**PENGARUH KONDISI KUNING TELUR DAN PENYIMPANAN SEMEN**

**PADA SUHU 5°C DAN BEKU SELAMA 24 JAM**

**TERHADAP KUALITAS SEMEN DOMBA**

Tino tyas jatmiko

Program Studi Peternakan, Fakultas Agroindustri, Universitas Mercu Buna Yogyakarta, Jl. Wates Km 10, Yogyakarta 55753

tinotyasj@gmail.com

**INTISARI\*)**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh macam kondisi kuning telur sebagai pengencer semen terhadap motilitas semen domba pada suhu 5°C dan beku selama 24 jam. Penelitian dilaksanakan pada 12-19 Juli 2018 di Unit Pengembangan Semen Beku UPTD BPBPTDK DIY Jalan Palagan Tentara Pelajar Km. 15,5 Sumedang, Purwobinangun, Pakem, Sleman Yogyakarta. Penelitian ini menggunaan rancangan acak lengkap (RAL) Factorial 2x3 faktor pertama adalah suhu simpan, faktor yang ke dua adalah macam kondisi kuning telur (fertil, non fertil, dan limbah) dengan 3 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis variansi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan kuning telur non fertil sebagai bahan pengencer semen domba pada suhu 5ºC dalam penyimpanan 24 jam dengan prosentase motilitas sebesar 80,00% sedangkan motilitas kuning telur fertil sebesar 71,67% dan kuning telur limbah sebesar 63,33% selain itu penggunaan kuning telur fertil pada penyimpanan -5°C sebesar 36,67% kuning telur non fertil sebesar 31,67% dan kuning telur limbah sebesar 22,67%. Disimpulkan spermatozoa domba lokal yang disimpan pada suhu 5°C selama 24 jam yang terbaik menggunakan pengencer kuning telur non fertil.

Kata Kunci : kuning telur, telur, domba, spermatozoa.

EFFECT OF YOLK AND CEMENT STORAGE

 AT 5°C TEMPERATURE AND FROZEN

FOR 24 HOURS ON SHEEP CEMENT QUALITY

**ABSTRAC\*)**

 This study aims to determine the effect of kinds of egg yolk conditions as semen on the motility of sheep semen at 5 ° C and freeze for 24 hours. The study was carried out on 12-19 July 2018 in the Frozen Cement Development Unit of UPTD BPBPTDK DIY Jalan Palagan Students' Army Km. 15,5 Sumedang, Purwobinangun, Pakem, Sleman Yogyakarta. This study uses a completely randomized design (CRD) Factorial 2x3 The first factor is the storage temperature, the second factor is the type of yolk (fertile, non-fertile, and waste) with 3 replications. The data obtained were analyzed using analysis of variance. The results of this study indicate that the use of non-fertilized egg yolk as a diluent of sheep semen at a temperature of 5ºC in 24-hour storage with a motility percentage of 80.00% while the fertility of egg yolk of 71.67% and waste yolk of 63.33% in addition the use of fertilized egg yolk at -5 ° C is 36.67% non-fertilized egg yolk at 31.67% and waste egg yolk at 22.67%. It was concluded that local sheep spermatozoa stored at 5 ° C for 24 hours are best using non-fertilized egg yolk thinners.

Keywords: Egg yolks, eggs, sheep, spermatozoa.

**PENDAHULUAN**

1. **Latar belakang**

Pengawetan semen domba dalam bentuk penyimpanan beku (kriopreservasi) sel-sel germinal merupakan salah satu metode konservasi plasma nutfah yang memiliki keunggulan spesifik. Melalui program inseminasi buatan, tingkat keberhasilan penyimpanan semen beku ini, dapat dijadikan tolok ukur yang signifikan. Berdasarkan fakta di lapang ternyata pengawetan semen domba melalui proses pembekuan, memungkinkan menurunnya tingkat fertilitas bila dibandingkan dengan semen segar. Selanjutnya dikatakan pula bahwa motilitas spermatozoa pada semen yang dibekukan mengalami penurunan sekitar 30-60% dibandingkan dengan semen segar (Lake, 1966).

Pada ternak domba media pengencer yang digunakan masih terus dikembangkan, proses pengolahan semen, pengenceran semen sangat penting dilakukan karena pengenceran bertujuan 1. Memperbanyak volume semen sehingga lebih banyak hewan yang dapat diinseminasi. 2. Menyediakan zat makanan untuk spermatozoa. 3. Mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. 4. Berfungsi sebagai buffer. 5. Mencegah terjadinya pertumbuhan kuman.

Penggunaan kuning telur sebagai salah satu media pengencer sudah lumrah dilakukan, kuning telur yang biasa di gunakan adalah kuning telur yang segar namun dalam pemilihan kuning telur fertile dan non fertile dalam pemakaiannya pastilah memiliki kandungan yang berbeda dan dengan kandungan yang berbeda ini pula nantinya dapat mempengaruhui motilitas dan kualitas semen.

Kualitas semen mempunyai peranan penting dalam teknologi IB, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan dengan teliti dan hati-hati (Anonimus, 2005). Motilitas merupakan kriteria yang paling banyak digunakan untuk evaluasi semen. Hasil penelitian Pena, *et al.,* (1998); Kreplin (2002) menemukan indikasi bahwa intregritas membrane dan fertilitas berkorelasi positif dengan motilitas spermatozoa *post thawing*. Januskauskas dan Zilinskas (2002) mengungkapkan bahwa metode perhitungan motilitas spermatozoa relative sederhana yaitu pengamatan dengan menggunakan mikroskop.

