

PENAMBAHAN TREHALOSE DALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI PESISIR

Addition of Trehalose in Egg Yellow Tris Dilution on Semen Quality of Pesisir Cattle

Auli Two Putra Syahminan^{1*}, Jaswandi², Tinda Afriani²

¹Mahasiswa Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang - Indonesia

²Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang - Indonesia

*Corresponding Author: aulitp96@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to find out how the semen quality of pesisir cattle was after the addition of trehalose to egg yolk tris diluent. The research material in the form of fresh semen was obtained from pesisir cattle aged approximately 4 years and the quality of the semen had been tested by observing the quality of fresh semen before dilution. This study used a randomized block design with 4 treatments and 4 replications. The treatment given was the addition of trehalose in egg yolk tris diluent. The treatment given consisted of control, addition of trehalose 0.5%, 1% and 1.5%. The variables in this study included motility, viability, intact plasma membrane (MPU), and intact acrosome cap (TAU) of spermatozoa of pesisir cattle. The results of this study indicated that the addition of trehalose had a significant effect ($p < 0.05$) on the viability, MPU, TAU, and did not show a significant effect ($p > 0.05$) on the motility of spermatozoa of pesisir cattle. The results of this study indicated that the dose of trehalose addition of 1.5% in egg yolk tris diluent showed the best results on the quality of spermatozoa of pesisir cattle, where motility was found to be 53%, viability 61%, MPU 63%, and TAU 63%.

Keywords: Trehalose, Pesisir Cattle, Semen Quality of Pesisir Cattle.

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana kualitas semen sapi pesisir setelah penambahan trehalosa pada pengencer tris kuning telur. Materi penelitian berupa semen segar yang diperoleh dari sapi pesisir berumur lebih kurang 4 tahun dan telah teruji kualitasnya semennya yang diketahui dengan melakukan pengamatan terhadap kualitas semen segar sebelum pengenceran. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah penambahan trehalose dalam pengencer tris kuning telur. Perlakuan yang diberikan terdiri dari kontrol, penambahan trehalose 0,5%, 1%, dan 1,5%. Variabel dalam penelitian ini meliputi motilitas, viabilitas, membran plasma utuh (MPU), dan tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa sapi pesisir. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan trehalose memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap viabilitas, MPU, TAU dan tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan ($p > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa sapi pesisir. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dosis penambahan trehalosa sebesar 1,5% pada pengencer tris kuning telur menunjukkan hasil terbaik pada kualitas spermatozoa sapi pesisir, dimana ditemukan motilitas sebesar 53%, viabilitas 61%, MPU 63%, dan TAU 63%.

Kata kunci: Trehalose, Semen Sapi Pesisir, Kualitas Semen Sapi Pesisir.

PENDAHULUAN

Sapi Pesisir merupakan salah satu rumpun sapi lokal Indonesia yang mempunyai sebaran asli geografis di Provinsi Sumatera Barat, dan telah

ditetapkan melalui Keputusan Menteri Pertanian Nomor 2908/ Kpts/ OT. 140/ 6/ 2011 tanggal 17 Juni 2011. Sapi pesisir mempunyai ciri khas yang tidak dimiliki oleh sapi dari bangsa lainnya dan merupakan sumber daya genetik ternak Indonesia yang

perlu dijaga dan dipelihara kelestariannya sehingga dapat memberikan manfaat dalam peningkatan kesejahteraan dan kemakmuran rakyat Indonesia. Data tahun 2007 menunjukkan bahwa populasi ternak sapi di Kabupaten Pesisir Selatan tercatat sebanyak 86.593 ekor, dan hampir 80 % dari populasi ternak sapi yang dipelihara didaerah adalah sapi lokal Pesisir (Badan Pusat Statistik Kabupaten Pesisir Selatan, 2022).

