

## Peningkatan Kualitas Semen Beku Domba Garut melalui Penambahan $\alpha$ -Tokoferol ke dalam Pengencer Susu-Skim Kuning Telur

HERDIS<sup>1</sup>, I. KUSUMA<sup>1</sup>, M. SURACHMAN<sup>1</sup>, M. RIZAL<sup>2</sup>, I. K. SUTAMA<sup>3</sup>, I. INOUNU<sup>3</sup>, B. PURWANTARA<sup>4</sup> dan I. ARIFANTINI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Gd. BPPT II Lt. 16, Jln. M.H. Thamrin 8 Jakarta 10340, Tlp. 021-3169587 Fax. 021-3169566

<sup>2</sup>Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Univ. Pattimura. Jln. Ir. M. Putuhena, Poka. Ambon 97233

<sup>3</sup>Balai Penelitian Ternak. PO BOX 221, Bogor 16002, Indonesia

<sup>4</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor

(Diterima dewan redaksi 10 Mei 2002)

### ABSTRACT

HERDIS, I. KUSUMA, M. SURACHMAN, M. RIZAL, I. K. SUTAMA, I. INOUNU, B. PURWANTARA dan I. ARIFANTINI. 2002. Improvement of frozen semen quality of Garut Sheep through the addition of  $\alpha$ -tocopherol into yolk egg-skim milk diluent. *JITV* 7(1): 12-17.

The sperm is very fragile to lipid peroxide reaction, that it can easily broken during the process of freezing. To eliminate this consequences an antioxidant agent added into the extender. A research was done to observe the effect of antioxidant agent  $\alpha$ -tocopherol and butylated hydroxytoluene (BHT) presence in the extender on the quality of frozen semen. Once week, semen from six male Garut sheep ages about 2.5 years old was collected using artificial vagina and egg yolk skim-milk diluent used as the extender. The semen were treated in egg yolk skim-milk diluent without antioxidant as control, in egg yolk skim-milk diluent with  $\alpha$ -tocopherol 0,2 g/100 ml diluent and in egg yolk skim-milk diluent with butylated hydroxytoluene 0,2 g/100 ml diluent. The after thawing observation shown that in egg yolk skim-milk diluent with  $\alpha$ -tocopherol had life percentage ( $75.0 \pm 3.5\%$  vs  $64.8 \pm 7.8\%$ ) and membrane intact percentage ( $65.8 \pm 6.8\%$  vs  $55.2 \pm 8.3\%$ ) significantly higher than control ( $P < 0.05$ ) but insignificantly different from with BHT addition. The presence of  $\alpha$ -tocopherol in the diluent, the motility percentage considerably higher ( $P < 0.05$ ) than ( $45.8 \pm 3.8\%$ ) using BHT addition ( $40.0 \pm 4.5\%$ ) but not different from control ( $41.7 \pm 4.1\%$ ); while acrosomal intake percentage after  $\alpha$ -tocopherol ( $54.8\% \pm 3.3\%$ ) expressively higher ( $p < 0.05$ ) than BHT addition ( $49.7 \pm 3.6\%$ ) or control ( $49.8 \pm 3.5\%$ ). In conclusion the presence of  $\alpha$ -tocopherol in the diluent could improve the quality of Garut sheep frozen semen.

**Key words:** Antioxidant, sperm, Garut sheep

### ABSTRAK

HERDIS, I. KUSUMA, M. SURACHMAN, M. RIZAL, I. K. SUTAMA, I. INOUNU, B. PURWANTARA dan I. ARIFANTINI. 2002. Peningkatan kualitas semen beku domba Garut melalui penambahan  $\alpha$ -tokoferol ke dalam pengencer susu-skim kuning telur. *JITV* 7(1): 12-17.

