) berbeda dengan level 1,50% (A_3) dan level 2% (A_4). Sedangkan produk yang

Tabel 3. Rataan persentase asam lemak dalam yoghurt dengan berbagai aras penambahan minyak ikan

Jenis asam lemak (Berdasarkan jumlah atom C)	Aras Penambahan minyak ikan (% V/V)				
	0	0,50	1	1,50	2
C6 : 0	9,45	8,08	5,76	3,52	1,83
C8 : 0	8,05	5,64	3,95	2,78	1,29
C10 : 1	9,62	7,88	5,90	3,96	2,43
C12 : 0	9,57	7,99	5,75	3,85	2,38
C14 : 0	13,37	11,46	10,67	8,05	5,40
C14 : 1	1,62	0,98	0,46	0,42	0,09
C16 : 0	32,98	31,56	28,87	25,34	23,75
C16 : 1	0,36	0,25	0,19	0,12	0,09
C18 : 0	1,89	1,36	0,89	0,12	0,01
C18 : 1n - 9	0,12	0,44	1,04	2,79	3,06
C18 : 2n - 6	0,45	0,68	1,87	2,67	4,07
C18 : 3n - 3	11,39	20,54	27,13	33,62	37,63
C20 : 0	0,32	0,60	1,94	3,81	4,46
C20 : 1	0,23	1,18	2,98	4,31	6,20
C22 : 0	0,28	0,38	1,04	1,76	4,09
C22 : 1	0,30	0,89	1,56	2,88	3,22



Gambar 2. Profil asam-asam lemak dalam yoghurt

ditambah asam lemak essensial 0,50% (A_1) memiliki perbedaan tekstur dengan semua perlakuan (A_0 , A_2 , A_3 , dan A_4).

Profil Lemak dan Asam-asam Lemak dalam Yoghurt

Berdasarkan hasil analisis kadar lemak menunjukkan bahwa, semakin tinggi taraf penambahan minyak ikan lemuru cenderung meningkatkan kandungan lemak yoghurt rata-

rata 0,25 persen (Tabel 2). Setelah dilakukan analisis komposisi asam lemaknya dengan kromatografi gas, ternyata yang mengalami peningkatan cukup besar adalah persentase asam-asam lemak tak jenuh baik tunggal (*Mono Unsaturated Fatty Acid* disingkat MUFA maupun ganda *Poly Unsaturated Fatty Acid* disingkat PUFA), sedangkan persentase asam lemak jenuh mengalami penurunan (Tabel 3 dan Gambar 2).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan minyak ikan lemuru, meskipun menyebabkan terjadinya peningkatan kandungan lemak yoghurt, namun tidak menurunkan kualitasnya. Karena yang terjadi adalah adanya peningkatan persentase asam-asam lemak tak jenuh terutama omega-3 dan 6, sehingga dapat melengkapi komposisi asam-asam lemak dalam yoghurt. Kedua asam lemak ini adalah bersifat esensial bagi tubuh dan mempunyai peran penting bagi kesehatan, sehingga harus selalu tersedia terus-menerus dalam produk pangan. Oleh karena itu minyak ikan lemuru dapat dijadikan sebagai alternatif untuk memperbaiki kualitas lemak dalam produk-produk olahan susu khususnya yoghurt. Namun demikian penambahan minyak ikan lemuru dalam yoghurt meskipun dapat meningkatkan proporsi asam lemak omega-3, akan tetapi perbandingannya dengan jumlah omega-6 belum proporsional karena imbangannya antara omega-3 dan omega-6 adalah 13 berbanding 1.

Menurut standar *World Health Organisation* (WHO) imbangannya yang ideal antara omega-3 dan 6 yang harus dikonsumsi dari produk pangan adalah 4 berbanding 1. Maka dari itu penggunaan minyak lemuru dalam produk olahan susu harus diikuti dengan penambahan asam lemak omega-6 dari sumber lain agar dapat dicapai perbandingan asam lemak omega-3 dan 6 sebesar 4 banding 1.

Kesimpulan

Penambahan minyak ikan lemuru pada pembuatan yoghurt sampai level 2% berpengaruh

terhadap kandungan asam laktat tetapi masih dalam kisaran yang normal. Respon panelis terhadap yoghurt dengan penambahan minyak ikan lemuru bila ditinjau dari bau dan rasa konsumen memilih penambahan level 2%, sedangkan bila ditinjau dari teksturnya konsumen memilih yoghurt dengan penambahan minyak ikan lemuru dengan level 0,50%.