Ternak sapi ini mempunyai badan relatif kecil dan sebagian besar berwarna coklat kemerah-merahan. Keunggulan utama ternak sapi ini adalah tahan terhadap lingkungan yang panas dan mampu memanfaatkan pakan berkualitas jelek. Sapi Pesisir memegang peran penting sebagai penghasil daging di Sumatera Barat, khususnya di Padang hampir 30 % dari ternak yang dipotong didaerah ini adalah sapi Pesisir. Selain itu, ternak ini juga dikenal sebagai hewan kurban karena tubuhnya yang relatif kecil yang menyebabkan harganya juga lebih murah dari ternak sapi lainnya. Kendala utama dalam pengembangan sapi Pesisir adalah tingkat kelahiran yang rendah, sementara tingkat pematangan terus meningkat. Kondisi ini selain menguras populasi ternak ini, juga cenderung mengalami seleksi negatif. (Sarbanini, 2004) dan hasil lebih rendah dilaporkan Yurnalis, (2013) yaitu sekitar 110 kg. Untuk meningkatkan produktivitas sapi dan untuk mempertahankan populasi sebagai plasma nutfah sapi lokal, perlu dilakukan terobosan budidaya dengan penerapan bioteknologi.

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi alternatif yang saat ini banyak digunakan untuk meningkatkan produktivitas dan populasi ternak. Selain itu IB dapat mengoptimalkan penggunaan semen pejantan yang memiliki potensi genetik unggul, sehingga seekor pejantan unggul dapat digunakan untuk mengawini banyak betina. Salah satu hal yang sangat

mempengaruhi keberhasilan IB adalah kualitas semen. Semen yang tidak segera digunakan pasca penampungan akan mengalami penurunan kualitas. Kualitas semen dapat dipertahankan pada saat penyimpanan dan pembekuan dengan cara penambahan bahan pengencer yang dapat mendukung kelangsungan hidup spermatozoa. Pengencer yang baik mampu mempertahankan kualitas semen (Hikmawan, *et al.*, 2016).

Salah satu faktor yang dapat menurunkan kualitas spermatozoa adalah terbentuknya Reaksi Oksigen Spesies (ROS) hasil metabolisme lemak. Bansal dan Bilaspuri (2011) mengulas bahwa trehalosa berperan sebagai *nonenzymatic scavenger* yang berperan penting dalam perlindungan spermatozoa terhadap ROS. Trehalosa, analog asam amino sulfonat, melintasi membran plasma sperma dan menghambat peroksidasi lipid, melindungi sel terhadap akumulasi ROS (Singh, *et al.*, 2011). Sebelumnya Bansal, *et al.*, (2009) juga menyampaikan bahwa beberapa alternatif untuk mengurangi pengaruh tersebut adalah dengan penambahan antioksidan dalam bahan pengencer semen, seperti glutathionin dan vitamin E, serta penambahan Trehalose.

Trehalose memiliki kemampuan untuk melindungi nutrisi yang terkandung di dalam semen dalam temperature yang sangat rendah dan sangat tinggi dibawah tekanan osmotik. Trehalose menyisipkan dirinya ke dalam membran fosfolipid bilayer, sehingga modulasi fluiditas membran sel lebih stabil selama pembekuan (Aboagla, *et al.*, 2004). Keunggulan penambahan trehalose dengan konsentrasi 1,5% di dalam pengencer mampu memperbaiki kualitas semen domba pampita (Aisen, *et al.*, 2002), konsentrasi 0,2% - 0,4% mampu memperbaiki kualitas semen beku domba garut (Herdis, *et al.*, 2006). Oleh karena itu perlu dilakukan upaya untuk menganalisa pengaruh

penambahan trehalose pada pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen sapi pesisir.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Februari - Mei 2023 yang bertempat di Balai Pengembangan Teknologi dan Sumberdaya (BPTSD) Buah Sakato Payakumbuh dan Laboratorium Bioteknologi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas.

Tabel 1. Kualitas Semen Segar Sapi Pesisir

No.	Volume	Konsistensi	PH	Gerakan Masa	Motilitas	Konsentrasi
U1	2 ml	Sedang	6,5	+++	75 %	1300
U2	3 ml	Sedang	6,5	+++	75 %	1800
U3	2,6 ml	Kental	6,5	+++	70 %	1400
U4	2,5 ml	kental	6,5	+++	75 %	1400

