

Journal of Comprehensive Science
p-ISSN: 2962-4738 e-ISSN: 2962-4584
Vol. 3. No. 9, September 2024

Pengaruh Kombinasi Pengencer Semen Life dan Tris Modifikasi Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace

Katarina Miranda Keta^{1*}, Petrus Kune², Aloysius Marawali³
^{1,2,3} Universitas Nusa Cendana Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia
E-mail: katarinaketa09@gmail.com^{1*}

ABSTRAK

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi yang telah digunakan secara luas untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak, termasuk babi, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Keberhasilan program IB tidak hanya bergantung pada kualitas semen pejantan, tetapi juga pada kemampuan untuk mempertahankan kualitas semen serta memperbanyak volume melalui pengenceran. Pengenceran semen bertujuan untuk mengurangi kepadatan spermatozoa dan memperpanjang masa hidupnya, sehingga lebih banyak betina dapat diinseminasi. Pengencer tris sering digunakan karena kandungan asam sitrat dan fruktosa yang membantu menjaga stabilitas pH serta melindungi spermatozoa. Selain itu, pengencer semen life juga digunakan karena kemampuannya mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa. Penambahan kuning telur dan antioksidan alami, seperti ekstrak daun kelor, diharapkan dapat melawan radikal bebas dan meningkatkan kualitas semen untuk IB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi semen life dan tris modifikasi terhadap kualitas spermatozoa babi landrace. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Masing-masing perlakuan terdiri dari P0: semen life 100%+EDK 1%, P1: semen life 75%+tris 25%+EDK 1%, P2: semen life 50%+tris 50%+EDK 1%, P3: semen life 25%+tris 75%+EDK 1%, P4: tris 100%+EDK 1%. Ternak yang digunakan berumur 2-3 tahun, dan spermatozoa yang digunakan diambil secara manual yaitu dengan cara menggenggam penis menggunakan tangan yang sudah dibersihkan. Hasil penelitian ini menunjukkan perlakuan P4 berpengaruh nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu dengan nilai motilitas $45,80 \pm 3,49\%$, viabilitas $56,36 \pm 2,06\%$, abnormalitas $5,00 \pm 0,86\%$, dan daya tahan hidup $44,39 \pm 2$ jam. Disimpulkan bahwa Pengencer tris 100%+EDK 1% lebih efektif dalam mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa babi landrace selama 40 jam waktu penyimpanan.

Kata kunci: Spermatozoa, Babi Landrace, Semen Life, Tris

ABSTRACT

Artificial insemination (IB) is one of the reproductive technologies that has been widely used to increase the population and production of livestock, including pigs, both qualitatively and quantitatively. The success of the IB program depends not only on the quality of the semen of the studs, but also on the ability to maintain the quality of the semen as well as increase the volume through dilution. Semen dilution aims to reduce the density of spermatozoa and extend their lifespan, so that more females can be inseminated. Tris thinners are often used because of their citric acid and fructose content which help maintain pH stability as well as protect spermatozoa. In addition, life cement diluent is also used because of its ability to maintain the survival of spermatozoa. The addition of egg yolks and natural antioxidants, such as moringa

leaf extract, is expected to fight free radicals and improve semen quality for IB. This study aims to determine the effect of the combination of semen life and modified tris on the quality of landrace pig spermatozoa. This study used a complete randomized design (CRD) method with 5 treatments and 5 replicates. Each treatment consisted of P0: 100% life semen+1% EDK, P1: 75% life semen+25% tris+1% EDK, P2: 50% life semen+50% tris+1% EDK, P3: 25% life semen+75% tris+1% EDK, P4: 100% tris+1% EDK. The cattle used were 2-3 years old, and the spermatozoa used were taken manually by grasping the penis using a cleaned hand. The results of this study showed that the P4 treatment had a significant effect ($P < 0.05$) compared to the other treatments, with motility values of $45.80 \pm 3.49\%$, viability of $56.36 \pm 2.06\%$, abnormality of $5.00 \pm 0.86\%$, and survival of 44.39 ± 2.53 hours. It can be concluded that 100% Tris diluent + 1% EDK is more effective in maintaining the viability of landrace pig spermatozoa for 40 hours of storage time.

