

Efektifitas Waktu Ekuilibrasi Sebelum Pembekuan Spermatozoa Kambing Sapera Pasca *Electric Separating Sperm*

The Effectiveness of Time Equilibration Before Freezing in Sapera Goat Spermatozoa After Electric Separating Sperm

Amung Logam Saputro^{1*}, Ragil Angga Prastiya², Meidina Zulva Ulinuha³,
Prasita Widayani³

¹Departemen Klinik Veteriner, ²Departemen Reproduksi Veteriner, ³Pendidikan Profesi Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo, Surabaya, Indonesia, 60115.

*Corresponding author: amunglogamsaputro@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas waktu ekuilibrasi sebelum pembekuan spermatozoa kambing sapera setelah *Electric Separating Sperm* (ESS) terhadap motilitas, viabilitas, integritas membran, normalitas dan abnormalitas spermatozoa. Spermatozoa pada kambing sapera dikumpulkan menggunakan vagina buatan kemudian dipisahkan menggunakan metode EES. Penelitian ini menggunakan rumus acak lengkap dengan tiga perlakuan yaitu waktu kesetimbangan P1 (1 jam), P2 (3 jam), dan P3 (4 jam), dengan enam pengulangan. Analisis dalam penelitian ini menggunakan uji ANOVA dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan presentase motilitas, viabilitas, integritas membran, normalitas spermatozoa kambing sapera tertinggi pada perlakuan 1 jam, untuk persentase kelainan terendah pada perlakuan 1 jam. Hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) pada sisi anoda dan katoda pada semua perlakuan dengan perbedaan waktu.

Kata kunci: ekuilibrasi, *Electric Separating Sperm*, kambing Sapera

Abstract

The purpose of this study was to determine the effectiveness of time equilibration before freezing sapera goat spermatozoa after ESS (*Electric Separating Sperm*) on motility, viability, membrane integrity, normality and abnormality of spermatozoa. Sapera goat spermatozoa were collected using an artificial vagina and then separated using the ESS method. This study used a completely randomized formula with three treatments, which are the equilibration time of P1 (1 hour), P2 (3 hours), and P3 (4 hours), with six replications. The analysis in this study used the ANOVA test followed by the Duncan test to determine the real difference between treatments. The conclusion of this study showed the highest percentage of motility, viability, membrane integrity, normality of sapera goat spermatozoa at 1-hour treatment, for the lowest percentage of abnormalities at 1-hour treatment. Significantly different results ($p < 0.05$) on the anode and cathode sides in all equilibration time treatments.

Keywords: equilibration, *Electric Separating Sperm*, Sapera goat

Received: 24 Desember 2021

Revised: 1 Maret 2022

Accepted: 9 April 2022

PENDAHULUAN

Kambing Sapera merupakan hasil dari persilangan antara kambing Saanen dan kambing Peranakan Etawah (PE). Kambing jenis Sapera ini adalah kambing perah yang memiliki produktifitas susu yang tinggi (Saputro dkk., 2018). Persilangan antara kambing Saanen dan Peranakan Etawa ini menghasilkan Jenis kambing

yang mempunyai sifat mudah beradaptasi terhadap iklim yang ada di Indonesia, memiliki postur tubuh yang cukup besar dan mampu memproduksi susu yang tinggi serta mudah untuk di budidayakan (Batubara dkk., 2016; Lailiyah dkk., 2018).

