

Optimalisasi Waktu Ekuilibrasi dan Metode Pencairan Kembali pada Proses Pembekuan Semen Domba Garut (*Ovis aries*)

(Optimalization of Equilibration and Thawing Methode on Freezing Process of Garut Ram Semen (*Ovis aries*))

Herdis¹, M. R. Toelihere², I. Supriatna², B. Purwantara² dan RTS. Adikara³

¹Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Gd. BPPT II Lt. 16,

Jln. M.H. Thamrin 8 Jakarta 10340. Tlp. 021-3169587 Fax. 021-3169566

²Program Studi Biologi Reproduksi Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

³Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya

Abstract

Generally, the problem of semen freezing process is cold shock effect and intracellular change due to water release which is related to ice crystal formation. One factor to solve the problem is finding out optimal equilibration time and thawing method so there is only a little damage spermatozoa during freezing process. The research has been done to explore the influence of equilibration time and thawing method on frozen semen quality of garut rams. The results shown that the mean of percentages of progressive motile sperm, percentages of viable sperm, percentages of plasma membrane and acrosomal intact on four hours equilibration (52.50% ; 62.33%; 57.17% and 56.42%) were not significantly different ($P>0.05$) from five hours equilibration (52.27%; 63.67%; 56.92% and 57.58 %) and six hours equilibration (54.17%; 61.00%; 59.42% and 58.58%) respectively. The percentages of progressive motile sperm, percentages of viable sperm, percentages of plasma membrane and acrosomal intact on the thawing method on the temperature of 37°C for 30 seconds (53.33% ; 62.39%; 57.94% dan 58.61) were not significantly different ($P>0.05$) from the thawing method on the temperature of 25°C for 45 seconds (52.22% ; 62.28%; 57.72% dan 56.44) respectively. The conclusion shown that the treatment of four hours equilibration, five hours equilibration, six hours equilibration and also the treatment of thawing method on the temperature of 37°C for 30 seconds and the thawing method on the temperature of 25°C for 45 seconds do not have effect on garut ram freezing semen quality.

Key Words : Equilibration, Thawing, Semen, Garut ram

Pendahuluan

Domba Garut merupakan plasma nutfah domba Indonesia yang sangat potensial untuk dikembangkan. Domba Garut jantan dewasa mempunyai rata-rata bobot badan sekitar 60-80 kg bahkan dapat mencapai 110 kg sedangkan yang betina sekitar 30-40 kg. Domba Garut jantan biasa digunakan sebagai domba laga yang berperan dalam industri pariwisata sehingga mempunyai nilai ekonomis yang lebih tinggi dibandingkan domba lokal.

Domba Garut jantan memiliki postur yang gagah dan tanduk yang khas dengan ukuran yang besar, kokoh, kuat dan melingkar. Kelebihan lain adalah cepat dewasa kelamin, tidak mengenal musim kawin, dan mempunyai

sifat dapat melahirkan anak kembar dua ekor atau lebih (Qomariyah *et al.*, 2001)

Dalam pengembangbiakan domba garut masalah utama yang menjadi kendala adalah terbatasnya pejantan unggul. Pejantan domba garut unggul populasinya sangat sedikit dan harganya relatif mahal karena biasa digunakan untuk kontes domba laga.

Penerapan teknologi pengolahan semen untuk inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu alternatif yang tepat guna mengatasi masalah kelangkaan pejantan unggul domba Garut. Pada proses pembekuan semen, masalah yang sering timbul adalah pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) terhadap sel yang dibekukan dan perubahan intraseluler akibat pengeluaran yang berhubungan dengan pembentukan kristal es.

Upaya mengurangi pengaruh kejutan dingin akibat proses pembekuan, maka dilakukan ekuilibrasi yaitu memberikan waktu supaya spermatozoa dapat beradaptasi dengan pengencer yang digunakan. Menurut Salamon dan Maxwell (1995), ekuilibrasi merupakan periode adaptasi spermatozoa guna mengurangi metabolisme. Selama itu terjadi penetrasi gliserol ke dalam spermatozoa untuk menciptakan keseimbangan konsentrasi intraseluler dan ekstraseluler.