Peubah Yang Diamati

Motilitas Spermatozoa

Motilitas segera diamati. Sebanyak 10 µL semen diambil menggunakan mikrotub diteteskan pada gelas objek yang telah dihangatkan kemudian ditutup dengan gelas penutup. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100 kali dan 400 kali pada 10 lapang pandang. Penilaian diberikan dalam kisaran puluhan 0–100%. Persentase motilitas spermatozoa dihitung menggunakan rumus:

Motilitas (%)

$$= \frac{\text{Jumlah permatozoa yang bergerak maju}}{\text{Jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

Persentase Spermatozoa Hidup

Evaluasi spermatozoa hidup menggunakan eosin 2% dalam NaCl fisiologis untuk membuat media stain. Satu tetes semen dan satu tetes eosin diletakkan pada obeitglass dan dicampur dengan cara mengusapkan dengan *cover*, sehingga

Materi Penelitian

Materi penelitian berupa semen segar diperoleh dari sapi Pesisir berumur lebih kurang 4 tahun dan telah teruji kualitasnya semennya yang diketahui dengan melakukan pengamatan terhadap kualitas semen segar sebelum pengenceran. Bahan pengencer terdiri Tris Hydroxy amino methane, asam sitrat, fruktose, kuning telur itik, N₂ cair, NaCl, gliserol, dan pewarna eosin.

merata dan dibiarkan mengering. Setelah itu diamati 100 spermatozoa dibawah mikroskop paling kurang lima posisi dan spermatozoa yang berwarna merah menandai sudah mati dan yang tidak berwarna dinyatakan hidup, artinya tidak menyerap eosin. Persentase spermatozoa hidup dihitung menggunakan rumus:

Spermatozoa hidup (%)

$$= \frac{\text{Jumlah permatozoa hidup}}{\text{Jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

Membran Plasma Utuh (MPU)

MPU diamati dengan menggunakan metoda HOS-Tes, dengan larutan osmolaritas yang telah diinkubasi selama 1 jam. Spermatozoa dalam larutan osmolaritas diletakkan diatas objectglass dan ditutup dengan coverglass, kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Kemudian dilakukan perhitungan terhadap 100 spermatozoa dengan kriteria spermatozoa dengan MPU yang normal akan menahan cairan hipoosmotis didalam

sel, sehingga terlihat ekor melingkar atau membengkok dinyatakan membrane plasma yang utuh, sedangkan spermatozoa dengan ekor yang lurus menunjukkan membrane plasma telah mengalami kerusakan. Perhitungan persentase spermatozoa yang bereaksi terhadap larutan HOS dilakukan dengan cara:

MPU (%)

$$= \frac{\text{Jumlah permatozoa yang bereaksi}}{\text{Jumlah spermatozoa yang bereaksi + tidak bereaksi}} \times 100\%$$

Tudung Akrosom Utuh

Satu tetes semen dimasukkan ke dalam microtube berisi larutan formol-saline (2,54 g potassium dihydrogen phosphate, 5,41 g sodium chloride, 6,19 g *di-sodium hydrogen phosphate dehydrate*, 125 ml *formaldehyde solution* (37%), dan 875 ml *aquadest* (Arifiantini, 2006). Semen segar dimasukkan dalam larutan formol-saline dengan perbandingan 1:100. Selanjutnya dibiarkan selama 1 jam dan diambil satu tetes kemudian diletakkan pada gelas objek dan ditutup dengan gelas penutup. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop fase kontras dengan perbesaran 400x. Spermatozoa yang memiliki tudung akrosom yang utuh ditandai dengan 1/2 sampai 2/3 bagian anterior kepala berwarna lebih gelap dari bagian posterior. Pemeriksaan dilakukan pada 10 lapang pandang yang berbeda. Status akrosom dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

TAU (%)

$$= \frac{\text{Jumlah permatozoa dengan TAU}}{\text{Total jumlah spermatozoa}} \times 100\%$$

Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Penelitian dilakukan secara eksperimen menggunakan rancangan acak

kelompok (RAK) 4 x 4 (4 perlakuan trehalose dan 4 kali ulangan pengambilan sampel semen). Sampel semen diperoleh dari seekor pejantan sapi pesisir unggul berumur 4 tahun. Semen diambil dengan menggunakan vagina buatan, sekali seminggu 4 minggu berturut-turut. Perlakuan yang digunakan adalah berbagai konsentrasi trehalosa yang disusun dalam kelompok sebagai berikut:

