

PENGARUH FREKUENSI PENAMPUNGAN SPERMA TERHADAP KUALITAS SPERMA DOMBA EKOR TIPIS YANG DIENCERKAN DENGAN TRIS-GLUCOSE-KUNING TELUR DAN DIBEKUKAN PADA SUHU -196°C

Rina Widyaningrum, Ismaya dan Soenarjo Keman¹

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi penampungan sperma terhadap kualitas sperma domba ekor tipis yang diencerkan dengan *tris-glucose*-kuning telur dan dibekukan pada suhu -196°C. Sembilan ekor domba ekor tipis jantan berumur antara satu sampai dua tahun dibagi menjadi tiga perlakuan yaitu P1 (penampungan sperma satu kali seminggu), P2 (penampungan sperma dua kali seminggu), dan P3 (penampungan sperma tiga kali seminggu). Sperma ditampung dengan metode vagina buatan dan sperma segar diamati volume, warna, bau, konsistensi, pH, motilitas, konsentrasi, persentase hidup, dan abnormalitasnya. Sperma kemudian diencerkan dengan *tris-glucose*-kuning telur dengan kadar kuning telur 20% dan gliserol 7% dari volume total, dengan waktu ekuilibrasi 4 jam, selanjutnya disimpan dalam N₂ cair yang bersuhu -196°C. Data sperma beku meliputi pH, persentase motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas. Data sperma segar dan sperma beku dianalisis dengan analisis variansi menggunakan rancangan acak lengkap pola searah (CRD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa frekuensi penampungan sperma yang berbeda tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap kualitas sperma segar. Frekuensi penampungan sperma yang berbeda juga tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap pH, persentase motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas sperma beku. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa frekuensi penampungan sperma yang berbeda tidak mempengaruhi pH, motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas *spermatozoa* yang diencerkan dengan *tris-glucose*-kuning telur dan dibekukan pada suhu -196°C.

(Kata kunci: Domba ekor tipis, *Spermatozoa*, Frekuensi penampungan sperma, Nitrogen cair)

Buletin Peternakan 30 (2) : 69 - 78, 2006

¹ Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

**INFLUENCE OF SPERM COLLECTING FREQUENCIES ON THE SPERM QUALITY
OF THIN TAIL RAM DILUTED BY TRIS-GLUCOSE-EGG
YOLK AND FREEZED AT -196°C**

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of sperm collecting frequencies on the sperm quality of thin tail ram diluted by tris-glucose-egg yolk and freezed at -196°C. Nine heads of thin tail ram aged among one to two years old, they were divided into three treatment groups were P1 (sperm collection once a week), P2 (sperm collection twice a week), and P3 (sperm collection thrice a week). Sperm was collected with the artificial vagina method and the fresh sperm was observed of it's volume, color, smell, consistency, pH, motility, concentration, viability, and abnormality. Then, the sperm diluted by tris-glucose-egg yolk with the rate 20% egg yolk and 7% glycerol from the total volume, with the 4 hour equilibration time, and kept in -196°C liquid Nitrogen (N_2). Frozen sperm quality data, covered the pH, percentage of motility, percentage viability, and abnormality. The data of fresh sperm and frozen sperm, analysed by Completely Random Design (CRD) One Way Classification. Result of study indicated that the different among frequencies of sperm collection did not show the significant difference to quality of fresh sperm. The difference frequency of sperm collection did not show the significantly different to pH, percentage motility, percentage viability, and abnormality of frozen sperm. Conclusion of this study was that different frequencies of sperm collection of thin tail ram did not influence the pH, motility, viability, and abnormality of spermatozoa diluted by tris-glucose-egg yolk and freezed at -196°C.