Spermatozoa mudah rusak selama proses pengolahan semen, karena sangat rentan terhadap kerusakan akibat peroksidasi lipida. Salah satu usaha untuk mengurangi akibat buruk dari reaksi tersebut adalah dengan menambahkan antioksidan. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan antioksidan  $\alpha$ -tokoferol dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) ke dalam media pengencer semen susu skim terhadap kualitas semen beku domba Garut. Penelitian menggunakan enam ekor pejantan domba Garut berumur sekitar 2,5 tahun. Semen ditampung menggunakan vagina buatan sekali dalam seminggu. Perlakuan yang diberikan terdiri dari kontrol yaitu pengencer susu skim kuning telur tanpa antioksidan, pengencer susu skim kuning telur dengan  $\alpha$ -tokoferol dosis 0,2 g/100 ml pengencer dan pengencer susu skim kuning telur dengan *butylated hydroxytoluene* dosis 0,2 g/100 ml pengencer. Hasil penelitian menunjukkan setelah proses pembekuan, penambahan  $\alpha$ -tokoferol menghasilkan persentase hidup ( $75,0 \pm 6,0\%$  vs  $64,8 \pm 8,0\%$ ) dan persentase membran plasma utuh ( $65,8 \pm 6,8\%$  vs  $55,2 \pm 8,3\%$ ) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol ( $P < 0,05$ ), tetapi tidak berbeda nyata dibandingkan dengan penambahan BHT. Pada persentase motilitas, penambahan  $\alpha$ -tokoferol ( $45,8 \pm 4,0\%$ ) nyata lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan penambahan BHT ( $40,0 \pm 5,0\%$ ) tetapi tidak berbeda nyata dengan kontrol ( $41,7 \pm 4,1\%$ ). Pada persentase tudung akrosom utuh, penambahan  $\alpha$ -tokoferol ( $54,8 \pm 3,3\%$ ) nyata lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan penambahan BHT ( $49,7 \pm 3,6\%$ ) dan kontrol ( $49,8 \pm 3,5\%$ ). Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa penambahan  $\alpha$ -tokoferol ke dalam pengencer semen dapat meningkatkan kualitas semen beku domba Garut.

**Kata kunci:** Antioksidan, semen, domba Garut

## PENDAHULUAN

Domba Garut sering disebut domba Priangan merupakan hasil persilangan antara domba lokal, domba merino dan domba ekor gemuk dari Afrika Selatan. Domba Garut mempunyai sifat mudah beradaptasi dengan lingkungan, memiliki tanduk yang besar dan khas serta ukuran tubuh relatif lebih besar dibandingkan domba lokal. Bobot hidup domba jantan bisa mencapai 60-80 kg sedangkan domba betina sekitar 30-40 kg (BRADFORD dan INONU, 1996). Melihat sifat-sifat diatas domba Garut mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai ternak potong maupun domba laga.

Guna mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul pada program pembembangbiakkan domba Garut, maka penerapan teknologi inseminasi buatan dengan semen beku merupakan alternatif yang tepat untuk mengatasi keadaan tersebut. Namun demikian sampai saat ini belum banyak peneliti dan kegiatan penelitian yang khusus mengkaji proses pembekuan semen pada domba Garut yang merupakan domba khas daerah Priangan.

Pada proses pembekuan semen, masalah yang sering timbul adalah rusaknya membran plasma spermatozoa akibat terbentuknya peroksidasi lipida. Keadaan ini terjadi karena membran spermatozoa banyak mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap kerusakan peroksidasi (MAXWELL dan WATSON, 1996). Menurut ALVAREZ dan STOREY (1982) dalam FERADIS (1999) peroksidasi lipida terjadi pada spermatozoa yang disimpan lama dan dapat menurunkan daya tahan sehingga mempengaruhi pengawetan semen untuk inseminasi buatan.

Guna menghambat reaksi peroksidasi lipida, dapat dilakukan penambahan antioksidan. Antioksidan adalah suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (WIJAYA, 1996). Beberapa jenis antioksidan seperti  $\alpha$ -tokoferol dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) telah diteliti pengaruhnya dalam melindungi membran plasma spermatozoa sapi. Menurut BECONI *et al.*, (1993)  $\alpha$ -tokoferol atau vitamin E terbukti dapat melindungi membran plasma spermatozoa sapi selama pembekuan sampai pencairan kembali. HAMMERSTEDT *et al.* (1976) dalam FERADIS (1999) mengungkapkan bahwa *butylated hydroxytoluene* (BHT) dapat mencegah kerusakan membran plasma spermatozoa sapi yang disebabkan oleh cekaman dingin dan memberikan perlindungan terhadap perubahan akibat proses pembekuan semen. Penelitian FERADIS (1999) pada domba *St. Croix* menunjukkan bahwa pemberian  $\alpha$ -tokoferol dengan dosis 0,2 g/100 ml pengencer memberikan kualitas semen domba *St. Croix* lebih baik dibandingkan dengan perlakuan  $\alpha$ -tokoferol dengan dosis 0,1 g/100 ml pengencer, BHT dengan dosis 0,2

g/100 ml pengencer dan BHT dengan dosis 0,1 g/100 ml pengencer.