Teknologi reproduksi merupakan satu kesatuan dari teknik-teknik rekayasa system reproduksi hewan yang dikembangkan melalui suatu proses penelitian dalam bidang reproduksi hewan yang dikembangkan melalui suatu proses penelitian dalam bidang reproduksi hewan secara terus menerus dan berkesinambungan dengan hasil berupa alat, metoda yang dapat diaplikasikan dengan tujuan tertentu.

 Terdapat banyak sekali teknologi reproduksi yang bisa digunakan dalam pelaksanaan usaha peternakan yang ditujukan untuk meningkatkan populasi dan produksi. Beberapa diantaranya telah dipakai di Indonesia seperti pembekuan spermatozoa dalam nitrogen cair dengan temperatur -196°C merupakan teknologi yang langka karena perlakuan dan peralatannya sangat mahal. Selain mahal dan langka, belum banyak tenaga professional yang menangani cara ini dengan teliti. Maka dalam penelitian ini sebagai alternative menggantikan penyimpanan semen dalam nitrogen -196°C dengan penyimpanan semen dalam refrigerator temperature 5°C dan freezer agar lebih efektif dan efisien dalam penggunaannya di lapangan.

Beberapa jenis pengencer sitrat, dan lainnya telah digunakan dalam pembuatan semen beku. (Foote, 1978), menyatakan bahwa pengencer sitrat-kuning telur digunakan sebagai media hidup sel spermatozoa, karena semen itu sendiri mengandung sitrat natricus yang merupakan penyanggah bersifat isotonis, berguna bagi metabolisme sel, sebagai *buffer* dalam mempertahankan pH dan daya hidup sel sperma. Selanjutnya sitrat natricus akan mengikat logam kalsium dan logam berat lainnya serta mengkoagulasikan butir lemak pada kuning telur saat proses pembekuan berlangsung, sehingga spermatozoa mudah diobservasi dengan baik.

Pembekuan pada dasarnya adalah suatu proses pengeringan fisik di bawah titik beku. Bilamana suatu larutan dibekukan, maka zat pelarutnya berupa air akan membeku dan membentuk kristal-kristal es, sedangkan bahan terlarutnya tidak dapat bersatu dengan kristal-kristal es tersebut, melainkan berakumulasi semakin pekat. Kristal-kristal es yang terdapat di dalam sel sperma ini dapat merusak secara mekanik, sedangkan konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan 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).

Penelitian dimaksudkan untuk mengetahui kualitas semen domba dalam kondisi kuning telur yang berbeda pada suhu 5°C dan beku sebagai solusi pengganti N2 cair yang mahal. Sehingga didapatkan kegiatan IB yang efektif dan efisien pada domba.

**B. Tujuan Penelitian**

 Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh macam kondisi kuning telur sebagai pengencer semen terhadap motilitas semen domba pada suhu 5°C dan beku selama 24 jam.

**C. Manfaat Penelitian**

 Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai bahan informasi, pendukung dan pembelajaran bagi peternak dan khalayak umum dalam metode pemilihan bahan pengencer semen pada ternak domba.

**MATERI DAN METODE**

**Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitiandilaksanakan pada 5 Juni 2018 diUnit Pengembangan Semen Beku UPTD BPBPTDK DIY Jalan Palagan Tentara Pelajar Km. 15,5 Sumedang, Purwobinangun, Pakem, Sleman Yogyuakarta.

**Materi**

Materi yang digunakan dalam penelitian yaitu domba pejantan yang terdapat diUPTD BPBPTDK DIY.

**Alat :**

 Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Vagina buatan, Mikroskop, Gelas Obyek, Refrigerator, Tabung raksi 15ml, Pipet, Goblet, Canister, Straw, Cover Glass, Beaker glass 1000ml, Gunting, Protector semen, Mechanical Hand Counter.

**Bahan :**

 Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Semen segar domba, Aquabidest, *Penicillin* 3000000 IU, *Streptomycin*, Pewarna *Eosin*, NaCl 0,9%, Kuning telur, Gliserol, Glukosa, Nitrogen cair, Air hangat 37˚C, Air dingin.

**Metode**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium menggunakan pola rancangan acak lengkap pola faktorial dengan 3 kondisi kuning telur (fertil, non fertil, dan limbah) 2 waktu penyimpanan (5˚C, beku) dan 3 ulangan dengan penambahan gliserol 6%.

**Parameter yang Diamati**

1. Gerak Massa Spermatozoa (menggunakan perbesaran (10X10)
2. Motilitas Spermatozoa (menggunakan perbesaran (40X10)

**Prosedur penelitian**

Penelitian ini menguji penggunaan kondisi kuning telur yang berbeda pada pengencer citrat kuning telur terhadap kualitas spermatozoa. Kegiatan penelitian ini terbagi dalam beberapa tahap kegiatan yaitu proses penampungan semen, evaluasi semen segar, proses pengenceran, ekuilibrasi (diikuti evaluasi semen), *filling* dan *sealing*, *prefreezing* (diikuti evaluasi semen), *freezing* (evaluasi semen *post thawing*), dan penyimpanan semen beku.