(Key words: Thin tail ram, Spermatozoa, Sperm collecting Frequencies, Liquid nitrogen)

Pendahuluan

Salah satu usaha untuk meningkatkan populasi ternak domba adalah dengan mengadakan kuwin suntik (IB) (Priyono *et al.*, 1983). Aplikasi teknologi inseminasi buatan pada ternak domba untuk meningkatkan produktivitas, perbaikan mutu genetik, dan efisiensi hingga saat ini belum memberikan hasil sesuai dengan yang diharapkan. Kurang baiknya kualitas sperma yang digunakan serta kesulitan mendeposikan sperma seperti yang dilakukan pada ternak besar, merupakan salah satu faktor yang menyebabkan rendahnya keberhasilan inseminasi buatan pada domba (Anonimus, 2003). Selain itu berdasarkan fakta di lapangan ternyata pengawetan sperma domba melalui proses pembekuan memungkinkan menurunnya tingkat fertilisasi bila dibandingkan dengan sperma segar.

Penggunaan pengencer tris-glucose-kuning telur diharapkan dapat mengurangi

masalah pembekuan sperma domba, karena pengencer tris memiliki kelebihan dari pengencer lainnya yaitu konsistensinya encer dan transparan, sehingga mampu melindungi *spermatozoa* dari kerusakan akibat pembekuan, tidak membatasi gerakan sel *spermatozoa* dan memudahkan dalam melakukan penilaian (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas sperma adalah frekuensi ejakulasi karena frekuensi ejakulasi yang sering dalam satuan waktu yang relatif pendek cenderung untuk menurunkan libido, volume sperma, dan jumlah *spermatozoa* per ejakulasi (Lindsay *et al.*, 1982).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi data ilmiah tentang pengaruh frekuensi penampungan sperma terhadap kualitas sperma domba ekor tipis yang telah diencerkan dengan tris-glucose-kuning telur dan dibekukan pada suhu -196°C,

sehingga dapat meningkatkan efisiensi penggunaan pejantan dan kualitas sperma untuk keperluan IB (Inseminasi Buatan).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh frekuensi penampungan sperma terhadap kualitas sperma domba ekor tipis yang diencerkan dengan *tris-glucose*-kuning telur dan dibekukan pada suhu -196°C.

Materi dan Metode

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 9 ekor domba ekor tipis jantan berumur sekitar 1 sampai 2 tahun dan seekor domba betina dewasa sebagai pemancing.

Alat yang digunakan antara lain vagina buatan, tabung penampung sperma, termos air panas, termos tempat tabung *semen*, kain pelindung, termometer, dan corong, mikroskop dilengkapi *slide warmer*, kaca objek dan *cover glass*, kamar hitung *Neubauer*, pH meter, *hand tally counter*, pipet *haemocytometer*, timbangan analitik, gelas ukur, erlenmeyer, *micropipette*, *beaker glass*, pipet hisap, tabung reaksi, corong, kertas saring, termometer, *stirrer and heater*, *stick glass*, *stopwatch*, mesin *filling and sealing*, staw midi 0,5 ml, dan kontainer XT-10.

Bahan yang digunakan adalah vaselin, alkohol, *casin* dan larutan *hayem*, *glucose*, *tris-(hydroxymethyl) aminomethane*, asam sitrat, kuning telur, *streptomycin*, *penicillin*, aquades, glicerol, dan nitrogen cair.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yakni tahap pra penelitian selama 2 minggu dan tahap penelitian selama 4 minggu.

Tahap pra penelitian berlangsung selama dua minggu untuk menyesuaikan ternak dengan kondisi pakan dan lingkungan sekitar.

Penampungan sperma

Domba jantan dibagi ke dalam tiga kelompok berdasarkan frekuensi penampungan sperma yaitu satu, dua, dan tiga kali dalam seminggu. Setiap kelompok terdiri dari tiga ekor domba. Penampungan sperma

dilakukan pada pagi hari kurang lebih pukul 07.30 WIB. Sebelum penampungan sperma, *praeputium* dibersihkan. Vagina buatan diisi air yang bersuhu 50 sampai 60°C supaya sewaktu penampungan suhu vagina buatan berkisar 41 sampai 44°C dan sepertiga bagian dari lubang vagina buatan diolesi vaselin untuk memudahkan masuknya penis ke dalam vagina buatan. Domba jantan yang akan ditampung didekatkan pada pemancing dan distimulasi dua kali dan saat ketiga kalinya *semen* ditampung.

Penilaian sperma

Penilaian makroskopis meliputi warna, bau, dan konsistensi. Penilaian secara mikroskopis meliputi derajat keasaman (pH), motilitas, konsentrasi, persentase hidup dan abnormalitas *spermatozoa*.