Melihat besarnya potensi domba Garut serta manfaat antioksidan dalam proses pembekuan semen, penelitian dilakukan untuk mengkaji pengaruh penambahan antioksidan  $\alpha$ -tokoferol dan *butylated hydroxytoluene* ke dalam pengencer semen susu skim-kuning telur terhadap kualitas semen beku domba Garut. Hasil penelitian diharapkan menjadi informasi yang berguna dalam mengembangkan teknologi inseminasi buatan dengan semen beku domba Garut.

## MATERI DAN METODE

### Bahan dan peralatan

Penelitian menggunakan semen yang berasal dari enam ekor domba Garut jantan terpilih berumur sekitar 2,5 tahun dengan berat badan sekitar 70 kg. Semua hewan percobaan dimasukkan dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat pakan. Pakan yang diberikan berupa hijauan rumput segar sekitar 7 kg ditambah konsentrat.

Peralatan yang digunakan terdiri atas vagina buatan, tabung koleksi, mikroskop cahaya, gelas objek, gelas penutup, gelas erlenmeyer, gelas piala, timbangan, kontainer nitrogen cair, *autoclave*, *straw* serta rak tempat *straw*.

Bahan-bahan yang digunakan terdiri atas media pengencer semen susu skim-kuning telur, *K-Y jelly*, NaCl fisiologis, formalin 1%, penisilin, streptomisin, eosin negrosin, alkohol, nitrogen cair, susu, fruktosa, kuning telur, gliserol dan akuabides. Antioksidan yang diberikan adalah  $\alpha$ -tokoferol (Sigma Chemical Co. Switzerland) dengan dosis 0,2 g/100 ml pengencer dan BHT (Sigma Chemical Co. Switzerland) dengan dosis 0,2 g/100 ml pengencer.

### Metode penelitian

Semen ditampung sekali seminggu dengan menggunakan vagina buatan yang bertemperatur 40 sampai 42°C. Jumlah domba jantan yang ditampung sebanyak enam ekor dijadikan sebagai ulangan. Semen segar yang diperoleh kemudian dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis.

Pemeriksaan makroskopis meliputi pemeriksaan volume, warna dan kekentalan. Pemeriksaan mikroskopis meliputi pemeriksaan gerakan masa, konsentrasi, morfologi spermatozoa, persentase motilitas, persentase hidup, persentase membran plasma utuh dan persentase tudung akrosom utuh.

Setelah dievaluasi, semen segar dicampur dengan media pengencer susu skim-kuning telur dengan komposisi pengencer semen (100 ml) terdiri atas: 9 g susu, 2,16 g fruktosa, 20 ml kuning telur, 7 ml gliserol,

penisilin 1.000 IU/ml, streptomisin 0,5 mg/ml dan akuabides *ad* 100 ml (HERDIS *et al.*, 2002). Pengencer dibagi menjadi tiga kelompok yakni kelompok kontrol tanpa perlakuan antioksidan, kelompok perlakuan antioksidan  $\alpha$ -tokoferol dengan dosis 0,2 g/100 ml pengencer dan kelompok perlakuan antioksidan BHT dengan dosis 0,2 g/100 ml pengencer. Sebelum dicampurkan antioksidan dilarutkan dengan ethanol dengan perbandingan antioksidan: ethanol sebesar 1:5. Setelah diencerkan secara merata, semen dikemas kedalam *straw* yang berukuran 0,25 ml. *Straw* dibedakan menjadi tiga kelompok berdasarkan warna sesuai dengan perlakuan jenis antioksidan yang diberikan.

Proses ekuilibrisasi dilakukan dengan memasukkan *straw* ke dalam styoroform yang berisi es batu selama 3 jam dengan suhu mendekati 5°C. Pembekuan dilakukan dengan cara menguapkan *straw* pada rak, 10 cm diatas permukaan nitrogen cair selama 15 menit, *straw* kemudian dimasukkan kedalam nitrogen cair untuk disimpan. Pencairan kembali (*thawing*) untuk evaluasi dilakukan pada suhu 37°C selama 30 detik.