Usaha dalam menunjang peningkatan populasi kambing Sapera di Indonesia, diperlukan suatu pendekatan bioteknologi reproduksi. Salah

satu cara pendekatan tersebut melalui teknologi inseminasi buatan (IB) (Nogueira *et al.*, 2011). Inseminasi Buatan penggunaannya bertujuan untuk memperbaiki kualitas ternak, meningkatkan angka kelahiran, efisiensi biaya, mencegah perkawinan sedarah dan mencegah penularan penyakit kelamin (Gunawan dkk., 2015). Perkembangan bioteknologi pada Inseminasi Buatan sudah mengalami kemajuan salah satunya *sexing* spermatozoa. *Sexing* spermatozoa merupakan salah satu metode yang dapat dipilih untuk efisiensi usaha peternakan dan pengontrolan jenis kelamin pada ternak (Afiati, 2004). Teknologi *sexing* pada spermatozoa memudahkan peternak dalam usaha peternakan, karena jenis kelamin bibit yang diinginkan bisa disesuaikan dengan tujuan peternakan tersebut. Peternakan yang menghasilkan dan memasarkan produk berupa susu, membutuhkan lebih banyak bibit berjenis kelamin betina daripada jantan. Untuk meningkatkan rasio kelahiran anakan berjenis kelamin betina, dapat menggunakan teknologi inseminasi buatan dengan melakukan *sexing* terhadap spermatozoa (Pasaribu dkk., 2014).

Teknik-teknik *sexing* spermatozoa kromosom X dan Y yang pernah dikembangkan adalah elektroforesis, sentrifuse, sedimentasi, pemilihan selektif, perbedaan tekanan, viskositas, filtrasi, dan pemilihan sel (Priatmoko, 2018). *Electric Separating Sperm* (ESS) merupakan alat metode *sexing* elektroforesis yang digunakan untuk memisahkan spermatozoa kromosom X dan Y dengan aliran listrik searah, terdapat dua elektroda yang berbeda pada ESS yaitu katoda dan anoda. Spermatozoa dengan kromosom X akan menuju katoda dan sebaliknya spermatozoa dengan kromosom Y akan bergerak menuju anoda (Lailiyah dkk., 2018). Hasil dari *sexing* spermatozoa digunakan untuk inseminasi buatan dipengaruhi oleh proses pembekuan spermatozoa, masalah yang sering timbul pada proses pembekuan adalah pengaruh *cold shock* yang dapat merusak membran plasma sel pada saat pembekuan serta terjadi pembentukan kristal-kristal es dan berakibat kematian spermatozoa. Penambahan krioprotektan seperti gliserol dapat mengatasi rendahnya kualitas spermatozoa

karena peranan gliserol dapat masuk ke dalam spermatozoa menggantikan kristal es yang terbentuk (Takdir dkk., 2017). Menurut Mumu (2009), efisiensi gliserol pada masa pembekuan sangat ditentukan oleh proses ekuilibrasi yang merupakan periode yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan diluter, sebagai upaya dalam waktu pembekuan kematian spermatozoa yang berlebihan dapat di cegah.

METODE PENELITIAN

Sampel Penelitian

Sampel Penelitian yang digunakan yaitu semen Kambing Sopera yang berasal dari satu ekor pejantan unggul yang berusia 2-3 tahun. Pengambilan semen dilakukan satu kali dalam seminggu dan besar sampel diambil berdasarkan rumus Rancangan Acak Lengkap dengan 3 perlakuan yang didapatkan 6 kali ulangan.

Alat dan Bahan

Bahan untuk pemeriksaan hidup dan mati spermatozoa yaitu pewarna Eosin-Nigrosin, NaCl fisiologis, gelas objek, gelas penutup. Bahan diluter semen yaitu Tris Kuning Telur.

Bahan untuk pemeriksaan membran plasma spermatozoa yaitu *hyposmotic swelling test* (HOS Test) dilakukan dengan cara mencampur 0,1 ml semen dengan 9,9 ml medium hipoosmotik. Medium hipoosmotik dibuat dengan melarutkan 0,3 gram fruktosa dan 0,7 gram NaCitrat kedalam 100 ml aquabidestilata. Sediaan yang sudah dicampurkan kemudian di inkubasi dalam *waterbath* bersuhu 37°C selama 30 menit (Rodriguez *et al.*, 1994).

