

PEMANFAATAN SARI KEDELAI SEBAGAI BAHAN PENGECER PENGGANTI KUNING TELUR UNTUK KRIOPRESERVASI SPERMATOZOA HEWAN

Utilization of Soybeans as the Extender Change of Egg Yolk for Cryopreservation of Animal Spermatozoa

Fitra Aji Pamungkas dan Rantan Krisnan

Balai Penelitian Ternak
Jalan Banjarwaru, Kotak Pos 221, Bogor 16002, Indonesia
Telp. (0251) 8337975, 8339793, Faks. (0251) 8338820
E-mail: fitrap@yahoo.com; ran_tania@yahoo.com

Diterima: 1 November 2016; Direvisi: 24 Maret 2017; Disetujui: 5 April 2017

ABSTRAK

Bahan pengencer yang biasa digunakan untuk kriopreservasi spermatozoa berasal dari produk hewani seperti kuning telur. Kuning telur mengandung kolesterol, fosfolipid, dan *low density protein* yang dapat mencegah pembentukan kristal es sehingga melindungi integritas membran plasma terhadap kejutan dingin selama proses kriopreservasi. Namun, penggunaan kuning telur menimbulkan kekhawatiran terutama potensi peningkatan kontaminasi mikroba dan agen penularan zoonosis. Kedelai merupakan produk protein nabati yang sering digunakan sebagai pengemulsi dalam produksi makanan untuk manusia dan berfungsi sebagai pelindung dari kejutan dingin sama halnya *low density lipoprotein* pada kuning telur. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan bahan pengencer berupa sari kedelai untuk kriopreservasi spermatozoa menghasilkan kualitas yang sama atau bahkan lebih baik dibandingkan dengan bahan pengencer berbasis kuning telur. Konsentrasi sari kedelai yang optimal pada bahan pengencer untuk kriopreservasi spermatozoa berkisar 0,8–1,5%.

Kata kunci: kedelai, kuning telur, pengencer, kriopreservasi, spermatozoa

ABSTRACT

The extenders commonly used for cryopreservation of spermatozoa are based on animal products such as egg yolk. Egg yolk contains cholesterol, phospholipid and low density protein which prevent the formation of ice crystals and protect the integrity of plasma membrane during cryopreservation process. Furthermore, egg yolk increased the risk of microbial contamination and related to the possible transmission of zoonotic agents. Soybeans are the products of vegetable protein which is often used as an emulsifier in the production of food for humans and serves as a protection from the cold shock as well as low density protein in egg yolk. Several studies showed that soybean extenders for cryopreservation of spermatozoa produce the same quality or even better than the egg yolk based extenders. The optimal concentration of soybean in the extenders for cryopreservation of spermatozoa was 0.8–1.5%.

Keywords: Soybean, egg yolk, extender, cryopreservation, spermatozoa

PENDAHULUAN

Penggunaan kriopreservasi semen pada aplikasi teknologi inseminasi buatan (IB) memiliki banyak keuntungan dalam bidang peternakan, terutama dalam program pemuliaan (Salamon dan Maxwell 1995). Penggunaan semen beku untuk IB dapat melindungi hewan jantan dari stres akibat transportasi untuk program perkawinan, mencegah risiko penularan penyakit, dan mendukung pelestarian materi genetik ternak bernilai tinggi (Silva *et al.* 2000). Namun untuk beberapa ternak, proses preservasi spermatozoa masih menjadi masalah, terutama selama tahapan pembekuan. Tahapan tersebut mengakibatkan perubahan biologis dan fungsional pada spermatozoa (Oliveira 2002; Ortega *et al.* 2003).

Komposisi bahan pengencer yang digunakan untuk kriopreservasi semen diharapkan mampu melindungi spermatozoa dari kejutan dingin, mempertahankan motilitas dan kemampuan fertilitas spermatozoa, serta menjaga kestabilan membran plasma dan ketersediaan substrat energi untuk spermatozoa. Hal ini penting untuk mengurangi efek negatif perubahan pH dan osmolaritas, mencegah pertumbuhan bakteri, dan melindungi sel-sel spermatozoa dari kerusakan yang disebabkan oleh proses pendinginan, pembekuan, dan pencairan kembali (*thawing*) (Futino *et al.* 2010).

Salah satu komponen bahan pengencer yang umum digunakan adalah kuning telur. Penambahan kuning telur dalam bahan pengencer dapat melindungi membran spermatozoa pada saat pendinginan atau pembekuan. Kandungan lesitin kuning telur yang bersifat membran *coating* dapat mempertahankan konfigurasi normal *phospholipid bilayer* yang merupakan susunan utama membran spermatozoa (Amirat *et al.* 2004). Namun, kuning telur sebagai komponen bahan pengencer memiliki risiko kontaminasi mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Gil *et al.* 2003).