Volume. Volume sperma diketahui dengan melihat tabung penampung sperma yang berskala.

Warna dan bau. Sperma segar diperiksa warna dan baunya.

Konsistensi. Konsistensi sperma dilakukan dengan menggoyangkan tabung *semen* secara perlahan-lahan dan dilihat kecepatan hilangnya cairan sperma yang menempel pada dinding tabung.

Derajat keasaman (pH). Sperma segar diteteskan pada ujung sensor pH meter dan dilihat angkanya yang menunjukkan pH sperma tersebut.

Motilitas. Motilitas yang diperiksa meliputi gerakan massa dan gerakan individu.

Konsentrasi. Konsentrasi dihitung dengan pipet *haemocytometer* dan kamar hitung *Neubauer*. Konsentrasi dihitung dengan rumus :

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi} &= x \cdot \frac{400}{80} \cdot \frac{200}{0,1} \\ &= x \cdot 0,001 \text{ juta/mm}^3 \\ &= x \cdot 10 \text{ juta/ml} \end{aligned}$$

Diketahui :

x : jumlah *spermatozoa* pada kelima bilik
400: jumlah ruang kecil dalam 25 kamar

hitung
 80 : jumlah ruang kecil dalam 5 kamar hitung
 200: pengenceran *spermatozoa*
 0,1 : volume total kamār hitung (mm^3)

Persentase *spermatozoa* hidup. Cara menentukan persentase *spermatozoa* hidup adalah dengan membuat preparat apus dengan pewarnaan differensial. *Spermatozoa* yang hidup sebelum dibuat preparat apus akan berwarna terang dan yang mati berwarna merah. Persentase *spermatozoa* hidup dihitung dengan menggunakan perhitungan :

$$\frac{X - Y}{X} \times 100\%$$

Di mana :

x = jumlah *spermatozoa* keseluruhan (200)

y = jumlah *spermatozoa* mati

Abnormalitas *spermatozoa*. Abnormalitas *spermatozoa* dihitung dari bentuk-bentuk *spermatozoa* abnormal pada preparat apus dengan pewarnaan *cotin*. Rumus menghitung persentase abnormalitas adalah:

$$\frac{Y}{X} \times 100\%$$

Di mana :

y = jumlah *spermatozoa* abnormal

x = jumlah *spermatozoa* keseluruhan (200)

Pengenceran dan pembekuan sperma

Pengencer yang digunakan adalah pengencer *tris-glucose-kuning telur*, 1 gram *glucose*, 2,42 gram *tris*, 1,36 gram asam sitrat dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml, kemudian dipanaskan sampai suhunya 100°C. Kemudian didiamkan sampai suhu 37°C dan selanjutnya ditambahkan *penicillin* dan *streptomycin* masing-masing 0,1 gram dan disaring.

Kebutuhan bahan pengencer dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Volume Total} = \frac{\text{volume sari} \times \text{Konsentrasi} \times \text{Motilitas}}{\text{Ototik IB}}$$

$$\text{Volume pengencer} = \text{volume total} - \text{volume sperma}$$

Setelah volume pengencer diketahui, kemudian dibagi menjadi dua bagian yang sama banyak yaitu bagian A (pengencer yang tidak mengandung gliserol) dan bagian B (pengencer yang mengandung gliserol). Sperma segar ditambah bagian A dengan volume bagian A sama dengan volume sperma segar, kemudian dimasukkan dalam *refrigerator* bersuhu 5°C selama 35 menit bersama *water jacket* bersuhu ±37°C, kemudian *water jacket* diambil dan campuran tersebut didiamkan selama 50 menit sebelum bagian A sisa ditambahkan. Bagian A sisa dimasukkan ke dalam campuran bahan pengencer, kemudian didiamkan 15 menit. Setelah itu bagian B juga dimasukkan dalam *refrigerator* ditambahkan ke dalam campuran secara bertahap selama 4 kali dengan interval 15 menit melalui dinding tabung hingga volume akhir tercapai.