Alat yang digunakan untuk penelitian meliputi: vagina buatan kambing lengkap dengan tabung penampung berskala iwaki®, air panas (40-52°C), thermometer 100°C, gelas ukur iwaki®, gelas beker iwaki®, *erlenmeyer* iwaki®, kertas pH *indicator universal*, *micropipet*, pemanas bunsen, pengaduk, pipet pasteur, *counter*, *aluminum foil*, kertas saring, mikroskop *binocular Nikon Eclips E200 LED*, mikroskop, timbangan mikro ohaus, pinset, *show case* dan ESS.

Penampungan Semen

Penampungan semen kambing Sapera menggunakan vagina buatan. Vagina buatan merupakan alat yang dirancang untuk menstimulasikan reproduksi saluran betina dengan keunggulan mudah digunakan, semen yang dikumpulkan umumnya relatif bersih dan Ejakulasi mirip dengan ejakulasi alami (Matshaba, 2010; Munyai, 2012). Semen yang sudah ditampung harus memiliki kualitas yang baik dengan dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis terdiri atas pemeriksaan volume semen, warna, bau, dan konsistensi (kekentalan), sedangkan pemeriksaan mikroskopik bertujuan untuk mengevaluasi motilitas (gerakan individu spermatozoa), gerakan massa, konsentrasi, viabilitas, abnormalitas, dan membran plasma utuh (Susilowati dkk., 2010).

Metode ESS dan Pemeriksaan Spermatozoa

Proses *sexing* spermatozoa dengan alat ESS dilakukan dengan penyampuran semen dan diluter (larutan A) terlebih dahulu.. Larutan A ini merupakan larutan yang dimasukan kedalam alat ESS, yang nantinya larutan A akan dicampurkan oleh larutan B pada proses ekuilibrisasi.

Proses ekuilibrisasi dimulai dengan penampungan semen kambing Sapera kemudian di lihat kualitas makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan mikroskopis meliputi viabilitas dan abnormalitas, setelah pemeriksaan semen selesai dan dinyatakan baik dengan presentasi progresif yang layak tidak kurang dari 70% maka selanjutnya di lakukan penambahan diluter dengan tris kuning telur, setelah dilakukan pencampuran, kemudian dilakukan mekanisme *sexing* spermatozoa dengan menggunakan ESS yang selanjutnya dilakukan penambahan gliserol 6%. Penambahan gliserol dilakukan dengan membuat dua diluter yaitu antara larutan A yang berisi (diluter dan semen), dan larutan B berisi (gliserol dan diluter). Diluter beserta glisrol telah dicampur maka masukan ke dalam tabung *microtube* sesuai volume yang sudah di tentukan dengan rumus pengenceran, kemudian setelah selesai dimasukan kedalam lemari pendingin dengan suhu 5°C, setelah dimasukan kedalam

lemari pendingin di tunggu waktu ekuilibrisasi selam 1 jam, 3 jam , dan 4 jam sedangkan setiap jamnya dilakukan pengecekan secara makroskopis dan mikroskopis meliputi motilitas, viabilitas, membran plasma utuh, dan abnormalitas.

Analisis Data

Analisis pada penelitian ini menggunakan uji ANOVA apabila terdapat perbedaan, dilanjut dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan yang nyata antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semen segar kambing Sapera sebelum diberi perlakuan terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui semen layak atau tidak sebelum dilakukan proses selanjutnya. Rata-rata volume semen Kambing Sapera 1,07 ml \pm 0,10. pH rata-rata semen kambing Sapera 6,8%. Motilitas spermatozoa kambing Sapera rata-rata adalah 85% \pm 3,16 yang artinya spermatozoa kambing Sapera yang bergerak *progresif* 85% dengan kecepatan 3 yang menandakan spermatozoa bergerak dengan cepat. Viabilitas spermatozoa kambing Sapera berkisar 89% sampai 95% dengan rata-rata 91% \pm 2,73 perhitungan spermatozoa dilakukan pada 100 spermatozoa. Abnormalitas spermatozoa kambing Sapera berkisar antara 2 sampai 5% dengan rata-rata 3,0% \pm 1,41 perhitungan dilakukan pada 100 Spermatozoa (Tabel 1).