Proses pendinginan dan pencairan kembali (*thawing*) mempunyai pengaruh terhadap kelangsungan hidup spermatozoa. Pengaruh tersebut tergantung pada apakah tingkat pendinginan cukup tinggi untuk menginduksi pembekuan intraseluler atau cukup rendah untuk menyebabkan dehidrasi sel (Park dan Graham, 1992).

Mengetahui pentingnya waktu ekuilibrasi dan metode pencairan kembali pada proses pembekuan semen maka dilakukan penelitian tentang optimalisasi waktu ekuilibrasi dan metode pencairan kembali pada proses pembekuan semen domba garut. Hasil penelitian diharapkan bermanfaat dalam mendukung pengembangan populasi ternak domba Garut di Indonesia melalui penerapan teknologi inseminasi buatan.

Metode Penelitian

Materi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Budidaya Peternakan, P3 TBP-BPPT dan Peternakan domba Garut Lesan Putra Bogor.

Hewan percobaan yang digunakan terdiri dari enam ekor domba Garut jantan unggul dewasa kelamin dengan bobot badan antara 70 sampai 90 kg. Pakan yang diberikan berupa hijauan rumput segar sekitar 7 – 9 kg per ekor per hari ditambah konsentrat sekitar 0,7 kg per ekor per hari.

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari semen domba garut, pengencer semen Tris-kuning telur dengan komposisi pengencer : 2,42 g Tris (*hydroxymethyl*) aminomethan, 1,28 g asam sitrat monohidrat, 2,16 g D(-) fruktosa, 100.000 IU penisilin-G, 50 mg streptomisin sulfat *ad* 100 ml akuabidestilata (Herdis *et al.*, 2002).

Bahan lain yang digunakan adalah kuning telur ayam ras, gliserol, NaCl fisiologis, NaCl 3%, larutan hipoosmotik, formaldehida, eosin B, KY jelly dan alkohol.

Peralatan yang digunakan pada percobaan adalah timbangan mikro, tabung reaksi, termometer, gelas piala, gelas erlenmeyer, pipet tetes, gelas ukur, vagina buatan, mikroskop, haemositometer, pH meter, dan *waterbath*.

Protokol Penelitian

Semen ditampung sekali seminggu dengan menggunakan vagina buatan yang bertemperatur 40 sampai 42°C. Semen segar yang diperoleh kemudian dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi pemeriksaan volume, warna dan kekentalan. Pemeriksaan mikroskopis meliputi pemeriksaan gerak massa, konsentrasi, morfologi spermatozoa, motilitas, persentase hidup, membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh.

Setelah dievaluasi, semen segar diencerkan secara merata kemudian dibagi sesuai perlakuan ekuilibrasi yang diberikan yakni empat, lima, dan enam jam. Ekuilibrasi dilakukan dengan cara menyimpan *straw* di dalam lemari es yang bersuhu sekitar 5°C.

Pembekuan dilakukan dengan cara menempatkan *straw* yang telah berisi semen 10 cm di atas permukaan nitrogen cair (suhu sekitar - 130°C) selama 15 menit di dalam *styrofoam* yang ditutup rapat. Selanjutnya *straw* dimasukkan ke dalam nitrogen cair dan disimpan di dalam kontainer. Setelah satu minggu semen dicairkan kembali.

Metode *thawing* yang diberikan yakni memasukkan *straw* ke dalam air bersuhu 37°C selama 30 detik (metode pertama) dan air bersuhu 25°C selama 45 detik (metode kedua). Dari kedua jenis metode *thawing* yang berbeda diperoleh enam kelompok perlakuan yakni :

1. Waktu ekuilibrasi empat jam dengan metode *thawing* 37°C selama 30 detik.
2. Waktu ekuilibrasi empat jam dengan metode *thawing* 25°C selama 45 detik.
3. Waktu ekuilibrasi lima jam dengan metode *thawing* 37°C selama 30 detik.
4. Waktu ekuilibrasi lima jam dengan metode *thawing* 25°C selama 45 detik.
5. Waktu ekuilibrasi enam jam dengan metode *thawing* 37°C selama 30 detik.
6. Waktu ekuilibrasi enam jam dengan metode *thawing* 25°C selama 45 detik.