Pemeriksaan kualitas sperma

Pemeriksaan kualitas sperma meliputi pH, motilitas *spermatozoa*, persentase *spermatozoa* hidup, persentase abnormalitas *spermatozoa*. Pemeriksaan dilakukan di bawah mikroskop pada sperma segar, sperma cair, dan sperma yang telah dibekukan selama 24 jam. Sebelum diperiksa, sperma beku dicairkan kembali (*thawing*) dengan air kran bersuhu 25°C.

Analisis data

Data kualitas sperma segar meliputi volume, bau, warna, konsistensi, pH, konsentrasi, motilitas, persentase *spermatozoa* hidup dan abnormalitas *spermatozoa*. Data sperma sebelum dan sesudah dibekukan meliputi pH, motilitas, persentase *spermatozoa* hidup dan abnormalitas *spermatozoa*. Semua data tersebut dianalisis dengan analisis variansi menggunakan rancangan acak lengkap pola searah (Astuti, 1980).

Tabel 1. Kualitas sperma segar domba ekor tipis (*Fresh sperm quality of thin tail ram*)

Parameter (Variable)	Frekuensi penampungan sperma (Sperm collecting frequencies)				Rerata (means)
	P1	P2	P3		
Warna (color) <i>(yellowish)</i>	Krem <i>(White yellowish)</i>	Krem <i>(White yellowish)</i>	Krem <i>(White yellowish)</i>		Krem <i>(White yellowish)</i>
Bau (smell)	Spesifik <i>(Specific)</i>	Spesifik <i>(Specific)</i>	Spesifik <i>(Specific)</i>		Spesifik <i>(Specific)</i>
Konsistensi (consistency)	Kental <i>(Jell)</i>	Kental <i>(Jell)</i>	Kental <i>(Jell)</i>		Kental <i>(Jell)</i>
pH ^{ns} (pH)	6,18 ± 0,29	6,03 ± 0,38	6,18 ± 0,41		6,13 ± 0,37
Volume (volume) (ml) ^{ns}	0,67 ± 0,00	0,67 ± 0,13	0,66 ± 0,11		0,67 ± 0,10
Konsentrasi (juta/ml) ^{ns} (concentration) (million/ml)	3340 ± 437,49	3965 ± 941,35	3545 ± 1163,86		3650,83 ± 999,74
Gerakan massa (mass motility)	+++	+++	+++		+++
Motilitas (motility) (%) ^{ns}	85 ± 4,08	85,63 ± 4,17	82,5 ± 4,52		83,95 ± 4,42
Viabilitas (viability) (%) ^{ns}	88,5 ± 4,92	87,75 ± 3,50	88,13 ± 3,71		88,06 ± 3,68
Abnormalitas (%) ^{ns} (abnormality) (%) ^{ns}	6,88 ± 1,65	5,5 ± 2,78	7,83 ± 4,06		6,89 ± 3,43

Keterangan :

^{ns}: non signifikanP1: frekuensi penampungan sperma satu kali seminggu (*collection sperm once a week*) (n = 4)P2: frekuensi penampungan sperma dua kali seminggu (*collection sperm twice a week*) (n = 8)P3: frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu (*collection sperm thrice a week*) (n = 12)

Hasil dan Pembahasan

Penilaian kualitas sperma segar

Kualitas sperma segar domba ekor tipis yang digunakan dalam penelitian ini disajikan dalam Tabel 1.

Hasil penilaian sperma segar (Tabel 1) menunjukkan tidak adanya pengaruh frekuensi penampungan sperma terhadap warna, bau, dan konsistensi sperma domba ekor tipis. Frekuensi penampungan sperma satu kali, dua kali, dan tiga kali dalam seminggu juga tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH, motilitas, persentase hidup *spermatozoa*, dan abnormalitas sperma segar domba ekor tipis.