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

Penilaian persentase Membran Plasma Utuh (% MPU) dilakukan dengan menggunakan metode Uji hipoosmotis atau *Hypo Osmotic Swelling (HOS) test*. Pengujian dilakukan dengan cara mencampur 0,1 ml semen dengan 9,9 ml medium hipoosmotik. Medium hipoosmotik dibuat dengan melarutkan 0,179 NaCl ke dalam *aquabidestilata* menjadi 100 ml larutan. Setelah dicampurkan, sediaan diinkubasi dalam *waterbath* bersuhu 37°C selama 30 menit. Kemudian dibuat preparat ulas dengan pewarna diferensial eosin-negrosin untuk mempermudah pengamatan. Evaluasi dilakukan di bawah mikroskop cahaya pada pembesaran 400 kali. Penilaian dilakukan dengan sistim skor 0% sampai 100%.

Persentase Tudung Akrosom Utuh (% TAU) dievaluasi dengan melihat kondisi tudung akrosom, menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 1000 kali. Semen dicampur dengan NaCl fisiologis ditambah formalin 1% yang berfungsi untuk mematkan dan menfiksasi spermatozoa. Evaluasi dilakukan dengan sistim skor 0% sampai 100%.

### Rancangan penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kali ulangan. Apabila terdapat perlakuan yang berpengaruh

nyata dilanjutkan dengan uji beda jujur menurut STEEL dan TORRIE (1993).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kualitas semen segar domba Garut

Hasil evaluasi menunjukkan bahwa kualitas semen segar yang diperoleh adalah persentase motilitas spermatozoa  $74,2 \pm 4,9\%$ , persentase hidup  $91,8 \pm 3,0\%$ , konsentrasi spermatozoa  $4.100 \pm 49,9$  juta/ml dan persentase spermatozoa abnormal  $2,5 \pm 1,2\%$ . Hasil ini termasuk kedalam katagori memenuhi syarat untuk dilakukan proses pembekuan. Menurut TOELIHERE (1981) supaya dapat di proses pembekuan, semen segar harus mempunyai persentase motil progresif minimal 65%, konsentrasi spermatozoa 700 juta spermatozoa/ml dan abnormalitas kurang dari 20%.

Warna semen yang ditampung putih susu dengan konsistensi kental. Hasil ini sesuai dengan pendapat AXL *et al.* (2000) dan QOMARIYAH *et al.* (2001) yang menyatakan bahwa warna semen domba adalah putih susu atau krem, dengan konsistensi kental (HASTONO *et al.*, 2001).

Hasil evaluasi terhadap integritas spermatozoa pada semen segar menunjukkan persentase tudung akrosom utuh dan persentase membran plasma utuh yang diperoleh pada penelitian lebih tinggi dibandingkan dengan integritas spermatozoa pada domba *St. Croix* yakni 86,3% (FERADIS, 1999). MOSES *et al.* (1996) melaporkan bahwa MPU semen segar domba adalah 70% dan VALCAREL *et al.* (1997) mendapatkan 73%. Tabel 1 menunjukkan secara lengkap karakteristik semen segar domba Garut yang diteliti.

### Kualitas spermatozoa domba Garut sebelum dan sesudah pembekuan

Motilitas atau daya gerak spermatozoa digunakan sebagai ukuran kesanggupan spermatozoa untuk membuahi sel telur. Perkiraan motilitas adalah prosedur visual dan dinyatakan secara komparatif, tidak mutlak. Motilitas spermatozoa di dalam suatu contoh semen ditentukan secara keseluruhan atau sebagai rata-rata dari suatu populasi spermatozoa (TOELIHERE, 1999).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tahap setelah pengenceran, ketiga perlakuan dapat mempertahankan motilitas spermatozoa domba Garut. Pada tahap ekuilibrisasi persentase motilitas tertinggi dicapai pada perlakuan  $\alpha$ -tokoferol ( $70,8 \pm 3,8\%$ ) namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol dan perlakuan penambahan antioksidan BHT.

Evaluasi setelah pembekuan menunjukkan perlakuan penambahan  $\alpha$ -tokoferol lebih unggul dalam mempertahankan motilitas spermatozoa ( $45,8 \pm 3,8\%$ ) dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan

perlakuan penambahan BHT ( $40,0 \pm 4,5\%$ ) tetapi tidak berbeda dengan perlakuan kontrol ( $41,7 \pm 4,1\%$ ). Tabel 2 menunjukkan secara lengkap rataan motilitas spermatozoa domba Garut pada perlakuan penambahan antioksidan.