Guna mengetahui pengaruh perlakuan terhadap kualitas semen beku, dilakukan evaluasi pada tahap semen segar, tahap setelah pengenceran, tahap setelah ekuilibrasi dan tahap setelah pencairan kembali. Parameter yang diukur untuk setiap tahap evaluasi terdiri atas persentase motilitas, persentase hidup, persentase membran plasma utuh dan persentase tudung akrosom utuh spermatozoa.

Persentase motilitas adalah persentase spermatozoa yang bergerak ke depan, dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran objektif 40 kali. Evaluasi dilakukan dengan menggunakan sistem skor. Skor 0% (tidak ada yang bergerak) sampai 100% (seluruh spermatozoa bergerak ke depan).

Persentase spermatozoa hidup, dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran objektif 40 kali. Evaluasi menggunakan zat pewarna eosin-negrosin. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna sedangkan yang mati berwarna merah. Evaluasi menggunakan sistem skor 0-100%.

Penilaian persentase Membran Plasma Utuh (MPU) dilakukan dengan menggunakan

metode *Hypoosmotic Swelling* (HOS Test). Medium hipoosmotik dibuat dengan melarutkan 0,3 g fruktosa dan 0,7 g Na Citrat ke dalam 100 ml aquabidestilata. Setelah dicampurkan, sediaan diinkubasi dalam *waterbath* bersuhu 37°C selama 30 menit (Rodriquez-gil *et al.*, 1994). Evaluasi dilakukan di bawah mikroskop cahaya pada pembesaran 400 kali. Penilaian dilakukan dengan sistem skor 0 sampai 100%.

Persentase tudung akrosom utuh (% TAU) dievaluasi dengan melihat kondisi tudung akrosom. Semen dicampur dengan NaCl fisiologis ditambah formalin 1% yang berfungsi untuk mematikan dan menfiksasi spermatozoa. Evaluasi dilakukan dengan sistem skor 0 sampai 100%.

Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis ragam Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 2 x 3 dengan enam kali ulangan. Faktor pertama adalah waktu lamanya ekuilibrasi yakni : $E_1 = 4$ jam, $E_2 = 5$ jam, $E_3 = 6$ jam. Faktor kedua adalah metode *thawing* yakni suhu 37°C selama 30 detik dan metode *thawing* suhu 45°C selama 45 detik. Perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1993).

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik Semen Segar

Hasil evaluasi pada semen segar menunjukkan persentase motilitas spermatozoa yang dihasilkan sebesar $75,00 \pm 0,00\%$, persentase hidup spermatozoa $84,80 \pm 0,84\%$, konsentrasi spermatozoa 3.674 ± 400 juta/ml dan persentase spermatozoa abnormal $2,40 \pm 0,54\%$. Tabel 1 menunjukkan secara lengkap kualitas semen segar domba Garut yang dihasilkan.

Konsentrasi spermatozoa yang diperoleh sedikit lebih tinggi dari yang dilaporkan

Garner dan Hafez (2000), yang mengatakan bahwa konsentrasi semen domba adalah 2000-3000 juta/ml. Hasil hampir sama diperoleh Qomariyah *et al.* (2001) pada domba garut yang berumur 1-1,5 tahun, yaitu $3245 \pm 34,96$ juta/ml.

Abnormalitas spermatozoa domba garut yang diperoleh lebih rendah jika dibandingkan dengan yang hasil yang diperoleh Qomariyah *et al.* (2001) sebesar $7,34 \pm 0,35\%$ pada jenis domba yang sama. Menurut Ax *et al.* (2000), abnormalitas yang lebih dari 15% tidak dapat digunakan untuk inseminasi buatan. Semen segar yang diperoleh termasuk kedalam katagori memenuhi syarat untuk dilakukan proses pembekuan. Menurut Toelihere (1993) supaya dapat dilakukan proses pembekuan, semen segar harus mempunyai persentase motil progresif minimal 65%, konsentrasi spermatozoa 700 juta/ml dan abnormalitas kurang dari 20%.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Domba Garut

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan salah satu ciri yang sering dijadikan patokan paling sederhana dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan.