Kedelai memiliki kecenderungan terkontaminasi bakteri lebih kecil daripada kuning telur, mampu menekan stres oksidatif, dan memiliki bahan-bahan mirip dengan lesitin pada kuning telur. Hal tersebut memberi peluang bagi kedelai melindungi *cold shock* pada saat kriopreservasi (Aires *et al.* 2003; Ogbuewu *et al.* 2010). Kandungan lesitin dari kedelai merupakan pilihan yang tepat sebagai sumber lesitin pada bahan pengencer semen di masa yang akan datang.

FAKTOR PENYEBAB KERUSAKAN SPERMATOZOA SELAMA PROSES KRIOPRESERVASI

Faktor utama yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa selama proses kriopreservasi yaitu kejutan dingin (*cold shock*), perubahan intraseluler akibat pengeluaran air yang berkaitan dengan pembentukan kristal es, peroksida lipid, dan faktor antibeku pada plasma semen. Kerusakan yang terjadi pada spermatozoa selama proses kriopreservasi meliputi 1) kerusakan mekanis yang ditandai oleh kerusakan organel sitoplasma atau pecah karena ekspansi es, 2) konsentrasi larutan menjadi toksik akibat dehidrasi dari suspensi media baik intra maupun ekstraseluler, serta 3) perubahan fisik maupun kimiawi di antaranya presipitasi, denaturasi, koagulasi protein, disosiasi ion, dan kehilangan sifat-sifat absorpsi atau pengikat air (Paulenz *et al.* 2005).

Kejutan Dingin (*Cold Shock*)

Kejutan dingin mencakup kerusakan pada membran seluler dan perubahan fungsi metabolik, yang kemungkinan disebabkan oleh perubahan susunan struktur membran (Medeiros *et al.* 2002). Kejutan dingin terjadi karena penurunan temperatur secara mendadak yang berakibat pada penurunan viabilitas sel. Fenomena kejutan dingin berkaitan dengan fase transisi membran lipid yang menyebabkan terjadinya fase pemisahan sifat permeabilitas secara selektif dari membran biologik sel hidup (Watson 2000). Efek kejutan dingin pada spermatozoa adalah penurunan aktivitas flagella, kerusakan organel intraseluler dan membran sel, penurunan motilitas dan daya hidup, serta perubahan permeabilitas dan komponen lipid pada membran. Jumlah spermatozoa motil mengalami penurunan yang disertai oleh pelepasan enzim, perpindahan ion melewati membran, dan penurunan kandungan lipid seperti fosfolipid dan kolesterol yang sangat berperan dalam mempertahankan integritas membran plasma, serta penurunan kemampuan spermatozoa untuk mengontrol aliran Ca^{2+} (Ogbuewu *et al.* 2010).

Pembentukan Kristal Es

Pembentukan kristal-kristal es selama proses kriopreservasi menyebabkan terjadinya penumpukan elektrolit di dalam sel, yang merusak sel secara mekanik. Elektrolit yang menumpuk akan merusak dinding sel sehingga pada waktu *thawing* permeabilitas membran plasma akan berubah yang menyebabkan kematian sel.

Pembentukan kristal-kristal es kemungkinan berkaitan dengan perubahan tekanan osmosis dalam fraksi yang tidak mengalami pembekuan (Watson 2000). Efek yang ditimbulkan oleh pembentukan kristal-kristal es adalah penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa, peningkatan pengeluaran enzim-enzim intraseluler ke luar sel, dan kerusakan pada organel-organel sel, seperti lisosom dan mitokondria. Dijelaskan lebih lanjut bahwa jika lisosom pecah akan mengeluarkan enzim hidrolase sehingga akan mencerna bagian sel yang lain, sedangkan mitokondria rusak menyebabkan putusnya rantai oksidasi. Organel mitokondria berperan sebagai sumber energi yang akan menggertak mikrotubul sehingga terjadi pergesekan di antara mikrotubul. Akibatnya spermatozoa dapat bergerak secara bebas (Gazali dan Taming 2002).

Radikal Bebas dan Peroksida Lipid

Radikal bebas yang merupakan senyawa oksigen reaktif atau *reactive oxygen species* (ROS) adalah molekul atau oksidan yang sangat reaktif walaupun derajat kekuatannya berbeda-beda karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya. Senyawa ini dapat bereaksi dengan molekul sel dengan cara mengikat elektron dari molekul sel tersebut, yang mengakibatkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru, seperti *superoksida dismutase* (SOD) dan *nitric oxide* (NO). Radikal bebas dapat menyebabkan reaksi berlanjut sampai dihilangkan oleh reaksi dengan radikal bebas lain atau sistem antioksidan (Zhu *et al.* 2010).