Data persentasi motilitas kambing Sapera setelah diberi perlakuan waktu ekuilibrisasi dengan tiga perlakuan menunjukkan rata-rata dan standart deviasi berturut-turut yaitu (P1) sebesar 71,50% \pm 3,94, (P2) sebesar 66,00% \pm 2,60, dan (P3) sebesar 60,33% \pm 2,42. Data presentasi viabilitas spermatozoa Kambing Sapera setelah di berikan perlakuan waktu ekuilibrisasi dengan tiga perlakuan yaitu menunjukkan rata-rata dan standart deviasi berturut-turut yaitu P1 sebesar 83,00% \pm 6,16, P2 sebesar 75,17% \pm 4,70, dan P3 sebesar 69,00% \pm 3,40. Data presentasi membran plasma utuh spermatozoa kambing Sapera setelah diberi perlakuan waktu ekuilibrisasi dengan tiga perlakuan menunjukkan rata-rata dan standard

Tabel 1. Waktu ekuilibrase *before freezing* spermatozoa kambing Sapera *pasca* ESS

	Mortalitas		Viabilitas		Membran Plasma		Abnormalitas		Normalitas	
	Anoda	Katoda	Anoda	Katoda	Anoda	Katoda	Anoda	Katoda	Anoda	Katoda
P1	62.50 ^{a±}	67.50 ^{a±}	74.83 ^{a±}	74.83 ^{a±}	68.83 ^{a±}	70.50 ^{a±}	4.17 ^{a±}	3.50 ^{a±}	95.83 ^{a±}	96.50 ^{a±}
	6.124	6,124	3.371	3.312	2.787	3.146	1.169	1.049	1.169	1.049
P2	50.00 ^b	51.67 ^{b±}	58.00 ^{b±}	57.50 ^{b±}	51.33 ^{b±}	52.00 ^{b±}	6.17 ^{b±}	5.17 ^{b±}	93.83 ^{b±}	1.169 ^{b±}
	±4,472	4.082	2.098	4.087	1.751	3,162	1.169	1.169	1.169	1.169
P3	34.17 ^{c±}	35.00 ^{c±}	46.33 ^{c±}	46.67 ^{c±}	40.17 ^{c±}	40,83 ^{c±}	8.33 ^{c±}	8.33 ^{b±}	91.67 ^{c±}	91.67 ^{c±}
	4,916	6,325	1.506	2.160	2.483	2,317	1.211	0.8161	1.211	0.8161

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Perlakuan ekuilibrase dilakukan selama 1 jam (P1), 3 jam (P2), dan 4 jam (P3).

deviasi berturut-turut yaitu P1 sebesar 79.50%±8.50, P2 sebesar 72.67%±5,28, dan (P3) sebesar 65.67%±3,78. dapat dilihat pada Tabel 1. Data presentasi abnormalitas spermatozoa Kambing Sapera setelah diberi perlakuan waktu ekuilibrase dengan tiga perlakuan yaitu menunjukkan rata-rata dan standar deviasi berturut-turut yaitu (P1) sebesar 2,50%±0,55, (P2) sebesar 3,33%±1,18, dan (P3) sebesar 6,50%±2,88. 1 jam (P1), 3 jam (P2) dan 4 jam (P3).

Hasil analisis statistik dengan menggunakan Anova One Way dan dilanjutkan dengan Uji Duncan, menunjukkan bahwa terdapat efek perbedaan waktu ekuilibrase memberikan perbedaan nyata ($p < 0,05$) terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Sapera. Waktu ekuilibrase 1 jam (P1) menunjukkan perbedaan nyata dengan waktu ekuilibrase 3 jam (P2) dan 4 jam (P3), terhadap membran plasma utuh spermatozoa kambing Sapera. Waktu ekuilibrase 1 jam (P1) menunjukkan perbedaan nyata dengan waktu ekuilibrase 4 jam (P3), waktu ekuilibrase 3 jam (P2) menunjukkan hasil tidak berbeda terhadap waktu ekuilibrase 1 jam (P1), dan waktu 4 jam (P3) menunjukkan bahwa abnormalitas waktu ekuilibrase 1 jam (P1) menunjukkan perbedaan nyata dengan waktu 4 jam (P3) waktu 3 jam (P2) juga menunjukkan perbedaan nyata pada waktu 4 jam (P3), sedangkan waktu ekuilibrase 3 jam (P2) tidak berbeda nyata dengan waktu 1 jam (P1) (Tabel 1).

