

Viabilitas Spermatozoa Rusa Timor (*Cervus timorensis*) di dalam Pengencer Tris Kuning Telur dengan Sumber Karbohidrat Berbeda yang Disimpan pada Suhu Ruang

W. MARLENE MESANG-NALLEY¹, R. HANDARINI² dan B. PURWANTARA³

¹Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana, Jl. Adi Sucipto Penfui Kupang, NTT
E-mail: wm25_mesang@yahoo.co.id; wmmesang@cbn.net.id

²Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan, 20154

³Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Kampus Darmaga, Bogor

(Diterima dewan redaksi 29 Oktober 2007)

ABSTRACT

MESANG-NALLEY, W.M., R. HANDARINI and B. PURWANTARA. 2007. Viability of Timor deer stag (*Cervus timorensis*) spermatozoa extended in tris egg yolk diluent with different sources of carbohydrate and storage at room temperature. *JITV* 12(4): 311-317.

The successful sperm preservation, influenced by the capability of its extender on the maintenance the sperm quality during storage. The carbohydrate such as glucose and fructose were the common sugar added on the mammalian sperm extender to support their live and motility. The sucrose was the main carbohydrate in Timor deer stag seminal plasma. The experiment was conducted to evaluate the effect of carbohydrates in Tris egg yolk (TEY) extender on the motility and viability of stag sperm, stored in room temperature (27-28 °C). The semen was collected using electro ejaculator from five Timor deer stags at hard antler stage, 3-5 years old, body weight of 64-102 kg with normal testes. The semen was then evaluated macro-and microscopically and divided into 3 aliquots. Each of them was diluted with TEY-glucose (TEYG), TEY-fructose (TEYF) and TEY-Sucrose (TEYS) with the concentration of spermatozoa $100 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$. The extended semen was then stored at room temperature. The sperm motility and viability were evaluated every 3 hours. Result of the experiment showed that the semen volume was $2.06 \pm 0.63 \text{ ml}$, pH 7.03 ± 0.13 , yellow white until creamy in color and the consistency ranged from normal to thick. The mass movement between ++ to +++ and the sperm motility was $68.67 \pm 7.4\%$. The average of sperm concentration was $842.35 \pm 258.14 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$, the viable sperm was $78.11 \pm 3.61\%$, the sperm abnormality was $7.31 \pm 2.98\%$. The percentages of sperm motility on TEGY ($18.00 \pm 17.63\%$) and TEYS ($21.83 \pm 15.92\%$) were higher compare to TEYF ($4.00 \pm 0.00\%$) extender in 24 hours observation. The percentage of sperm viability showed the same pattern. The sperm viability in TEGY (28.17 ± 20.06) and TEYS ($24.00 \pm 22.59\%$) ($P < 0.05$) were significantly higher compare to TEYF ($4.00 \pm 0.00\%$). It is concluded that the deer stag sperm can use the three sugars for their nutrition source. The diluted sperm still can be used for artificial insemination after 12 hour storage.

Key Words: Liquid Semen, Deer, Room Temperature, Carbohydrate

ABSTRAK

MESANG-NALLEY, W.M., R. HANDARINI dan B. PURWANTARA. 2007. Viabilitas spermatozoa rusa Timor (*Cervus timorensis*) di dalam pengencer tris kuning telur dengan sumber karbohidrat berbeda yang disimpan pada suhu ruang. *JITV* 12(4): 311-317.