Penambahan minyak ikan lemuru pada pembuatan yoghurt dapat meningkatkan kualitas nutrisi terutama omega-3 dan 6. Perlu penelitian lebih lanjut terhadap daya tahan yoghurt dengan penambahan minyak ikan lemuru.

Agar dapat tercapai perbandingan asam lemak omega-3 dan 6 yang ideal (4 : 1) maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut penggunaan minyak ikan lemuru dalam produk olahan susu diikuti dengan penambahan asam lemak omega-6 dari sumber lain.

Daftar Pustaka

- Haagsma, H., C.M. van Gent, J.B. Luten, R.W. de Jong, dan E. van Doorn, 1982. Preparation of an n.3 Fatty Acid Concentrate from Cod Liver Oil. *JAOCS* 59 (3) : 117 – 118.
- Kartika, B., 1988. Pedoman Uji Indrawi Bahan Pangan. Pusat Antar Universitas, Yogyakarta.
- Roginsky, H., 1988. Fermented Milk. *The Australian Journal of Dairy Technology*. J.Dairy Industry Association of Australia. 28 (7) : 72 – 98.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie, 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika. Terjemahan B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Setiyawati, T. dan S. Rahayu, 1992. Buku Teknik dan Pengembangan Peternakan Seri : Penanganan Susu. Direktorat Jenderal Peternakan, Jakarta.

Pengaruh Penggunaan Proline dalam Pengencer Susu Skim pada Sperma Beku terhadap Kualitas Sperma Domba Priangan

(Influence of Proline Utilization in Skimmed Milk Dilution of Frozen Sperm to Sperm Quality of Priangan Sheep)

Sri Teguh Waluyo

Balai Besar Diklat Agribisnis Peternakan dan Kesehatan Hewan Cinagara, Bogor

Abstract

The objective of this research is to know the optimal concentration level of proline in the skimmed milk dilution against sperm quality of frozen sperm of Priangan sheep. The research was done in the laboratory of artificial insemination institution, Lembang, Bandung, from November 2004 up to January 2005. In the experiment, sperm from five of Priangan sheep collected by artificial vagina and diluted with skimmed milk, each dilution added by different dose of 10; 20; 30; 40 µg proline and without proline for control. The experimental method used by basic with CRD continued by Duncan multiple rank test 5% significant. Observed variable was sperm quality measured after dilution and equilibration, and after thawing including percentage of motility, live, intact plasma membrane and spermatozoa intact head acrosome. The result of experiment show that percentage of motility and life spermatozoa after dilution were not significant after treatment ($P>0.05$), after equilibration and thawing resulted the highest percentage of motility and life in the treatment of P_{30} (72.00 and 54.00%), and (82.20 and 67.60%) significantly different compared to the other treatment ($P<0.05$), except with P_{20} not significantly different ($P>0.05$), after equilibration the treatment P_{30} had the highest percentage of plasma membrane and significantly different with the other treatment ($P<0.05$), except with P_{40} which was not significantly different ($P>0.05$), and percentage of intact head acrosome was significantly different compared with the other treatment ($P<0.05$). Where as post thawing P_{30} had the highest percentage of intact plasma membrane and intact head acrosome (61.20 and 65.20) compared to the other treatment ($P<0.05$).

Key Words : Proline, sperm, frozen, sheep

Pendahuluan

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu metode untuk memperbaiki mutu genetik. IB pada domba di Indonesia belum banyak dilakukan dan belum begitu berhasil dibanding pada ternak sapi (Tomaszewska *et al.*, 1993). Hal ini dipengaruhi oleh tingkat konsepsi yang rendah, jika dibandingkan dengan sistem kawin alam. IB domba biasanya dideposisikan pada mulut serviks, dan harus melewati serviks sebelum mencapai uterus (Tomaszewska *et al.*, 1991). Kendala inilah yang kemungkinan menyebabkan IB pada domba mendapatkan angka konsepsi yang lebih rendah daripada kawin alam.