Keywords: Spermatozoa, Landrace Pig, Semen Life, Tris

PENDAHULUAN

Salah satu teknologi yang telah dipergunakan untuk meningkatkan populasi dan produksi baik secara kualitatif maupun kuantitatif adalah dengan menggunakan teknologi inseminasi buatan (IB). Beberapa hal penting yang perlu diperhatikan dalam program IB pada ternak babi tidak hanya kualitas dan kuantitas ataupun penanganan semen dari hasil ejakulasi seekor pejantan, tetapi tergantung kepada kemampuan untuk mempertahankan kualitas dan memperbanyak volume semen yang dapat disimpan untuk waktu yang lebih lama setelah ejakulasi. Sehingga lebih banyak betina yang diinseminasi. Untuk inseminasi dapat dilakukan dengan cara pengawetan semen yaitu dengan melakukan pengenceran semen. Pengenceran semen dilakukan untuk mengurangi kepadatan dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa (Widjaya, 2011). Selain itu pengencer berfungsi untuk menambah volume semen sehingga makin banyak jumlah ternak yang dapat diinseminasi (Susilawati, 2011).

Ada banyak pengencer yang telah digunakan, namun pengencer tris merupakan pengencer yang paling umum digunakan pada ternak baik babi, sapi, domba dan lain sebagainya. Kelebihan dari pengencer tris yaitu mengandung asam sitrat dan fruktosa yang berperan sebagai penyangga, untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa serta mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, sumber energi dan melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (Widjaya, 2011). Semen life adalah bahan pengencer yang diyakini dapat mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa sebagai penyangga untuk mempertahankan kestabilan pH. Di dalam pengencer semen life mengandung glukosa, natrium bikarbonat EDTA (*Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid*). Kedua bahan pengencer tersebut masing-masing memiliki kelebihan yang dipercaya untuk mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa, sehingga kedua bahan tersebut dikombinasikan agar memberikan sumber energi tambahan bagi daya gerak spermatozoa. Selain itu ditambahkan kuning telur yang mengandung glukosa, protein, vitamin yang larut dalam air dan lemak serta viskositasnya yang dapat menguntungkan bagi spermatozoa (Djanuar, 1985). Upaya untuk menghambat pertumbuhan radikal bebas maka ditambahkan antioksidan, salah satu bahan alami yang mengandung antioksidan yaitu ekstrak daun kelor yang mengandung antioksidan yang tinggi (Kasolo et al., 2010) dan bersifat antibakteri (Das et al., 2012).

Meskipun inseminasi buatan (IB) sudah umum digunakan untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak, khususnya babi, tantangan utama masih terletak pada kemampuan mempertahankan kualitas semen dan memperpanjang masa simpan setelah ejakulasi. Banyak pengencer seperti tris dan semen life yang telah digunakan untuk menjaga kualitas dan kelangsungan hidup spermatozoa, tetapi belum ada penelitian yang memadukan kedua jenis pengencer tersebut dengan penambahan bahan alami seperti ekstrak daun kelor sebagai

antioksidan. Selain itu, efek penggunaan antioksidan alami dalam pengencer semen untuk melawan radikal bebas dan meningkatkan kualitas semen belum banyak diteliti secara mendalam.

Penelitian ini menawarkan kebaruan dengan mengkombinasikan pengencer tris dan semen life yang ditambah dengan ekstrak daun kelor sebagai suplemen antioksidan. Penambahan ekstrak daun kelor, yang diketahui memiliki sifat antioksidan dan antibakteri, bertujuan untuk melawan radikal bebas dan mempertahankan kualitas serta kelangsungan hidup spermatozoa. Pendekatan ini belum banyak dieksplorasi sebelumnya, sehingga diharapkan dapat memberikan kontribusi baru dalam peningkatan efektivitas inseminasi buatan pada ternak babi.

