

## **PENGARUH KOMBINASI PENGECER BELTSVILLE THAWING SOLUTION DAN SEMEN LIFE TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BABI LANDRACE**

**Yohana Stefania Elvira Kue<sup>1</sup>, Petrus Kune<sup>2</sup>, Aloysius Marawali<sup>3</sup>**

**Abstrak:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi pengencer beltsville thawing solution (BTS) dan semen life (SL) terhadap kualitas spermatozoa babi landrace. Metode penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan yang diuji adalah P0= BTS 100% , P1= BTS 75% + SL 25% , P2= BTS 50% + SL 50%, P3= BTS 25% + SL 75%, P4= SL 100%. Variabel yang diamati pada penelitian adalah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup. Analisis data dengan menggunakan analysis of variance (Anova) dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan software SPSS 25 for windows. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengencer SL-KT 100%+EDK 1% dan BTS 50%+SL 50%+EDK 1%, mempunyai kualitas terbaik dengan persentase motilitas yaitu  $43,20 \pm 3,03\%$ - $40,60 \pm 4,87\%$ , viabilitas  $53,84 \pm 3,87\%$ - $50,40 \pm 5,05$ , abnormalitas  $6,54 \pm 1,03\%$ - $6,50 \pm 1,01$  dan daya tahan hidup  $42,87 \pm 2,72$ - $40,44 \pm 4,00$  jam. Disimpulkan bahwa kombinasi BTS 50%+SL 50%+EDK 1% (P2) dan SL-KT 100%+EDK 1% (P4) mampu mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace sampai 40 jam penyimpanan.

**Kata kunci:** Babi landrace, beltsville thawing solution, semen life, ekstrak daun kelor

**Abstract:** The aim of this research was to determine the effect of the combination of Beltsville Thawing Solution (BTS) and Life semen (LS) on the quality of landrace boar spermatozoa. This research method experimental research using a completely randomized design consisting of 5 treatments and 5 replications. The treatments tested were T0= BTS 100%, T1= BTS 75% + SL 25%, T2= BTS 50% + SL 50%, T3= BTS 25% + SL 75 %, T4= SL 100%. The variables observed in the research were motility, viability, abnormalities and survival. Data analysis using analysis of variance (Anova) followed by the Duncan test using SPSS 25 for Windows software. The results of this study showed that the diluent SL-KT 100%+MLE 1% and BTS 50%+SL 50%+MLE 1%, had the best quality with a motility percentage of  $43.20 \pm 3.03\%$ - $40.60 \pm 4.87\%$ , viability  $53.84 \pm 3.87\%$ - $50.40 \pm 5.05$ , abnormality  $6.54 \pm 1.03\%$ - $6.50 \pm 1.01$  and survival  $42.87 \pm 2.72$ - $40.44 \pm 4.00$  hours. It was concluded that the combination of BTS 50%+SL 50%+MLE 1% (T2) and SL-KT 100%+MLE 1% (T4) was able to maintain the quality of landrace spermatozoa boar for up to 40 hours of storage.

**Keywords:** Landrace boar, beltsville thawing solution, semen life, moringa leaf extract

### **PENDAHULUAN**

Upaya pengembangbiakan ternak babi di NTT saat ini dilakukan dengan dua metode yaitu dilakukan secara kawin alami dan inseminasi buatan dimana langsung menggunakan semen segar tanpa pengenceran (Djawapatty et al., 2018). Semen segar memiliki volume yang banyak dalam sekali ejakulat sehingga jika langsung digunakan untuk inseminasi tidak begitu efisien, sehingga perlu dilakukan pengenceran. Selain itu, pengenceran juga dapat mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa babi yang pada akhirnya dapat memperpanjang daya guna semen tersebut (Tamoës et al., 2014).

Pemilihan bahan pengencer sangat perlu diperhatikan untuk mempertahankan kualitas spermatozoa babi. Bahan pengencer semen berperan untuk memperbanyak

volume semen, menyediakan nutrisi bagi spermatozoa, mencegah pertumbuhan kuman dan mempertahankan keseimbangan elektrolit serta tekanan osmotik. (Ismaya, 2014).