Indikator yang bisa digunakan untuk mengetahui kromosom penentuan jenis kelamin yang terkandung pada kepala spermatozoa yaitu ukuran kepala spermatozoa. Ukuran kepala spermatozoa pada kambing memiliki rata-rata panjang 8,5 µm, lebar 4,2 µm, luas 29 µm, dan

keliling 17 µm. Spermatozoa mengandung gugus yang bermuatan berbeda, Spermatozoa yang mengandung DNA lebih dari 4% pada kromosom X menyebabkan adanya perbedaan muatan. Perbedaan muatan tersebut menyebabkan spermatozoa dengan kromosom X akan bergerak menuju kutub positif. Muatan yang terdapat pada spermatozoa dipengaruhi oleh kandungan ion kalium intraseluler. Spermatozoa yang memiliki kandungan ion kalium lebih besar, diasumsikan memiliki muatan positif sehingga akan berenang menuju sisi katoda. Begitu pula sebaliknya, pada spermatozoa yang mengandung lebih sedikit ion kalium dianggap memiliki muatan negatif sehingga akan bergerak menuju sisi anoda (Lailiyah dkk., 2018).

Mekanisme pendeasaan dan migrasi spermatozoa pada epididimis, terjadi rekasi kimia dengan asam silikat dan membran glikopoliptida pada CD52. CD52 adalah gen penyandi protein sekretori yang terekspresi spesifik pada cauda epididimis dan regulasinya dipengaruhi oleh androgen faktor testikular dan perkembangan pasca lahir (Permatasari, 2015). CD52 yang menyebabkan permukaan spermatozoa mengandung muatan negatif. Ekspresi yang ditunjukkan oleh CD52 tersebut normal terjadi pada morfologi dan kapasitas spermatozoa dan merupakan landasan dari metode *sexing* spermatozoa dengan elektroforesis (Parati et al., 2006).

Penentuan jenis kelamin pada *sexing* spermatozoa didasarkan pada kandungan kromosom yang terdapat pada kepala spermatozoa. Spermatozoa kromosom X yang membuahi sel telur akan menghasilkan embrio berjenis kelamin betina, sedangkan kromosom Y akan menghasilkan embrio jantan. Kromosom X

dan Y dapat dibedakan berdasarkan muatan listrik permukaan, ukuran, protein makromolekul, perbedaan efek terhadap pH dan efek terhadap tekanan udara (Malik *et al.*, 2011).

Berdasarkan muatan listrik yang terdapat pada permukaan sel spermatozoa, maka pemisahan spermatozoa kromosom X dan Y bisa dilakukan dengan memanfaatkan muatan listrik. Spermatozoa jika diletakkan pada daerah yang mengandung muatan listrik, maka spermatozoa Y akan dipindahkan menuju anoda (Aitken dan Ainsworth, 2012). Pemisahan spermatozoa menggunakan arus listrik mampu menyebabkan terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS), karena tegangan listrik tersebut akan berubah menjadi panas. Panas yang terjadi dapat menyebabkan kerusakan sel terutama pada lipid, protein dan DNA (Priyanto dkk., 2015). *Electric Separating Sperm* (ESS) bekerja pada tegangan listrik rendah yaitu 1.5 Volt. Tegangan listrik yang rendah ini dapat meminimalisir pembentukan ROS. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Lailiyah dkk. (2018), alat ini mampu memisahkan kromosom X dan Y pada spermatozoa dalam waktu yang relatif singkat pada domba Merino.