Tinginya komposisi spermatozoa dengan asam lemak tidak jenuh memiliki konsekuensi yang tidak menguntungkan karena menjadi rentan terhadap peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid yang meluas menimbulkan kerusakan oksidatif terhadap asam lemak tidak jenuh ganda atau lipid yang memiliki lebih dari dua ikatan kovalen karbon-karbon. Kondisi ini menyebabkan instabilitas membran karena terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa yang bersifat toksik yang merusak membran sel (Gogol and Wierzbos-Hilczner 2009; Ogbuewu *et al.* 2010). Efek peroksidasi pada spermatozoa beberapa mamalia adalah hilangnya motilitas secara permanen, penghambatan fruktolisis dan respirasi, pengikatan enzim intraseluler, dan kerusakan struktur membran plasma, yang berujung pada menurunnya kemampuan fertilisasi (Anghel *et al.* 2009).

Faktor Antibeku pada Plasma Semen

Faktor antibeku yang terdapat dalam plasma semen yaitu *egg-yolk coagulating enzyme* (EYCE). EYCE diduga merupakan enzim fosfolipase A yang disekresikan oleh kelenjar bulbouretralis. Apabila enzim ini bereaksi dengan kuning telur yang terdapat dalam media pengencer mengakibatkan kematian spermatozoa. Enzim fosfolipase A menguraikan lesitin dari kuning telur menjadi lisolesitin dan asam lemak tak jenuh yang bersifat toksik (Paulenz *et al.* 2005). Menurut Ari dan Daskin (2010), pembentukan lisolesitin terjadi karena fosfolipase A memutus gugus R2 dari lesitin yang digantikan oleh asam oleat atau asam lemak tak jenuh.

PERANAN KUNING TELUR DALAM BAHAN PENGECER SPERMATOZOA

Untuk menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa agar dapat mempertahankan kelangsungan hidupnya selama proses kriopreservasi maka harus ditambahkan bahan pengencer. Syarat bahan pengencer antara lain mengandung unsur-unsur yang hampir sama dengan sifat fisik dan kimia semen, tidak boleh mengandung zat-zat yang bersifat racun, baik terhadap spermatozoa maupun saluran kelamin hewan betina, dan dapat mempertahankan kemampuan fertilisasi spermatozoa (Purdy 2006). Secara umum bahan pengencer terdiri atas tiga bagian, yaitu 1) bahan dasar seperti kuning telur dan susu, 2) bahan penyangga (bufer), seperti asam sitrat dan tris, serta 3) bahan tambahan seperti gliserol dan antibiotik (Hafez and Hafez 2000).

Kuning telur merupakan komponen yang paling umum digunakan sebagai bahan pengencer sebagai pelindung membran plasma dan akrosom spermatozoa terhadap kejutan dingin selama proses kriopreservasi karena kandungan fosfolipid, *low density lipoprotein*, dan kolesterolnya (Watson 2000; Amirat *et al.* 2004). Komponen yang berperan aktif dalam mencegah kejutan dingin dan melindungi membran spermatozoa terhadap kerusakan selama penyimpanan, pendinginan, dan pembekuan adalah fraksi dengan berat jenis rendah, yaitu *low density lipoprotein* (Moussa *et al.* 2002; Bergeron *et al.* 2007). *Low density lipoprotein* menyusun sekitar 2/3 dari total bahan padat kuning telur ayam dengan komposisi 85–90% lipid (69% trigliserida, 26% fosfolipid dan 5% kolesterol) dan 10–15% protein (Botham dan Mayes 2009).

Kuning telur terdiri atas 33% lipid dan antioksidan yang penting untuk perkembangan embrio. Kandungan phovitin, ceruloplasmin, ovalbumin, dan ovotransferin yang terdapat pada kuning telur dapat menghilangkan ion logam bebas yang dapat mengkatalis produksi *reactive oxygen species* (ROS). Protein yang mirip dengan ekstraselular superoksida dismutase dan plasma glutathion peroksidase pada kuning telur dapat berkontribusi dalam

meningkatkan kapasitas antioksidan (Mann dan Mann 2008). Kuning telur mempunyai sifat sebagai penyangga tekanan osmotik sehingga spermatozoa lebih toleran terhadap lingkungan yang hipotonik atau hipertonik (Khalifa dan El-Saidy 2006).

Fosfolipid kuning telur seperti fosfatidilkolin berperan penting dalam melindungi membran spermatozoa selama proses pembekuan. Khasiat utama kuning telur adalah mengandung lesitin (*phosphatidyl choline*) yang bersifat membran *coating* untuk mempertahankan konfigurasi normal dari fosfolipid bilayer yang merupakan susunan utama membran spermatozoa. Di dalam kuning telur terdapat lesitin yang dapat mempertahankan motilitas spermatozoa dari kejutan dingin karena kandungan *phosphatidylcholine* dan lesitin dapat melindungi membran plasma dengan cara mengembalikan kembali fosfolipid yang hilang selama kejutan panas (Futino *et al.* 2010). Vishwanath dan Shannon (2000) melaporkan kuning telur dapat mengurangi efek toksik dari seminal plasma dan menyediakan substrat untuk menetralkan H₂O₂ yang dihasilkan selama metabolisme spermatozoa.