Berbagai jenis bahan pengencer telah ditemukan dalam teknik pengenceran semen, salah satunya menggunakan bahan pengencer beltsville thawing solution . Pengencer BTS merupakan salah satu bahan pengencer yang memiliki daya simpan yang singkat dengan periode pertahanan 1-3 hari (Zhou et al., 2004). Komposisi bahan pengencer BTS tersusun atas Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) yang berperan dalam melindungi membran plasma dan glukosa yang menyediakan nutrisi bagi spermatozoa, terdapat pula natrium bikarbonat dan natrium sitrat yang berperan sebagai penyangga yang dapat menjaga kestabilan pH untuk kelangsungan hidup dari spermatozoa, antibiotik (penicillin, streptomycin) yang berperan dalam menekan pertumbuhan bakteri, serta aquabidest yang berperan dalam mengencerkan semen (Dube et al., 2004)

Semen life mengandung natrium bikarbonat dan natrium sitrat yang berperan sebagai penyangga yang dapat menjaga kestabilan pH, EDTA yang berperan dalam melindungi membran plasma dan glukosa yang menyediakan nutrisi bagi spermatozoa. Pengencer semen life juga ditambahkan antibiotik yang berperan untuk mencegah berkembangnya bakteri pada saat pengawetan semen.

Kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang berfungsi melindungi membran spermatozoa untuk mencegah terjadinya kejutan dingin selama penyimpanan (Nugroho et al., 2014). Kandungan dalam kuning telur merupakan sumber asam amino bagi spermatozoa dan komposisi kuning telur terdiri atas air, protein, lemak, karbohidrat, mineral.

Dalam upaya mengurangi kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasi lipid atau spermatozoa mengalami Reactive Oxygen Species selama penyimpanan, maka perlu penambahan antioksidan pada bahan pengencer. Peroksidasi lipid merupakan proses yang bersifat kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolipid membran sel dengan Reactive Oxygen Species. Upaya untuk mengurangi kerusakan membran spermatozoa akibat peroksidasilipid selama penyimpanan maka, dilakukan penambahan antioksidan pada bahan pengencer. Salah satu bahan yang kaya akan antioksidan adalah daun kelor. Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) mengandung antioksidan: flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, fenol, carotenoids, tocopherols, dan ascorbic acid (Putra et al., 2016).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi pengencer beltsville thawing solution dan semen life terhadap kualitas spermatozoa babi landrace

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 ulangan sehingga terdapat 25 unit percobaan. Adapun perlakuan dalam penelitian ini yaitu :

P0 = BTS-KT 100% + EDK 1%, P1 = BTS-KT 75% + SL-KT 25% + EDK 1%, P2 = BTS-KT 50% + SL-KT 50% + EDK 1%, P3 = BTS-KT 25% + SL-KT 75% + EDK 1%, P4 = SL-KT 100% + EDK 1%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Semen Segar Babi Landrace

Hasil evaluasi semen segar merupakan pemeriksaan semen awal yang dijadikan dasar untuk menentukan kelayakannya untuk melakukan proses lebih lanjut. Pemeriksaan dilakukan didalam laboratorium dengan suhu ruang 18-20°C semen yang diperoleh dari lima kali penampungan mempunyai kualitas semen yang cukup baik dengan rata-rata volume semen yang diperoleh adalah  $163,2 \pm 17,43$  mL.

Tabel 1. Karakteristik Semen Segar Babi Landrace

| Karakteristik semen              | Hasil pengamatan  |
|----------------------------------|-------------------|
| <b>Makroskopis</b>               |                   |
| Volume (mL)                      | $163,2 \pm 17,43$ |
| Warna                            | Putih susu        |
| Konsistensi/kekentalan           | Encer             |
| pH                               | $6,52 \pm 0,16$   |
| <b>Mikroskopis</b>               |                   |
| Motilitas (%)                    | $79 \pm 4,18$     |
| Konsentrasi ( $\times 10^6$ /mL) | $254,4 \pm 18,47$ |
| Viabilitas/Hidup (%)             | $92,57 \pm 4,50$  |
| Abnormalitas (%)                 | $4,09 \pm 0,88$   |

Hasil evaluasi semen segar ternak babi landrace secara makroskopis diperoleh volume semen sebanyak  $163,2 \pm 17,43$  mL, warna semen putih susu, konsistensi encer dengan pH  $6,52 \pm 0,16$ . Tabel 1. Rataan volume semen yang diperoleh dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Tamoës et al. (2014), yakni rata-rata volume semen babi landrace mencapai  $212 \pm 10,95$  mL, Sumardani et al, (2016) yakni volume  $218,4 \pm 2,75$  dan Feka et al. (2016), yakni memperoleh volume semen sebanyak 200 mL.

