

EVALUASI KUALITAS SEMEN BEKU AKIBAT PERBEDAAN METODE LAMA EQUILIBRASI DAN LAMA PENURUNAN SUHU SELAMA PROSES SEMEN

Melkianus L. Jadi, Max. A. Supit¹⁾, Damai Kusumaningrum, dan Andrijanto H. Angi²⁾

¹⁾ Program Studi Produksi Ternak Politeknik Pertanian Negeri Kupang

²⁾ Program Studi Kesehatan Ternak Politeknik Pertanian Negeri Kupang
Jl. Adisucipto Penfui, P. O. Box. 1152, Kupang 85011

ABSTRACT

The research is experiment in laboratory with using semen from 3 Priangan rams. The experiment use completely Randomized Design (CRD) of 4 x 4 Faktorial with three Priangan rams as replications. The treatment are equilibration time as first faktor with level 1 hour, 2 hours, 3 hours, 4 hours, and freezing time as second faktor with level 4 minutes, 8 minutes, 12 minutes, and 16 minutes.

The variable observed is sperm motility, sperm abnormality, sperm membrane intact and sperm macrodome intact after thawing. Data was analysis by Analysis of Variance and further analysis by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

The result of experiment show that treatment between 3 hours equilibration and 12 minutes freezing time are the best significantly influence ($P > 0.01$) with significantly ($P > 0.05$) with significantly interaction between two factors on sperm motility, sperm membrane intact and sperm macrodome intact after thawing but there is no interaction ($P < 0.05$) for sperm abnormality after thawing.

Keywords: Equilibration, freezing, frozen semen.

PENDAHULUAN

Salah satu cara untuk meningkatkan populasi dan perbaikan mutu genetik ternak domba adalah dengan mengembangkan program inseminasi buatan secara intensif dan berkesinambungan. Inseminasi buatan merupakan teknologi perkembangbiakan yang sangat menunjang keberhasilan pengembangan populasi dan sekaligus perbaikan mutu genetik. Pejantan unggul sangat terbatas kemampuannya mengawini betina, dengan inseminasi buatan yang menggunakan semen yang diencerkan mampu mengawini jumlah betina jauh lebih banyak.

Dalam pelaksanaan inseminasi buatan pada ternak domba dapat dilakukan secara sederhana yakni dengan menggunakan semen segar hasil penampungan. Untuk dapat meningkatkan jumlah betina yang diinseminasi dari sekali penampungan semen perlu ditambahkan sejumlah bahan pengencer.

Pengencer yang dapat digunakan harus dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia bagi kehidupan sperma serta dapat disimpan pada suhu dan kondisi tertentu sehingga mampu mempertahankan kehidupan dan fertilitas sperma selama waktu yang diinginkan. Penambahan pengencer pada semen berkualitas baik akan sangat bermanfaat apabila dilakukan pengawetan agar dapat digunakan untuk mengawini betina secara inseminasi buatan diberbagai tempat dan waktu. Pengawetan semen pada suhu yang sangat rendah (-196°C) berpengaruh terhadap daya tahan hidup sperma, motilitas dan fertilitas sperma.

Semen yang telah diencerkan perlu dilakukan ekuilibrasi dan penurunan suhu dalam proses pembekuan semen. Ekuilibrasi dilakukan agar sperma beradaptasi dengan pengencer yang digunakan sebelum dilakukan pembekuan semen. Lama ekuilibrasi yang terlalu singkat dapat menurunkan daya adaptasi sperma terhadap pengencernya, sebaliknya ekuilibrasi yang terlalu lama, maka sperma akan kehilangan banyak energi sehingga menurunkan aktivitas sperma.

Dalam proses pembekuan semen, dilakukan penurunan suhu secara gradual. Lama waktu penurunan suhu menentukan keberhasilan pengolahan semen beku domba, selain itu juga penggunaan pengencer dan lama ekuilibrasi yang tepat. Pengolahan semen beku domba dikatakan berhasil apabila kualitas semen dapat dipertahankan yang dapat diketahui melalui evaluasi setelah *thawing*.