Dalam penelitian ini kedua bahan pengencer semen life dan tris ditambahkan atau dimodifikasikan dengan ekstrak daun kelor sebagai suplemen antioksidan dalam pengencer Semen life dan tris-kuning telur yang diharapkan dapat melawan radikal bebas.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan semen segar hasil penampungan dari babi jantan dengan umur 2-3 tahun, yang telah mencapai dewasa kelamin dan dalam kondisi sehat. Bahan pengencer yang digunakan berupa Semen Life dan Tris.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 ulangan. Adapun perlakuan dalam penelitian ini adalah:

P0 = Semen Life100%+ekstrak daun kelor 1%

P1 = Semen Life75%+Tris 25%+ekstrak daun kelor1%

P2 = Semen Life 50%+Tris 50%+ekstrak daun kelor 1%

P3 = Semen Life25%+Tris75%+ekstrak daun kelor 1%

P4 = Tris100%+ekstrak daun kelor 1%

Tahap Persiapan Pengencer

Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Pembuatan ekstraksi serbuk kelor ditimbang 260 gram, sebuk daun kelor dan dimaserasi dengan 1 liter etanol 70% selama 24 jam. Setelah 24 jam disaring dan ditampung filtratnya. Filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan rotary evaporator dengan suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak semi solid.

Penyiapan Kuning Telur

Bersihkan cangkang kuning telur dengan menggunakan alkohol berdosisi 70%, kemudian disimpan pada suatu wadah dan dibiarkan hingga kering setelah cangkang telur kering, pecahkan telur di bagian sudut yang runcing kemudian pisahkan putih telur dari kuning telur. Kuning telur yang masih terbungkus dengan selaput vitelin disimpan di atas kertas saring dan dimiringkan kertas saring agar putih telur diserap oleh kertas saring sampai selaput vitelinnya kering. Setelah selaput vitelin kering pecahkan dengan menggunakan pipet kemudian tuangkan kuning telur ke dalam gelas ukur kemudian siap digunakan.

Pembuatan Bahan Pengencer semen life

Semen life ditimbang sebanyak 45-50 gram dilarutkan dalam 100 ml dalam aquabides, kemudian ditambahkan kuning telur 20 ml homogenkan menggunakan stirer dan spin bar hingga tercampur rata. Kemudian tambahkan penicillin 1000 IU dan streptomycin 1000 mg dihomogenkan kembali menggunakan stirer lalu ditambahkan ekstrak daun kelor 1%.

Pembuatan Bahan Pengencer tris

Tris ditimbang sebanyak 3,634 gram, asam sitrat-monohidrat (merk, Jerman) 1,99 gram, fruktosa 0,50 gram, masukkan ke dalam tabung erlenmeyer, selanjutnya tambahkan aquabides

sampai dengan 100 ml lalu homogenkan (Tamoës et al., 2014). Dalam pembuatan pengencer tris-kuning telur ambil 80 ml pengencer tris dan tambahkan 20 ml kuning telur, dihomogenkan menggunakan stirer dan spin bar, selanjutnya tambahkan 1% EDK, penicillin 1.000 IU dan streptomycin sulfat 1.000 mg ke pengencer. Pengencer tris kuning telur siap digunakan.

Tahap Penampungan Semen

Semen yang digunakan adalah semen babi Landrace, dengan frekuensi penampungan sekali dalam seminggu pada pagi hari. Semen ditampung menggunakan metode manual yaitu menggunakan tangan yang sudah dibersihkan lalu penis ditarik secara perlahan-lahan agar pejection dapat mengeluarkan semen. Setelah di tampung dimasukkan kedalam wadah berwarna biru atau berwarna gelap dengan tujuan agar tidak terpapar matahari secara langsung. Wadah berwarna biru ditutup dengan kain kasa yang berfungsi sebagai penyaring gelatin pada semen. Semen yang sudah ditampung dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis.

Evaluasi Semen

Semen yang diperoleh selanjutnya dilakukan evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis meliputi volume, pH, warna dan konsistensi. Secara mikroskopis meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas.

Variabel Penelitian

Motilitas spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa bergerak maju secara aktif atau progresif. Perhitungan motilitas pada spermatozoa bertujuan untuk mengamati spermatozoa yang hidup dan mati. Spermatozoa yang tidak bergerak maju secara aktif atau hanya diam di tempat dikategorikan sebagai spermatozoa yang mati. Sebaliknya spermatozoa yang hidup bergerak maju atau progresif.