T0 : Penambahan trehalosa 0% dalam pengencer

T1 : Penambahan trehalosa 0,5% dalam pengencer

T2 : Penambahan trehalosa 1% dalam pengencer

T3 : Penambahan trehalosa 1,5% dalam pengencer

Perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) yang ditemukan pada perlakuan akan dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Data yang didapatkan di lapangan di analisa menggunakan aplikasi IBM Statistic (V.25).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan trehalose dalam pengencer tris kuning telur tidak memberikan pengaruh yang signifikan ($p > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa sapi pesisir (Tabel 2). Dari rata-rata hasil penelitian ditemukan bahwa persentase motilitas paling tinggi adalah pada penambahan trehalose 1,5% yaitu 53%, dan yang paling rendah pada kontrol yaitu 43%. penambahan trehalosa lebih tinggi dari kontrol/tanpa penambahan theralose.

Tabel 2. Kualitas semen Sapi Pesisir

Kualitas Semen	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Motilitas (%)	43	48	48	53
Viabilitas (%)	57 ^a	58 ^{ab}	59 ^{bc}	61 ^c
Membran Plasma Utuh (MPU) (%)	55 ^a	58 ^b	61 ^c	63 ^c
Tudung Akrosom Utuh (TAU) (%)	59 ^a	59 ^a	63 ^b	63 ^b

Keterangan: ^{abc} Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Hasil penelitian ini lebih rendah dari penelitian sebelumnya oleh El-Sheshtawy *et al.*, (2015) dan Iqbal, *et al.*, (2018) yang menambahkan theralose dalam pengenceran semen dan menemukan motilitas spermatozoa mencapai 82% dan 77%, namun hasil penelitian ini sejalan dengan kedua penelitian tersebut bahwa penambahan theralosa dapat meningkatkan motilitas semen. Hal yang sama juga ditemukan oleh Zhu, *et al.*, (2017) bahwa nilai motilitas spermatozoa pada

Motilitas merupakan salah satu tolak ukur paling penting yang digunakan sebagai acuan fertilitas dan angka konsepsi semen beku. Oleh karena itu semakin tinggi nilai motilitas semen beku, maka tingkat fertilitas dan angka konsepsi yang dihasilkan juga semakin tinggi. Sejalan dengan pendapat Iqbal, *et al.*, (2016) bahwa motilitas umumnya dianggap sebagai salah satu ciri paling signifikan yang terkait dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa, selanjutnya Valente, *et al.*, (2010) mengamati tingkat konsepsi yang jauh lebih rendah pada semen beku tanpa penambahan theralose dibandingkan dengan semen beku yang ditambahkan theralose pada saat pengenceran. Penambahan theralose dapat meningkatkan motilitas spermatozoa diduga karena efek krioprotektanya pada integritas akrosom dan membran spermatozoa, sehingga meningkatkan keseimbangan akrosom dan membran plasma spermatozoa. Reddy, *et al.*, (2010) menyampaikan bahwa theralose menunjukkan efek krioprotektif pada integritas fungsional akrosom dan

mitokondria yang bertanggung jawab untuk pembentukan energi dari simpanan ATP intraseluler yang mengarah pada peningkatan motilitas sperma pasca pencairan. Ketidakseimbangan apa pun dapat merusak fungsi sperma melalui stres oksidatif, menyebabkan peningkatan tingkat peroksidasi lipid dan akibatnya hilangnya motilitas selama penyimpanan lama (Gibb dan Aitken, 2016) yang menurunkan motilitas sperma pasca pencairan (Maia, *et al.*, 2014).