Penggunaan kuning telur berkisar antara 0–20%. Spermatozoa hidup terbaik dihasilkan dari semen beku dengan konsentrasi kuning telur 10%. Kesuksesan aplikasi teknologi inseminasi buatan juga dilaporkan menggunakan semen beku dengan konsentrasi kuning telur 20% sebagai bahan pengencer (Fontbonne dan Badinand 1993).

DASAR PERTIMBANGAN PENGGUNAAN SARI KEDELAI SEBAGAI BAHAN PENGECER

Bahan pengencer yang biasa digunakan untuk pembekuan semen ternak antara lain kuning telur. Beberapa formulasi bahan pengencer dengan kandungan kuning telur untuk kriopreservasi spermatozoa ternak telah banyak dipelajari. Meskipun menghasilkan tingkat fertilisasi yang baik, penggunaan bahan pengencer berbasis kuning telur memiliki risiko kontaminasi mikroorganisme seperti bakteri dan jamur (Gil *et al.* 2003). Kontaminasi tersebut mengakibatkan pelepasan endotoksin yang dapat mengurangi kemampuan fertilisasi spermatozoa (Bittencourt *et al.* 2008). Kuning telur mengandung zat yang menghambat respirasi spermatozoa yang menurunkan tingkat motilitas (Forouzanfar *et al.* 2010) dan meningkatkan risiko penularan penyakit melalui transportasi *straw* semen beku berbasis pengencer kuning telur (Beccaglia *et al.* 2009).

Selain itu, viskositas yang lebih besar pada partikel kuning telur dapat mengganggu penilaian karakteristik semen secara mikroskopis (Vishwanath dan Shannon 2000). Di sisi lain, masalah bahan pengencer yang mengandung kuning telur berkaitan dengan enzim dari bulbouretral asal kelenjar yang disebut *egg yolk*

coagulating enzyme (EYCE). Interaksi antara kuning telur dan enzim ini menghasilkan efek toksik bagi sel spermatozoa (Purdy 2006). Oleh karena itu, bahan pengencer yang bebas dari protein hewani telah diuji dalam beberapa tahun terakhir. Alternatif yang memungkinkan untuk mengganti komponen bahan pengencer yang berasal dari hewan untuk pembekuan semen adalah kedelai. Perbandingan komposisi yang terkandung dalam kedelai dan kuning telur ditampilkan pada Tabel 1.

El-Keraby *et al.* (2010) menyatakan bahwa kedelai mengandung lesitin lebih tinggi dibanding kuning telur. Selain itu, kuning telur memiliki kecenderungan terkontaminasi bakteri lebih besar daripada kedelai. Lesitin dari kedelai merupakan pilihan yang tepat sebagai sumber lesitin bahan pengencer di masa yang akan datang (Aires *et al.* 2003). Lesitin kedelai memiliki bahan-bahan yang mirip dengan lesitin pada kuning telur yang digunakan untuk perlindungan terhadap *cold shock* pada saat kriopreservasi (Thun *et al.* 2002). Roof *et al.* (2012) melaporkan interaksi antara *egg yolk coagulating enzyme* dan lesitin tidak menghasilkan efek toksik pada spermatozoa. Kedelai mampu menekan stres oksidatif (Ogbuewu *et al.* 2010). Selain itu, kedelai yang belum maupun yang sudah mengalami penyulingan memiliki kandungan fosfolipid sebagai komponen utama fraksi fosfat (Bergeron dan Manjunath 2006; Aku *et al.* 2007; Campbell dan Farrel 2007). Kandungan fosfolipid antara lain fosfatidil kolin 17,50% dan 23,00%, fosfatidil etanolamin 15,00% dan 20,00%, glikolipid 13–16%, fosfolipid lainnya 14–18%, dan trigliserida 2–4% (Shurtleff dan Aoyagi 2004).

Kemampuan kedelai (lesitin nabati) sebagai bahan pengencer menggantikan kuning telur (lesitin hewani) modifikasi trehalosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) yang merupakan gula nonpereduksi golongan disakarida (α -D-glukopiranosil-(1 \rightarrow 1)- α -D-glukopiranosil) dari dua molekul glukosa yang terikat melalui ikatan α -1.1 dan mengandung antioksidan, serta rafinosa ($C_{18}H_{32}O_{16}$) yang merupakan gula pereduksi golongan trisakarida (α -D-galaktopiranosil-(1-6)- α -D-glukopiranosida- α -D-fruktufuranosil) dari satu molekul galaktosa dan glukosa yang terikat melalui ikatan α -1.6. serta satu molekul fruktosa. Bahan ini diduga mampu

menyimpan cadangan energi lebih lama selama proses penyimpanan di dalam semen cair serta berperan menjaga stabilitas membran plasma karena berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler dan digunakan sebagai dasar untuk pembuatan semen beku (Bender dan Mayes 2009).