Evaluasi persentase hidup (%H) spermatozoa pada tahap setelah pengenceran dan setelah ekuilibrisasi menunjukkan semua jenis perlakuan memberikan respon yang tidak berbeda. Evaluasi setelah pembekuan, menunjukkan perlakuan  $\alpha$ -tokoferol memberikan respon persentase hidup paling tinggi ( $75,0 \pm 3,5\%$ ) dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan kontrol ( $64,7 \pm 7,8\%$ ) tetapi tidak berbeda dibandingkan dengan perlakuan BHT ( $70,2 \pm 5,4\%$ ). Tabel 3 menunjukkan secara lengkap respon

perlakuan penambahan antioksidan terhadap persentase hidup spermatozoa domba Garut.

Evaluasi terhadap parameter persentase membran plasma utuh (% MPU) spermatozoa menunjukkan pada tahap setelah pengenceran semua jenis perlakuan memberikan respon yang tidak berbeda terhadap parameter % MPU. Persentase MPU tertinggi pada evaluasi setelah ekuilibrisasi dicapai pada perlakuan penambahan  $\alpha$ -tokoferol ( $82,2 \pm 6,0\%$ ).

Evaluasi setelah pembekuan, menunjukkan perlakuan penambahan antioksidan  $\alpha$ -tokoferol memberikan respon % MPU paling tinggi ( $65,8 \pm 6,8\%$ ) dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan kontrol ( $55,2 \pm 8,3\%$ ) tetapi tidak berbeda dengan perlakuan BHT ( $65,0 \pm 5,7\%$ ).

**Tabel 1.** Kualitas semen segar domba Garut

Karakteristik semen	Rata – rata
Volume per ejakulat (ml)	$0,7 \pm 0,2$
Warna	putih susu
Konsistensi	kental
Gerakan massa	$2,6 \pm 0,5$
Konsentrasi (jt spermatozoa/ml)	$4.100 \pm 49,9$
Persentase motilitas (%)	$74,2 \pm 4,9$
Persentase hidup (%)	$91,8 \pm 3,0$
Persentase abnormal (%)	$3,5 \pm 0,4$
Persentase tudung akrosom utuh (%)	$93,7 \pm 1,6$
Persentase membran plasma utuh (%)	$92,0 \pm 2,2$

**Tabel 2.** Persentase motilitas spermatozoa domba Garut pada berbagai penambahan antioksidan

Tahapan evaluasi	Perlakuan antioksidan		
	Kontrol (%)	BHT (%)	Vitamin E (%)
Setelah pengenceran	$78,3 \pm 3,6$	$78,3 \pm 3,6$	$78,3 \pm 3,8$
Setelah ekuilibrisasi	$66,7 \pm 5,2$	$69,2 \pm 3,7$	$70,8 \pm 3,7$
Setelah pembekuan	$41,7 \pm 4,1^{ab}$	$40,0 \pm 4,5^a$	$45,8 \pm 3,7^b$

Angka dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%

**Tabel 3.** Pengaruh pemberian antioksidan ke dalam pengencer terhadap persentase hidup spermatozoa domba Garut

Tahapan evaluasi	Jenis perlakuan		
	Kontrol (%)	BHT (%)	Vitamin E (%)
Setelah pengenceran	$89,3 \pm 3,3$	$89,7 \pm 2,7$	$89,5 \pm 4,3$
Setelah ekuilibrisasi	$83,2 \pm 2,8$	$85,0 \pm 1,7$	$83,3 \pm 3,4$
Setelah pembekuan	$64,7 \pm 7,8^a$	$70,2 \pm 5,4^{ab}$	$75,0 \pm 3,5^b$

Angka dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%

Sama seperti tiga parameter sebelumnya, penelitian menunjukkan bahwa pada tahap setelah pengenceran dan tahap setelah ekuilibrisasi semua jenis perlakuan memberikan respon yang tidak berbeda ( $P > 0,05$ ) terhadap parameter persentase tudung akrosom utuh (% TAU) spermatozoa. Evaluasi setelah pembekuan, menunjukkan perlakuan penambahan antioksidan  $\alpha$ -tokoferol memberikan respon persentase tudung akrosom utuh paling tinggi ( $54,8 \pm 3,3\%$ ) dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan kontrol ( $49,8 \pm 3,5\%$ ) dan perlakuan penambahan BHT ( $49,7 \pm 3,6\%$ ). Tabel 4 menunjukkan secara lengkap respon perlakuan penambahan antioksidan terhadap persentase membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa domba Garut.