Penilaian derajat keasaman sperma

Hasil pengamatan terhadap derajat keasaman sperma dengan frekuensi penampungan sperma yang berbeda dalam pengencer *tris-glucose-kuning telur* sebelum dan sesudah pembekuan disajikan dalam Tabel 2.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa frekuensi penampungan sperma yang berbeda tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap pH sperma sebelum pembekuan, begitu juga terhadap pH sperma sesudah pembekuan (Tabel 2). Dalam penelitian ini terjadi penurunan pH setelah dibekukan. Hasil analisis statistik terhadap

Tabel 2. Derajat keasaman (pH) sperma domba ekor tipis sebelum dan sesudah pembekuan (pH sperm of thin tail ram before and after freezed at -196°C)

Parameter (Variable)	Frekuensi penampungan sperma (Sperm collecting frequencies)			Rerata (means)
	P1	P2	P3	
Sebelum ^a (before freeze)	6,33 ± 0,09	6,30 ± 0,11	6,31 ± 0,09	6,31 ± 0,09
Sesudah ^b (after freeze)	6,23 ± 0,09	6,21 ± 0,08	6,23 ± 0,09	6,22 ± 0,08
Penurunan ^{ns} (decrease)	0,10 ± 0,00	0,09 ± 0,08	0,08 ± 0,07	0,09 ± 0,68

Keterangan :

^a, non signifikanP1: frekuensi penampungan sperma satu kali seminggu (*collection sperm once a week*) (n = 4)P2: frekuensi penampungan sperma dua kali seminggu (*collection sperm twice a week*) (n = 8)P3: frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu (*collection sperm thrice a week*) (n = 12)

penurunan pH dari sebelum pembekuan ke sesudah pembekuan menunjukkan bahwa frekuensi penampungan sperma tidak memberikan perbedaan yang nyata. Penurunan pH ini berkaitan dengan terjadinya metabolisme *spermatozoa* selama tahapan proses pembekuan sperma. Pada saat pembekuan, proses penyesuaian tersebut berkaitan dengan perubahan intraseluler akibat terbentuknya kristal-kristal es pada suhu lebih dari titik beku yang merupakan saat pengumpulan elektrolit dan zat yang terlarut setelah dehidrasi (Salisbury dan VanDemark, 1985).

Penilaian motilitas *spermatozoa*

Hasil pengamatan terhadap motilitas *spermatozoa* dengan frekuensi penampungan sperma yang berbeda dalam pengencer *tris-glycose-kuning telur* sebelum dan sesudah pembekuan disajikan dalam Tabel 3.

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa frekuensi penampungan sperma yang berbeda tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap motilitas *spermatozoa* domba ekor tipis sebelum dan sesudah pembekuan (Tabel 3). Tetapi rataan motilitas sebelum dan sesudah pembekuan paling tinggi terdapat pada frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu dan terendah pada frekuensi penampungan sperma satu kali

seminggu, hal ini berhubungan dengan umur *spermatozoa* yang diejakulasikan.

Menurut Toelihere (1981) bahwa *spermatogenesis* pada domba berkisar antara 46 sampai 49 hari dan *Extragonal Sperm Reserves* (ESR) akan pulih kembali pada hari ke-7 setelah pengurasan, maka dapat dikatakan bahwa sperma yang ditampung dengan frekuensi penampungan yang jarang mempunyai ESR yang lebih tua daripada ESR dengan frekuensi ejakulasi yang sering, sehingga sperma yang diejakulasikan dengan perlakuan frekuensi ejakulasi 1 kali dalam seminggu (interval ejakulasi berikutnya 7 hari) mempunyai ESR lebih tua daripada ESR perlakuan frekuensi ejakulasi 2 kali seminggu dan 3 kali seminggu. Menurut Salisbury dan VanDemark (1985) umur *spermatozoa* merupakan faktor yang mempengaruhi kesuburan setelah *spermatozoa* melewati pembuluh keluar ke bagian ekor epididymis dan *spermatozoa* ini akan kehilangan kemampuan membuaui ovum setelah beberapa waktu berada di epididymis dan *spermatozoa* yang tidak diejakulasikan akan diekskresikan bersama urin dan yang lain direabsorbsi oleh *epididymis*. Dengan demikian *spermatozoa* yang lebih tua mempunyai kemampuan membuahi ovum lebih rendah dari pada *spermatozoa* yang lebih muda.