Viabilitas

Pemeriksaan persentase spermatozoa hidup dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin. Campurkan 0,05 mL semen dengan 0,05 mL eosin lalu homogenkan. Setelah 30 detik dibuat preparat ulas lalu keringkan dengan cara dianginkan, diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10×40. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepala spermatozoa tidak berwarna, spermatozoa mati ditandai dengan kepala spermatozoa berwarna merah karena spermatozoa mati mampu menyerap warna. Rumus perhitungan viabilitas spermatozoa adalah:

$$viabilitas = \frac{jumlah\ spermatozoa\ yang\ hidup}{total\ spermatozoa} \times$$

Abnormalitas Spermatozoa

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara yang sama dengan pemeriksaan persentase spermatozoa hidup yaitu dengan pengecatan eosin. Diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10×40. Spermatozoa abnormal memiliki perbedaan dari bentuk morfologi pada bagian kepala, leher dan ekor. Rumus perhitungan abnormalitas adalah:

$$abnormalitas = \frac{spermatozoa\ abnormal}{spermatozoa\ normal + spermatozoa\ abnormal} \times$$

Daya Tahan Hidup

Daya tahan hidup adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup selama penyimpanan yang diperlihatkan melalui sanggunya bergerak progresif namun daya tahan hidup spermatozoa yang diamati dalam penelitian ini adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup selama motilitas spermatozoa tersebut masih berada di atas motilitas

spermatozoa yang layak untuk inseminasi buatan, yakni minimal 40% gerakan progresif atau maju ke depan sedangkan persentasi hidup di bawah 40% tidak lagi dilakukan pengamatan.

Analisis Data

Analisis data diawali dengan menghitung rata-rata dan standar deviasi kemudian dilanjutkan dengan *analysis of variance* (ANOVA) serta dilanjutkan dengan Uji Ducan. Data dianalisis menggunakan *software SPSS 17.0 Forwindows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas

Motilitas spermatozoa selalu digunakan sebagai acuan dalam penilaian semen untuk IB karena motilitas mempunyai peranan yang penting untuk keberhasilan fertilisasi (Hafez & Hafez, 2000). Kecepatan spermatozoa untuk masing-masing spesies berbeda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungan. Nilai motilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa (%)

Jam ke-	Perlakuan %					Pvalue
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	79,00±4,18 ^a	79,00±4,18 ^a	79,00±4,18 ^a	79,00±4,18 ^a	79,00±4,18 ^a	1,000
8	70,00±3,80 ^a	71,00±4,18 ^a	71,00±4,18 ^a	71,00±4,18 ^a	72,60±3,71 ^a	0,894
16	62,00±5,70 ^a	66,60±5,50 ^a	63,40±4,21 ^a	66,40±5,59 ^a	67,60±4,33 ^a	0,392
24	54,80±4,54 ^b	58,80±4,43 ^{ab}	56,80±2,94 ^{ab}	59,20±3,96 ^{ab}	61,80±4,71 ^a	0,134
32	44,40±5,17 ^b	49,60±6,87 ^{ab}	48,40±5,02 ^{ab}	52,00±3,67 ^a	55,20±4,54 ^a	0,041
40	35,40±5,54 ^c	42,00±2,73 ^{ab}	39,00±4,69 ^c	43,00±2,73 ^{ab}	45,80±3,49 ^a	0,006
48	24,40±6,06 ^b	33,60±2,50 ^a	28,00±4,47 ^b	33,20±1,78 ^a	35,60±2,50 ^a	0,001