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan persentase motilitas dan persentase

hidup spermatozoa yang nyata dari tahap semen segar ke tahap setelah pembekuan. Keadaan ini terjadi karena selama proses pembekuan dan pencairan kembali terjadinya kerusakan integritas membran plasma sehingga menyebabkan menurunnya motilitas dan persentase hidup spermatozoa. Menurut Maxwell dan Watson (1996) selama proses pembekuan dan pencairan kembali terjadi perubahan struktur sel dan biokimia spermatozoa. Tabel 2 menunjukkan daya hidup spermatozoa pada perlakuan yang diberikan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama ekuilibrasi tidak berinteraksi dengan metode thawing yang dilakukan. Pada semua tahap pembekuan, perlakuan lama ekuilibrasi dan metode thawing tidak berpengaruh terhadap persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa yang dihasilkan. Evaluasi pada tahap setelah thawing menunjukkan, perlakuan lama ekuilibrasi enam jam menghasilkan persentase motilitas paling tinggi (54,17%) namun tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dibandingkan lama ekuilibrasi empat jam (52,50%) dan lima jam (52,27%). Persentase motilitas yang diperoleh memenuhi syarat untuk dilakukan inseminasi buatan. Menurut Hafez dan Hafez (2000) guna dapat diinseminasikan semen harus mempunyai persentase motilitas paling sedikit 40%.

Tabel 1. Kualitas semen segar Domba Garut

Karakteristik Semen	Rata - rata
Volume per ejakulat (ml)	$0,79 \pm 0,08$
Warna	Krem
Konsistensi	Kental
PH	$7,00 \pm 0,08$
Gerakan Massa	$3,0 \pm 0,00$
Konsentrasi (jt spermatozoa/ml)	3.674 ± 400
Persentase Motilitas (%)	$75,00 \pm 0,00$
Persentase Hidup (%)	$84,80 \pm 0,84$
Persentase Abnormal (%)	$2,40 \pm 0,54$
Persentase Tudung Akrosom Utuh (%)	$85,80 \pm 1,30$
Persentase Membran Plasma Utuh (%)	$85,80 \pm 1,92$

Tabel 2. Daya hidup spermatozoa domba Garut pada waktu ekuilibrasi dan metode *Thawing* yang berbeda.

Metode <i>Thawing</i>	Lama ekuilibrasi			Rataan
	4 jam	5 jam	6 jam	
<i>Rataan Persentase Motilitas</i>				
Setelah Pengenceran				
37°C- 30 detik	74,17 ± 2,04	74,17 ± 2,04	73,33 ± 2,58	73,89 ± 2,67
25°C- 45 detik	74,17 ± 2,04	74,17 ± 2,04	73,33 ± 2,58	73,89 ± 2,67
Rataan	74,17 ± 2,44	74,17 ± 2,44	73,33 ± 2,67	
Setelah Ekuilibrasi				
37°C- 30 detik	65,00 ± 00	66,67 ± 2,58	64,17 ± 2,04	65,28 ± 1,89
25°C- 45 detik	65,00 ± 00	66,67 ± 2,58	64,17 ± 2,04	65,28 ± 1,89
Rataan	65,00 ± 00	66,67 ± 2,46	64,17 ± 1,95	
Setelah <i>Thawing</i>				
37°C- 30 detik	54,17 ± 2,04	53,00 ± 4,47	54,17 ± 2,04	53,33 ± 3,43
25°C- 45 detik	50,83 ± 3,76	51,67 ± 2,58	54,17 ± 2,04	52,22 ± 3,08
Rataan	52,50 ± 3,37	52,27 ± 3,43	54,17 ± 1,95	
<i>Rataan Persentase Hidup</i>				
Setelah Pengenceran				
37°C- 30 detik	83,17 ± 1,94	83,17 ± 1,94	83,17 ± 1,94	83,17 ± 1,82
25°C- 45 detik	83,17 ± 1,94	83,17 ± 1,94	83,17 ± 1,94	83,17 ± 1,82
Rataan	83,17 ± 1,85	83,17 ± 1,85	83,17 ± 1,85	
Setelah Ekuilibrasi				
37°C- 30 detik	80,67 ± 2,07	78,67 ± 2,07	76,67 ± 1,97	78,67 ± 2,54
25°C- 45 detik	80,67 ± 2,07	78,67 ± 2,07	76,67 ± 1,97	78,67 ± 2,54
Rataan	80,67 ± 1,97	78,67 ± 1,97	76,67 ± 1,97	
Setelah <i>Thawing</i>				
37°C- 30 detik	63,67 ± 2,34	62,17 ± 4,17	61,33 ± 2,50	62,39 ± 3,05
25°C- 45 detik	61,00 ± 3,29	65,17 ± 3,19	60,67 ± 1,55	62,28 ± 3,36
Rataan	62,33 ± 3,06	63,67 ± 3,87	61,00 ± 2,00	