Keberhasilan dalam preservasi spermatozoa dipengaruhi oleh kemampuan pengencer semen dalam mempertahankan kualitas spermatozoa untuk jangka waktu tertentu. Glukosa (G) dan fruktosa (F) merupakan monosakarida yang paling banyak ditambahkan dalam pengencer semen karena mudah dimetabolisme dan dapat mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Sukrosa (S) merupakan disakarida utama yang ditemukan dalam plasma semen rusa Timor. Tujuan penelitian ini adalah mengkaji daya tahan hidup spermatozoa rusa yang disimpan pada suhu 27-28°C di dalam pengencer tris kuning telur (TKT) dengan sumber karbohidrat yang berbeda. Hewan yang digunakan adalah lima ekor rusa Timor jantan berumur tiga sampai lima tahun dengan bobot hidup 64 sampai dengan 102 kg, kondisi tubuh proporsional, kesehatan baik dan tidak cacat, berada pada tahap ranggah keras yang simetris. Penampungan semen menggunakan elektroejakulator, semen yang diperoleh dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis selanjutnya dibagi tiga dan masing-masing diencerkan dengan pengencer tris kuning telur glukosa (TKTG), fruktosa (TKTF) dan sukrosa (TKTS), dengan konsentrasi $100 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ dan disimpan pada suhu 27-28°C. Pengamatan semen cair dilakukan terhadap persentase spermatozoa motil dan viabilitas spermatozoa setiap tiga jam. Hasil penelitian menunjukkan secara makroskopis volume semen yang diperoleh $2,06 \pm 0,63 \text{ ml}$, pH $7,03 \pm 0,13$, berwarna kuning sampai krem dengan konsistensi sedang sampai kental. Secara mikroskopis gerakan massa berkisar antara 2 sampai 3, dengan motilitas $68,67 \pm 7,4\%$. Konsentrasi spermatozoa $842,35 \pm 258,14 \times 10^6$ per ml dengan viabilitas spermatozoa $78,11 \pm 3,61\%$, spermatozoa abnormal $7,31 \pm 2,98\%$. Pengencer TKTG ($18,00 \pm 17,63\%$) dan TKTS ($21,83 \pm 15,92\%$) menunjukkan persentase motilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan pengencer TKTF ($4,00 \pm 0,00\%$) pada jam ke 24 penyimpanan. Demikian juga dengan viabilitas spermatozoa pada TKTS ($28,17 \pm 20,06$) dan TKTG ($24,00 \pm 22,59\%$) menunjukkan persentase

lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan TKTF ($4,00 \pm 0,00\%$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah spermatozoa rusa dapat menggunakan karbohidrat glukosa, sukrosa maupun fruktosa untuk sumber nutrisi dan dapat digunakan untuk inseminasi sampai jam ke-12 penyimpanan.

Kata Kunci: Semen Cair, Rusa, Suhu Ruang, Karbohidrat

PENDAHULUAN

Rusa, merupakan hewan yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi sumber pengadaan daging dan juga memiliki hasil ikutan dengan nilai ekonomis yang tinggi. Hidupnya yang suka berkelompok, menyebabkan rusa mudah beradaptasi dengan segala kondisi lingkungan serta efisien dalam penggunaan pakan, dapat mengkonversi 30 kg bahan kering menjadi tiga kg daging (YEREX dan SPIERS, 1987). Selanjutnya ANDERSON (1978) melaporkan bahwa rusa dapat menghasilkan 800 kg karkas/ha tanah, dibandingkan dengan sapi potong yang hanya mampu menghasilkan 650 kg karkas/ha tanah.

Agar pemanfaatan rusa sebagai sumber protein hewani dapat dioptimalkan maka perlu dilakukan budidaya ternak rusa dengan tetap memperhatikan ekosistem lokasi/habitat yang sesuai. Tanpa introduksi teknologi reproduksi, laju peningkatan populasi di habitat penangkaran (budidaya) masih kurang memuaskan. Di sisi lain, agar penerapan teknologi reproduksi dapat dilaksanakan, diperlukan data dasar sifat-sifat fisiologis yang akurat. Sementara itu data dasar sifat fisiologis pada rusa Timor di daerah tropis belum banyak tersedia. Data yang tersedia masih diadopsi dari negara-negara subtropis yang mempunyai empat musim. Teknologi reproduksi sederhana dan aplikatif yang dapat diterapkan dalam budidaya rusa adalah inseminasi buatan (IB).

Salah satu tahapan dalam program IB adalah pengawetan semen, baik semen cair (preservasi) ataupun semen beku (kriopreservasi). Keberhasilan preservasi spermatozoa bergantung pada kemampuan pengencer semen dalam mempertahankan kualitas spermatozoa untuk jangka waktu tertentu. Untuk itu harus diperhatikan beberapa hal: kandungan dan bahan nutrisi dalam bahan pengencer, pengencer harus bersifat *buffer* untuk menetralkan sisa metabolisme serta mempunyai kemampuan dalam melindungi sel terhadap efek pendinginan (*cold shock*).