Hasil temuan kami ekuilibrasi 1 jam pada P1 menunjukkan motilitas yang baik. Waktu ekuilibrasi merupakan waktu yang dibutuhkan spermatozoa beradaptasi dengan diluter agar saat pembekuan kematian spermatozoa dapat dicegah (Apriyanti, 2012). Kerusakan spermatozoa akibat pembekuan terjadi karena peningkatan konsentrasi elektrolit, dehidrasi, dan terbentuknya kristalisasi es intraselular yang dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel sehingga spermatozoa kehilangan daya motilitasnya (Kwon *et al.*, 2002).

Waktu ekuilibrasi yang tepat dapat memicu gliserol yang berada di dalam diluter Tris kuning telur mencapai keseimbangan elektrolit intra dan ekstraseluler sehingga dapat melindungi terbentuknya kristalisasi pada spermatozoa dan kerusakan spermatozoa disaat proses pembekuan dapat dicegah (Anggarsari, 2015). Penurunan motilitas spermatozoa dapat terjadi karena sudah terbentuknya asam laktat sehingga menghasilkan motilitas progresif yang lebih rendah (Suryani,

2012). Motilitas yang tinggi pada spermatozoa juga membutuhkan energi yang tinggi, yang dihasilkan dari metabolisme mitokondria sehingga menyebabkan tingginya tingkat *reactive oxygen spesies* (ROS) sehingga viabilitas spermatozoa akan menurun (Susilowati dkk., 2010).

Pengaruh waktu ekuilibrasi terhadap presentasi viabilitas dan membran plasma utuh spermatozoa kambing Sapera setelah diberi perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0.05$) antara, waktu ekuilibrasi 1 jam (P1), 3 jam (P2), dan 4 jam (P3). Viabilitas dan membran plasma utuh spermatozoa tertinggi terdapat pada perlakuan P1 dengan waktu ekuilibrasi 1 jam. Waktu ekuilibrasi 1 jam pada temuan kami sudah terjadi keseimbangan elektrolit dengan gliserol secara baik dan merata di dalam spermatozoa sehingga kerusakan selama proses pembekuan dapat diminimalisir. Kerusakan pada membran plasma spermatozoa yang akan membuat viabilitas spermatozoa menjadi rendah dapat disebabkan efek waktu ekuilibrasi yang lama (Apriyanti, 2012), selain itu penurunan viabilitas spermatozoa dikarenakan perubahan biokimia karena kerusakan membran, osmotik dan *cold shock* yang berkaitan dengan Penurunan suhu dan durasi penyimpanan (Susilowati dkk., 2010).

Penurunan persentase viabilitas spermatozoa disebabkan oleh kondisi membran plasma yang telah rusak. Membran plasma spermatozoa berfungsi sebagai penjaga organel sel dan pengatur keseimbangan elektrolit dalam metabolisme (Salmah, 2014). Menurut Susilowati, (2010) ROS memiliki peran yang penting dalam fosforilasi tirosin, oksidasi sterol, dan penembusan kolesterol dari membran plasma dalam proses kapasitasi spermatozoa dalam proses fertilisasi dan lemak dalam membran plasma spermatozoa kambing memiliki konsentrasi asam lemak tak jenuh yang lebih tinggi di bandingkan ruminansia lainnya. Karena itu, dalam proses pendinginan, lemak dari membran plasma dapat rusak, yang mengakibatkan peroksidasi lipid. Pengamatan membran plasma utuh sangat penting karena spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh akan dapat mempertahankan kehidupannya

dan berhasil dalam proses pembuahan. Fungsi dari membran plasma adalah mengatur keluar masuknya zat-zat makanan, melindungi organel organel intraseluler secara fisik, serta menjaga keseimbangan elektrolit intra dan ekstraseluler (Takdir dkk., 2017).