Warna semen yang diperoleh dalam penelitian ini adalah putih susu. Foeh et al. (2017), yang memperoleh warna semen babi putih keruh. Konsistensi/kekentalan semen segar pada penelitian ini termasuk dalam kategori encer, Kaka (2020) menyatakan bahwa konsistensi dan konsentrasi spermatozoa memiliki hubungan yang sangat erat. Artinya jika semen semakin encer maka konsentrasi spermatozoa semakin rendah dan warnanya semakin jernih. Sedangkan pH yang diperoleh dalam penelitian ini adalah  $6,52 \pm 0,16$  masih dalam kategori normal. Menurut Garner dan Hafez (2000), yakni berkisar antara 6,4-7,8. Faktor-faktor yang memengaruhi perbedaan warna, konsistensi dan pH semen ialah umur, tingkat, rangsangan, frekuensi ejakulasi, kualitas pakan dan lingkungan (Johnson et al., 2000).

Hasil evaluasi semen segar ternak babi landrace secara makroskopis diperoleh nilai motilitas  $79 \pm 4,18$ , konsentrasi  $254,4 \pm 18,47$ , viabilitas  $92,57 \pm 4,50$  abnormalitas  $4,09 \pm 0,88$ . Motilitas sangat penting untuk keberhasilan dari suatu perkawinan. Motilitas spermatozoa babi landrace pada penelitian ini adalah  $78,1 \pm 2,60\%$ . Hasil tersebut lebih tinggi dari hasil penelitian Sumardani (2007), yang melaporkan bahwa motilitas spermatozoa adalah 65,56%.

Nilai viabilitas pada penelitian ini  $92,57 \pm 4,50$  berbeda jauh dari hasil penelitian Foeh dan Gaina (2017) yang menyatakan motilitas dan viabilitas spermatozoa babi landrace 79,66% dan 80,04%. Presentasi spermatozoa hidup lebih tinggi dibandingkan yang motil disebabkan karena spermatozoa yang hidup tidak semuanya motil progresif

(Yusuf et al., 2017).

Konsentrasi spermatozoa 254,4±18,47 hasil tersebut berada dalam kondisi baik seperti hasil yang dilaporkan oleh Robert (2006) yakni 200-300x10<sup>6</sup>sel/mL. Beberapa faktor yang mempengaruhi konsentrasi spermatozoa antara lain jumlah ejakulat, interval penampungan, kondisi pejantan dan lingkungan (Johnson et al., 2000). Nilai abnormalitas spermatozoa dari hasil penelitian ini adalah 4,09±0,88.

### **Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas**

Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa mempunyai peranan penting dalam proses fertilisasi (Susilawati et al., 2003). Daya gerak spermatozoa sangat penting karena diperlukan untuk bergerak maju dalam saluran kelamin betina yang selanjutnya membuahi ovum. Motilitas spermatozoa sesudah pengenceran selalu digunakan sebagai acuan dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan karena motilitas mempunyai peranan yang penting untuk keberhasilan fertilisasi (Hafez dan Hafez, 2000). Kecepatan gerakan spermatozoa untuk masing-masing spesies berbeda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungan. Motilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa (%)