Karbohidrat dalam bahan pengencer mempunyai beberapa fungsi yaitu sebagai sumber nutrisi, mengatur tekanan osmotik dan sebagai krioprotektan (YILDIZ *et al.*, 2000). Glukosa dan fruktosa merupakan monosakarida yang paling banyak ditambahkan dalam pengencer semen karena mudah dimetabolisme sekaligus dapat meningkatkan motilitas dan viabilitas. Sukrosa merupakan salah satu sumber karbohidrat utama yang terdapat dalam plasma semen rusa (NALLEY, 2007). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengkaji viabilitas spermatozoa rusa

dalam pengencer tris kuning telur dengan berbagai sumber karbohidrat yang disimpan pada suhu ruangan.

MATERI DAN METODE

Hewan percobaan

Penelitian dilaksanakan di lokasi pemeliharaan rusa Pondok Gede Bekasi, Jawa Barat. Hewan percobaan adalah rusa Timor (*Cervus timorensis*) yang berasal dari Perum Perhutani Wilayah III Jonggol. Hewan yang digunakan adalah lima ekor rusa Timor jantan berumur sekitar tiga sampai lima tahun dengan bobot hidup 64-102 kg, kondisi tubuh proporsional, kesehatan baik dan tidak cacat, berada pada tahap ranggah keras yang berbentuk simetris serta mempunyai sepasang testes yang simetris dengan konsistensi kenyal. Rusa ditempatkan pada kandang dengan luasan $5 \times 8 \text{ m}^2$, dilengkapi dengan saung (tempat berteduh), tempat makan dan minum serta tempat berkubang. Konstruksi kandang: pagar kawat setinggi dua meter berlantai semen.

Pakan yang diberikan berupa hijauan segar sebanyak tiga kali yaitu pada pagi, siang dan malam hari sekitar 6-8 kg dan pemberian konsentrat sebanyak 250 g ekor⁻¹ hari⁻¹. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

Bahan pengencer

Semen diencerkan menggunakan pengencer dasar tris (ASHER *et al.*, 2000) dengan modifikasi penggunaan sumber karbohidrat yang berbeda yaitu glukosa, sukrosa dan fruktosa (Tabel 1).

Koleksi semen

Penampungan semen dilakukan pada lima ekor rusa jantan yang terlebih dahulu dianastesi menggunakan kombinasi 1 mg *xylazine* dan 2 mg *ketamin* i.m. kg⁻¹ bobot hidup (DRADJAT, 2000). Penampungan semen menggunakan elektroejakulator dengan rangsangan listrik tegangan rendah yang ditingkatkan secara gradual sampai maksimal 18 volt. Stimulasi yang diberikan secara berulang dengan interval 5 detik dan istirahat 5 detik (*on-off*) sampai diperoleh ejakulat. Semen ditampung secara reguler dengan interval tiga minggu sekali, selama tahap ranggah keras dari masing-masing jantan yang digunakan sebagai ulangan.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer semen cair

Bahan pengencer	P1	P2	P3
Tris ¹ (g)	3,36	3,36	3,36
Glukosa ² (g)	0,50	-	-
Sukrosa ³ (g)	-	0,50	-
Fruktosa ⁴ (g)	-	-	0,50
Asam sirat ⁵ (g)	1,99	1,99	1,99
Kuning telur (ml)	20	20	20
Aquades <i>ad</i> (ml)	100	100	100
Streptomisin ⁷ (g)	1,0	1,0	1,0
Penisilin ⁸ (IU)	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶

¹⁾ Merck, Germany, cat. K 8382S012 323

²⁾ Merck, Germany, cat. K83.37

³⁾ Merck, Germany, cat. K7651

⁴⁾ Merck, Germany, cat. K1.05323

⁵⁾ Merck, Germany, cat K230 586 44 705

⁶⁾ Meiji, Japan, cat. SSL 1095 A

⁷⁾ Meiji, Japan, cat. APG 0598 J

⁸⁾ Suparcintra, Indonesia

Evaluasi semen

Evaluasi dilakukan secara makroskopis (volume, warna, pH, konsistensi) dan secara mikroskopis (gerakan massa, persentase motilitas, persentase hidup spermatozoa, konsentrasi spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa. Mengingat keterbatasan hewan penelitian, sistem koleksi semen dengan elektroejakulator dan setelah diuji karakteristik semen segar maka standarisasi yang digunakan untuk pengolahan semen lebih lanjut adalah motilitas lebih besar dari 60% dengan konsentrasi di atas 500 juta ml⁻¹ dengan spermatozoa abnormalitas kurang dari 10%.

Penilaian terhadap persentase motilitas adalah spermatozoa yang bergerak progresif ditentukan secara subyektif pada sepuluh lapang pandang yang berbeda. Nilai yang diberikan berkisar antara 0 - 100% dengan skala 5%. Persentase viabilitas spermatozoa ditentukan dengan menggunakan pewarnaan eosin (TOELIHERE, 1985; HAFEZ, 1993). Spermatozoa hidup tidak menyerap warna sedangkan yang mati menyerap warna dan ditandai dengan kepala spermatozoa yang berwarna merah.

Pengolahan dan preservasi semen

Semen segar yang memenuhi kriteria kualitas baik adalah semua yang memiliki volume 1 – 2 ml, motilitas lebih besar dari 60% dan konsentrasi di atas 500 x 10⁶ ml⁻¹, gerakan massa ++ atau +++ dengan abnormalitas kurang dari 10%, diencerkan sesuai perlakuan.

Konsentrasi spermatozoa dalam bahan pengencer adalah 100 x 10⁶ ml⁻¹. Penyimpanan semen cair dilakukan pada suhu ruangan (27-28°C) dan pengamatan semen cair dilakukan setiap tiga jam dengan parameter yang diamati adalah persentase motilitas dan persentase viabilitas spermatozoa.

Analisis data

Data dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga perlakuan, dengan jumlah hewan lima ekor dan masing-masing diulang sebanyak enam kali. Jika ada perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (STEEL dan TORRIE, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semen segar rusa menunjukkan kualitas baik dengan volume semen 2,06 ± 0,63 ml, pH 7,03 ± 0,13, berwarna kuning sampai krem dengan konsistensi sedang sampai kental. Gerakan massa berkisar antara 2 sampai 3, dengan motilitas spermatozoa 68,67 ± 7,4% dan spermatozoa hidup 78,11 ± 3,61%. Konsentrasi spermatozoa 842,35 ± 258,14 x 10⁶ ml⁻¹ dan spermatozoa abnormal 7,31 ± 2,98% (Tabel 2).

Dari hasil evaluasi semen tersebut secara makroskopis karakteristik semen segar rusa, baik volume, pH, warna maupun konsistensinya mirip dengan karakteristik semen segar kambing dan domba. Volume semen kambing 0,96 ml (SUWARSO, 1999) sampai dengan 1,25 ml, (TAMBING, 2004) dan pada semen domba volumenya adalah 1,66 ± 0,26 ml (FERADIS, 1999). Dibandingkan dengan volume semen rusa Timor pada kondisi tropis volume semen hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh DRAJAD (2000), MASYUD dan TAURIN (2000), SEMIADI (1998) dengan rata-rata volume masing-masing 0,68 ± 0,35 ml; 1,2 ml dan 0,91 ml.