Hasil analisis statistik terhadap penurunan motilitas *spermatozoa* setelah

pembekuan juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (Tabel 3). Daya hidup dari motilitas *spermatozoa* yang diperlukan untuk menilai kualitas sperma dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain temperatur, lama penyimpanan atau umur *spermatozoa*, dan pH (Hardjoprangjoto, 1985). Menurut Evans dan Maxwell (1987) bahwa persentase motilitas *spermatozoa* setelah *thawing* tidak boleh kurang dari 40%, sedangkan motilitas setelah *thawing* hasil penelitian rata-rata lebih rendah dari 40% dan persentase motilitas paling tinggi terdapat

pada frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu. Menurut Salisbury dan VanDemark (1985) penurunan motilitas *spermatozoa* dapat disebabkan terjadinya penurunan pH selama penyimpanan. Selain itu menurut Herdis *et al.* (2005) penurunan persentase motilitas *spermatozoa* yang nyata dari tahap sperma segar ke tahap setelah pembekuan terjadi karena selama proses pembekuan dan pencairan kembali terjadi kerusakan integritas membran plasma sehingga menyebabkan menurunnya motilitas *spermatozoa*.

Tabel 3. Persentase motilitas *spermatozoa* sebelum dan sesudah pembekuan (%) (*Percentage motility sperm of thin tail ram before and after freezed at -196°C*)

Parameter (Variable)	Frekuensi penampungan sperma (Sperm collecting frequencies)			
	P1	P2	P3	Rerata(means)
Sebelum ^m (before freeze)	66,25 ± 4,79	67,38 ± 9,68	69,50 ± 7,10	68,25 ± 7,58
Sesudah ^m (after freeze)	22,50 ± 2,89	17,50 ± 7,07	26,25 ± 9,79	22,71 ± 8,84
Penurunan ^m (decrease)	43,75 ± 4,79	49,88 ± 9,42	43,25 ± 9,89	45,54 ± 9,31

Keterangan :

^m: non signifikan

P1: frekuensi penampungan sperma satu kali seminggu (*collection sperm once a week*) (n = 4)

P2: frekuensi penampungan sperma dua kali seminggu (*collection sperm twice a week*) (n = 8)

P3: frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu (*collection sperm thrice a week*) (n = 12)

Tabel 4. Persentase hidup *spermatozoa* sebelum dan sesudah pembekuan (%) (*Percentage viability sperm of thin tail ram before and after freezed at -196°C*)

Parameter (Variable)	Frekuensi penampungan sperma (Sperm collecting frequencies)			
	P1	P2	P3	Rerata (means)
Sebelum ^m (before freeze)	79,38 ± 3,47	75,94 ± 4,49	74,29 ± 4,67	75,69 ± 4,64
Sesudah ^m (after freeze)	67,00 ± 10,92	65,19 ± 4,01	64,96 ± 3,37	65,37 ± 5,14
Penurunan ^m (decrease)	12,38 ± 8,23	10,75 ± 4,44	9,33 ± 5,61	10,31 ± 5,59

Keterangan :

^m: non signifikan

P1: frekuensi penampungan sperma satu kali seminggu (*collection sperm once a week*) (n = 4)

P2: frekuensi penampungan sperma dua kali seminggu (*collection sperm twice a week*) (n = 8)

P3: frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu (*collection sperm thrice a week*) (n = 12)

Penilaian persentase hidup *spermatozoa*

Hasil pengamatan terhadap persentase hidup *spermatozoa* dengan frekuensi penampungan sperma yang berbeda dalam pengencer *tris-glucose-kuning telur* sebelum dan sesudah pembekuan disajikan dalam Tabel 4.