Viabilitas

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan trehalose dalam pengencer tris kuning telur memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa sapi pesisir (Tabel 2). Dari rata-rata hasil penelitian ditemukan bahwa persentase viabilitas paling tinggi adalah pada penambahan trehalose 1,5% yaitu 61%, dan yang paling rendah pada kontrol yaitu 57%. Hasil penelitian ini lebih rendah dari penelitian sebelumnya oleh El-Sheshtawy, *et al.*, (2015) yang menambahkan theralose dalam pengenceran semen dan menemukan viabilitas spermatozoa mencapai viabilitas 87%, namun hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian tersebut bahwa penambahan theralose dapat meningkatkan motilitas semen. Sejalan juga dengan temuan Pelufo, *et al.*, (2015) yang mengamati bahwa penambahan trehalose meningkatkan viabilitas spermatozoa secara signifikan ($p < 0,05$), dibandingkan dengan tanpa

penambahan trehalose, dan penambahan trehalose ke menghasilkan viabilitas spermatozoa yang jauh lebih baik dibandingkan tanpa trehalose. Plufo, *et al.*, (2015) juga menyampaikan bahwa trehalose tampaknya memberikan efek krioprotektif pada membran plasma spermatozoa karena kapasitasnya untuk membentuk jembatan hidrogen dengan kepala polar fosfolipid membran, sehingga menggantikan molekul air dan menghambat terjadinya peristiwa fusi membran plasmatik.

Efek krioprotektif dari trehalosa ini merupakan faktor yang meningkatkan viabilitas spermatozoa karena dinilai dapat mengurangi molekul air sehingga menurunkan kemungkinan terjadinya efek kristal pada spermatozoa. Oztürk, *et al.*, (2019) menyampaikan bahwa trehalosa menunjukkan efek perlindungannya di lingkungan ekstraseluler dan mengurangi ukuran molekul air dengan mengikat atom hidrogen. Meskipun trehalose memiliki efek krioprotektan pada spermatozoa, namun jumlah trehalose yang berlebihan dinilai dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Krioprotektan memiliki peran penting dalam proses pembekuan sel, Krioprotektan yang mengikat molekul air intraseluler dan mencegah pembentukan kristal es tidak dapat keluar dari sel saat sel dicairkan. Oleh karena itu, keseimbangan osmotik intraseluler terganggu. Ketika kristal es ekstraseluler larut selama pencairan, tekanan osmotik ekstraseluler menjadi lebih tinggi daripada tekanan osmotik intraseluler. Dengan demikian, sel cenderung menerima air dari luar, namun karena krioprotektan intraseluler tidak dapat keluar dan masuknya air ke dalam sel meningkat menyebabkan sel membesar, yang akhirnya merusak membran sel. (Vrieling, *et al.*, 2016).

Membran Plasma Utuh (MPU)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan trehalose dalam

pengencer tris kuning telur memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap MPU spermatozoa sapi pesisir (Tabel 2). Dari rata-rata hasil penelitian ditemukan bahwa persentase MPU paling tinggi adalah pada penambahan trehalose 1,5% yaitu 63%, dan yang paling rendah pada kontrol yaitu 55%. Sejalan dengan penelitian Iqbal, *et al.*, (2018) yang menambahkan trehalose pada pengencer tris kuning telur sebanyak 25 mM, 35 mM, dan 45 mM dan menemukan semakin tinggi dosis trehalose, motilitas spermatozoa semakin meningkat MPU 61%. Penelitian lain oleh Afriani, *et al.*, (2021) menambahkan 0,5%, 1%, dan 1,5% trehalose pada pengenceran semen kerbau dengan pengencer tris kuning telur bebek dan menemukan nilai motilitas terbaik pada penambahan 1,5% trehalose yaitu sebesar 32,50%. Tingginya MPU pada spermatozoa dengan penambahan trehalose karena trehalose menunjukkan efek krioprotektif, efek ini terjadi dengan dua mekanisme. Pertama, trehalose berinteraksi dengan fosfolipid membran dan memberikan membran lebih stabil terhadap cryoinjury. Kedua, mirip dengan gliserol dan etilen glikol, trehalose berikatan dengan kristal es ekstraseluler. Hal ini menyebabkan hipertonisitas ekstraseluler, yang mengakibatkan keluarnya air dari sel dan mencegah pengkristalan intraseluler selama pembekuan. (Oztürk, *et al.*, 2019). Lebih lanjut disampaikan bahwa efek krioprotektif khususnya trehalosa terkait dengan efek osmotik dan pertukaran spesifik dengan fosfolipid membran (Iqbal, *et al.*, 2016). Peningkatan kualitas sperma yang didinginkan dan pasca-pencairan dengan menambahkan trehalose adalah karena mengurangi semua cedera yang disebabkan oleh kristalisasi karena trehalose adalah gula yang tidak permeabel membuat media hipertonik mengurangi kristalisasi intraseluler (Reddy, *et al.*, 2010)