Penentuan lama ekuilibrasi dan lama pembekuan dalam proses pembekuan semen domba belum ada yang dapat dijadikan standar yang baku guna diperoleh kualitas semen beku domba yang baik.

METODE PENELITIAN

Untuk memperoleh semen dilakukan dengan cara penampungan, tetapi untuk menjaga kualitas semen dalam proses pengenceran dan pembekuan semen, maka sebelum penampungan terlebih dahulu membuat pengencer. Pengencer yang digunakan adalah sitrat-kuning telur. Menurut Toelihere (1985), 2,9 gram Na sitrat yang dilarutkan dalam 100 ml aquabidest dan kuning telur segar. Komposisi larutan Na sitrat 80% dan kuning telur 20% ditambah glycerol 7%, antibiotic streptomycin 1 mg dan penicilin 1000 iu/ml pengencer.

Pengencer dibagi 2 bagian, dimana bagian 1 dibiarkan dalam suhu kamar sedangkan bagian 2 ditambah glycerol 7% dari total pengencer, kemudian dimasukkan ke dalam lemari es pada suhu 4-5 oC.

Setelah pengencer dibuat, kemudian dilakukan penampungan semen. Semen yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari 3 ekor domba jantan yang telah dipersiapkan. Penampungan dilakukan dua kali dalam seminggu yakni setiap hari Rabu dan Sabtu pada pukul 08.00 pagi. Setelah ditampung, langsung dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi kuantitas dan kualitasnya secara makroskopik dan mikroskopis.

Perlakuan dalam penelitian ini adalah lama ekuilibrasi sebagai perlakuan (A) dengan tingkatan 1 jam (A1), 2 jam (A2), 3 jam (A3) dan 4 jam (A4). Sedangkan perlakuan B adalah Lama Pembekuan semen dengan tingkatan 4 menit (B1), 8 menit (B2), 12 menit (B3) dan 16 menit (B4). Semen yang akan digunakan sebagai perlakuan adalah semen yang memenuhi syarat kuantitas dan kualitas. Semen 3 ekor pejantan sebagai ulangan. Data pengamatan yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan Sidik Ragam klasifikasi 2 arah. Model analisis menurut Gasperz (1991). Selanjutnya apabila di dalam Sidik Ragam menunjukkan perbedaan nyata dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur (HSD)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama ekuilibrasi dan lama pembekuan. Sedangkan kualitas semen beku sebagai variabel tidak bebas. Kualitas semen beku sebagai variabel tidak bebas adalah sperma motil progresif, abnormalitas sperma, keutuhan membran sperma dan keutuhan acrosom sperma

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis varians menunjukkan bahwa angka motilitas sperma domba hasil penelitian berkisar antara 30,40-48,97% tidak jauh berbeda dengan motilitas sperma domba Priangan hasil penelitian Rusdin (1997) dan Lukman (1997) dimana masing-masing berkisar antara 35,00-43,00% dan 36,50-50,00%. Sperma motil dalam penelitian ini dapat digunakan untuk inseminasi buatan pada domba betina, karena menurut Arifiantini dan Noordin (1990), semen yang mengandung sperma motil lebih dari 40% setelah *thawing* cukup layak untuk inseminasi.