Proses pembekuan dan pencairan kembali sperma domba menyebabkan kerusakan ultrastruktur, biokimia dan fungsi yang nyata pada sebagian spermatozoa. Perubahan ini disertai oleh penurunan motilitas, gangguan transpor dan penurunan daya tahan spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina, dan mengurangi fertilitas setelah diinseminasikan pada serviks (Salamon dan Maxwell, 1995).

Salah satu penyebab kerusakan pada spermatozoa selama proses kriopreservasi sampai pencairan kembali adalah peroksidasi lipid. Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid, dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap oksidasi

yang menyebabkan terjadinya radikal bebas, terutama radikal hidroksil (OH^+). Radikal hidroksil ini dapat menimbulkan reaksi berantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid (Wijaya, 1996). Jones *et al.* (1979) menyatakan bahwa membran plasma spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh sehingga rentan terhadap kerusakan peroksidasi. Kerentanan spermatozoa terhadap peroksidasi lipid meningkat disebabkan oleh cekaman dingin (Pursel, 1979). Proses peroksidasi mengubah struktur spermatozoa, terutama pada bagian membran dan akrosom, kehilangan motilitas, perubahan metabolisme yang cepat dan pelepasan komponen intraseluler (Jones dan Mann, 1977). Keadaan ini dapat dicegah dengan menambah prolin ke dalam pengencer sperma.

Prolin merupakan asam amino yang tinggi konsentrasinya dalam saluran testis (Setchell *et al.*, 1993), merupakan salah satu komponen yang diketahui sebagai larutan yang kompatibel, terakumulasi sebagai respon terhadap stres dalam berbagai sel hidup. Prolin juga melindungi sel dari kerusakan akibat tekanan osmotik, kerusakan panas karena denaturasi enzim dan pembekuan (Sanchez *et al.*, 1992). Oleh karena itu, penambahan prolin dalam pengenceran sperma diharapkan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa setelah pengenceran, ekuilibrisasi dan pencairan kembali.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Balai Inseminasi Buatan, Lembang, Bandung, dengan menggunakan materi lima domba Priangan berumur 2 - 3 tahun dengan rata-rata bobot badan $38,10 \pm 1,24$ kg. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan empat kadar prolin dan satu tanpa prolin sebagai kontrol ($P_0, P_{10}, P_{20}, P_{30}, P_{40}$) dengan lima ulangan. Peubah yang diamati adalah kualitas sperma yang diukur setelah pengenceran, ekuilibrisasi, serta pencairan kembali yang meliputi persentase motilitas, hidup, Membran Plasma Utuh (MPU), dan Tudung Akrosom Utuh (TAU). Data yang diperoleh kemudian dianalisis melalui sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Persentase motilitas, hidup, MPU, dan TAU

Penelitian ini dilakukan evaluasi sperma segar secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH, sedangkan mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas, sperma hidup, MPU, TAU dan abnormalitas (Tabel 1).

Tabel 1. Sifat fisik sperma segar domba priangan.

Parameter	Ukuran
Volume (ml)	$1,07 \pm 0,15$
Warna	Krem
Konsistensi	Kental
Derajat Keasaman (pH)	$6,81 \pm 0,01$
Gerakan Massa	+++
Konsentrasi (juta spermatozoa/ml sperma)	$2890,00 \pm 257,06$
Motilitas, (%)	$82,00 \pm 2,45$
Spermatozoa hidup, (%)	$89,40 \pm 0,80$
Membran plasma utuh (MPU), (%)	$77,20 \pm 0,98$
Tudung akrosom utuh (TAU), (%)	$89,80 \pm 1,94$
Abnormalitas, (%)	$8,00 \pm 1,09$

Secara makroskopis maupun mikroskopis sperma domba yang digunakan dengan kualitas baik, sehingga dapat diproses lebih lanjut.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada tahap pengenceran, tidak ada pengaruh yang nyata pada penambahan prolin terhadap persentase motilitas spermatozoa, dan kelima perlakuan sama baiknya dalam mempertahankan motilitas spermatozoa. Pada pasca ekuilibrasi, rataan persentase motilitas pada P₃₀ (72,00) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, P₄₀ (61,00; 65,00; 66,00 dan 67,00) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara P₁₀, P₂₀, P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), adapun perlakuan pengencer ditambah prolin lebih tinggi dan berbeda nyata daripada tanpa prolin atau kontrol (P<0,05). Pada pasca pencairan kembali, rataan persentase motilitas pada P₃₀ (54,00) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ (41,00; 43,00; 46,00 dan 47,00) berbeda nyata (P<0,05), sedangkan P₀ dengan P₁₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Begitu juga antara

P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05) (Tabel 2). Untuk mengetahui persentase hidup, pada tahap pengenceran, tidak ada pengaruh yang nyata pada penambahan prolin terhadap persentase hidup spermatozoa.