Pada parameter persentase hidup terlihat lama ekuilibrasi lima jam menghasilkan persentase hidup tertinggi (63,67%) namun tidak berbeda dibandingkan lama ekuilibrasi empat jam (63,33%) dan enam jam (61,00%). Rendahnya persentase hidup pada perlakuan lama ekuilibrasi enam jam diduga karena kontak spermatozoa dengan pengencer pada ekuilibrasi enam jam lebih lama dibandingkan lima jam. Menurut Lehninger (1982) tingginya alkaline fosfatase, akan mempercepat reaksi metabolisme, sehingga makin lama penyimpanan maka asam laktat yang tertimbun semakin banyak. Penurunan pH di lingkungan sel akan menyebabkan terjadinya gangguan terhadap kerja enzim-enzim metabolisme, sehingga energi yang dihasilkan tidak optimal dan menyebabkan kematian spermatozoa. Suasana asam menyebabkan

konsentrasi H^+ semakin tinggi sehingga membuka peluang terjadinya hidrogen peroksida yang akhirnya menyebabkan kerusakan membran plasma. Rusaknya membran plasma menyebabkan gangguan terhadap metabolisme sel sehingga energi yang dihasilkan tidak optimal dan menurunkan daya hidup spermatozoa.

Pada perlakuan metode *thawing* diperoleh hasil metode *thawing* pada suhu 37°C selama 30 detik menghasilkan persentase motilitas dan hidup spermatozoa (53,33 dan 62,39%) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dibandingkan metode *thawing* 25°C selama 45 detik (52,22 dan 62,28%). Hasil yang sama dilaporkan oleh Yi *et al.* (2002) yang menyimpulkan metode *thawing* pada suhu 37°C selama 63 detik menghasilkan persentase motilitas spermatozoa babi (50,4%) tidak berbeda

dengan metode *thawing* pada suhu 22°C selama 102 detik (49,2%).

Integritas Spermatozoa Domba Garut

Peubah persentase tudung akrosom utuh dan membran plasma utuh merupakan integritas spermatozoa yang sangat berperan dalam proses fertilisasi untuk keberhasilan IB. Rusaknya membran plasma akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme dan proses fisiologis spermatozoa sehingga menyebabkan kematian spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan pada semua tahap pembekuan, perlakuan waktu ekuilibrase dan metode *thawing* tidak berpengaruh terhadap persentase tudung akrosom utuh dan persentase membran plasma utuh (Tabel 3).

Evaluasi pada tahap setelah *thawing* menunjukkan perlakuan lama ekuilibrase enam jam menghasilkan persentase tudung akrosom utuh dan persentase membran plasma utuh spermatozoa paling tinggi (59,42% dan 58,8%) namun tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan perlakuan lama ekuilibrase empat jam (57,17% dan 56,42%) dan lima jam (56,92% dan 57,58%).