^{abc}superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Berdasarkan Tabel. 1 hasil pengamatan motilitas spermatozoa pada jam ke-0 persentase semua perlakuan sama yaitu 79,00±4,18% dari hasil persentase dapat dilihat bahwa belum adanya perubahan atau penurunan kualitas dari setiap perlakuan yang diberikan. Rata-rata yang diperoleh pada persentase motilitas berkisar 79,00±3,81%-30,96±5,46% dari jam ke-0 sampai jam ke-40 selama masa penyimpanan. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada jam ke-0 sampai jam ke-16, seluruh perlakuan tidak berbeda nyata (P>0,05) terhadap persentase spermatozoa. Namun Hasil uji lanjut pada jam ke-24 sampai ke-40 menunjukkan bahwa pada perlakuan P0, P1, P2, P3, dan P4 menunjukan perbedaan yang nyata (P<0,05) pada persentase spermatozoa. Pada pengamatan jam ke-24 sampai jam ke-40 mengalami perubahan penurunan persentase motilitas spermatozoa pada setiap perlakuan. Penurunan motilitas disebabkan karena terjadinya peroksida lipid yang terjadi pada spermatozoa yang disimpan lama yang disebabkan oleh semakin berkurangnya ketersediaan energi dalam pengencer akibat metabolisme spermatozoa (Bebas et al., 2016). Maldjian et al., (2005) menyatakan bahwa spermatozoa mamalia yang kaya akan asam lemak tidak jenuh dan mudah terkena *oksigen reaktif spesies* (ROS) yang mengakibatkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa serta meningkatkan kerusakan morfologi yang mempengaruhi kapasitas spermatozoa dan reaksi akrosom sehingga menyebabkan fungsi membran sel menurun akibat fosfolipid pada membran sel direduksi, sehingga sel mengalami kerusakan. Hal ini juga terjadi karena adanya penurunan suhu yang mengakibatkan terjadinya *cold shock* dan terjadi perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat dalam pengencer.

Persentase motilitas spermatozoa tertinggi hingga jam ke-40 terdapat pada perlakuan P4 dengan presentase 45,80±3,49%. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Tamoës et al., (2014) yang melaporkan bahwa presentase motilitas yang bertahan sampai 42 jam adalah 43,50±4,18%. Perlakuan P4 dapat bertahan sampai jam ke-40 diduga adanya kandungan nutrisi yang diberikan oleh pengencer tris dengan tambahan kuning telur. Pengencer tris merupakan larutan yang mengandung asam sitrat dan fruktosa yang berperan sebagai penyangga (*buffer*) dari kejutan dingin akibat penurunan temperatur. Dengan penambahan kuning telur dapat melindungi stabilitas pH, mempertahankan tekanan osmotik menjaga keseimbangan elektrolit, mengikat butir-butir lemak, sumber energi, serta melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) (Herdiawan, 2004)

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Nilai viabilitas spermatozoa dalam pengencer semen life dan tris dengan penambahan ekstrak daun kelor 1% dan kuning telur mengalami penurunan seiring dengan lama penyimpanan semakin lama waktu penyimpanan makin rendah pula nilai viabilitas spermatozoa yang diperoleh, tingkat penurunan berbeda-beda pada setiap perlakuan. Penurunan persentase viabilitas spermatozoa kemungkinan juga dapat disebabkan karena sumber nutrisi bagi spermatozoa mulai berkurang pada suhu penyimpanan 18-20 °C. Nilai viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa (%)

Jam ke-	Perlakuan %					Pvalue
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	92,61±4,36 ^a	92,56±4,34 ^a	92,79±4,10 ^a	92,70±4,08 ^a	92,59±4,30 ^a	1,000
8	83,55±3,56 ^a	84,87±3,73 ^a	84,61±3,52 ^a	85,88±3,81 ^a	86,12±3,47 ^a	0,800
16	74,09±4,97 ^b	76,34±5,74 ^{ab}	76,37±1,49 ^{ab}	78,94±4,72 ^{ab}	80,48±3,56 ^a	0,204
24	66,96±5,09 ^b	68,46±3,07 ^b	66,80±4,03 ^b	71,08±2,72 ^{ab}	74,55±2,94 ^a	0,016
32	58,61±6,07 ^b	62,65±3,40 ^b	59,24±3,75 ^b	62,96±2,49 ^b	68,71±3,63 ^a	0,006
40	46,40±1,96 ^c	51,87±4,04 ^b	49,54±3,24 ^{bc}	52,44±1,44 ^b	56,36±2,06 ^a	0,000
48	46,86±24,01 ^a	49,64±22,77 ^a	49,01±24,17 ^a	51,71±21,51 ^a	56,89±19,47 ^a	0,964

Keterangan: ^{abc} superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Hasil analisis menunjukkan bahwa pada kombinasi semen life dan tris modifikasi pada jam ke-0, jam ke-8, dan jam ke-40 menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05). Namun pada jam ke-16, jam ke-24, jam ke-32, dan jam ke-40 menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05). Persentase tertinggi dalam penelitian ini terdapat pada perlakuan P4 dengan persentase 56,89±19,47% pada jam ke-40. Secara statistik perlakuan ini menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05) dengan perlakuan P0, P1, P2, dan P3.