MPU sangat penting untuk fungsi dan fertilitas spermatozoa, berkaitan dengan fungsinya untuk mempertahankan homeostasis (Rahman, *et al.*, 2020), perlindungan terhadap zat asing, interaksi dengan oosit, dan lapisan epitel saluran reproduksi betina (Jha, *et al.*, 2020). Kesuburan spermatozoa bergantung pada integritas membrane plasma karena memainkan peran penting dalam peristiwa fisiologis seperti kapasitas, reaksi akrosom, dan zona binding (Kang, *et al.*, 2020). Penambahan trehalosa dapat mempertahankan MPU karena trehalose mampu melindungi integritas sel terhadap berbagai tekanan lingkungan seperti dehidrasi, panas, dingin, dan oksidasi (El-Sheshtawy, *et al.*, 2015) trehalose memiliki sifat menstabilkan yang luar biasa karena pembentukan keadaan kaca non-higroskopis dan melindungi protein dan lipid membran dari degradasi selama proses pembekuan. Selain itu, trehalose telah banyak digunakan untuk meningkatkan parameter kualitas sperma dalam kriopreservasi semen dan efek perlindungannya secara signifikan meningkatkan kemampuan pembekuan spermatozoa karena peningkatan fluiditas membran yang dihasilkan dari penurunan suhu transisi membran, memungkinkan membran sperma untuk mentolerir efek suhu rendah (Hu, *et al.*, 2010). Tuncer, *et al.*, (2013) juga menyampaikan bahwa extender yang mengandung trehalose meningkatkan aksi antioksidan dan mengurangi stres oksidatif yang dipicu oleh kriopreservasi pada sapi jantan.

Tudung Akrosom Utuh (TAU)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan trehalose dalam pengencer tris kuning telur memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap TAU spermatozoa sapi pesisir (Tabel 2). Dari rata-rata hasil penelitian ditemukan bahwa persentase TAU paling tinggi adalah

pada penambahan trehalose 1% dan 1,5% yaitu 63%, dan yang paling rendah pada kontrol yaitu 59%. Sejalan dengan Zhu, *et al.*, (2017) menemukan bahwa penambahan trehalose menunjukkan nilai TAU yang jauh lebih tinggi dibandingkan kontrol. %. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian El-Sheshtawy, *et al.*, (2015) dan Iqbal, *et al.*, (2018) yang menemukan bahwa penambahan trehalosa dalam bahan pengencer dapat meningkatkan TAU spermatozoa hingga 78% dan 69%, dan nilai TAU pada penambahan trehalose lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan trehalose. Studi lain oleh Pelufo, *et al.*, (2015) yang menganalisis efek pembekuan dan pencairan menggunakan mikroskop elektron transmisi, dan menemukan bahwa penambahan trehalose menghasilkan jumlah membran plasma utuh yang jauh lebih tinggi di daerah akrosom dan postakrosomal, segmen anterior, serta bagian tengah, dibandingkan tanpa penambahan trehalose ($p < 0,001$).

TAU pada spermatozoa dengan penambahan trehalosa dikaitkan dengan efek krioprotektan dan kemampuan trehalose dalam menurunkan stress oksidatif selama proses pembekuan spermatozoa sehingga dapat mempertahankan keutuhan akrosom spermatozoa. Sesuai dengan Chhillar, *et al.*, (2012) dan Badr, *et al.*, (2010), melaporkan hasil serupa bahwa efek trehalose pada stres oksidatif bersamaan dengan kriopreservasi sperma memiliki efek yang menguntungkan, serta trehalose telah menunjukkan efek krioprotektif pada integritas fungsional akrosom dan mitokondria yang bertanggung jawab untuk menghasilkan energy dari simpanan ATP intraseluler yang mengarah pertahanan sperma pasca pencairan. TAU yang normal merupakan faktor penting untuk keberhasilan reaksi akrosom dan pada keberhasilan fertilisasi (Iqbal, *et al.*, 2016). Oleh karena itu penambahan trehalose

dinilai sangat menguntungkan terhadap kualitas semen.