Tabel 1. Rata-rata Motilitas Sperma setelah *Thawing* Hasil Prosesing dengan Lama Ekuilibraasi dan Lama Pembekuan yang Berbeda

Lama Ekuilibraasi (jam)	Mortalitas Sperma pada Lama Pembekuan (Menit) dalam %			
	4 (B1)	8 (B2)	12 (B3)	16 (B4)
1 jam (A1)	38,40 aA	38,87 aA	40,37 aA	40,20 aA
2 jam (A2)	39,53 aA	39,20 aA	41,47 aA	40,63 aA
3 jam (A3)	40,17 aA	45,60 bB	49,97 bC	43,77 bB
4 jam (A4)	38,80 aA	41,30 aA	42,40 aB	40,10 aA

Keterangan: Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada lajur yang sama dan angka yang diikuti huruf kapital yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) antara perlakuan lama ekuilibraasi dan antara perlakuan lama pembekuan. Ditemukan interaksi yang sangat nyata antara kedua perlakuan tersebut. Dengan perkataan lain lama ekuilibraasi dan lama pembekuan saling mempengaruhi terhadap motilitas sperma domba setelah *thawing*.

Hasil Uji Duncan, perlakuan ekuilibraasi tiga jam dengan lama pembekuan 12 menit dengan angka motilitas 48,97%, secara nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dari perlakuan lainnya. Pada ekuilibraasi 3 jam, pengencer yang mengandung glycerol telah berdifusi dengan sperma menyebabkan tercapainya keseimbangan elektrolit di dalam dan di luar sel sperma. Keseimbangan ini sangat dibutuhkan sperma pada saat proses pembekuan untuk mencegah terjadinya *cold shock* yang berlebihan (Salamon dan Maxwell, 1987).

Ekuilibraasi 1 jam dan 2 jam kemungkinan terlalu singkat bagi sperma untuk beradaptasi dengan pengencer, sehingga pada saat pembekuan sperma mengalami *cold shock* yang menyebabkan motilitas sperma menurun drastis. Ekuilibraasi 4 jam kemungkinan terlalu lama bagi sperma untuk beradaptasi dengan pengencer, karena selama ekuilibraasi terjadi metabolisme sperma yang terus menerus untuk menghasilkan energi. Dengan demikian, ekuilibraasi yang lama, sperma akan kehilangan energi yang mengakibatkan daya tahan sperma menurun.

Lama pembekuan mempengaruhi motilitas sperma meskipun semen berasal dari waktu ekuilibraasi yang sama. Lama pembekuan 12 menit dari suhu 5°C ke -80°C, sperma dapat beradaptasi lebih baik dengan suhu pembekuan, karena lama pembekuan 12 menit, penurunan suhu berlangsung secara perlahan-lahan sehingga sperma tidak mengalami *cold shock* yang berlebihan

dan motilitas sperma dapat dipertahankan lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada lama pembekuan 4 dan 8 menit, sperma mengalami *cold shock* akibat perubahan suhu yang berlangsung lebih cepat sehingga motilitas menurun bahkan mengalami kematian. Sedangkan pada lama pembekuan 16 menit, menyebabkan terjadinya kematian sperma, karena kemungkinan terjadi kerusakan lipoprotein dinding sel sperma dan perubahan permeabilitas membran sel pada saat *thawing*. Menurut Soeparman (1979), pembekuan yang terlalu cepat dapat mengakibatkan *cold shock* terhadap sperma akibat penurunan suhu yang drastis, dan pembekuan yang lambat menyebabkan konsentrasi garam meningkat, karena air yang membeku keluar sehingga menyebabkan terjadinya perubahan tekanan osmotik dan dapat merusak lipoprotein sperma. Lipoprotein yang rusak mengakibatkan mantel pelindung pecah sehingga terjadi kebocoran substansi intraseluler yang vital dan mengakibatkan sperma kehilangan motilitas.