1. **Penampungan Semen**

penampungan semen pada domba bertujuan untuk mendapatkan semen dengan jumlah yang banyak dan kualitas yang baik untuk proses lebih lanjut. Cara mendapatkan semen domba ini adalah dengan menyiapkan domba jantan yang sudah di siapkan dan belum dilakukan perkawinan selama 3 hari sebelum penampungan. Selain itu digunakan pula domba betina untuk menjadi pemancing pejantan untuk ereksi, penggunaan vagina buatan juga di pakai sebagai media penampung sperma domba.

 Penampungan dilakukan dengan melepaskan pejantan agar mendekati dan bereaksi terhadap betina pemancing, setelah pejantan mulai menaiki betina maka di gagalkan (false mount) terlebih dahulu agar jangan sampai pejantan ejakulasi dan hal ini dilakukan sebanyak 3 kali dan pada percobaan ketiga barulah itu penis domba di belokkan ke arah vagina buatan yang sudah disiapkan oleh petugas.

1. **Evaluasi Semen**

Layak atau tidaknya semen agar dapat diolah menjadi semen beku harus melalui tahapan kualitas yang telah ditentukan sesuai dengan standar kualitas kontrol yang ada. Kualitas semen ditentukan melalui tahap pengamatan berupa pengamatan mikroskopis dan makroskopis. Uji secara makroskopis yaitu volume, warna, konsistensi semen segar dan pH semen. Uji mikroskopis berupa motilitas massa, motilitas individu dan konsentrasi sperma

1. **Pengenceran Semen**

Hafez (1993) menyatakan bahwa proses pengenceran dilakukan dalam tabung reaksi secara steril. Volume bahan pengencer dihitung dengan rumus sebagai berikut

Jumlah pengencer (ml) = $\frac{Volume semen x \% Motilitas x Konsentrasi100 }{juta/0,25(dosis straw ib) }$- Volume

Semen diencerkan dengan menggunakan bahan pengencer tris sitrat kuning telur. Bahan pengencer tris sitrat kuning telur terdiri dari kuning telur, asam sitrat, fruktosa, antibiotik (penisilin dan streptomisin), aquabides serta gliserol.

Proses pembuatan bahan pengencer tris sitrat kuning telur terdiri dari dua tahap yakni pembuatan larutan *stock solution* dan pengenceran. Pembuatan larutan *stock solution* dilakukan dengan cara menambahkan *tris aminomethan, citric acid,* fruktosa, aquabides dengan dosis yang telah ditentukan. Proses pengenceran dilakukan dengan cara menambahkan larutan ±74% *stock solution*, ±20% kuning telur (dengan kondisi yang berbeda), gliserol (dengan dosis yang telah ditentukan),streptomisin dan penisilin. Setelah larutan tercampur, dilakukan pengadukan dengan tujuan untuk menghomogenkan bahan pengencer (BIB Poncowati, 2012).

1. **Ekuilibrasi**

Proses ekuilibrasi dilakukan setelah semen dicampur dengan bahan pengencer. Ekuilibrasi dilakukan selama 2 jam di dalam *cooltop*. Waktu ekuilibrasi adalah waktu yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer supaya sewaktu pembekuan kematian sperma yang berlebih-lebihan dapat dicegah. Semen harus berada di dalam pengencer dengan atau tanpa gliserol selama kurang lebih 2 jam pada suhu 5°C (Toelihere, 1981).

1. **Evaluasi Post Ekuilbrasi**

Evaluasi dilakukan setelah semen melewati proses ekuilibrasi selama 4 jam. Evaluasi semen meliputi pengamatan motilitas massa dan motilitas individu dari sampel tersebut.

1. **Filling Dan Sealing**

Proses tersebut merupakan proses pengisian dan pengemasan semen yang telah diencerkan karena telah memenuhi syarat setelah proses ekuilibrasi*.* Semen dikemas di dalam mesin *cool top* dengan suhu 5-6°C secara otomatis dan diisi ke dalam *straw* yang berisi 0,25 ml semen dengan konsentrasi sperma 25x106sel/dosis (BIB Poncowati, 2012).

1. **Proses Prefreezing**

Proses *prefreezing* semen dilakukan dengan cara meletakan *straw* menggunakan boks dan dimasukkan kedalaMrefrigerator dengan suhu 5°C.

1. **Evaluasi Pre Freezing**

Evaluasi *prefreezing* merupakan pengujian kualitas semen untuk mengetahui motilitas massa dan motilitas individu serta daya tahan hidup sperma setelah proses *prefreezing*.

1. **Proses Freezing**

Proses *freezing* atau pembekuan dilakukan setelah proses *prefreezing*. Pembekuan semen dilakukan dengan cara menaruh semen ke dalam boks dan ditata setelah itu di masukkan ke dalam freezer dengan memberi alas kain di bawah boks penyimpanan semen agar boks semen dan freezer tidak bersentuhan langsung, dengan tujuan agar pembekuan semen merata dan tidak terjadi cold syock yang tinggi.

1. **Evaluasi Post Thawing**

Evaluasi semen beku setelah pencairan kembali (*post thawing*) merupakan pengujian kualitas terakhir dalam pengolahan semen beku. Menurut SNI 4869. 1-2008, semen beku sesudah dicairkan kembali (*post thawing*) pada suhu antara 37 °C dan 38 °C selama 15 detik sampai dengan 30 detik harus menunjukkan motilitas spermatozoa minimal 40 %, dan derajat gerakan individu spermatozoa minimal 2 (dua).