| Jam<br>pengamatan | Perlakuan(%)             |                          |                          |                         |                         | P-<br>Value |
|-------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------|
|                   | P0                       | P1                       | P2                       | P3                      | P4                      |             |
| 0                 | 79,00±4,18 <sup>a</sup>  | 79,00±4,18 <sup>a</sup>  | 79,00±4,18 <sup>a</sup>  | 79,00±4,18 <sup>a</sup> | 79,00±4,18 <sup>a</sup> | 1,00        |
| 8                 | 73,00±2,73 <sup>a</sup>  | 73,00±2,73 <sup>a</sup>  | 73,00±2,73 <sup>a</sup>  | 73,00±2,73 <sup>a</sup> | 73,00±2,73 <sup>a</sup> | 1,00        |
| 16                | 65,80±3,19 <sup>ab</sup> | 67,80±3,03 <sup>ab</sup> | 67,80±3,03 <sup>ab</sup> | 63,80±4,14 <sup>a</sup> | 68,60±2,19 <sup>b</sup> | 0,01        |
| 24                | 57,40±3,97 <sup>ab</sup> | 60,60±5,17 <sup>ab</sup> | 62,00±6,28 <sup>b</sup>  | 54,00±5,65 <sup>a</sup> | 62,40±2,60 <sup>b</sup> | 0,06        |
| 32                | 47,20±2,94 <sup>ab</sup> | 50,20±5,40 <sup>b</sup>  | 51,60±5,54 <sup>b</sup>  | 43,00±4,47 <sup>a</sup> | 52,20±4,71 <sup>b</sup> | 0,03        |
| 40                | 36,40±2,96 <sup>ab</sup> | 39,00±2,64 <sup>bc</sup> | 40,60±4,87 <sup>bc</sup> | 32,60±3,71 <sup>a</sup> | 43,20±3,03 <sup>c</sup> | 0,00        |
| 48                | 25,80±3,19 <sup>ab</sup> | 28,80±3,03 <sup>bc</sup> | 32,60±3,97 <sup>cd</sup> | 23,60±3,28 <sup>a</sup> | 35,40±2,19 <sup>d</sup> | 0,00        |

Keterangan : superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Data pada Tabel 2, menunjukkan bahwa hasil pengamatan pada jam ke-0 dan ke-8 setelah pengenceran semua perlakuannya sama, dengan persentase yaitu 79,00±4,18% dan 73,00±2,73%. Motilitas yang sama dikarenakan nutrisi yang digunakan sebagai sumber energi pada pengencer masih tersedia sehingga dapat digunakan spermatozoa untuk melakukan pergerakan (Ridwan, 2008).

Berdasarkan hasil analisis statistik motilitas pada jam ke-0 dan 8 untuk semua perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05). Pada jam ke-16 sampai 40 menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) antar perlakuan P0, P1, dan P2 namun pada perlakuan P3 dan P4 menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05).

Bertambahnya masa penyimpanan menyebabkan terjadinya penurunan persentase motilitas. Hal ini mungkin disebabkan oleh semakin berkurangnya energi yang terdapat dalam medium pengencer sehingga mengakibatkan jumlah spermatozoa yang tidak bergerak progresif semakin bertambah banyak. Secara umum, fenomena penurunan motilitas spermatozoa setelah penyimpanan yang lama lebih diakibatkan oleh menurunnya zat makanan spermatozoa dan pengaruh zat toksik hasil sampingan dari proses metabolisme spermatozoa.

Tamoes et al. (2014) menyatakan bahwa pengaruh utama dari kejutan dingin terhadap sel spermatozoa adalah penurunan motilitas dan daya hidup, perubahan permeabilitas dan perubahan komponen lipid pada membran. Suasana asam yang disebabkan oleh penimbunan asam laktat menyebabkan kerusakan organel-organelnya sehingga metabolisme sebagai upaya untuk memperoleh energi terganggu.

Berkurangnya metabolisme mengakibatkan berkurangnya energi yang dihasilkan dan akan menurunkan motilitas. Menurut Blegur et al. (2020), adanya asam laktat hasil proses metabolisme sel dapat bersifat racun terhadap spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian sperma.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini persentase motilitas 40% berada pada jam 40 perlakuan P4 dengan persentase  $43,20 \pm 3,03\%$  dan P2 persentase  $40,60 \pm 4,87\%$ . Perlakuan P4 merupakan bahan pengencer yang digunakan berupa SL 100% dan P2 merupakan kombinasi BTS 50%+SL 50%. Bahan pengencer ini mengandung antioksidan yang mampu mempertahankan membran spermatozoa dan melindungi kerusakan spermatozoa yang diakibatkan oleh radikal bebas. Pemberian ekstrak daun kelor yang tepat memberikan hasil yang maksimal untuk mencegah peroksidasi lipid pada membrane plasma spermatozoa dengan cara mencegah atau memutus reaksi rantai peroksidasi lipid pada membrane plasma spermatozoa, sehingga mampu mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma spermatozoa, penyangga untuk menjaga kestabilan pH pengencer dan kuning telur yang mengandung lipoprotein dan lesitin yang berfungsi melindungi spermatozoa dari cold shock dan juga menyumbangkan zat nutrisi bagi spermatozoa (Nugroho et al., 2014). Lipoprotein kuning telur terdiri atas 85% lemak dan 15% protein.