PERANAN SARI KEDELAI SEBAGAI BAHAN PENGENCER UNTUK PRESERVASI SPERMATOZOA

Penambahan bahan pengencer dan kriopreservasi spermatozoa untuk membandingkan berbagai jenis pengencer dengan sumber lipoprotein dan lesitin yang berbeda telah banyak dilaporkan. Forouzanfar *et al.* (2010) melaporkan motilitas dan viabilitas spermatozoa domba dari bahan pengencer yang mengandung 1% kedelai lebih tinggi dibandingkan dengan bahan pengencer yang mengandung 20% kuning telur. Beberapa penelitian menunjukkan konsentrasi kedelai yang optimal untuk kriopreservasi spermatozoa kambing adalah 1,5% (Salmani *et al.* 2014). Tingkat optimum kedelai untuk kriopreservasi spermatozoa kuda (Nouri *et al.* 2013), kucing (Vick *et al.* 2010) dan anjing (Kmenta *et al.* 2011) masing-masing 1,25%, 1%, dan 0,8% (Tabel 2).

Penelitian Rezki *et al.* (2016) menyimpulkan penambahan pengencer kombinasi antara sari kedelai dan Tris yang digunakan memiliki hasil yang tidak baik pada motilitas, persentase hidup abnormalitas, dan daya hidup sperma sapi pejantan peranakan ongole (PO) Kebumen, namun dapat mempertahankan konfigurasi normal bentuk spermatozoa sehingga dapat meminimalkan persentase abnormalitas. Putra (2012) telah meneliti konsentrasi Tris sari kedelai yang tepat untuk pengencer semen cair kambing Peranakan Etawah, yaitu pengencer Tris sari kedelai dengan konsentrasi 2,50% dan 3,75% lebih baik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa dan spermatozoa hidup.

Di sisi lain, peningkatan konsentrasi sari kedelai lebih dari 1,5% pada bahan pengencer mengurangi kualitas spermatozoa setelah proses pencairan kembali (*thawing*). Konsentrasi sari kedelai yang tinggi mengakibatkan toksik dan menurunnya tekanan osmotik pada bahan

Tabel 1. Komposisi zat gizi yang terkandung dalam kedelai dan kuning telur.

Zat gizi	Kedelai		Kuning telur	
	Wu dan Wang (2003)	Aku <i>et al.</i> (2007)	Juneja <i>et al.</i> (1994)	Dong <i>et al.</i> (2006)
Fosfatidil kolin (lesitin) (%)	18	17,50–23,00	80,80	77
Fosfatidil etanolamin (%)	14	15,00–20,00	11,70	18
Glikolipid (%)	11	13–16	-	-
Fosfolipid lainnya (%)	15	14–18	-	-
Trigliserida (%)	-	2–4	-	-
Lisofosfatidil kolin (%)	-	-	1,90	-
Sphingomyelin (%)	-	-	1,90	3
Lemak netral (nonpolar) dan bahan lain (%)	37	-	3,70	-

Tabel 2. Perbandingan karakteristik spermatozoa hewan dalam bahan pengencer berbasis kedelai dan kuning telur.

Semen	Komponen bahan	Kadar	Motilitas (%)	Spermatozoa progresif	Intensitas membran	Viabilitas	Sumber
Kambing	Kedelai	2,5	51,11	-	53,59	59,42	Ariantie <i>et al.</i> (2014)
	Kuning telur	20	51,11	-	53,53	57,86	
Domba	Kedelai	1	51,9 ± 4,8	-	-	48,1 ± 3,5	Forouzanfar <i>et al.</i> (2010)
	Kuning telur	20	51,8 ± 2,9	-	-	46,7 ± 4,0	
Kucing	Kedelai	1	59,2 ± 16,8	2,5 ± 0,8	-	-	Vick <i>et al.</i> (2010)
	Kuning telur	20	60,0 ± 12,1	2,6 ± 0,5	-	-	
Anjing	Kedelai	0,8	82,9	-	-	83,4 ± 7,6	Kmenta <i>et al.</i> (2011)
	Kuning telur	20	82,2	-	-	76,0 ± 13,5	
Sapi	Kedelai	1	31,43 ± 3,87	24,90 ± 3,22	-	-	Crespilho <i>et al.</i> (2012)
	Kuning telur	20	58,52 ± 2,98	40,48 ± 1,83	-	-	
Kambing	Kedelai	2,5	58,33 ± 2,50	-	-	58,68 ± 2,25	Putra (2012)
	Kuning telur	20	70,00 ± 0,00	-	-	70,53 ± 0,31	
Kuda	Kedelai	1,25	49,3 ± 3,46	21,3 ± 1,64	48,8 ± 1,46	-	Nouri <i>et al.</i> (2013)
	Kuning telur	4	32,8 ± 2,67	12,2 ± 0,80	31,4 ± 1,19	-	
Kambing	Kedelai	1,5	59,8 ± 1,8	35,4 ± 1,6	64,9 ± 1,7	67,2 ± 1,68	Salmani <i>et al.</i> (2014)
	Kuning telur	15	58,4 ± 1,8	33,8 ± 1,6	62,7 ± 1,68	66,0 ± 1,68	