Hasil sama diperoleh Herdis *et al.* (1999) pada semen kerbau lumpur yang menyimpulkan perlakuan lama ekuilibrase empat jam menghasilkan integritas spermatozoa kerbau lumpur yang tidak berbeda dengan lama ekuilibrase enam jam.

Tabel 3. Integritas Spermatozoa domba Garut pada waktu ekuilibrase dan metode *thawing* yang berbeda.

Metode <i>Thawing</i>	Lama ekuilibrasi			Rataan
	4 jam	5 jam	6 jam	
<i>Rataan Persentase Tudung Akrosom Utuh</i>				
Setelah Pengenceran				
37°C- 30 detik	83,67 ± 1,51	83,67 ± 1,51	83,67 ± 1,51	83,67 ± 1,41
25°C- 45 detik	83,67 ± 1,51	83,67 ± 1,51	83,67 ± 1,51	83,67 ± 1,41
Rataan	83,67 ± 1,44	83,67 ± 1,44	83,67 ± 1,44	
Setelah Ekuilibrasi				
37°C- 30 detik	76,00 ± 3,63	74,50 ± 4,04	74,00 ± 3,74	74,83 ± 3,68
25°C- 45 detik	76,00 ± 3,63	74,50 ± 4,04	74,00 ± 3,74	74,83 ± 3,68
Rataan	76,00 ± 3,46	74,50 ± 3,85	74,00 ± 3,57	
Setelah <i>Thawing</i>				
37°C- 30 detik	58,50 ± 2,88	56,50 ± 3,62	58,83 ± 3,06	57,94 ± 3,19
25°C- 45 detik	55,83 ± 2,40	57,33 ± 4,13	60,00 ± 2,61	57,72 ± 3,44
Rataan	57,17 ± 2,89	56,92 ± 3,73	59,42 ± 2,78	
<i>Rataan Persentase Membran Plasma Utuh</i>				
Setelah Pengenceran				
37°C- 30 detik	84,00 ± 1,41	84,00 ± 1,41	84,00 ± 1,41	84,00 ± 1,32
25°C- 45 detik	84,00 ± 1,41	84,00 ± 1,41	84,00 ± 1,41	84,00 ± 1,32
Rataan	84,00 ± 1,35	84,00 ± 1,35	84,00 ± 1,35	
Setelah Ekuilibrasi				
37°C- 30 detik	80,00 ± 2,76	78,00 ± 2,68	76,50 ± 3,15	78,17 ± 3,07
25°C- 45 detik	80,00 ± 2,76	78,00 ± 2,68	76,50 ± 3,15	78,17 ± 3,07
Rataan	80,00 ± 2,63	78,00 ± 2,55	76,50 ± 3,00	
Setelah <i>Thawing</i>				
37°C- 30 detik	58,17 ± 1,83	57,50 ± 4,04	60,17 ± 3,19	58,61 ± 3,18
25°C- 45 detik	54,67 ± 3,01	57,67 ± 3,50	57,00 ± 1,10	56,44 ± 2,89
Rataan	56,42 ± 3,00	57,58 ± 3,60	58,58 ± 2,81	

Pada perlakuan metode *thawing* diperoleh hasil metode *thawing* pada suhu 37°C selama 30 detik menghasilkan integritas spermatozoa domba Garut yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dibandingkan metode *thawing* 25°C selama 45 detik.

Hasil yang tidak berbeda diperoleh pada penelitian Yi *et al.* (2002) yang menyimpulkan metode *thawing* pada suhu 37°C selama 63 detik menghasilkan persentase tudung akrosom utuh spermatozoa babi (62,6%) tidak berbeda dengan metode *thawing* pada suhu 22°C selama 102 detik (54,8%).

Hasil yang sama diperoleh pada penelitian semen rusa yang menyimpulkan metode *thawing* pada suhu 37°C selama 10 detik menghasilkan persentase membran plasma spermatozoa tidak berbeda dibandingkan metode *thawing* pada suhu 50°C selama 8 detik dan metode *thawing* pada suhu 70°C selama 5 detik (Soler *et al.*, 2003).