Hasil penelitian ini berbeda dari hasil penelitian Delviona (2016) yang menggunakan pengencer BTS dengan nilai persentase motilitas spermatozoa pada jam ke-48 sebesar  $44,67 \pm 2,66$  dan jam ke-96 sebesar  $14,50 \pm 5,50$ . Selanjutnya, penelitian Zhang et al. (2009) menggunakan suplementasi 6% (w/v) lesitin kedelai dalam pengencer BTS pada spermatozoa babi duroc mampu mempertahankan persentase motilitas sebesar 44% selama 48 jam penyimpanan.

#### **Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas**

Viabilitas spermatozoa adalah persentase spermatozoa hidup dalam sampel spermatozoa. Viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan cara meneteskan satu tetes spermatozoa ke atas gelas objek, lalu menambahkan satu tetes larutan eosin dan dicampur secara merata. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap larutan eosin sehingga kepalanya bening, sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap larutan eosin sehingga kepalanya berwarna merah. Pemeriksaan viabilitas sangat penting karena masih ada keterkaitan dengan motilitas spermatozoa. Persentase viabilitas umumnya lebih tinggi dari persentase motilitas karena tidak semua sperma hidup pasti motil progresif. Sebaliknya, sperma yang motil progresif pasti hidup.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa

| Jam pengamatan | Perlakuan(%)          |                       |                        |                    |                    | P-Value |
|----------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|---------|
|                | P0                    | P1                    | P2                     | P3                 | P4                 |         |
| 0              | $92,37 \pm 4,41^a$    | $92,33 \pm 4,69^a$    | $92,39 \pm 4,65^a$     | $92,37 \pm 4,41^a$ | $92,33 \pm 4,47^a$ | 1,00    |
| 8              | $84,27 \pm 4,16^a$    | $85,73 \pm 4,91^a$    | $85,10 \pm 4,83^a$     | $84,43 \pm 3,90^a$ | $86,09 \pm 4,58^a$ | 0,95    |
| 16             | $75,18 \pm 3,38^{ab}$ | $79,76 \pm 4,68^{bc}$ | $78,22 \pm 4,37^{abc}$ | $73,93 \pm 2,94^a$ | $81,01 \pm 3,57^c$ | 0,04    |
| 24             | $66,32 \pm 4,66^a$    | $71,39 \pm 5,92^{ab}$ | $70,73 \pm 7,09^{ab}$  | $63,71 \pm 5,50^a$ | $74,66 \pm 3,18^b$ | 0,03    |
| 32             | $56,81 \pm 4,27^{ab}$ | $60,19 \pm 6,60^b$    | $60,21 \pm 5,94^b$     | $52,01 \pm 4,31^a$ | $63,15 \pm 5,11^b$ | 0,03    |
| 40             | $46,14 \pm 3,42^b$    | $48,16 \pm 4,01^{bc}$ | $50,40 \pm 5,05^{bc}$  | $40,42 \pm 4,59^a$ | $53,84 \pm 3,87^c$ | 0,00    |
| 48             | $33,09 \pm 3,27^{ab}$ | $37,11 \pm 3,97^{bc}$ | $40,93 \pm 6,35^{cd}$  | $30,10 \pm 3,22^a$ | $45,66 \pm 2,47^d$ | 0,00    |

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa persentase viabilitas untuk semua perlakuan pada jam ke 0 dan 8 berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Pada pengamatan jam ke-16- 40 pada perlakuan P0, P1, P2 menunjukkan perbedaan nyata ( $P<0,05$ ) namun pada P3 dan P4 menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P>0,05$ ).