**Analisis Data**

Data diuji variatif dengan RALFactorial 2x3x3. Data yang didapat di analisis dengan anova bila terjadi variansi, jika tidak maka akan dilanjutkan dengan menggunakan DMRT.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Kualitas Semen Domba Lokal**

 Pemeriksaan awal kualitas semen segar pada penelitian ini sangatlah penting, untuk menentukan apakah semen domba yang dipakai memenuhi standar untuk di encerkan dan digunakan untuk kegiatan inseminasi buatan (IB). Selain itu hasil pengamatan semen segar tersebut akan digunakan sebagai tolak ukur awal dari pemeriksaan motilitas semen domba setelah diencerkan dengan kondisi kuning telur yang berbeda (fertil, non fertil, limbah) dan di simpan selama 24 jam pada suhu 5OC dan beku.

**Tabel 1. Kualitas sperma Domba lokal**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Pemeriksaan | Variabel | kualitas | Rerata |
| 1 | 2 | 3 |  |
| Makroskopis | Volume | 0,9 ml | 0,8 ml | 0,7 ml | 0,8 ml |
| Warna | Putih susu | Putih susu | Putih susu | Putih susu |
| pH | 7 | 6.7 | 6.8 | 7 |
| Bau | Khas  | Khas | Khas | Khas |
| Mikroskopis | Gerak massa | +++ | ++ | +++ | +++ |
| Motilitas | 90% | 93% | 90% | 91% |
| Konsistensi | kental | Kental  | kental | Kental  |
| Konsentrasi | 2,393 x 109 | 2,389 x $10^{9}$ | 2,365 x $10^{9}$ | 2,382 x $10^{9}$ |

**Kualitas sperma secara makroskopis**

1. **Volume**

 Volume sperma dipengaruhi oleh bangsa, ukuran badan, umur, pakan, frekuensi penampungan. Pejantan yang masih muda dan berukuran badan kecil umumnya memiliki sperma dengan volume rendah dan penampungan yang terlalu sering dalam satu waktu yang berdekatan akan menurunkan volume ejakulat (Rizal dan Herdis, 2008). Sifat semen juga dipengaruhi oleh umur pejantan dan interaksi antara umur dengan interval penampungan.

Hal lain yang mempengaruhi pada volume ejakulat adalah umur domba yang berpengaruh signifikan dengan musim, sehingga dapat mempengaruhi volume ejakulat dan presentase motil spermatozoa. Ningrum *et al.* (2008), lingkar skrotum erat hubungannya dengan kualitas semen (volume, konsentrasi, dan motilitas spermatozoa) diduga hal itu dikarenakan testes mempunyai fungsi menghasilkan spermatozoa atau sel-sel kelamin jantan dan mensekresikan hormone kelamin jantan (testosteron), sedangkan skrotum berfungsi menunjang dan melindungi testes dan epididymis, dan juga mempertahankan suhu yang lebih rendah daripada suhu badan yang diperlukan untuk spermatogenesis (Toelihere, 1979)Volume semen segar domba lokal dilihat langsung pada skala tabung penampung setelah dilakukan penampungan dengan vagina buatan. Berdasarkan table 1. volume semen segar domba lokal mendapatkan 0.9 ml. Faktor yang mempengaruhi produksi sperma meliputi faktor kesehatan, faktor umur dan konformasi tubuh, faktor nutrisi, dan manajemen pemeliharaan (Melling dan Alder, 1998).

1. **Warna Semen**

Berdasarkan hasil penelitian warna semen segar domba lokal hasil penampungan semen segar yang diperoleh dengan cara melakukan pengamatan langsung sesaat setelah penampungan sperma domba dan didapatkan warna putih susu, hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) bahwa warna semen domba yang normal adalah seperti susu atau krem keputih-putihan dan keruh.Menurut Feradis (2007), warna semen dipengaruhi oleh konsentrasi spermatozoa, dimana semakin tinggi konsentrasi spermatozoa maka warna semen akan semakin keruh.

1. **pH**

Derajat keasaman (pH) yang didapatkan dari hasil pengujian menggunakan kertas lakmus adalah 7 dan hal ini menunjukkan bahwa kadar keasaman semen domba lokal tersebut dalam keadaan normal, hal ini sesuai dengan pendapat Hafez (2000) yang menyatakan bahwa sperma ternak domba atau kambing memiliki pH berkisar antara 6,2 sampai 7,0 atau rerata 6,8 sehingga pH sperma kambing Bligon hasil penelitian ini dapat dikategorikan baik karena berada dalam kisaran normaldan Menurut Toelihere (1993) spermatozoa sangat aktif dan tahan lama hidup pada pH sekitar 7,0. Kandungan asam sitrat pda masing-masing semen pejantan dapat berubah tergantung pada kondisi pejantan tersebut. Bearden dan Fuquay (1984) menyatakan bahwa konsentrasi spermatozoa yang tinggi lebih asam dari pada semen dengan konsentrasi spermatozoa yang rendah.

1. **Bau**

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil secara diskriptif pada table 1. Semen segar domba lokal berbau amis khas, hal ini sesuai dengan pendapat Feradis (2010), semen yang normal umumnya memiliki bau amis khas disertai bau dari hewan itu sendiri. Bau ini di evaluasi dengan cara mencium langsung terhadap semen segar domba segera setelah dilakukan penampungan. Bau khas tersebut menunjukkan bahwa sperma tersebut normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan prosesing sperma. Takahashi *et al.* (1992) menyatakan bahwa bau spesifik sperma diduga berasal dari protein dan *phospholipid* dari sekresi prostetik.