Dari hasil analisis ini juga dapat diketahui rata-rata persentase spermatozoa tertinggi pada jam ke 40 adalah perlakuan P4 dengan persentase 56,36±2,06% dan terendah pada perlakuan P0 dengan presentase 46,40±1,96%. Penurunan viabilitas spermatozoa juga disebabkan oleh stres oksidatif yang dialami spermatozoa selama masa penyimpanan. Proses pendinginan mengakibatkan stres fisik dan kimia pada membran sel yang menurunkan viabilitas spermatozoa (Susilawati, 2011). Dibandingkan dengan jenis ternak lain membran sel spermatozoa babi memiliki kandungan asam lemak tidak jenuh tinggi sehingga mudah rusak oleh ROS melalui proses peroksidasi lipid. Namun penurunan viabilitas spermatozoa tidak begitu signifikan hal ini diduga karena adanya kadar antioksidan yang ditambah dalam pengencer dapat mempengaruhi viabilitas spermatozoa. Dengan penambahan antioksidan ekstrak etanol dalam pengencer dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan oksidatif yang dapat mempengaruhi

kelangsungan hidup spermatozoa. Mittal et al., (2010) menyatakan dimana kematian sel spermatozoa atau yang disebut apoptosis dapat terjadi apabila tidak ada perlindungan antioksidan. Menurut Hernanto et al., (2008) prinsip kerja dari antioksidan dalam menghambat oksidasi pada lemak antara lain: oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh, kemudian radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif.

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa adalah tingkat kelainan atau kerusakan fisik spermatozoa yang terjadi pada saat pembentukan spermatozoa di dalam tubuli simeniferi maupun karena proses transportasi spermatozoa melalui saluran-saluran organ kelamin ternak jantan. Abnormalitas dibagi dalam 2 kategori, yaitu abnormalitas primer (abnormalitas kepala, *midpiece*, dan *tightly coiled tails*) dan abnormalitas sekunder (kepala tanpa ekor, *cytoplasmic droplet*, dan ekor membengkok) (McPeake & Pennington, 2009). Abnormalitas yang diamati dalam penelitian ini adalah abnormalitas sekunder. Abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa (%)

Jam ke-	Perlakuan %					
	P0	P1	P2	P3	P4	Pvalue
0	3,76±0,87 ^a	3,90±0,92 ^a	3,81±0,90 ^a	3,92±0,86 ^a	3,85±0,83 ^a	0,998
8	4,08±0,88 ^a	4,05±0,85 ^a	4,06±0,90 ^a	3,98±0,87 ^a	3,92±0,81 ^a	0,998
16	4,27±0,91 ^a	4,26±0,81 ^a	4,22±0,88 ^a	4,14±0,80 ^a	4,07±0,83 ^a	0,995
24	4,60±0,80 ^a	4,51±0,75 ^a	4,59±0,77 ^a	4,43±0,77 ^a	4,35±0,77 ^a	0,983
32	5,00±8,00 ^a	4,78±0,83 ^a	4,83±0,87 ^a	4,70±0,78 ^a	4,58±0,77 ^a	0,945
40	5,39±0,75 ^a	5,16±0,82 ^a	5,16±0,82 ^a	4,93±0,78 ^a	5,00±0,86 ^a	0,900
48	6,03±0,99 ^a	6,04±1,18 ^a	5,82±1,11 ^a	5,63±1,19 ^a	5,51±1,17 ^a	0,927

Keterangan: ^a superskrip dengan huruf yang sama pada baris yang sam menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05)

Berdasarkan Tabel di atas menunjukkan tidak adanya perbedaann yang nyata pada setiap perlakuan selama masa penyimpanan (P>0,05). Namun jumlah abnormalitas spermatozoa semakin meningkat. Peningkatan angka abnormalitas tidak hanya disebabkan pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan namun juga disebabkan oleh adanya peroksida lipid (Suyadi & Iswanto, 2012). Peroksida lipid dapat menyebabkan kerusakan struktur dan metabolisme spermatozoa yang berakibat meningkatnya abnormalitas spermatozoa.