Abnormalitas spermatozoa merupakan penyimpangan bentuk morfologi dari struktur spermatozoa normal. Abnormalitas spermatozoa di bagi menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer merupakan kelainan spermatogenesis sejak berada di dalam tubulus seminiferus berupa kelainan yang meliputi ukuran kepala *macrocephalic* atau *microcephalic*, kepala pendek melebar, pipih memanjang, piriformis, kepala rangkap, ekor ganda, bagian tengah melipat, membengkok, membesar, ekor melingkar, putus dan terbelah (Hardijanto dkk., 2010).

Abnormalitas sekunder merupakan kelainan yang terjadi sesudah spermatozoa meninggalkan tubulus seminiferus selama perjalanan melalui epididimis, selama ejakulasi, manipulasi dan perlakuan lainnya. Perbedaan presentasi abnormalitas spermatozoa pada setiap perlakuan dikarenakan dalam larutan diluter keseimbangan intraseluler dan ekstraseluler dengan spermatozoa tidak stabil karena adanya penurunan suhu pada saat ekuilibriasi (Tuhi, *et al.*, 2013). Menurut Herdiawan, (2004) perbedaan konsentrasi cairan intraseluler dengan ekstraseluler akan menimbulkan perubahan tekanan osmotik sel selama pembekuan, sehingga akan menyebabkan selubung lipoprotein pecah dan membran sel mengalami kerusakan. Kondisi tersebut dapat menyebabkan spermatozoa menjadi abnormal.

KESIMPULAN

Hasil temuan kami waktu ekuilibriasi terbaik didapat pada (P1) dengan perlakuan waktu 1 jam ekuilibriasi di lihat dari hasil kualitas spermatozoa berdasarkan motilitas, viabilitas, dan membran plasma utuh. Abnormalitas spermatozoa kambing Saperana menggunakan tris kuning telur dengan waktu ekuilibriasi terbaik 1 dan 3 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bumi Kesilir Farm atas fasilitas dan sampel penelitian yang telah disediakan. Penelitian juga didanai oleh Universitas Airlangga melalui skema hibah dosen pemula No.613/UN3/2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F. (2004). Proporsi dan karakteristik spermatozoa X dan Y hasil separasi kolom albumin. *Media Peternakan*, 27(1).
- Anggarsari, L. Y. (2015). Pengaruh Waktu Ekuilibriasi terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Boer *After Thawing* dalam Diluter yang Mengandung Lisitin Nabari. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hal: 9-14.
- Aitken, R. J., & Ainsworth, C. J. (2012). U.S. Patent No. 8,123,924. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Apriyanti, C. (2012). Pengaruh Waktu Ekuilibriasi terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Pesisir Pre dan Post Thawing. [Tesis]. Program Studi Ilmu Ternak Universitas Andalas. Hal: 8-16.
- Batubara, A., Nasution, S., Subandriyo, Inounu, I., Tiesnamurti, B., & Anggraeni, A. (2016). Kambing Peranakan Etawah (PE). IAARD Press. Jakarta. Hal: 13.
- Gunawan, M., Kaiin, E. M., & Said S., (2015). Aplikasi Inseminasi Buatan dengan Sperma Sexing dalam Meningkatkan Produktivitas Sapi di Peternakan Rakyat. Prosiding Seminar Nasional May Biodiversitas Masyarakat. Bogor. Hal: 93-96.
- Hardijanto, Susilowati, S., Sarjito, T., & Suprayogi, T. W. (2010). Buku Ajar Inseminasi Buatan. Airlangga University Press. Hal: 20-24, 27-24, 62-63.