1. **Konsistensi**

Konsistensi atau kekentalan Semen segar dilihat dengan cara memiringkan tabungSemensecara perlahan dan mengembalikan Semenkoposisi semula sehingga dapat ditentukan apakah cairan Sementersebut encer, sedang atau kental.Semensapi dan domba mempunyai konsistensi kental berwarna krem, sedangkanSemenkuda dan babi cukup encer berwarna terang sampai kelabu. Semencair berwarna atau hanya sedikit kekeruhan memiliki konsentrasi sekitar 100 juta sel Spermatozoa per ml dan yang jernih seperti air kurang dari 50 juta per ml. Konsistensi Semen tergantung pada rasio kandungan Spermatozoa dan *Seminalplasma*. Konsistensi adalah derajat kekentalan yang erat kaitanya dengan konsentrasi Spermatozoa (Feradis, 2010).Berdasarkan table 1. Didapatkan konsistensi semen segar domba lokal adalah Kental, menurut Feradis (2007), konsistensi (kekentalan) semen dipengaruhi oleh konsentrasi spermatozoa, dimana semakin tinggi konsentrasi spermatozoa maka konsistensi akan semakin kental.

**Kualitas spermasecara mikroskopis**

1. **Gerak massa**

Berdasarkan hasil penelitian di peroleh semen segar domba lokal pada pengamaatan mikroskop dengan perbesaran 10x10adalah sangat baik (+++) dengan ciri spermatozoa bergerak seperti gelombang besar, tampak gelap tebal, aktif dan cepat berpindah. Keadaan ini diperkirakan mengandung 76-100 % spermatozoa progresif.Hal ini sesuai dengan Salisbury dan Vandenmark (1985), yang menyatakan bahwa berdasarkan penilaian gerakan massa, kualitas *Semen* dapat ditentukan sebagai berikut:

1). Sangat baik (+++), terlihat gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebaldan aktif bagaikan gumpalan awan hitam saat akan turun hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.

2). Baik (++), bila terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelasdan bergerak lamban.

3). Cukup (+), jika terlihat gelombang melainkan hanya gerakan-gerakan individual aktif progresif.

3). Buruk (N, *Necrospermia* atau 0), bila hanya sedikit atau tidak ada gerakan-gerakan individual.

1. **Motilitas**

Kebanyakan peneliti menentukan kualitas Semen berdasarkan Motilitasspermatozoa dengan nilai 0 sampai 5; Spermatozoa motil atau tidak bergerak; gerakan berputar di tempat; gerakan berayun dan melingkar, kurang dari 50%, bergerak progresif; antara 50%-80% bergerak progresif; pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% SpermaMotil; gerakan sangat progresif, menunjukkan 100% yang Motil aktif (Toelihere, 1979).

Motilitas semen segar domba lokal setelah penampungan adalah 90%. Menurut Garner dan Hafez (2000) bahwa semen segar domba mempunyai rata-rata motilitas sekitar 60-80%. Menurut Dethan, dkk (2010) yang menyebabkan perbedaan hasil penelitian disebabkan oleh perbedaan bangsa ternak percobaan, lama penelitian, suhu lingkungan sewaktu penelitian dan status gizi ternak. Motilitas spermatozoa atau daya gerak.

1. **Konsentrasi**

Konsentrasi Sperma atau kandungan Sperma dalam setiap mililiter Semen merupakan salah satu parameter kualitas Semen yang sangat berguna untuk menentukan jumlah betina yang dapat di inseminasi menggunakan Semen tersebut. Penentuan konsentrasi Sperma dapat dilakukan melalui beberapa cara, yaitu pendugaan melalui warna dan kekentalan Semen, jarak antar kepala Sperma, serta penghitugan menggunakan Haemacytometer dan kamar hitung Neubauer, Spektrofotometer dan perhitungan secara elektrik (Feradis, 2010).

Konsentrasi semen domba lokal yang digunakan pada penelitian ini adalah sedang dengan konsentrasi 2.393x$10^{9}$, hal ini dapat diartikan bahwa semen tersebut dalam keadaan yang baik dan layak untuk digunakan. Menurut Heriyanta,dkk (2013), konsentrasi spermatozoa dipengaruhi oleh umur pejantan dan kecenderungan untuk meningkat seiring dengan meningkatnya umur sampai 22 bulan. Toelihere (1993) berpendapat bahwa konsentrasi spermatozoa domba adalah 200-300x107.

**Tabel 2. Motilitas Semen Domba**

|  |  |
| --- | --- |
|  PelakuanSuhu  | Kuning Telur |
| KT 1 | KT2 | KT3 |
| 5ºC | 65 | 70 | 60 |
| 70 | 80 | 60 |
| 80 | 90 | 70 |
| Rerata | 71,67 b | 80,00 c | 63,33 a |
| -5°C | 10 | 15 | 18 |
| 60 | 40 | 30 |
| 40 | 40 | 20 |
| Rerata | 36,67 c | 31,67 b | 22,67 a |

Keterangan : a,b,c, berbeda nyata (P<0,05)

1. **Motilitas (%) semen domba lokal pada suhu 5OC**

 Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pengaruh macam kuning telur sebagai pengencer terhadap semen domba selama 24jam adalah nyata dengan rerata semen domba yang diencerkan dengan perlakuan Perlakuan KT 1 (fertil) menghasilkan rerata 71,67%, lebih baik jika dibandingkan perlakuan KT 3 dengan rerata 63,33% dan masih kurang baik bila dibandingkan dengan perlakuan KT 2 (non fertil) yang menghasilkan rerata 80,00%, sehingga perlakuan terbaik pada motilitas semen domba lokal pada suhu 5ºC adalah KT 2 dari pada perlakuan KT 1 dan perlakuan KT 3 dengan gerak massa +++.