Pada pengamatan setelah pencairan kembali (*thawing*), ditemukan sperma yang abnormalitasnya sekunder dimana ditandai dengan kepala sperma terputus atau ekor terputus. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Abnormalitas Sperma setelah *Thawing* Hasil Prosesing dengan Lama Ekuilibirasi dan Lama Pembekuan yang Berbeda

Lama Ekuilibirasi (jam)	Lama Pembekuan (Menit) dalam %				Rataan
	4 (B1)	8 (B2)	12 (B3)	16 (B4)	
1 jam (A1)	5,53	4,47	4,13	4,37	4,62 a
2 jam (A2)	4,33	3,90	3,43	3,80	3,87 b
3 jam (A3)	3,93	3,23	2,93	3,20	3,32 c
4 jam (A4)	3,67	3,37	3,53	3,67	3,56 c
Rataan	4,36 a	3,74 b	3,50 b	3,76 b	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada rata-rata lajur yang sama atau rata-rata baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama ekuilibirasi dan lama pembekuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap abnormalitas sekunder sperma setelah *thawing* tetapi interaksi antara kedua perlakuan tersebut tidak nyata ($P > 0,05$). Angka abnormalitas terendah pada tabel 2 terdapat pada perlakuan lama ekuilibirasi 3 jam yaitu 3,32, diikuti berturut-turut makin tinggi pada lama ekuilibirasi 4 jam yaitu 3,56%, dua jam yaitu 3,87%, dan abnormalitas tertinggi pada perlakuan lama ekuilibirasi 1 jam yaitu 4,62%. Rata-rata persentase abnormalitas sperma sekunder dari perlakuan lama pembekuan 12 menit, 8 menit, 16 menit dan 4 menit masing-masing: 3,50%, 3,74%, 3,76%, dan 4,36%.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa ada perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) lebih baik antara lama ekuilibirasi 3 jam dan 4 jam dengan lama ekuilibirasi 1 jam, demikian pula antara 1 jam dengan 2 jam, sedangkan antara ekuilibirasi 3 jam dengan ekuilibirasi 4 jam tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Pada lama ekuilibirasi tiga jam, natrium sitrat dan pengenceran sitrat kuning-telur-gliserol berfungsi sebagai penyangga dengan mengikat logam-logam seperti kalsium, magnesium, natrium dan potasium yang memecahkan butir-butir lemak menjadi energi, kuning telur yang mengandung lipoprotein dan lesithin berfungsi melindungi dan mempertahankan keutuhan selubung protein sel

sperma dari *cold shock*. Gliserol pada lama ekuilibrase tersebut berdifusi dengan menembus dan memasuki sperma untuk menggantikan air yang bebas dan mendesak keluar elektrolit-elektrolit, menurunkan konsentrasi elektrolit intra seluler sehingga mengurangi daya rusak sperma pada saat pembekuan.

Hasil perlakuan lama pembekuan, tidak terdapat perbedaan nyata ($P>0,05$) antara lama pembekuan 8 menit (3,74%) dengan lama pembekuan 12 menit 3,50% dan 16 menit 3,76%, tetapi ketiga perlakuan berbeda sangat nyata ($P<0,01$) lebih baik dibandingkan dengan lama pembekuan 4 menit (4,36%). Dengan melihat hasil tersebut, lama pembekuan 8 menit, 12 menit dan 16 menit cukup baik pengaruhnya terhadap abnormalitas sperma domba setelah *thawing*. Kisaran lama pembekuan tersebut ternyata lebih baik bagi sperma dalam beradaptasi dengan perubahan suhu selama pembekuan dan pengaruh *cold shock* yang ditandai dengan ekor sperma bagian tengah dan ekor melipat ke arah kepala sehingga kepala sperma terlepas dari leher atau ekor patah. Persentase abnormalitas hasil pengamatan cukup baik untuk suatu pengolahan semen beku domba. Angka yang diperoleh lebih baik dibandingkan dengan yang dinyatakan Hafez (1993) bahwa semen domba yang mengandung abnormalitas lebih dari 15% menunjukkan fertilitas rendah. Sedangkan menurut Toelhiere (1985) apabila persentase abnormal semen 14%, maka ternak tersebut menunjukkan gejala infertil.