pengencer, sehingga motilitas dan viabilitas spermatozoa menurun (Forouzanfar *et al.* 2010), termasuk kemampuan fertilisasi spermatozoa (Wagtendonk-de Leeuw *et al.* 2000).

Perbedaan ini berkaitan dengan komposisi membran plasma spermatozoa yang berbeda antarspesies yang berpengaruh pada jumlah sari kedelai yang diperlukan dalam bahan pengencer (Bencharif *et al.* 2008). Faktor lain yang mempengaruhi konsentrasi optimum sari kedelai dalam bahan pengencer adalah konsentrasi protein pada seminal plasma yang berperan menutupi membran spermatozoa dan menginduksi kolesterol dan fosfolipid membran spermatozoa (Manjunath *et al.* 2002). Konsentrasi protein pada seminal plasma membutuhkan lesitin kedelai yang tinggi untuk menyerap protein di seminal plasma dan berfungsi melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (Bergeron dan Manjunath 2006).

KESIMPULAN

Kedelai merupakan protein nabati yang dapat digunakan sebagai pengganti kuning telur dalam bahan pengencer untuk preservasi spermatozoa untuk mencegah kontaminasi mikroorganisme. Komposisi yang terkandung dalam kedelai mirip dengan kuning telur. Penggunaan bahan pengencer berbasis kedelai untuk preservasi spermatozoa menghasilkan kualitas yang sama atau bahkan lebih bagus dibandingkan kuning telur.

Konsentrasi sari kedelai yang tinggi mengakibatkan toksik dan menurunnya tekanan osmotik pada bahan pengencer, sehingga motilitas dan viabilitas spermatozoa menurun, termasuk kemampuan fertilisasi spermatozoa. Konsentrasi sari kedelai yang optimal pada bahan pengencer untuk kriopreservasi spermatozoa berkisar antara 0,8–1,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aires, V.A., K.D. Hinsch, F. Mueller-Schloesser, K. Bogner, S. Mueller-Schloesser, and E. Hinsch. 2003. *In vitro* and *in vivo* comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology* 60: 269–279.
- Aku, A.S., N. Sandiah, P.D. Sadsoeitoeboen, M.R. Amin, dan Herdis. 2007. Manfaat lesitin nabati pada preservasi dan kriopreservasi semen: suatu kajian pustaka. *Anim Prod.* 9(1): 49–52.
- Amirat, L., D. Tainturier, L. Jeanneau, C. Thorin, O. Gerard, J.L. Courtens, and M. Anton. 2004. Bull semen *in vitro* fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with optidyl, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology* 61: 895–907.
- Anghel, A.H., S. Zamfirescu, and D. Coprean. 2009. Influence of vitamin E on microscopic and oxidative parameters of frozen-thawed ram semen. *Lucrari Stiintifice* 54: 261–265.
- Ari, U.C. and A. Daskin. 2010. Freezing of washed Angora goat semen with extenders added bull or ram seminal plasma. *Kafkas University Vet Fak Derg* 16(2): 233–237.
- Ariantie, O.S. 2013. Kriopreservasi semen kambing peranakan etawah (PE) menggunakan pengencer tris-kuning telur dan tris-nya dengan modifikasi karbohidrat dan krioprotektan berbeda. Tesis Institut Pertanian Bogor.
- Ariantie, O.S., T.L. Yusuf, D. Sajuthi, dan R.I. Arifiantini. 2014. Kualitas semen cair kambing peranakan etawah dalam modifikasi pengencer tris dengan trehalosa dan rafinosa. *Jurnal Veteriner* 15(1): 11–22.
- Beccaglia, M., P. Anastasi, S. Chigioni, and G.C. Luvoni. 2009. TRIS-lecithin extender supplemented with antioxidant catalase for chilling of canine semen. *Reprod. Domestic Anim.* 44 (Suppl. 2): 345–349.
- Bencharif, D., L. Amirat, M. Anton, E. Schmitt, S. Desherces, G. Delhomme, M.L. Langlois, P. Barriere, M. Larrat, and D. Tainturier. 2008. The advantages of LDL (low density lipoproteins) in the cryopreservation of canine semen. *Theriogenology* 70: 1478–1488.
- Bender, D.A. and P.A. Mayes. 2009. Karbohidrat yang penting secara fisiologis. *Dalam: Murray, R.K., D.K. Granner, V.W. Rodwell. Biokimia Harper. Ed ke-27. Pendit, B.U. penerjemah. EGC, Jakarta hlm. 119–127.*