Hal ini terjadi karena karena kuning telur non fertil mampu menyediakan sumber makanan lebih lengkap bagi spermatozoa, dibandingkan dengan kuning telur fertil dan limbah dimana komposisi dari kuning telur sudah ada pemecahan nutrisi guna tumbuh kembangnya janin. Tris kuning telur (non fertil) mengandung komposisi bahan yang berperan dalam mempertahankan daya tahan spermatozoa, terutama lipoprotein, lesitin, dan fruktosa. Sedangkan unsur elektrolit seperti Na, Ca, K berperan sebagai agen cryoprotectant di dalam pengencer (Eduard, 1997: Solihati, 2008). Serta mampu melindungi dan mempertahankan kehidupan spermatozoa seperti halnya jenis pengencer tris yang berbahan pelindung (krioprotektan) gliserol, selama proses pengawetan beku (kriopreservasi) berlangsung dimana Integritas akrosom dapat dipengaruhi oleh perubahan fisik maupun kandungan dari bahan kimia pengencer tersebut.

1. **Motilitas semen domba lokal pada suhu -5OC**

Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pengaruh macam kuning telur sebagai pengencer terhadap semen domba selama 24 jam adalah nyata dengan rerata semen domba dengan perlakuan KT 1 36,67% lebih baik dari pada rerata perlakuan KT 2 sebesar 31,67% dan KT3 sebesar 22,67% dengan gerak massa ++.

Rendahnya daya tahan hidup pada penyimpanan beku bisa disebabkan oleh penurunan suhu yang berakibat pada aktivitas metabolisme spermatozoa yang membentuk asam laktat dalam media pengencer. Asam laktat yang berlebih dalam pengencer merubah pH yang dapat menimbulkan efek racun dan kematian yang tinggi bagi spermatozoa (Widjaya, 2011).

Penurunan suhu saat penyimpanan semen mengakibatkan cold shock pada spermatozoa. Cold shock dapat merusak konfigurasi normal membrane spermatozoa menjadi hexagonal dan mengakibatkan stres. Stres pada spermatozoa ditandai dengan ekor melengkung, gerakan berputar-putar dan gerak mundur serta menurunkan motilitas progresif (Evans dan Maxwell, 1987: Rehman, 2012).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi nilai rerata motilitas Ismaya(2014) menyatakan bahwa motilitas spermatozoa dipengaruhi beberapa hal,seperti: suhu dan bahan kimia. Suhu dingin akan menghambat motilitas, sedangkan suhu panas meningkatkan motilitas zat kimia seperti urin dan kotoran yang mencemari sperma dapat menurunkan motilitas dan ejakulat pertama sesudah istirahat lama,biasanya banyak spermatozoa yang mati dan hal ini berakibat pada menurunnya persentase motilitas dan gerak individu setelah diencerkan.

Berdasarkan data statistik pada penyimpanan semen pada suhu 5°C didapatkan motilitas di atas 40% sedangkan pada penyimpanan beku didapatkan motilitas di bawah 40%. Hal ini dapat diartikan bahwa pada penyimpanan semen pada suhu 5°C selama 24 jam pada kondisi pengencer yang berbeda dapat digunakan untuk inseinasi buatan, Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa post thawing motility (PTM) semen beku yang layak IB yaitu sekitar 40%. Diduga

Penyebab rendahnya motilitas spermatozoa pada penyimpanan di suhu beku adalah terjadinya cold shock dan komposisi larutasn gliserol dalam penyangga kuning telur yang belum optimal penelitian ini dengan dosis 6%. Tambing *et al.* (2000) menyatakan bila konsentrasi gliserol tidak optimal akan menimbulkan gangguan berupa penurunan kualitas spermatozoa. Hal ini dikarenakan selama proses pembekuan, gliserol mampu memodifikasi kristal-kristal es yang terbentuk dan menghambat kerusakan membran sel secara mekanis pada waktu penurunan suhu (cooling rate), sehingga kerusakan organel-organel sel spermatozoa seperti lisosom mitokondria dapat dihindari, sehingga rantai oksidasi tidak terputus dan proses metabolisme tetap berlangsung yang menyebabkan spermatozoa tetap hidup.

Menurut Hafez *et al.* (2000) bahwa gliserol yang digunakan sebagai krioprotektan dapat berdifusi menembus dan memasuki sel spermatozoa, memiliki daya pengikat air yang kuat, sehingga pengaruh perlindungannya yaitu mampu mencegah terjadinya dehidrasi yang ditimbulkan oleh cold shock dengan cara menggantikan air yang keluar dari dalam sel saat pembekuan berlangsung. Sifat demikian mempengaruhi tekanan uap sehingga titik beku medium menurun, akibatnya sel spermatozoa akan memperoleh kesempatan lebih lama untuk mengeluarkan air, selain itu gliserol digunakan oleh sel spermatozoa untuk metabolisme oksidatif dan mendesak keluar elektrolit-elektrolit, menurunkan konsentrasi elektrolit intraseluler serta mengurangi daya merusaknya terhadap sel spermatozoa sehingga kematian sel dapat diminimalisir.