Gerakan massa spermatozoa adalah kumpulan massa sperma yang bergerak bersama-sama membentuk suatu gelombang awan. Nilai dari gerakan massa ini ditentukan dengan sistem skoring yang dilihat dari tebal tipisnya awan dan kecepatan awan berpindah tempat. Penilaian skoring dapat dibuat oleh peneliti sendiri dengan kriteria yang jelas atau merujuk pada hasil penelitian sebelumnya, sebagai contoh TOELIHERE (1985) menggunakan skoring positif 0-3, sedangkan MASYUD dan TAURIN (2000) dan DRAJAT (2000) menggunakan skoring positif 1-5.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gerakan massa rusa berkisar antara 2-3. Hal yang sama dinyatakan juga oleh DRAJAT (2000); MASYUD dan TAURIN (2000) yang menilai rata-rata gerakan massa semen rusa 3,8 ± 1,09 (skor 3-4). Semakin tinggi nilai

skoring, dapat diinterpretasikan bahwa makin aktif gerakan spermatozoa secara umum. Penilaian terhadap gerakan massa penting dilakukan karena dapat digunakan untuk menginterpretasikan gerakan individu dan konsentrasi spermatozoa.

Tabel 2. Kualitas semen segar rusa Timor

Keterangan	Jumlah
Makroskopis	
Volume (ml)	2,06 ± 0,63
pH	7,03 ± 0,13
Warna	Kuning susu /krem
Konsistensi	Sedang/kental
Mikroskopis	
Gerakan massa	++.+++
Sperm motil (%)	68,67 ± 7,42
Konsentrasi (x10 ⁶)	842,35 ± 258,14
Viabilitas spermatozoa (%)	78,11 ± 3,61
Spermatozoa abnormal (%)	7,31 ± 2,99

Konsentrasi spermatozoa yang diperoleh sangat bervariasi dengan rata-rata $842,35 \pm 258,14 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ dengan kisaran $593,25-1060,89 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$. Hasil ini hampir sama dengan yang diperoleh oleh MASYUD dan TAURIN (2000), yakni konsentrasi semen berkisar antara $840-1140 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ tetapi lebih rendah dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh DRAJAT (2000), sebesar $2184 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ pada jenis rusa yang sama. Konsentrasi spermatozoa rusa timor hasil penelitian ini mirip dengan konsentrasi spermatozoa yang diperoleh pada ternak sapi yaitu berkisar antara 800 dan $2000 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ tetapi lebih rendah daripada domba yang berkisar antara 2000 dan $3000 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ (HAFEZ, 1993).

Kemampuan fertilitas spermatozoa dapat dinilai dari beberapa kriteria diantaranya yaitu persentase motilitas dan persentase viabilitas spermatozoa. Gerakan individu yang dinilai dengan persentase motilitas progresif adalah gerakan spermatozoa yang aktif bergerak maju ke depan. Hasil ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa yang progresif sebesar 68,67% (60-80%). Nilai ini hampir sama dengan yang dilaporkan oleh MASYUD dan TAURIN (2000) pada jenis rusa yang sama dengan motilitas antara 66,7 dan 76,7%. Secara umum persentase motilitas spermatozoa rusa Timor ini lebih rendah jika dibandingkan dengan motilitas spermatozoa pada ternak kambing yang bisa mencapai 73,57% (TAMBING, 2004) sampai 78,13% (SUWARSO, 1999), sementara motilitas spermatozoa domba sebesar 76,67% (RIZAL *at al.*, 2003). Salah satu penyebab perbedaan nilai persentase motilitas yang diperoleh dari

penelitian ini dengan persentase motilitas pada ternak kambing dan domba, kemungkinan adalah karena cara penampungan semen yang dilakukan berbeda. Pada ternak kambing dan domba umumnya penampungan menggunakan vagina buatan sedangkan pada penelitian ini menggunakan elektroejakulator.

Persentase viabilitas spermatozoa pada penelitian ini adalah 78,11%. Nilai persentase viabilitas spermatozoa ini biasanya sedikit lebih tinggi dari persentase motilitas. Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang tidak motil progresif, tetapi sebenarnya masih hidup sehingga tidak akan menyerap warna dari larutan eosin 2%, yang digunakan. Hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan persentase spermatozoa hidup yang dilaporkan oleh DRAJAT (2000), dimana angka spermatozoa hidupnya sangat tinggi, mencapai 95,4 %.