- Bergeron, A. and P. Manjunath. 2006. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Mol. Reprod. Dev.* 73: 1338–1344.
- Bergeron, A., Y. Brindle, P. Blondin, and P. Manjunath. 2007. Milk caseins decrease the binding of the major bovine seminal plasma proteins to sperm and prevent lipid loss from the sperm membrane during sperm storage. *Biol. Reprod.* 77: 120–126.
- Bittencourt, R.F., F.A.L. Ribeiro, M. Chalhoub, S.G.G. Alves, M.F. Vasconcelos, C.E. Biscarde, L.S. Leal, and E. Oba. 2008. Efeito de um quelante de cálcio, um detergente e da lecitina de soja sobre a qualidade dosêmen caprino congelado-descongelado. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 45: 305–312.
- Botham, K.M. and P.A. Mayes. 2009. Pengangkutan dan penyimpanan lipid. *Dalam: Murray, R.K., D.K. Granner, and V.W. Rodwell. Biokimia Harper. Ed ke-27. Pendit BU, penerjemah. EGC, Jakarta. hlm 225–238.*
- Campbell, M.K. and S.O. Farrel. 2007. Lipídeos e proteínas estão associadas a membranas biológicas. In: Campbell, M.K., Farrel, S.O. (Eds.), *Bioquímica*, 5th ed. Thomson Learning, São Paulo, pp. 202 (Cap. 8).
- Crespilho, A.M., M.F. SaFilho, J.A. Dell'Aqua Jr., M. Nichi M, G.A. Monteiro, B.R. Avanzi, A. Martins, and F.A. Papa. 2012. Comparison of in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or new lecithin based extenders. *Livestock Sci.* 149:1–6.
- Dong, U.A., H.L. Sang, S. Haribabu, J.L. Eun, and C.K. Jae. 2006. Sequential separation of main component from chicken egg yolk. *Food Sci. Biotechnol.* 12(2): 189–195.
- El-Karaby, F.E., K.T. Osman, H.B. Ganah, and E.M. El-Siefy. 2010. Soymilk-based extender for cryopreservation of bovine semen. *J. Anim. Poultry Prod.* 1(2): 61–69.
- Fontbonne, A. and F. Badinand. 1993. Studies on freezing dog spermatozoa: Effect of glycerol on motility after thawing. *J. Reprod. Fertil.* 47: 531–532.
- Forouzanfar, M., M. Sharafi, S.M. Hosseini, S. Ostadhosseini, M. Hajian, L. Hosseini, P. Abedi, N. Nili, H.R. Rahmani, and M.H. Nasr-Esfahani. 2010. In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology* 73: 480–487.
- Futino, D., M. Mendes, W. Matos, R. Mondadori, and C. Lucci. 2010. Glycerol, methyl-formamide and dimethyl-formamide in canine semen cryopreservation. *Reprod. Domest. Anim.* 45: 214–220.
- Gazali, M. and S.N. Tambing. 2002. Kriopreservasi sel spermatozoa. *J. Hayati* 9(1): 27–32.
- Gil, J., M. Rodriguez-Irazaqui, N. Lundeheim, L. Soderquist, and H. Rodriguez Martinez. 2003. Fertility of ram semen frozen in Bioxcell® and used for cervical artificial insemination. *Theriogenology* 59: 1157–1170.
- Gogol, P. and A. Wierzechs-Hilczner. 2009. Membrane integrity, energy status and motility of rabbit spermatozoa stored for 2 days at 15 °C. *J. Anim. Sci.* 9(1): 27–32.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, USA. pp. 96–442.
- Juneja, L.R., H. Sugino, M. Fujiki, M. Kim, and T. Yamamoto. 1994. Preparation of pure phospholipid from egg yolk. In: Sim, S.J. and S. Nakai (Eds.). *Egg Uses and Processing Technologies (New Developments)*. CAB International, Wallingford, UK.
- Khalifa, T.A.A. and B.E. El-Saidy. 2006. Pellet-freezing of Damascus goat semen in a chemically defined extender. *Anim. Reprod. Sci.* 93: 303–315.
- Kmenta, I., C. Strohmayer, F.M. Schlosser, and S.S. Somi. 2011. Effects of a lecithin and catalase containing semen extender and a second dilution with different enhancing buffers on the quality of cold-stored canine spermatozoa. *Theriogenology* 75: 1095–1103.
- Manjunath, P., V. Nauc, A. Bergeron, and M. Menard. 2002. Major proteins of bovine seminal plasma bind to the low-density lipoprotein fraction of hen's egg yolk. *Biol. Reprod.* 67: 1250–1258.
- Mann, K. and M. Mann. 2008. The chicken egg yolk plasma and granule proteomes. *Proteomics* 8: 178–191.