Pembekuan pada dasarnya adalah suatu proses pengeringan fisik di bawah titik beku. Bilamana suatu larutan dibekukan, maka zat pelarutnya berupa air akan membeku dan membentuk kristal-kristal es, sedangkan bahan terlarutnya tidak dapat bersatu dengan kristalkristal es tersebut, melainkan berakumulasi semakin pekat. Kristal-kristal es yang terdapat di dalam sel sperma ini dapat merusak secara mekanik, sedangkan konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan 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).

Pada penelitian ini didapatkan bahwa motilitas semen domba pada suhu beku berada dibawah rerata motilitas normal yang dapat digunakan untuk inseminasi buatan yaitu 40%. Seperti dinyatakan Norman (1988) Dan Leung (1991), bahwa proses pembekuan cepat maupun lambat, dapat menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi garam atau elektrolit yang menyebabkan perubahan tekanan osmotik dan diindikasikan dengan keluarnya cairan intraseluler secara cepat yang dapat merusak selubung lipoprotein sel spermatozoa. Rusaknya selubung lipoprotein ini akan menyebabkan mantel pelindung pecah, akibatnya substansi intraselulernya keluar dan spermatozoa kehilangan daya motilitasnya.

Selanjutnya dikatakan pula bahwa kerusakan sel akibat pembekuan dapat terjadi karena dehidrasi, peningkatan konsentrasi elektrolit, serta terbentuknya kristal es intraseluler yang dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel (Kwon *et al*., 2002), dan pada akhirnya spermatozoa kehilangan daya motilitasnya. Hilangnya daya motilitas spermatozoa selama proses pembekuan akan berpengaruh terhadap laju pemulihan (recovery rate) sperma setelah mengalami pencairan kembali.

Berkurangnya motilitas sperma yang didapatkan setelah pembekuan akan berpengaruh pada nilai recovery rate yang diperoleh. Penurunan motilitas yang tinggi akan menyebabkan nilai recovery rate semakin kecil, sedangkan penurunan motilitas yang rendah akan menghasilkan nilai recovery rate yang lebih besar. Semakin besar nilainya maka ketahanan spermatozoa terhadap pembekuan semakin tinggi dan menandakan kualitasnya baik, dan sebaliknya jika nilainya semakin kecil maka ketahanan spermatozoa semakin rendah dan menandakan kulitasnya jelek. Pengetahuan mengenai penurunan motilitas pada pembekuan semen dianggap sebagai salah satu parameter yang sering digunakan untuk mengetahui kemampuan sperma

**Kesimpulan**

Motilitas semen domba yang disimpan pada suhu 5ºC selama 24 jam dengan bahan pengencer kuning telur non fertil didapat sebesar 80,00% sedangkan motilitas kuning telur fertil sebesar 71,67% dan kuning telur limbah sebesar 63,33% selain itu penggunaan kuning telur fertil pada penyimpanan -5°C sebesar 36,67% kuning telur non fertil sebesar 31,67% dan kuning telur limbah sebesar 22,67%. Maka dapat disimpulkan kuning telur non fertil adalah bahan pengencer terbaik untuk dijadikan bahan pengencer semen domba pada suhu 5°C dan beku selama 24 jam.

**Saran**

Pada penyimpanan spermatozoa domba lokal sampai 24 jam sebaiknya menggunakan pengencer kuning telur yang non fertil.

**DAFTAR PUSTAKA**

Amann RP. 1999. *Cryopreservation of semen*. Di dalam: Encyclopedia of

 Reproduction. Vol.1London:Academic.

Bearden, H.J. and J.W Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction. 2nd Edition*.

 Reston publishing company, inc, Virginia

Chandolia, R.K., E. M. *Reinesten dan P.J. Hansen. 1999*. Lack of breed difference in response of bovine spermatozoa to heat shock. J. DairySci. 82 : 2617-2619.

Correa, J.R., Pace and Zavos. 1997. *Relationship Among Frozen-Thawed Sperm Characteristics Assesed Via The Routine Semen Analysis, Sperm Funcional Tests and Fertility of Bulls in An Artificial Insemination Program*. ElsevierScience Inc, Urbana. Theriogenology 48 (5) : 721

Curry, M.R., 1995. *Kriopreservasi of Semen from Domestic Livestocks*. In:

 Cryopreservasiand Freeze-Drying Protocol. Humana Press Inc.,

 Totowa,NJ.
Coulter, G.H., R. B. Cook dan J. P. Kastelic. 1997. *Effects of Dietary energy onScrotal Surface*

*Temperature, Seminal Quality and Sperm Production InYoung Beef Bulls*. J. Animal Science75 (6) : 1048 1052

Dethan, Agustinus Agung, Kustono, dan Hari Hartadi. 2010. Kualitas dan Kuantitas Sperma Kambing Bligon Jantan yang Diberikan Pakan rumput Gajah dengan Suplementasi Tepung Darah. Buletin Peternakan. Vol. 34(3):145-153. 2010.

Deka BC, Rao AR. 1986. *Effect of egg yolk levels on quality of frozen buck semen*.

Indian Vet J 63.