Pada pasca ekuilibrasi, rataan persentase motilitas pada P₃₀ (80,20) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, P₄₀ (76,40, 78,00, 79,40 dan 79,00) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), sedangkan P₀ dengan P₁₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Begitu juga antara P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Pada pasca pencairan kembali, rataan persentase hidup pada P₃₀ (67,60) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ (56,00; 58,20; 61,20 dan 63,20) berbeda nyata (P<0,05), sedangkan P₀ dengan P₁₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Begitu juga antara P₂₀, dan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05) (Tabel 2).

Tabel 2. Rataan persentase motilitas dan spermatozoa hidup sesuai perlakuan dan tahap pengolahan sperma

Perlakuan	Tahap Pengolahan		
	Pengenceran	Ekuilibrasi	Pencairan kembali
<i>Persentase motilitas</i>			
P ₀ = tanpa prolin	79,00 ± 2,24 ^a	61,00 ± 2,24 ^a	41,00 ± 4,18 ^a
P ₁₀ = 10 μ g prolin	79,00 ± 2,24 ^a	65,00 ± 3,54 ^b	43,00 ± 4,47 ^{ab}
P ₂₀ = 20 μ g prolin	81,00 ± 2,24 ^a	66,00 ± 2,24 ^b	46,00 ± 2,24 ^b
P ₃₀ = 30 μ g prolin	82,00 ± 2,74 ^a	72,00 ± 2,74 ^c	54,00 ± 5,48 ^c
P ₄₀ = 40 μ g prolin	81,00 ± 2,24 ^a	67,00 ± 2,74 ^b	47,00 ± 2,74 ^b
<i>Persentase hidup</i>			
P ₀ = tanpa prolin	84,20 ± 1,48 ^a	76,40 ± 1,14 ^a	56,00 ± 2,45 ^a
P ₁₀ = 10 μ g prolin	85,80 ± 1,30 ^a	78,00 ± 2,00 ^{ab}	58,20 ± 2,68 ^a
P ₂₀ = 20 μ g prolin	86,80 ± 2,28 ^a	79,40 ± 1,14 ^b	61,20 ± 2,17 ^b
P ₃₀ = 30 μ g prolin	87,60 ± 1,14 ^a	82,20 ± 1,79 ^c	67,60 ± 1,52 ^c
P ₄₀ = 40 μ g prolin	86,20 ± 1,79 ^a	79,00 ± 1,22 ^b	63,20 ± 2,59 ^b

^{a, b, c}, superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada P<0,05

Tabel 3. Rataan persentase MPU dan TAU spermatozoa sesuai perlakuan dan tahap pengolahan sperma

Perlakuan	Tahap Pengolahan		
	Pengenceran	Ekuilibrasi	Pencairan kembali
<i>Persentase MPU</i>			
P ₀ = tanpa prolin	73,20 ± 1,15 ^a	54,80 ± 3,70 ^a	45,90 ± 2,70 ^a
P ₁₀ = 10 µ g prolin	73,40 ± 1,78 ^a	57,70 ± 1,60 ^{ab}	53,30 ± 2,25 ^b
P ₂₀ = 20 µ g prolin	74,80 ± 1,48 ^{ab}	59,10 ± 2,04 ^b	55,50 ± 1,66 ^b
P ₃₀ = 30 µ g prolin	76,20 ± 0,57 ^b	63,50 ± 2,45 ^c	61,20 ± 4,04 ^c
P ₄₀ = 40 µ g prolin	74,40 ± 0,65 ^a	60,60 ± 1,39 ^{bc}	56,20 ± 2,77 ^b
<i>Persentase TAU</i>			
P ₀ = tanpa prolin	85,50 ± 1,00 ^a	77,70 ± 1,68 ^a	50,30 ± 1,15 ^a
P ₁₀ = 10 µ g prolin	88,50 ± 0,79 ^b	83,00 ± 1,46 ^b	57,40 ± 1,92 ^b
P ₂₀ = 20 µ g prolin	90,30 ± 0,57 ^{cd}	85,70 ± 1,99 ^c	58,30 ± 2,28 ^b
P ₃₀ = 30 µ g prolin	91,30 ± 0,76 ^d	88,60 ± 1,02 ^d	65,20 ± 0,84 ^d
P ₄₀ = 40 µ g prolin	89,80 ± 0,57 ^c	86,10 ± 1,34 ^c	61,80 ± 2,39 ^c