Hasil pengamatan setelah pencairan kembali (*thawing*) keutuhan membran sperma dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Keutuhan Membran Sperma Domba setelah *Thawing* Hasil Prosesing dengan Lama Ekuilibrase dan Lama Pembekuan yang Berbeda

Lama Ekuilibrase (jam)	Lama Pembekuan (Menit) dalam %			
	4 (B1)	8 (B2)	12 (B3)	16 (B4)
1 jam (A1)	35,50 aA	37,97 aB	38,67 aB	38,97 aB
2 jam (A2)	38,40 bA	38,67 aAB	40,80 acB	38,70 aAB
3 jam (A3)	39,53 bA	44,07 bB	48,70 bC	41,47 bDA
4 jam (A4)	38,00 bA	40,73 caB	42,00 cCB	39,07 abDAB

Keterangan: Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada lajur yang sama dan angka yang diikuti huruf kapital yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam, pengaruh lama ekuilibrase dan lama pembekuan terhadap keutuhan membran sperma setelah *thawing* menunjukkan ada perbedaan yang sangat nyata ($P<0,01$). Interaksi yang nyata antara kedua faktor perlakuan yaitu adanya saling mempengaruhi terhadap keutuhan membran sperma domba setelah *thawing*. Interaksi terbaik dan tertinggi terdapat pada perlakuan pada perlakuan lama ekuilibrase 3 jam dengan lama pembekuan 12 menit (48,70%) seperti yang terlihat pada Tabel 3. Dikuti oleh perlakuan ekuilibrase 3 jam dan pembekuan 6 menit, ekuilibrase 4 jam dan pembekuan 12 menit, ekuilibrase 3 jam dan pembekuan 16 menit, ekuilibrase 4 jam dan pembekuan 8 menit masing-masing 44,07%, 42,00%, 41,47%, dan 40,73%. Persentase terendah adalah pada perlakuan ekuilibrase 1 jam dan pembekuan 4 menit (35,50%).

Persentase keutuhan membran tertinggi pada perlakuan 3 jam dan pembekuan 12 menit yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) lebih baik dari pada perlakuan lainnya. Karena pada kombinasi perlakuan tersebut sperma tidak mengalami kerusakan membran yang berlebihan dimana selama ekuilibrisasi tiga jam dapat mengurangi perubahan tekanan osmotik, perubahan pH dan tercapainya keseimbangan elektrolit yang terdapat diluar dan didalam sel sperma sehingga pada saat pembekuan selama 12 menit yang berlangsung secara perlahan-lahan dapat mencegah kerusakan membran sperma secara drastis terutama ketika melewati titik kritis pada suhu (1,5 sampai -30°C). Membran sperma yang utuh akan melindungi enzim-enzim yang berperan dalam fertilisasi seperti *hyarulonidase*, *corona penetrating enzyme*, *acrosin* masih dapat dipertahankan (Setiadi, dkk. 1992). Pada perlakuan 1 jam dengan lama pembekuan 4 menit, sperma mengalami *cold shock* sehingga terjadi kerusakan membran tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sperma yang mengalami *cold shock* akan terjadi peningkatan kontraksi lapisan protein sehingga mantel pelindung sperma pecah atau membrane mengalami kerusakan. Jeyendran dan Zaneveld (1986) menegaskan bahwa persentase sperma yang mengembang sebagai indikasi sperma yang membrannya utuh mempunyai hubungan yang erat dengan kemampuan penetrasi sperma secara *in vitro*.

Angka persentase keutuhan membrane hasil pengamatan ini tidak jauh berbeda dengan pengamatan Rusdin (1997) yaitu 45% dan Lukman (1997) yang memperoleh persentase keutuhan membrane tertinggi 49,70%.