Dari semua parameter yang dievaluasi terlihat bahwa perlakuan penambahan antioksidan  $\alpha$ -tokoferol memberikan respon kualitas spermatozoa lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan penambahan antioksidan BHT. Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian FERADIS (1999) pada domba *St Croix* yang menunjukkan bahwa antioksidan  $\alpha$ -tokoferol dapat meningkatkan kualitas spermatozoa domba *St Croix*.

Penelitian menunjukkan perlakuan  $\alpha$ -tokoferol menghasilkan kualitas semen beku domba Garut lebih baik dibandingkan dengan perlakuan tanpa antioksidan dan penambahan BHT. Keadaan ini diduga terjadi karena  $\alpha$ -tokoferol lebih mampu menghambat proses peroksidasi lipida dibandingkan dengan BHT. Menurut HAMILTON et al. (1997) dalam FERADIS (1999) tingkat reaksi  $\alpha$ -tokoferol dengan radikal bebas jauh lebih tinggi dibandingkan dengan BHT.

Keunggulan lain  $\alpha$ -tokoferol dibandingkan dengan

BHT adalah kemampuan  $\alpha$ -tokoferol yang dapat didaur ulang setelah digunakan oleh spermatozoa dengan bantuan vitamin C yang terkandung dalam semen domba. Rataan kandungan vitamin C dalam semen domba adalah 5 mg per desiliter semen dengan rentang 2 sampai 8 mg per desiliter semen (PINEDA, 1989).

Menurut FERADIS (1999) ketersediaan  $\alpha$ -tokoferol selalu terjamin di dalam pengencer yang digunakan dalam pembekuan semen, sehingga proses peroksidasi lipid dapat dihambat secara terus menerus selama ada vitamin C. Lain halnya dengan BHT, ketersediaan BHT di dalam pengencer tergantung dari seberapa besar jumlah atau dosis yang ditambahkan ke dalam pengencer. Jadi wajar apabila pengencer yang diberi  $\alpha$ -tokoferol mempunyai kualitas spermatozoa yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan BHT.

Pada parameter integritas spermatozoa, penelitian menunjukkan bahwa penambahan  $\alpha$ -tokoferol pada pengencer semen susu-skim kuning telur lebih mampu mempertahankan integritas spermatozoa dibandingkan penambahan BHT dan kontrol. Keadaan ini terjadi, karena  $\alpha$ -tokoferol diduga mempunyai aktivitas biologik yang lebih besar dibandingkan dengan BHT. Menurut MAYES (1995)  $\alpha$ -tokoferol merupakan baris pertama pertahanan terhadap proses peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat dalam fosfolipid membran seluler dan subseluler.  $\alpha$ -tokoferol bertindak sebagai antioksidan dengan memutuskan berbagai reaksi rantai radikal bebas sebagai akibat kemampuannya untuk memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi. Radikal peroksil yang terbentuk kemudian bereaksi dengan radikal bebas peroksil selanjutnya.

**Tabel 4.** Pengaruh pemberian antioksidan ke dalam pengencer terhadap persentase membran plasma utuh dan persentase tudung akrosom utuh spermatozoa domba Garut

Tahapan evaluasi	Jenis Perlakuan		
	Kontrol (%)	BHT (%)	Vitamin E (%)
Membran plasma utuh:			
Setelah pengenceran	82,7 $\pm$ 5,5	86,3 $\pm$ 5,5	86,7 $\pm$ 6,1
Setelah ekuilibrisasi	74,7 $\pm$ 4,9	80,3 $\pm$ 6,5	82,2 $\pm$ 6,0
Setelah pembekuan	55,2 $\pm$ 8,3 <sup>a</sup>	65,0 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup>	65,8 $\pm$ 6,8 <sup>b</sup>
Tudung akrosom utuh:			
Setelah pengenceran	91,8 $\pm$ 1,9	92,8 $\pm$ 1,6	92,5 $\pm$ 1,4
Setelah ekuilibrisasi	80,0 $\pm$ 2,9	82,5 $\pm$ 2,8	82,3 $\pm$ 2,4
Setelah pembekuan	49,8 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup>	49,7 $\pm$ 3,6 <sup>a</sup>	54,8 $\pm$ 3,3 <sup>b</sup>