KESIMPULAN

Penelitian ini mengantarkan penulis pada beberapa kesimpulan, yaitu:

1. Penambahan trehalose pada pengencer tris kuning telur memberikan pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) terhadap viabilitas, MPU, dan TAU spermatozoa sapi pesisir namun tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan ($p > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa sapi pesisir.
2. Taraf penambahan trehalose pada pengencer tris kuning telur yang menunjukkan hasil terbaik pada kualitas spermatozoa sapi pesisir adalah pada 1,5%, dimana ditemukan motilitas sebesar 53%, viabilitas 61%, MPU 63%, dan TAU 63%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla, E. M. E dan T. Terada, 2004. Effects of suplementation of trehalosa ext ender containing egg yolk with sodium dodecyl sulfate on the freezability of goat spermatozoa. *Theriogenology*. 45: 513-520.
- Afriani, T., Y. M. Pela, E. Roza, A. Rastosari, and A. Farhana. 2022. Addition of Trehalose of Duck Egg Yolk-Tris as an Extender Medium on Buffalo Frozen Semen. In *International Conference on Improving Tropical Animal Production for Food Security (ITAPS 2021)*. Atlantis Press. pp. 23-27.
- Aisen, E. G., V. H. Medina and A. Venturino. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram frozen semen in different trehalose concentratons. *Theriogenology*. 58:1801-1808.
- Badr, M. R., G. A. Mary, and M. H. Hassan. 2010. Effect of Trehalose on Cryopreservation, Oxidative Stress and DNA Integrity of Buffalo Spermatozoa. *J Reprod Infert*. 1 (2) : 50-57.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Pesisir Selatan. 2022. Kabupaten Pesisir Selatan Dalam Angka.
- Bansal, A.K dan G.S. Bilaspuri. 2009. Antioxidant effect of vitamin e on motility, viability and lipid peroxidation of Cattle spermatozoa under oxidative stress. *Animal science papers and reports*, 27(1):5-14.
- Bansal, A. K., and G. S. Bilaspuri. 2011. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary medicine international*. 2011.
- Celeghini ECC, Nascimento J, Raphael CFA, Andrade AFC, Arruda PR. 2010. Simultaneous assessment of plasmatic, acrosomal, and mitochondrial membranes in ram sperm by fluorescent probes. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterináriae Zootecnia* 62(3): 536-543.
- Chhillar, S., V. K. Singh, R. Kumar, S. K. Atreja. 2012. Effects of Taurine or Trehalose Supplementation on Functional Competence of Cryopreserved Karan Fries Semen. *Anim Reprod Sci*. 135 : 1-7.
- El-Sheshtawy, R. I., G. A. Sisy, and W. S. El-Nattat. 2015. Effects of Different Concentrations of Sucrose or Trehalose on the Post-Thawing Quality of Cattle Bull Semen. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 4 (1) : 26-31.