Dhami, A. J. and K.L. Sahni. 1993. *Evaluation of different cooling rates,*

*equilibration periods and diluent for effect on deep-freezing, enzyme*

*leakage and fertility of Taurine bull spermatozoa*. Theriogenol

Schellander, K., J.Peli, F.

Feradis,2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak.* Alfabeta, Bandung.

Feradis (2007), Feradis. 2007. *Karakteristik Sifat Fisik Semen Domba St. Croix*. *Jumal Petemakan*.Vol 4 Nol Februari 2007

 . 2010b. *Reproduksi Ternak.* Alfabeta. Bandung.

Garner DL and ESE Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In : Hafez B, ESE Hafez. 2000. Reproduction in Farm Animals . 7thEd. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Hafez, E. S. E. 2000. *Semen Evaluation in Reproduction In Farm Animals*. 7th edition. Lippicott Wiliams and Wilkins. Maryland, USA.

Hafez, E.S.E. 1987. Reproduction in Farm Animals. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia

Hafez, E. S. E. 2000. *Semen Evaluation in Reproduction In Farm Animals*. 7th edition. Lippicott Wiliams and Wilkins. Maryland, USA.

Heriyanta, E., M. Nur Ihsan, dan N. Isnaini. 2013. *Pengaruh Umur Kambing Peranakan Etawah(PE) Terhadap Kualitas Semen Segar. Jurnal Ternak Tropika.* Vol. 14, No.2: 1-5, 2013.

Ihsan, M. N. 1997. *Manajemen Reproduksi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya*, Malang.

Kreplin, D. D. and S. E. Echternkamp. 1892. *Puberty In Beff Bulls : Acromosome Morphology and Semen Quality In Bulls of Different Breeds*. J. Animal Science 55 (3).

Leung, L.K.P. 1991. Principles of biological cryopreservation. In: Fish Evolution and Systematics. JAMIESON (Ed). Evidence From Spermatozoa. Cambridge University Press. London, New York. 14: 231-244.

Kwon, A.Y., H.J. KO and C.S. PARK. 2002. Effect of diluent component, freezing rate, thawing time, and thawing temperature on AC acrosoma morphology, and motility of frozen thawed boar semen. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 15: 247-249.

Mathevon, M.,M. Buhr and J. C. M. Dekkers. 1998. *Enviromental, Management and Genetic Factors Affecting Semen Production in Holstein Bulls*. Journal Dairy Science 81 :3321-3330

Molova, 1983. Tris based diluent I. Improved protective effect on acrosom integrity. In: Frozen Storage of Ram Semen Processing Freezing, Thawing, and Fertility after Cervical Insemination. SALAMON dan MAXWELL (Ed.). Department of Animal Science, University of Sydney, Australia. p. 216.

Norman, W.D. 1988. The technology of food preservation. 3rd Edition. Diterjemahkan oleh MUCHJI MULYOHARDJO. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Salemba, Jakarta. pp. 146-150.

Nuryadi. 2010. *Dasar-dasar Reproduksi ternak*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

Partodiharjo, S. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.

Parks JE, Graham JK. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm

 membranes. Theriogenology38.

Pena, A. I. F Barrio, L. A. Quintela and P. G. Herradon. 1998. *Effects of Different Glycerol Treatments on Frozen-Thawed Dog Sperm Longevity and Acrosomal Integrity. Elsevier Science Ins*, Urbana. Theriogenology 50 : 163-172

Pond, K. dan W. Pond. 1999. *Introduction to Animal Science.* John Willey & Sons,Inc. USA.

Purbowati, E. 2011. Usaha Penggemukan Domba. Penebar Swadaya, Jakarta.

Salisbury, G.W. Dan N.L. Vandemark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Diterjemahkan oleh R. DJANUAR, Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. hlm. 525-532.

Salamon S, Maxwell WMC. 1995. Frozen storage of ram semen I: processing,

 freezing, thawing and fertility after cervical insemination. Anim

Reprod Sci 37.

Salah, M. S., F. D. El-Nouty and M. R. Al-Hajri. 1992. *Effects of Season onSeminal Characteristics of Holstein Bulls Under Semi-Arid Environment :nII. Sperm Abnormalities.* Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 5 : 449-454

Situmorang, P. 2002. *The Effectsof Inclusion of Exogenous Phospolipid In Tris-Diluent Containing A Different Level of Egg Yolkon The Viability of Bull Spermatozoa.* Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan dan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor 7 (3) : 131-187

Sumoprastowo, R.M. 1987. Beternak Domba Pedaging dan Wol. Brathara Karya Aksara. Jakarta.

Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi buatan pada ternak*. Angkasa, Bandung.

Toelihere MR. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Bandung: Angkasa. Jones

 RC, MartinICA. 1973. The effects of dilution egg yolk and cooling to50
Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Edisi Pertama. Penerbit,Angkasa,Bandung-Indonesia.
Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi buatan pada ternak*. Angkasa, Bandung.

Toelihere. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Cetakan keenam. Angkasa. Bandung.

Toelihere. 1993. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Cetakan keenam. Angkasa. Bandung. Toelihere. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Cetakan keenam. Angkasa. Bandung.

Tredjo AG, Anaya MJ, Hernandez GM. 1996. *Effect of egg yolk concentration and*

*the cooling rates on the sperm motility and acrosomal integrity of frozen caprine semen.* Di dalam: Proc. VI International Conference on Goats,Beijing, 6-11 Mei 1996.