Angka dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5%

## KESIMPULAN DAN SARAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ditinjau dari persentase motilitas, persentase hidup, persentase membran plasma utuh dan persentase tudung akrosom utuh, penambahan antioksidan  $\alpha$ -tokoferol ke dalam pengencer semen susu skim-kuning telur menghasilkan kualitas semen beku domba Garut lebih baik dibandingkan penambahan antioksidan BHT dan perlakuan kontrol (tanpa antioksidan). Guna mendapatkan kualitas semen yang lebih baik dalam proses pembekuan semen domba Garut disarankan menambahkan  $\alpha$ -tokoferol ke dalam pengencer semen susu skim-kuning telur.

## DAFTAR PUSTAKA

- AX RL., DALLY M., DIDION B. A., LENZ R. W., LOVE C. C., VARNER D. D., HAFEZ B. and BELLIN M. E. 2000. Semen Evaluation. *In: Reproduction in Farm Animals*. B. Hafez and E.S.E. Hafez (Eds). Lea and Febiger. Philadelphia. pp 365-375.
- BECONI, M. T., C. R. FRANCA, N. G. MORA and M. A. AFFRANCHINO. 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology*. 40:841-851.
- BRADFORD, G. E. and I. INUNU. 1996. Prolific sheep of Indonesia *In: M.H. Fahmy (Ed). Prolific Sheep. Agriculture and Agrifood Canada. Lennok Vile. Quebec. Canada.*
- FERADIS. 1999. Penggunaan Antioksidan dalam Pengencer Semen Beku dan Metode Sinkronisasi Estrus pada Program Inseminasi Buatan Domba *St. Croix*. Disertasi Doktor. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- HASTONO, dan MASBULAN E. 2001. Keragaan Reproduksi Domba Rakyat di Kabupaten Garut. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor 17-18 September 2001. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Balitbang Pertanian, Departemen Pertanian, Bogor. pp 100-105.
- HERDIS, B. PURWANTARA, I. SUPRIATNA dan I. G. PUTU. 1999. Integritas Spermatozoa Kerbau Lumpur pada Berbagai Metode Pembekuan Semen. *JITV* 4(1) : 1-5.
- HERDIS, I. KUSUMA, M. SURACHMAN dan EPIH R. SUHANA. 2002. Pembekuan Spermatozoa Domba Garut dengan Pengencer dan Krioprotektan yang Berbeda. Prosiding Teknologi Untuk Negeri 2002. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta.
- DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN. 2001. Buku Statistik Peternakan Indonesia. Direktorat Jenderal Peternakan Departemen Pertanian. Jakarta.
- MEYES, P. A. 1995. Struktur dan fungsi vitamin yang larut dalam lemak. *In: Biokimia Harper*. Editor: D.H. Ronardy dan J. Oswari Alih bahasa : A. Hartono. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. Pp. 681-691.
- MOSES, D. F., A. VARCARCEL, L. J. PEREZ and M. A. DE LAS HERAS. 1996. Intracellular ATP concentration are maintained in freezing-resistant ram spermatozoa. *Cryo-Letters*. 17:287-294.
- PINEDA, M. H. 1989. Male reproduction. *In: Veterinary Endocrinology and Reproduction*. L.E. McDonald and M.H. Pineda (Eds). Lea and Febiger. Philadelphia. London.
- QOMARIYAH, MIHARDJA S., dan IDI R. 2001. Pengaruh Kombinasi Kuning Telur dengan Air Kelapa terhadap Daya Tahan Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Domba Priangan pada Penyimpanan 5°C. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor 17-18 September 2001. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Balitbang Pertanian, Departemen Pertanian, Bogor. pp 172-177.
- STEEL, R. G. D dan J. H. TORRIE. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Alih Bahasa: B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- TOELIHERE, M. R. 1981. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- VARCARCEL, A., M. A. DE LAS HERAS, L. PERES, D. F. MOSES and H. BALDASSARE. 1997. Assesment of the acrosomal status of membrane intact ram spermatozoa after freezing and thawing, by simultaneous lectin/hoechst 33258 staining. *Anim. Reprod. Sci.* 45: 229-309.
- WIJAYA, A. 1996. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. Forum Diagnosticum No.1. Laboratorium Klinik Prodia.