Rataan persentase abnormalitas 3,85±0,80%-5,80±1,05% dari jam ke-0 sampai jam ke-40 selama waktu penyimpanan. Hasil pengamatan yang paling mampu mempertahankan peningkatan abnormalitas yaitu pada perlakuan P3 dengan persentase 4,93±0,78% selama 40 jam. Hal ini diduga karena adanya kandungan nutrisi dalam pengencer semen life dan tris dengan dosis yang berbeda serta ekstrak daun kelor sebagai antioksidan sehingga mampu mencegah kenaikan abnormalitas pada suhu dingin. (Kamal et al., 2005) menyatakan terjadinya peningkatan abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh cekaman dingin serta tidak adanya keseimbangan nutrisi. Kenaikan persentase abnormalitas masih rendah dan belum mencapai 40%. Kenaikan persentase abnormalitas karena adanya kerusakan membran plasma yang terjadi akibat *cold shock* dan perubahan tekanan osmotik menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap bentuk morfologi spermatozoa. Kemungkinan tingginya persentase abnormalitas spermatozoa pada perlakuan P0 dipengaruhi oleh pengencer semen life sebagai kontrol yang tidak mampu mempertahankan spermatozoa dari cekaman dingin (*cold shock*).

Namun peningkatan ini masih tergolong rendah karena adanya penambahan antioksidan yang dapat mencegah pertumbuhan radikal bebas. Penggunaan semen cair maupun semen beku dalam melakukan inseminasi buatan sebaiknya kurang dari 20% (BSN, 2017)

Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup

Daya tahan hidup merupakan kemampuan spermatozoa untuk tetap bergerak dalam kurun waktu tertentu setelah penyimpanan *in vitro* (Waluwanja et al., 2019). Daya tahan hidup spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh Perlakuan Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Perlakuan	Daya Tahan Hidup
P0	35,69±4,50 ^c
P1	41,60±2,19 ^{ab}
P2	38,98±3,34 ^{bc}
P3	41,98±1,85 ^{ab}
P4	44,39±2,53 ^a
P value	0,003

^{abc}Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Berdasarkan tabel 4 hasil analisis statistik menunjukkan bahwa setiap perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil analisis juga menunjukkan bahwa P4 mampu mempertahankan daya tahan hidupnya dengan presentase 44,39±2,53%. Daya tahan hidup spermatozoa dalam pengencer tris (kontrol)+EDK 1% memiliki daya tahan yang lebih lama dari pada pengencer semen life (kontrol)+EDK 1%. Selama proses pengenceran dan penyimpanan masalah yang paling sering timbul adalah rusaknya membran plasma spermatozoa akibat terbentuknya peroksida lipid. Hal ini disebabkan karena membran spermatozoa banyak mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap kerusakan peroksida (Maxwell & Watson, 1996).