Morfologi spermatozoa yang abnormal pada rusa Timor ini hanya $7,31 \pm 2,99\%$. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas semen ini cukup baik. Pada rusa Bawean dan rusa Timor, DRAJAT (2000) melaporkan bahwa pada kondisi rangkah keras abnormalitas spermatozoa berkisar antara 4-8 dan 7,25%. Pada ruminansia kecil persentase abnormalitas spermatozoa yang masih dapat diterima adalah kurang dari 15% (TOELIHERE, 1985). Nilai abnormalitas spermatozoa hasil penelitian ini hampir sama dengan yang dilaporkan pada kambing Saanen sebesar $7,88 \pm 3,01\%$ (TAMBING, 2004) akan tetapi lebih besar jika dibandingkan dengan abnormalitas spermatozoa pada domba Garut yang hanya sebesar $5,47 \pm 1,75\%$ (RIZAL, *at al.*, 2003).

Standarisasi kualitas semen minimal yang dapat diproses untuk preservasi maupun kriopreservasi semen satwa liar belum banyak dilaporkan. HOLT (1994) memberikan standar minimal untuk pengolahan semen adalah 70%.

Pengaruh karbohidrat yang berbeda terhadap kualitas semen cair pada penyimpanan suhu 27-28°C

Persentase motilitas merupakan gambaran dari aktifitas spermatozoa yang progresif dan berkorelasi sangat erat dengan fertilitas. Pada suhu ruangan spermatozoa akan melakukan aktivitas metabolisme yang hampir optimal, akibatnya pemanfaatan nutrisi sebagai sumber energi akan digunakan dalam jumlah yang banyak dan konsekuensi dari proses metabolisme adalah produk samping berupa asam laktat. Hasil pengamatan semen cair rusa yang disimpan pada suhu ruangan menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa dari rusa ini ternyata dapat bertahan cukup lama.

Pada penyimpanan jam ke-24, (Tabel 3) semen yang diencerkan menggunakan pengencer TKTS ($21,83 \pm 15,92\%$) dan TKTG ($18,00 \pm 17,63\%$) menunjukkan motilitas yang tidak berbeda nyata dan lebih tinggi

dibandingkan dengan semen rusa yang diencerkan dalam pengencer TKTF yaitu hanya tinggal 4,00 ± 0,00%. Untuk tujuan inseminasi pengencer TKTF dan TKTS dapat digunakan sampai jam ke-12 penyimpanan, dimana kedua semen cair tersebut menunjukkan kualitas yang hampir sama yaitu 42,50 ± 8,57% (TKTF) dan 42,50 ± 12,36% (TKTS). Pada pengencer TKTG semen cair untuk inseminasi mempunyai waktu penggunaan yang lebih lama yaitu sampai dengan jam ke-15, dimana pada saat itu motilitasnya masih mencapai 43,50 ± 8,43%.

Hingga jam ke-12 perbedaan karbohidrat glukosa, fruktosa dan sukrosa di dalam pengencer tris kuning telur tidak mempengaruhi persentase motilitas spermatozoa rusa Timor, sehingga dapat dinyatakan bahwa spermatozoa rusa cukup toleran terhadap penggunaan karbohidrat tersebut sebagai sumber energi. Hasil penelitian ini merupakan informasi yang cukup penting karena dapat digunakan untuk penyimpanan yang cukup lama apabila akan dipakai dalam jarak jauh tanpa memerlukan alat pendingin.

Persentase viabilitas spermatozoa setelah penyimpanan 24 jam pada pengencer tris dengan berbagai sumber karbohidrat juga menunjukkan pola yang sama dengan persentase motilitas. Pengencer yang mengandung sukrosa dan glukosa menunjukkan persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan pengencer yang mengandung fruktosa dengan viabilitas spermatozoa masing-masing sebesar 28,17 ± 20,06 (TKTS); 24,00 ± 22,59% (TKTG) dan 4,00 ± 0,00% (TKTF) (Tabel 4).