^{a, b, c,} superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada P<0,05

Tabel 3 menunjukkan bahwa pasca pengenceran, rata-rata persentase MPU pada P₃₀ (76,20) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₄₀ (73,20, 73,40, dan 74,40) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara P₃₀ dengan P₂₀ (74,80) berbeda tidak nyata (P>0,05), begitu juga antara P₀, P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Pasca ekuilibrasi, rata-rata persentase MPU pada P₃₀ (63,50) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ (54,80, 57,70, 59,10 dan 60,60) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara P₃₀ dengan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), begitu juga antara P₀ dengan P₁₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), begitu juga antara P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Pada pasca pencairan kembali, rata-rata persentase MPU pada P₃₀ (61,20) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, P₄₀ (45,90, 53,30, 55,50 dan 56,20) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara P₁₀, P₂₀, P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), adapun perlakuan pengencer ditambah prolin lebih tinggi dan berbeda nyata daripada tanpa prolin atau kontrol (P<0,05).

Hasil analisis statistik persentase TAU, pasca pengenceran, rata-rata persentase TAU pada P₃₀ (91,30) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₄₀ (85,50, 88,50, dan 89,80) berbeda nyata (P<0,05), tetapi

antara P₃₀ dengan P₂₀ (90,30) berbeda tidak nyata (P>0,05), begitu juga antara P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05). Pasca ekuilibrasi, rata-rata persentase TAU pada P₃₀ (88,60) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, dan P₄₀ (77,70, 83,00, 85,70 dan 86,10) berbeda nyata (P<0,05), tetapi antara P₂₀ dengan P₄₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), namun antara P₀ dengan P₁₀, P₂₀, P₄₀ berbeda nyata (P<0,05), begitu juga antara P₁₀ dengan P₂₀, P₄₀ berbeda nyata (P<0,05). Pasca pencairan kembali, rata-rata persentase TAU P₃₀ (65,20) lebih tinggi daripada P₀, P₁₀, P₂₀, P₄₀ (50,30, 57,40, 58,30 dan 61,80) berbeda nyata (P<0,05), begitu juga antara P₄₀ dengan P₀, P₁₀, P₂₀ berbeda nyata (P<0,05), namun antara P₁₀ dengan P₂₀ berbeda tidak nyata (P>0,05), adapun perlakuan pengencer ditambah prolin lebih tinggi dan berbeda nyata daripada tanpa prolin atau kontrol (P<0,05).

Voet dan Voet (1990) menyatakan bahwa lipoprotein merupakan partikel nonkovalen yang berasosiasi dengan lipid dan protein membentuk dua lapis lipid. Prolin membentuk glutamat melalui pembentukan α-ketoglutarat, yang masuk dalam siklus asam sitrat untuk menjalani proses

oksidasi sempurna menjadi CO₂ dan H₂O dengan pelepasan ATP, pada proses fosforilasi oksidatif, disamping piruvat yang dihasilkan hidroksiprolin dan intermediate pada siklus asam sitrat menyediakan kerangka karbon bagi sintesis asam amino, dan asetil CoA merupakan unsur pembentuk asam lemak rantai panjang, sehingga keadaan membran plasma menjadi tidak rusak (Murray *et al.*, 2003). Menurut Paradisi *et al.* (1985) yang disitir oleh Windsor *et al.* (1993) kehilangan aldenilat siklase sebagai akibat peroksidasi lipid mencegah sintesis camp yang mempunyai peran penting dalam motilitas spermatozoa.