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa frekuensi penampungan sperma yang berbeda tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap persentase *spermatozoa* hidup pada sperma domba sebelum dibekukan, begitu juga terhadap persentase *spermatozoa* hidup setelah dibekukan (Tabel 4). Sedangkan hasil analisis statistik terhadap penurunan persentase *spermatozoa* hidup ternyata frekuensi penampungan sperma yang berbeda tidak memberikan perbedaan yang nyata. Tetapi penurunan paling tinggi terjadi pada frekuensi penampungan sperma satu kali seminggu dan paling rendah pada frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu. Hal ini disebabkan karena pada proses pembekuan jika perubahan temperatur tersebut berlangsung dengan cepat, sel sperma tidak mampu menyesuaikan diri sehingga sel sperma akan mati (Parera *et al.*, 2000). Sperma dari frekuensi penampungan sekali dalam seminggu menghasilkan *spermatozoa* yang lebih tua dari pada frekuensi penampungan sperma dua kali dan tiga kali seminggu dan *spermatozoa* yang tua mempunyai daya hidup lebih rendah dari pada *spermatozoa* yang muda. Selain itu pembekuan pada dasarnya adalah suatu proses pengeringan fisik di bawah titik beku. Bilamana suatu larutan dibekukan dan membentuk kristal es, sedangkan bahan terlarutnya tidak dapat bersatu dengan kristal-kristal es tersebut, melainkan terakumulasi semakin pekat. Kristal-kristal es yang terdapat di dalam sel sperma ini dapat merusak secara mekanik, sedangkan konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan molarutkan selubung *lipoprotein* pada dinding sel *spermatozoa*, sehingga pada saat pencairan kembali (*thawing*), permeabilitas membran selnya akan

berubah dan mengakibatkan kematian sel (Salisbury dan VanDemark, 1985).

Menurut Perry (1973) bahwa tingkat kematian sel sperma domba dan kambing yang diharapkan adalah 10%, namun bila tingkat kematian masih kurang dari 50% dapat menghasilkan fertilitas yang baik. Dengan demikian persentase hidup *spermatozoa* domba ekor tipis hasil penelitian menunjukkan dalam keadaan baik.

Penilaian abnormalitas *spermatozoa*

Hasil pengamatan terhadap abnormalitas *spermatozoa* dengan frekuensi penampungan sperma yang berbeda dalam pengencer *tris-glucose-kuning telur* sebelum dan sesudah pembekuan disajikan dalam Tabel 5.

Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa frekuensi penampungan sperma yang berbeda tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap persentase abnormalitas *spermatozoa* sebelum dibekukan, begitu juga terhadap persentase abnormalitas *spermatozoa* setelah dibekukan (Tabel 5). Abnormalitas *spermatozoa* setelah dibekukan berhubungan dengan terjadinya *cold shock*. Menurut Salisbury dan VanDemark (1985) bahwa *cold shock* akan menyebabkan persentase yang mati semakin banyak, dan *spermatozoa* yang mengalami kejutan dingin kadang-kadang ekor dan bagian tengah tubuhnya melingkar bagian kepala.

Hasil analisis statistik terhadap kenaikan persentase abnormalitas *spermatozoa* ternyata frekuensi penampungan sperma tidak memberikan perbedaan yang nyata. (Tabel 5). Dengan penambahan glicerol dapat memodifikasi kristal-kristal es yang terbentuk dalam medium sewaktu pembekuan, sehingga dapat menghambat perusakan sel secara mekanik. Glycerol dapat juga berdifusi menembus dan memasuki *spermatozoa* semudah *fructose* dan dapat dipakai *spermatozoa* untuk aktivitas metabolisme oksidatif, glicerol tersebut akan menggantikan sebagian air bebas dan mendesak ke luar elektrolit-elektrolit, menurunkan konsentrasi

Tabel 5. Persentase abnormalitas *spermatozoa* sebelum dan sesudah pembekuan (%) (*Percentage abnormality sperm of thin tail ram before and after freezed at -196°C*)

Parameter (Variable)	Frekuensi penampungan sperma (Sperm collecting frequencies)			
	P1	P2	P3	Rerata (means)
Sebelum ^{ns} (before freeze)	10,00 ± 1,47	8,25 ± 2,78	11,33 ± 4,49	10,08 ± 3,78
Sesudah ^{ns} (after freeze)	13,00 ± 1,29	12,94 ± 3,11	15,29 ± 4,25	14,13 ± 3,64
Kenaikan ^{ns} (increase)	3,00 ± 0,71	4,69 ± 2,69	3,96 ± 3,49	4,04 ± 2,91

Keterangan :

^{ns}: non signifikan

P1: frekuensi penampungan sperma satu kali seminggu (*collection sperm once a week*) (n = 4)

P2: frekuensi penampungan sperma dua kali seminggu (*collection sperm twice a week*) (n = 8)

P3: frekuensi penampungan sperma tiga kali seminggu (*collection sperm thrice a week*) (n = 12)

intraseluler elektrolit tersebut dan mengurangi daya perusak terhadap *spermatozoa* (Toelihere, 1985).