- Medeiros, C.M., F. Forell, A.T. Oliveira, and J.L. Rodrigues. 2002. Current status of sperm cryopreservation: why it isn't better. *Theriogenology* 57: 327–344.
- Moussa, M., V. Martinet, A. Trimeche, D. Tanturies, and M. Anton. 2002. Low density lipoprotein extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology* 57: 1591–1762.
- Nouri, H., A. Towhidi, M. Zhandi, and R. Sadeghi. 2013. The effects of centrifuged egg yolk used with INRA plus soybean lecithin extender on semen quality to freeze miniature Caspian horse semen. *J. Equine Vet. Sci.* 33: 1050–1053.
- Ogbuewu, I.P., N.O. Aladi, I.F. Etuk, M.N. Opara, M.C. Uchegbu, I.C. Okoli, and M.U. Iloje. 2010. Relevance of oxygen free radicals and antioxidants in sperm production and function. *Res. J. Vet. Sci.* 3(3): 138–164.
- Oliveira, J.V. 2002. Congelac, ão de sêmen de equídeos e seu uso: limitac, õese perspectivas. Paulista State University, Monograph, 21 pp. Available at: <http://www.reocities.com/andbt/semi02/Victor.pdf>. [21 Februari 2017].
- Ortega, A.M., A.C. Izquierdo, J.J.H. Gomez, I.M. Olivares-Corichi, V.M.M. Torres, and J.J.V. Mendez. 2003. Peroxidación lipídica y antioxidantes en la preservación de semen. *Interciencia* 28: 699–704.
- Paulenz, H., L. Soderquist, T. Adnoy, K. Soltun, P.A. Saether, K.R. Fjellsoy, and K.A. Berg. 2005. Effect of cervical and vaginal insemination with liquid semen stored at room temperature on fertility of goats. *Anim. Reprod. Sci.* 86: 109–117.
- Purdy, P. 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Res.* 63: 215–225.
- Putra, A. 2012. *Pemanfaatan Tris Sari Kedelai Sebagai Bahan Pengencer Semen Cair Kambing Peranakan Etawah*. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rezki, Z.M., D. Samsudewa, dan Y.S. Ondho. 2016. Pengaruh pengencer kombinasi sari kedelai dan tris terhadap kualitas mikroskopis spermatozoa pejantan sapi PO Kebumen. *Jurnal Sain Ternakan Indonesia* 11(2): 67–74.
- Roof, D.J., S. Bowley, L.L. Price, and D.J. Matsas. 2012. Comparison of two commercial extenders for cryopreservation of goat semen without sperm washing. *Theriogenology* 77: 412–420.
- Salamon, S. and W.M.C. Maxwell. 1995. Frozen of ram semen: II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Anim. Reprod. Sci.* 38: 1–36.
- Salmani, H., A. Towhidi, M. Zhandi, M. Bahreini, and M. Sharaf. 2014. In vitro assessment of soybean lecithin and egg yolk based diluents for cryopreservation of goat semen. *Cryobiology* 68: 276–280.
- Shurtleff, W. and A. Aoyagi. 2004. *Soyfoods Center: A chapter from the unpublished manuscript, history of soybeans and soyfoods: 1100 B.C. to the 1980s*. Lafayette, California.
- Silva, A.R., R.C.S. Cardoso, and L.D.M. Silva. 2000. Congelac, ão de sêmen caninocom diferentes concentrac, ões de gema de ovo e glicerol em diluidoresà base de Tris e água de coco. *Cienc Rural* 30: 1021–1025.
- Thun, R., M. Hurtado, and F. Janet. 2002. Comparison of Biochip-Plus® and tris egg yolk extender for cryopreservation of bull semen. *Theriogenology* 57: 1087–1094.

- Vick, M., H. Bateman, and W. Swanson. 2010. Improved cryopreservation of domestic cat spermatozoa in a soy lecithin-based extender. *Reprod. Fertil. Dev.* 23: 153–154.
- Vishwanath, R. and P. Shannon. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 23–53.
- Wagtendonk-de Leeuw, A.M., R.M. Haring, L.M. Kaal-Lansbergen, and J.H. den Daas. 2000. Fertility results using bovine semen cryopreserved with extenders based on egg yolk and soy bean extract. *Theriogenology* 54: 57–67.
- Watson, P.F. 2000. The cause of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 481–492.
- Wu, Y. and T. Wang. 2003. Soybean lecithin fractionation and functionality. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 80: 319–326.
- Zhu, H., H. Luo, H. Meng, G. Zhang, L. Yan, and D. Yue. 2010. Effect of vitamin E supplement in diet on antioxidant ability of testis in Boer goat. *Anim. Reprod. Sci.* 117: 90–94.