Prolin bersama gliserol dan kuning telur akan meningkatkan motilitas spermatozoa domba setelah thawing, namun prolin hanya berpengaruh pada motilitas spermatozoa (Sanchez *et al.*, 1996). Lebih lanjut menyatakan dalam konsentrasi prolin 27 mM untuk bereaksi gliserol dan kuning telur meningkatkan motilitas spermatozoa, namun pemberian prolin konsentrasi sangat tinggi 81mM akan mengganggu motilitas dan meracuni spermatozoa domba. Keunggulan lain prolin, hidrosiprolin, arginin dan asam glutamate dapat saling membentuk dalam tubuh, disamping itu telah dilaporkan prolin dapat membentuk glukosa melewati asam glutamate melalui siklus asam sitrat dalam transaminasi dan glukoneogenesis. Disamping itu ada dua buah enzim yang turut aktif dalam proses pelipatan protein; 1) Enzim protein disulfide isomerase, meningkatkan dengan cepat penyusunan kembali ikatan disulfida - susunan yang benar tercapai; 2) enzim peptidil prolin isomerase, mempercepat ikatan protein yang mengandung prolin dengan mengkatalisis isomerisasi cis-trans pada ikatan X prolin, dengan X merupakan residu asam amino apapun (Murray *et al.*, 2003).

Kesimpulan

Pengencer susu skim memenuhi persyaratan untuk krioperservasi sperma domba. Penambahan prolin ke dalam bahan pengencer susu skim dapat mempertahankan kualitas spermatozoa pada sperma beku baik dalam mempertahankan persentase motilitas, hidup, MPU dan TAU.

Penambahan prolin dengan dosis 30 µg per milliliter ke dalam pengencer susu skim memberikan hasil yang lebih baik daripada dosis lainnya maupun tanpa prolin.

Daftar Pustaka

- Jones, R. C. and T. Mann. 1977. Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 50: 255-260.
- Jones, R. C. and T. Mann and R.J. Sherrins. 1979. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa: Spermicidal Effects Of Fatty Acid Peroxides and Protective Action Of Seminal Plasma. *Fertil Steril.* 31:531 - 537.
- Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes and V. W. Rodwell. 2003. Biokimia Harper. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Pursell, V.G. 1979. Effect Of Cold Shock On Boar Sperm Treated With Butylated Hydroxitoluene. *Biol. Reprod.* 21:319-325.
- Salamon, S. and W. M. C. Maxwell. 1995b. Frozen Storage Of Ram Semen II. Causes Of Low Fertility After Cervical Insemination And Method Of Improvement. *Anim. Reprod. Sci.* 38:1-36.
- Sanchez-Partida, L.G. Mawell. W. M.C, Paleg, L.G and Setchell., B.P. 1992. Proline and glycinebutanine in cryoprotective diluents for ram spermatozoa, *Reproduction and Fertility Development*, 4: 113-118.

- Sanchez-Partida, L.G. Setchell., B.P. and Maxwell. W.M.C. 1996. Effect of compatible solutes and diluent composition on the post-thaw motility of ram sperm. *Reproduction and Fertility Development*, 4: 347-358.
- Sanchez-Partida, L.G. Windsor. D. P. Eppleston, J. Setchell., B.P. and Maxwell, W.M.C. 1999. Fertility and its relationship to motility characteristics of spermatozoa in ewe after cervical, transcervical, and intrauterine insemination with frozen-thawed ram semen. *Journal of Andrologi*. Vol 20. 2: 280-288.
- Setchell, B. P. Sanchez-Partida and A. Chaerussyukur, 1993, Epididimis constituent and related substances in the storage of spermatozoa: Review. *Reproduction and Fertility Development*, 5. 601-612.
- Tomaszweska, M. W., I. K. Utama, I.G. Putu, T.D. Caniago. 1991. Reproduksi Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia. P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Tomaszweska, M. W., I. M. Mastika, A. Djajanegara, S. Gardiner dan T. R. Wiradarya. 1993. Reproduksi Kambing Dan Domba Di Indonesia. Sebelas Maret University Press.
- Voet, D. and J. Voet. 1990. Biochemistry. John Weley and Sons. New York, Chichester, Brisbane, Toronto and Singapore.
- Wijaya, A. 1996. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. Forum diagnosticum No.1, Laboratorium Klinik Prodia.
- Windsor. DP.,I. G. White, M.L. Selley and M. A. Swan. 1993. Effect of the lipid peroxidation product (*E*)-4-hydroxy-2-nonenal on ram sperm function. *J. Reprod. Fert.*, 5;195-201.