Penurunan kualitas semen pada tiga jam pertama pengamatan berkisar antara 1-4% untuk ketiga

pengencer yang digunakan, setelah jam keenam dan seterusnya penurunan terjadi lebih tinggi yaitu antara 7 sampai dengan 10%. Penyimpanan semen cair dalam suhu ruangan, sangat praktis karena tidak membutuhkan alat pendingin atau menyiapkan es batu dalam termos. Perbedaan suhu ruangan di negara dengan iklim tropis cukup tinggi dibandingkan dengan suhu ruangan di negara dengan iklim subtropis, mengakibatkan metabolisme spermatozoa berjalan hampir optimal. Menurut BEST (2006), dalam proses metabolisme sel termasuk spermatozoa akan dihasilkan radikal bebas berupa derivat oksigen diantaranya adalah *singlet oxygen* (¹O₂), *triplet oxygen* (³O₂) *superoxide anion* (.O₂-), *hydroxyl radical* (.OH) dan *nitric oxide* (.NO-) yang keseluruhannya disebut dengan *reactive oxygen species* (ROS). *Singlet oxygen* dapat merusak ikatan rangkap pada asam lemak sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada DNA dan protein. *Singlet oxygen* ini jika bereaksi dengan asam amino histidin akan membentuk enzim yang dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein.

Pada suhu ruangan, menurut VISHWANATH dan SHANNON (1997; 2000) spermatozoa mempunyai daya tahan hidup yang sangat pendek. Hal ini selain disebabkan sumber nutrisi yang cepat habis dan dihasilkannya ROS, penyebab lain adalah dihasilkannya enzim *aromatic amino acid aminase* (AAAO). Enzim AAAO ini dilepaskan dari membran plasma spermatozoa yang mati. Semakin tinggi suhu dan semakin lama penyimpan spermatozoa, jumlah enzim ini akan meningkat. Enzim AAAO ini tidak aktif pada spermatozoa yang masih hidup. Dengan perkataan lain habisnya substrat energi, penimbunan asam laktat, ROS

Tabel 3. Rataan persentase motilitas spermatozoa semen cair rusa Timor menggunakan berbagai sumber karbohidrat pada penyimpanan suhu ruangan (27-28°C)

Jam pengamatan	Pengencer		
	TKTG	TKTF	TKTS
0	72,5 ± 6,89 ^a	75,83 ± 3,76 ^a	75,83 ± 3,76 ^a
3	70,83 ± 5,85 ^a	70,83 ± 7,56 ^a	74,17 ± 3,76 ^a
6	67,50 ± 6,12 ^a	63,33 ± 8,16 ^a	69,17 ± 5,85 ^a
9	60,00 ± 11,83 ^a	54,17 ± 10,68 ^a	59,17 ± 11,14 ^a
12	47,50 ± 6,69 ^a	42,50 ± 8,57 ^a	42,50 ± 12,36 ^a
15	43,50 ± 8,43 ^a	36,00 ± 12,00 ^a	39,50 ± 13,74 ^a
18	39,50 ± 8,57 ^a	26,17 ± 14,96 ^a	35,50 ± 15,23 ^a
21	29,50 ± 13,34 ^a	16,00 ± 14,24 ^a	26,17 ± 15,43 ^a
24	18,00 ± 17,63 ^b	4,00 ± 0,00 ^a	21,83 ± 15,92 ^b

Huruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Tabel 4. Rataan persentase viabilitas spermatozoa semen cair rusa Timor menggunakan berbagai sumber karbohidrat pada penyimpanan suhu ruangan (27-28°C)

Jam ke	Pengencer		
	TKTG	TKTF	TKTS
0	86,17 ± 7,28 ^a	87,67 ± 4,37 ^a	87,67 ± 4,37 ^a
3	81,00 ± 5,90 ^a	82,00 ± 5,29 ^a	83,83 ± 3,06 ^a
6	76,83 ± 3,66 ^a	73,67 ± 5,07 ^a	76,67 ± 4,80 ^a
9	70,83 ± 5,12 ^a	63,67 ± 1,35 ^a	68,83 ± 6,91 ^a
12	55,67 ± 4,08 ^a	47,67 ± 8,57 ^a	49,67 ± 9,05 ^a
15	52,50 ± 5,32 ^a	45,17 ± 7,70 ^a	46,00 ± 11,10 ^a
18	48,17 ± 6,77 ^a	36,17 ± 18,32 ^a	42,17 ± 12,61 ^a
21	42,00 ± 8,41 ^a	22,17 ± 20,04 ^a	35,17 ± 17,59 ^a
24	24,00 ± 22,59 ^b	4,00 ± 0,00 ^a	28,17 ± 20,06 ^b

Huruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

dan dilepaskannya enzim AAAO oleh membran spermatozoa yang mati, menyebabkan spermatozoa hanya bertahan selama 24 jam saja.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa spermatozoa rusa Timor dapat memanfaatkan karbohidrat sukrosa, glukosa dan fruktosa sebagai sumber energi dan dapat digunakan untuk inseminasi sampai jam ke-12 penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- ANDERSON, R. 1978. Gold on Four Feet. Ronald Anderson Assoc. Pty. Ltd. Melbourne.
- ASHER, G.W., D.K. BERG and G. EVANS. 2000. Storage of semen and artificial insemination in deer. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 195-211.
- BEST, B. 2006. Aging Mechanism. http://www.benbest.com/cryonics/aging_mechanism.html. [(4 September 2006)].
- DRADJAT, A.S. 2000. Penerapan teknologi inseminasi buatan, embrio transfer dan in vitro fertilisasi pada rusa Indonesia. *Laporan Riset Unggulan Terpadu V Bidang Teknologi Perlindungan Lingkungan*. pp. 92 – 111.
- FERADIS. 1999. Penggunaan Antioksidan dalam Pengencer Semen Beku dan Metode Sinkronisasi Estrus pada Program Inseminasi Buatan Domba St. Croix. Disertasi. Program Pascasarjana, IPB. Bogor.
- HAFEZ, E.S.E. 1993. Anatomy of Male Reproduction. *In: Reproduction in Farm Animals*. Lea and Febiger. Philadelphia.
- HOLT, M.V. 1994. Creative Conservation: Interactive management of wild and captive animals. *In: Reproductive Technologies*. Chapman and Hall. London. pp. 145-166.
- MASYUD, B. dan M.B. TAURIN. 2000. Karakteristik dan pengawetan sperma rusa Timor (*Cervus timorensis*). *Media Konservasi* 6: 105-107.
- NALLEY, W.M.M. 2007. Karakteristik semen rusa Timor (*Cervus timorensis*). Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor 21-22 Agustus 2007. Puslitbang Peternakan. Bogor. hlm.
- RIZAL, M., M.R. TOELIHERE, T.L. YUSUF, B. PURWANTARA P. SITUMORANG. 2003. Kualitas semen beku domba Garut dalam berbagai konsentrasi gliserol. *JITV* 7: 194-199.
- SEMIADI, G., P.D. MUIR, T.N. BARRY dan G. ASHER. 1998. Produksi semen rusa Sambar jantan dan tanggapan terhadap penyerentakan berahi rusa Sambar betina. *Media Veteriner* V (3): 11-16.
- STEEL, R.G.D. dan J.H. TORRIE. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu pendekatan Biometrik. Terjemahan Bambang Sumantri. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- SUWARSO. 1999. Peranan Rafinosa Dalam Pengencer Tris-Sitrat Kuning Telur Terhadap Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. Thesis. Program Pascasarjan, IPB. Bogor.
- TAMBING, S.N. 2004. Optimalisasi Pengembangan Pengencer Semen Beku dan Teknik Inseminasi dalam Upaya Produksi Kambing Persilangan Saanen - Peranakan Eatawah. Disertasi. Program Pascasarjana, IPB. Bogor.
- TOELIHERE, M.R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- VISHWANATH, R. and P. SHANNON. 1997. Do sperm cells age? A review of the physiological changes in the sperm

- during storage at ambient temperature. *Reprod. Fertil. Dev.* 9: 321-331.
- VISHWANATH, R. and P. SHANNON. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 23-53.
- YEREX, D. dan I. SPIERS. 1987. *Modern Deer Farm Management*. Ampersand Publishing Associates Ltd. Carterton. New Zealand.
- YILDIZ, C., A. KAYA, M. AKSOY and T. TEKELI. 2000. Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenol.* (54): 579-585.