Menurut Toelihere (1985) sperma domba yang fertil tidak boleh mengandung lebih dari 5 sampai 15 persen sperma abnormal. Sedangkan menurut Chemineau dan Cagnie (1991) bahwa sperma dari pejantan yang potensial mengandung tidak lebih dari 15 sampai 20% *spermatozoa* abnormal pada ejakulasi pertama dari pejantan. Nilai tersebut secara umum akan menurun dengan meningkatnya jumlah penampungan sperma. Sedangkan hasil penelitian persentase abnormalitas *spermatozoa* setelah dibekukan rata-rata $14,13 \pm 3,64\%$ sehingga dikatakan memiliki persentase abnormalitas yang baik.

Kesimpulan

Penelitian ini menyimpulkan bahwa kualitas dan kuantitas sperma segar domba ekor tipis tidak dipengaruhi oleh frekuensi penampungan sampai dengan penampungan tiga kali seminggu. Frekuensi penampungan sperma satu kali, dua kali, dan tiga kali dalam seminggu tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pH, motilitas, persentase hidup *spermatozoa*, dan abnormalitas *spermatozoa* domba ekor tipis dengan pengencer *tris-glucose-kuning telur* baik

sebelum dibekukan dan sesudah dibekukan pada suhu -196°C.

Daftar Pustaka

- Anonimus, 2003. The Effects of Glutathione Addition In Tris Extender on Chilled-Sperma Quality of Garut Rams. Buletin Peternakan. Vol. 27 (2). Tahun 2003 : 64-70.
- Astuti, M. 1980. Rancangan Percobaan dan Analisis Statistik. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Chemineau, P. and Y. Cagnie. 1991. Training Manual on Artificial Insemination in Sheep and Goat. Food and Agriculture Organization of The United Nation, Rome.
- Evans, G. dan W.M.C Maxwell. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworth Pty Ltd. Victoria.
- Hadjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran pada Ternak. Airlangga University Press, Surabaya.
- Herdiawan, 2004. Pengaruh Laju Penurunan Suhu dan Jenis Pengencer terhadap Kualitas Sperma Beku Domba Priangan. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner, vol. 9 No. 2 Tahun 2004 : 98-106.
- Herdin, M.R. Toelihere, I. Supriatna, B. Purwantara dan RTS. Adikara, 2005.

- Optimalisasi Waktu Ekuilibrasi dan Metode Pencairan Kembali pada Proses Pembekuan Sperma Domba Garut (*Ovis aries*). *Animal Production*, vol. 7 No 2, Mei 2005 : 81-88.
- Hunter, R.H.F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. ITB, Bandung.
- Lindsay, D.R., K.W. Entristle dan A. Winantea. 1982. *Reproduction In Domestic Livestock In Indonesia*. AUDP, Canberra.
- Parera, F., Ismaya, dan Kustono. 2000. Pengaruh Pencucian Sperma dan Aras Kuning Telur terhadap Kualitas Sperma Beku Kambing Peranakan Etawa. Agrosains, ISSN 1411-6170, vol. 13 No. 1, 2000 : 93-103.
- Perry, E.J. 1969. Factor Influencing the Quality and Quantity of Sperma : In; *The Artificial Insemination of Farm Animals*, fourth edition (ed: E. J. Perry). Oxford and IBH Publishing Co. Calcutta, Bombay, New Delhi.
- Priyono, A., W.S. Rachmawati, I. Budiman, dan D. Adisuwiryo. 1983. Pengaruh Lama Waktu Transportasi dan Periode Penyadapan terhadap Motilitas dan Differensial Spermatozoa Domba Lokal. Prosiding Pertemuan Ilmiah Penelitian Ruminansia Kecil 1983, Bogor.
- Salisbury, G.W. dan N.L. VanDemark (Terjemahan R. Djanuar). 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada sapi*. W.H. Freeman & Company. San Fransisco dan London.
- Toelihere, M. R. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M. R. 1985. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.