Hasil pengamatan setelah pencairan kembali, keutuhan acrosome sperma domba dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Keutuhan Akrosom Sperma Domba setelah *Thawing* Hasil Prosesing dengan Lama Ekuilibrisasi dan Lama Pembekuan yang Berbeda

Lama Ekuilibrisasi (jam)	Lama Pembekuan (Menit) dalam %			
	4 (B1)	8 (B2)	12 (B3)	16 (B4)
1 jam (A1)	35,20 aA	37,27 aB	37,73 aB	37,80 aB
2 jam (A2)	37,00 bA	39,93 bB	41,00 bCB	38,70 baDB
3 jam (A3)	40,93 cA	44,33 bA	44,73 cB	41,07 cA
4 jam (A4)	39,73 cA	40,60 bA	43,40 cB	40,13 cbA

Keterangan: Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada lajur yang sama dan angka yang diikuti huruf kapital yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

Hasil sidik ragam pengaruh lama ekuilibrisasi dan lama pembekuan terhadap keutuhan acrosom sperma setelah *thawing* menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terdapat interaksi yang nyata antara ke 2 faktor perlakuan yaitu adanya saling mempengaruhi terhadap keutuhan acrosom sperma domba setelah *thawing*. Interaksi terbaik terjadi pada perlakuan lama ekuilibrisasi 3 jam dengan lama pembekuan 12 menit seperti yang terlihat pada Tabel 4 yaitu (44,73%) diikuti oleh perlakuan lama ekuilibrisasi 4 jam dengan lama pembekuan 12 menit, ekuilibrisasi 3 jam dengan lama pembekuan 16 menit, ekuilibrisasi 2 jam dengan lama pembekuan 12 menit, ekuilibrisasi 3 jam dengan lama pembekuan 4 menit, masing-masing 43, 40%, 41,7%, 41,00%, dan 40, 93%. Sedangkan persentase terendah pada kombinasi perlakuan lama ekuilibrisasi 1 jam dengan lama pembekuan 4 menit (35,20%).

Keutuhan acrosom sperma dapat dipertahankan lebih baik pada kombinasi lama ekuilibrase 3 jam dengan lama pembekuan 12 menit. Hal ini dapat terjadi karena pada kombinasi perlakuan tersebut, pengencer sitrat kuning telur yang mengandung gliserol dapat berfungsi dengan baik dalam melindungi sel sperma terutama pada perubahan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Karena konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan merusak sel sperma. Ovovitelin yang terdapat pada kuning telur berfungsi melindungi mantel sel sperma pada bagian kepala sehingga tidak mudah terjadi kerusakan acrosom.

Kombinasi lama ekuilibrase 1 jam dan lama pembekuan 4 menit dengan hasil keutuhan acrosom terendah (35,20%) kemungkinan waktu ekuilibrase terlalu singkat dengan penurunan suhu yang cepat menyebabkan sperma mengalami kerusakan acrosom yang berlebihan. Kerusakan ini terjadi karena acrosom sangat peka terhadap perubahan suhu yang mendadak. Menurut Perry (1969) pada bagian acrosom terdapat ikatan protein mucopolisakarida yang diduga merupakan bagian dari struktur acrosom yang mudah rusak atau menyebabkan pembengkakan acrosom akibat penurunan suhu yang mendadak. Keutuhan membran sperma terkait erat dengan keutuhan acrosom, karena membran sebagai mantel pelindung akan melindungi acrosom akibat perubahan tekanan osmotik, perubahan pH atau perubahan suhu pada saat pembekuan dan *thawing*. Membran sperma yang mengalami kerusakan akibat *cold shock* menyebabkan terjadinya kebocoran substansi intra seluler yang vital terutama pada bagian acrosom. Keutuhan membran tertinggi pada penelitian adalah 48,70% (Tabel 3) dan keutuhan acrosom tertinggi 44,73% (Tabel 4). Keutuhan acrosom lebih rendah dari keutuhan membran karena kerusakan acrosom selain akibat kerusakan membran juga karena akibat kerusakan protein mucopolisakarida pada struktur acrosom akibat *cold shock* sehingga terjadi pembengkakan atau kerusakan acrosom.