Penelitian yang dilakukan Soepriondo (1985) menyimpulkan perlakuan *thawing* dengan suhu 27°C selama 5 detik merupakan metode terbaik karena mampu mempertahankan kualitas spermatozoa ternak kerbau yang optimal. Menurut Robbins *et al.* (1976) dalam Soepriondo (1985) menyatakan bahwa semakin tinggi suhu *thawing* menyebabkan semakin tingginya kerusakan tudung akrosom. Semen beku babi yang dithawing pada suhu 50°C terjadi kerusakan tudung akrosom sebesar 68% dan motilitas yang dihasilkan rendah sekitar 27% sampai 42%.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa pada pembekuan semen domba Garut, waktu ekuilibrase empat jam menghasilkan kualitas spermatozoa domba garut yang tidak berbeda dengan waktu ekuilibrase lima dan enam jam.

Metode *thawing* pada suhu 37°C selama 30 detik menghasilkan kualitas semen beku domba garut yang tidak berbeda dibandingkan

metode *thawing* pada suhu 25°C selama 45 detik.

Guna efisiensi dan kepraktisan penerapan di lapangan disarankan pada proses pembekuan semen domba garut menerapkan ekuilibrase selama empat jam dengan metode *thawing* 25°C selama 45 detik.

Daftar Pustaka

- Ax RL, Dally M, Didion BA, Lenz RW, Love CC, Varner DD, Hafez B, and Bellin ME. 2000. Semen Evaluation. Di dalam : Hafez B dan Hafez ESE. *Reproduction in Farm Animals*. Ed. ke-7. Philadelphia : Lea and Febiger. pp 365-375.
- Garner DL and Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. Di dalam : Hafez B dan Hafez ESE. *Reproduction in Farm Animals*. Ed. ke-7. Philadelphia : Lea and Febiger. pp 96-109.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animals*, 7th Edition. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore.
- Herdis, B. Purwantara, I. Supriatna dan I.G. Putu. 1999. Integritas Spermatozoa Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalis*) pada Berbagai Metode pembekuan Semen. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. Vol 4 No. 1: 7-12.
- Herdis, Ida Kusuma dan Maman Surachman. 2002. Pembekuan Spermatozoa Domba Garut dengan Pengencer dan Krioprotektan yang Berbeda. *Prosiding Seminar Teknologi Untuk Negeri*. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta. 65-71.
- Lenhninger, A.L. 1982 *Principles of Biochemistry*. Worth Publisher. Inc., California.
- Maxwell, W.M.C. and P.F. Watson. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *Anim. Repro. Sci.* 42. 1996. 55-65.
- Park, J.E. and J.K. Graham. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology*. 38: 209-222.
- Qomariyah, S. Mihardja dan R. Idi. 2001. Pengaruh kombinasi telur dengan air kelapa terhadap daya tahan dan abnormalitas spermatozoa domba Priangan pada penyimpanan 5°C. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Puslitbang -177.

- Rodriguez-Gil JE, Montserrat A. and Rigau T. 1994. Effects of Hypoosmotic Incubation on Acrosome and Tail Structure on Canine Spermatozoa. *Theriogenology*. 42 : 815-830.
- Salamon, S. and W.M.C. Maxwell. 1995. Frozen storage of ram semen. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, 37: 85-249.
- Soler, A.J., V. Astore, A. Sestelo, M. Rivolta, L. N. Jacome and J.J. Garde. 2003. Effect of thawing procedure on cryosurvival of deer spermatozoa : work in progress. *Theriogenology*, 60: 511-520.
- Soepriyono, Y. 1985. Pengaruh Waktu dan Suhu Thawing Semen Beku terhadap Angka Konsepsi pada Ternak Kerbau. *Tesis*. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Steel, R. G. D and J. H. Torrie. 1993. Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill, Inc., Philadelphia.
- Toelihere, M.R. 1993. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Yi, Y.J., Y.A. Kwon, J. Ko and C. S. Park. 2002. Effect of diluent component, freezing rate, thawing time and thawing temperature on acrosome morphology and motility of frozen - thawed boar semen *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 11: 1553-1558.