Rendahnya persentase daya tahan hidup pada P0 diduga karena pengencer semen life(kontrol) tidak mampu mempertahankan spermatozoa dari cekaman dingin selain itu, adanya aktivitas asam yang membentuk asam laktat. Rendahnya daya tahan hidup pada spermatozoa disebabkan adanya aktivitas metabolisme spermatozoa yang membentuk asam laktat dalam media pengencer (Rhojan et al., 2014). Asam laktat yang berlebihan dalam pengencer dapat membentuk racun dalam pengencer serta kematian yang tinggi pada spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa pengencer tris 100%+EDK 1% lebih efektif dalam mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa babi landrace selama 40 jam waktu penyimpanan dengan suhu 18-20⁰C. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi pengencer semen life dan tris dengan penambahan ekstrak daun kelor sebagai antioksidan memiliki pengaruh positif terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa babi selama penyimpanan. Perlakuan P4 (pengencer tris dengan tambahan kuning telur dan ekstrak daun kelor) memberikan hasil terbaik dengan mempertahankan motilitas spermatozoa hingga 45,80% pada jam ke-40, viabilitas 56,89% pada jam ke-48, serta daya tahan hidup tertinggi dengan persentase 44,39%. Penambahan kuning telur dan ekstrak daun kelor terbukti efektif dalam melindungi spermatozoa dari stres oksidatif dan cekaman dingin yang dapat merusak membran plasma spermatozoa. Penggunaan pengencer ini juga mampu menurunkan tingkat abnormalitas spermatozoa dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Secara keseluruhan, pengencer tris yang dimodifikasi dengan tambahan kuning telur dan ekstrak daun kelor merupakan metode yang lebih efektif dalam

mempertahankan kualitas semen babi selama penyimpanan dibandingkan pengencer semen life.

DAFTAR PUSTAKA

- Bebas, W., Buyona, G. L., & Budiassa, M. K. (2016). Penambahan vitamin E pada pengencer BTS® terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi landrace pada penyimpanan 15 C. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1), 1–7.
- Das, A. K., Rajkumar, V., Verma, A. K., & Swarup, D. (2012). Moringa oleifera leaves extract: a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(3), 585–591.
- Djanuar, R. (1985). *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi buatan pada sapi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Hafez, B., & Hafez, E. S. E. (2000). Anatomy of female reproduction. *Reproduction in Farm Animals*, 13–29.
- Herdiawan, I. (2004). Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *JITV*, 9(2), 98–107.
- Hernanto, M., Suswardana, P. D. A. S., & Radiono, S. (2008). Virgin coconut oil protection against UVB induced erythema and pigmentation. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin*, 20(3), 208–211.
- Indonesia, S. N. (2017). Semen Beku–Bagian 1: Sapi. *Badan Standarisasi Nasional, Jakarta, ID*.
- Kamal, A. G., Ahmed, A., Amel, O. B., & Babiker, A. (2005). *Comparative studies on reproductive performance of Nubian and Saanen bucks under the climatic conditions of Khartoum*.
- Kasolo, J. N., Bimenya, G. S., Ojok, L., Ochieng, J., & Ogwal-Okeng, J. W. (2010). *Phytochemicals and uses of Moringa oleifera leaves in Ugandan rural communities*.
- Maldjian, A., Pizzi, F., Gliozzi, T., Cerolini, S., Penny, P., & Noble, R. (2005). Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Theriogenology*, 63(2), 411–421.
- Maxwell, W. M. C., & Watson, P. F. (1996). Recent progress in the preservation of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 42(1–4), 55–65.
- McPeake, S. R., & Pennington, J. A. (2009). *Breeding soundness evaluation for beef and dairy bulls*.
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2010). *Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury Antioxidants & Redox Signaling*. 2014; 20: 1126-1167. DOI.
- Rhoyan, Y. H., Lestari, T. D., & Setiawan, R. (2014). Kualitas semen cair dingin domba garut pada tiga jenis larutan pengencer. *Jurnal Ilmu Ternak*, 14(1), 63–67.
- Susilawati, T. (2011). *Spermatology*. Universitas Brawijaya Press.
- Suyadi, A. R., & Iswanto, N. (2012). Pengaruh α -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethane kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 5oC. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 22(3), 1–8.
- Tamoes, J. A., Nalley, W. M., & Hine, T. M. (2014). Fertilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 12(1), 20–30.
- Waluwanja, Y. U. D., Nalley, W. M., Hine, T. M., & Uly, K. (2019). Efektivitas Berbagai Konsentrasi Minyak Zaitun Ekstra Virgin (Oleum Olivae) Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur (The Effectivity of Various Virgin Extra Oil Concentration (Oleum Olivae) in Citrate Egg-Yolk Diluent on the Quality of Duroc Liquid Semen). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 6(2), 55–62.

Widjaya, N. (2011). Pengaruh Pemberian Susu Skim dengan Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi pada Suhu Penyimpanan 5°C. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 9(2), 72–76.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.