- Herdiawan, I. (2004). Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner*, 9(2), 98-107.
- Kwon, Y. A., Ko, H. J., & Park, C. S. (2002). Effects of diluent component, freezing rate, thawing time and thawing temperature on acrosome morphology and motility of frozen-thawed boar sperm. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 15(11), 1553-1558.
- Lailiyah, F., Srianto, P., Saputro, A. L., Madyawati, S. P., Agustono, B., & Prastiya, R. A. (2018). Efektifitas daya pisah Electric Separating Sperm (ESS) terhadap spermatozoa kromosom X dan Y pada kambing sapera. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3), 93-98.
- Malik, A., Haron, A.W., Yusoff, R., Bukar, M., Kasim, A., & Sabri, M. (2011). Verification Of X- And Y-Spermatozoa Separation by Nested Polymerase Chain Reaction (PCR), Motility and Membrane Integrity in Bovine. *African Journal of Biotechnology*, 10(85), 19796-19801.
- Matshaba, B. (2010). Characterization and cryopreservation of South African unimproved indigenous goat semen (Doctoral dissertation, University of the Free State). Pp: 34.
- Mumu, M. I. (2009). Viabilitas semen sapi simental yang dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol. *Agroland: Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*, 16(2).
- Munyai, P. H. (2012). Cryopreservation of South African indigenous ram semen (Doctoral dissertation, University of the Free State). Pp: 45.
- Nogueira, D. M., Lopes Júnior, E. S., Peixoto, R. M. D., Christilis, M., Martins, S. R., & Monte, A. P. O. D. (2011). Using the same CIDR up to three times for estrus synchronization and artificial insemination in dairy goats. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 33, 321-325.
- Parati, K., Bongioni, G., Aleandri, R., & Galli, A. (2006). Sex ratio determination in bovine semen: A new approach by quantitative real time PCR. *Theriogenology*, 66(9), 2202-2209.
- Pasaribu, E., Dasrul, D., & Riady, G. (2014). The Effect of the Separation of Spermatozoa X and Y Using Swim up Method on the Quality of Etawah Crossbreed Goats Spermatozoa. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(2).
- Priatmoko, S. (2018). Strategi implementasi pembelajaran inklusif gender di madrasah ibtida'iyah. In *PROCEEDING: The Annual International Conference on Islamic Education*, 3(1), 244-257.
- Priyanto, L., Arifiantini, R. I., & Yusuf, T. L. (2015). Deteksi kerusakan DNA spermatozoa semen segar dan semen beku sapi menggunakan pewarnaan toluidine blue. *Jurnal Veteriner*, 16(1), 48-55.
- Rodriguez-Gil, J. E., Montserrat, A., & Rigau, T. (1994). Effects of hypoosmotic incubation on acrosome and tail structure on canine spermatozoa. *Theriogenology*, 42(5), 815-829.
- Salmah, N. (2014). Motilitas, Presentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Diluter Andromed dan Tris Kuning Telur. [Skripsi]. Fakultas Peternakan Universitas Hassanudin. Makassar. Hal: 51.
- Saputro, A. L., Hamid, I. S., Prastiya, R. A., & Purnama, M. T. E. (2018). Hidroponik fodder jagung sebagai substitusi hijauan pakan ternak ditinjau dari produktivitas susu kambing Sapera. *Jurnal medik veteriner*, 1(2), 48-51.

- Suryani, E. F. P. (2012). Pengaruh Waktu Equilibrasi Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Domba Merino dalam Diluter yang Mengandung Lesitin Nabati. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. Hal: 15.
- Susilowati, S., Hardijanto, Suprayogi, T. W., Sardjito, T., & Hernawati, T. (2010). Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Universitas Airlangga Press. Surabaya. Hal: 29.
- Takdir, M., Ismaya, & Bintara, S. (2017). Proporsi X dan Y, Viabilitas dan mortilitas Spermatozoa Domba Sesudah Pemisahan dengan Putih Telur. *Buletin Peternakan. Yogyakarta*, 41(1), 3.
- Tuhu, A. D., Ondho, Y. S., & Samsudewa, D. (2013). Pengaruh perbedaan waktu pelepasan water jacket dalam proses ekuilibrasi terhadap kualitas semen beku sapi jawa pada tahap before freezing dan post thawing. *Animal Agriculture Journal*, 2(1), 466-477.