Angka persentase kerusakan acrosom dalam penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Valcarel, dkk. (1994) yakni persentase keutuhan acrosom setelah *thawing* yang menggunakan pengencer sitrat kuning telur adalah 42%. Menurut Toelihere (1985) persentase keutuhan acrosom setelah *thawing* 42,67% cukup baik untuk keperluan inseminasi. Hafez (1993) dan Heras, dkk. (1996) menyatakan penilaian terhadap keutuhan acrosom merupakan indikator untuk mengetahui kemampuan sperma membuahi sel telur.

KESIMPULAN DAN SARAN

Perlakuan lama ekuilibrase tiga jam dengan lama pembekuan 12 menit menghasilkan motilitas sperma, keutuhan membran, keutuhan acrosom tertinggi dan angka abnormalitas terendah. Terdapat interaksi antara lama ekuilibrase dan lama pembekuan, dimana interaksi terbaik terdapat pada perlakuan lama ekuilibrase tiga jam dan lama pembekuan 12 menit terhadap motilitas sperma (48,97%), keutuhan membran sperma (48,70%) dan keutuhan acrosom sperma (44,73%) setelah *thawing*, sedangkan terhadap abnormalitas sekunder sperma tidak terdapat interaksi antara lama ekuilibrase, dan lama pembekuan. presentase abnormalitas sekunder sperma untuk lama

ekuilibrase, terdapat pada lama ekuilibrase 3 jam (3,32%) dan untuk lama pembekuan pada 12 menit (3,50%)

Kombinasi lama ekuilibrase 3 jam dengan lama pembekuan 12 menit disarankan untuk digunakan dalam proses pengolahan semen beku domba. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji hasil terbaik dalam penelitian ini dengan melakukan inseminasi pada domba betina.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, I dan M. Noordin. 1990. *Pembekuan semen pada beberapa ternak dan hewan menggunakan sistim minitub*. Laporan hasil penelitian Fakultas Kedokteran Hewan, IPB Bogor.
- Gasperz, V. 1991. *Metode perancangan percobaan*. CV. Armico, Bandung.
- Heras, M. A. D. , A. Varcarel , C. Funus , L. Perez , D. F. Mozes. 1996. *Changes in sperm bound amidase activity suggest subtle damage to ram sperm acrosomes by freezing thawing not detected by light microscopy*. J. Animal Reprod. Sci. Vol. 45 No. 1. 61-89.
- Hoesni, F. 1997. *Pengaruh kadar kuning telur dalam berbagai pengencer terhadap kualitas sperma domba pasca pembekuan*. Thesis Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Lukman Hy. 1997. *Pengaruh berbagai pengencer dan waktu ekuilibrase terhadap keberhasilan pembekuan semen domba Priangan*. Thesis Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Perry, E. J. 1969. *The artificial insemination of farm animals*. New Brunswick, New Jersey
- Rusdin. 1997. *Pengaruh macam pengencer dan lama pembekuan terhadap kualitas sperma domba*. Thesis Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Salomon, S. dan W. M. C. Maxwell. 1995. *Frozen storage of ram semen processing freezing thawing and fertility after cervical insemination*. J. Anim. Sci. NO. 37
- Setiadi, M. A., I. Supriatna dan I. Arifiantini. 1992. *Pengujian kesuburan spermatozoa saqi dengan larutan hiposmotik*. Prosiding Lokakarya Penelitian Komoditas dan studi khusus Vol. 1 Departemen Pertanian bekerjasama dengan Dirjen Dikti, Jakarta.
- Soeparna. 1979. *Pengaruh berbagai konsentrasi glycerol dan lama penyimpanan sperma manusia yang dibekukan dalam bentuk butiran*. Thesis Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Toelihere, M. R. 1985. *Inseminasi Buatan pada ternak*. Angkasa. Bandung
- Valcarel, A. M. , M. A. de las Heras, I. Perez, D. F. Mozes dan Baldassare. 1994. *Fluorescent staining as a method of assessing membrane damage and post thaw survival of ram spermatozoa*. J. Theriogenology 41.