- Gibb, Z., and R. J. Aitken. 2016. The Impact of Sperm Metabolism during In Vitro Storage: The Stallion as a Model. *BioMed Res. Int.* 2016 : e9380609.
- Hikmawan, S.W., G. Cipatadi, dan S. Wahjuningsih. 2016. Kualitas Spermatozoa Swim Up Kambing Peranakan Etawah Hasil Pembekuan Menggunakan Metode Vitrifikasi dengan Persentase Gliserol yang Berbeda. *Jurnal Ternak Tropika.* 17(1).
- Herdis, M. Surachman, M. Rizal, A. Boediono dan Yulnawati. 2006. Pengaruh Penambahan Trehalosa dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut (*Ovis aries*). *Biosfera* 23 (1) : 24-30.
- Hu, J. H., L. S. Zan, X. L. Zhao, Q. W. Li, Z. L. Jiang, Y. K. Li, and X. Li. 2010. Effects of Trehalose Supplementation on Semen Quality and Oxidative Stress Variables in Frozen-Thawed Bovine Semen. *J Anim Sci.* 88 (5) : 1657-1662.
- Iqbal, S., Naz, S., Ahmed, H., & Andrabi, S. M. H. (2018). Cryoprotectant effect of trehalose in extender on post-thaw quality and in vivo fertility of water buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Andrologia*, 50(1), e12794.
- Iqbal, S., S. M. H. Andrabi, A. Riaz, A. Z. Durrani, and N. Ahmad. 2016. Trehalose Improves Semen Antioxidant Enzymes Activity, Post Thaw Quality, and Fertility in Nili Ravi Buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 85 : 954–959.
- Jha, P. K., M. G. S. Alam, M. A. A. Mansur, M. R. I. Talukder, N. Naher, A. K. M. A. Rahman, D. C. Hall, and F. Y. Bari. 2020. Effects of Number of Frozen-Thawed Ram Sperm and Number of Inseminations on Fertility in Synchronized Ewes Under Field Condition. *J Anim Reprod Biotechnol.* 35 (2) : 190-197.
- Maia, M. S., S. D. Bicudo, and L. Rodello. 2014. Effect of Hydrogen Peroxide on Thawed Ovine Sperm Motility. *Anim. Reprod.* 11 : 119–123.
- Oztürk, A. E., M. N. Bucak, M. Bodu, N. B. pınar, I. Çelik, Z. Shu, N. Keskin, and D. Gao. 2019. Cryobiology and Cryopreservation of Sperm. *Cryopreservation. Current Advances and Evaluations.* 2020.
- Peluffo, V., M. L. Armengol, V. Malcotti, A. Venturino, and E.G. Aisen. 2015. Effects of Glycerol and Sugar Mixing Temperature on the Morphologic and Functional Integrity of Cryopreserved Ram Sperm. *Theriogenology.* 83 : 144–151.
- Reddy, N. S. S., G. J. Mohanarao, and S. K. Atreja. 2010. Effects of Adding Taurine and Trehalose to A Tris-Based Egg Yolk Extender on Buffalo (*Bubalus bubalis*) Sperm Quality Following Cryopreservation. *Anim Reprod Sci.* 119 : 183-190.
- Rickard, J. P., T. Pini, C. Soleilhavoup, J. Cognie, R. Bathgate, G. W. Lynch, G. Evans, W. M. Maxwell, X. Druart, and S. P. de Graaf. 2014. Seminal plasma aids the survival and cervical transit of epididymal ram spermatozoa. *Reproduction.* 148 (5) : 469-478.
- Sarbaini. 2004. *Kajian Keragaman Karakteristik Eksternal dan DNA Mikrosatelit Sapi Pesisir Sumatera Barat Disertasi Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor*
- Singh, V. K., S. K. Atreja, R. Kumar, S. Chhillar, and A. K. Singh. 2012. Assessment of intracellular Ca²⁺,

- cAMP and 1, 2-diacylglycerol in cryopreserved buffalo (*bubalus bubalis*) spermatozoa on supplementation of taurine and trehalose in the extender. *Reprod Domst Anim.* 47 : 584–590.
- Tuncer, P. B., U. Taşdemir, S. Büyükleblebici, T. Özgürtaş, E. Coşkun, H. Erol, ... and I. S. Gürcan. 2013. Effects of Different Doses of Trehalose Supplementation in Egg Yolk Extender in Frozen–Thawed Angora Buck Semen. *Small Ruminant Research.* 113 (3) : 383-389.
- Valente, S., R. Pereira, M. Baptista, C. Marques, M. Vasques, M. S. Pereira, A. Horta, and J. Barbas, 2010. In Vitro and In Vivo Fertility of Ram Semen Cryopreserved in Different Extenders. *Anim. Reprod. Sci.* 117 : 74–77.
- Vrieling, A. S. O., A. Aloji, L. L. Olijve, and I. K. Voets. 2016. Interaction of Ice Binding Proteins With Ice, Water and Ions. *Biointerphases* 1 (1) : 018906.
- Yurnalis. 2013. Polimorfisme Gen Hormon Pertumbuhan Pada Sapi Pesisir Sumatera Barat. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Andalas.
- Zhu, Z., X. Fan, Y. Pan, Y. Lu, and W. Zeng. 2017. Trehalose Improves Rabbit Sperm Quality During Cryopreservation. *Cryobiology*, 75, 45-51.