Persentase viabilitas tertinggi pada P4 setelah disimpan selama 40 jam yaitu  $53,84\pm3,87\%$ , diikuti P2 dengan rerata  $50,40\pm5,05\%$ , diikuti P1 dengan rerata  $48,16\pm4,01\%$ , P0 dengan rerata  $46,14\pm3,42\%$  dan P3 rerata  $40,42\pm4,59$ .

Penurunan persentase viabilitas disebabkan oleh kemampuan dari setiap pengencer yang berbeda dalam menyumbangkan zat-zat makanan yang dibutuhkan untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa dan mampu memperlambat penurunan derajat keasaman yang ditimbulkan karena adanya aktivitas metabolisme spermatozoa.

Kerusakan membran plasma dapat berpengaruh terhadap fungsi dan metabolisme, sehingga menyebabkan kematian spermatozoa. Pengamatan terhadap viabilitas spermatozoa dapat dijadikan indikator integritas struktur membran spermatozoa (Sukmawati et al., 2015).

Penurunan viabilitas spermatozoa juga dapat disebabkan oleh stres oksidatif yang dialami spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin. Menurut Hidayatullah (2007) viabilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kebutuhan akan nutrisi. Nutrisi akan digunakan oleh spermatozoa untuk dijadikan energi sehingga apabila kebutuhan nutrisi spermatozoa berkurang maka akan mengakibatkan viabilitas spermatozoa menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Utomo dan Sumaryati (2000) bahwa lama waktu penyimpanan sangat mempengaruhi kualitas spermatozoa, semakin lama waktu penyimpanan maka nutrisi yang terdapat dalam bahan pengencer pun akan semakin berkurang.

Nilai viabilitas berhubungan erat dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa, apabila nilai viabilitas tinggi maka kemampuan fertilitas akan tinggi. Persentase viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan P4 dengan persentase  $53,84\pm3,87\%$  dan P2 persentase  $50,40\pm5,05\%$ . Viabilitas penelitian ini jauh lebih baik jika dilihat dari lama penyimpanan dengan penelitian yang dilakukan oleh Foeh et al. (2019) pada babi landrace yang dapat bertahan hingga jam ke 28 (45%). Fafo et al. (2016) melaporkan pengenceran semen landrace dengan menggunakan bahan sitrat kuning telur dengan penambahan 5% ekstrak daun kelor mampu mempertahankan motilitas spermatozoa diatas 40% dengan viabilitasnya 63,62% selama 24 jam pada suhu 18-20°C.

### **Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas**

Abnormalitas spermatozoa dapat dibedakan menjadi abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder dan dapat ditemukan dengan membandingkan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa normal (Fitrik dan Supartini, 2012). Abnormalitas sekunder disebabkan karena perlakuan ketika pembuatan preparat ulas (Solihati dan Kune, 2009). Bentuk abnormalitas sekunder seperti ekor bergulung, leher patah, kepala dan leher putus. Selain itu, bentuk abnormalitas primer seperti kepala kecil (microcephalic) dan ekor berganda.

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa karena struktur seka yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi (Afiati et al., 2015). Bentuk abnormalitas spermatozoa meliputi kepala besar atau kepala kecil, kepala pendek, lebar, ekor ganda, bagian ekor yang melipat, selubung akrosom yang terlepas dari kepala tanpa adanya ekor, dan ekor yang terputus (Afiati et al., 2015). Abnormalitas spermatozoa terjadi selain karena faktor heriditer juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti penyakit yang

apabila menyerang organ reproduksi akan menyebabkan gangguan pada pertumbuhan dan perkembangan organ reproduksi terutama testis yang akan menyebabkan produksi spermatozoa didalam tubuli seminiferi tidak berlangsung secara sempurna.

Abnormalitas spermatozoa memegang peranan yang begitu penting karena ketidaknormalan spermatozoa berdampak pada syarat kualitas spermatozoa yang akan digunakan saat IB. Rerata persentase abnormalitas spermatozoa yang diperoleh pada masing - masing perlakuan ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa

| Jam<br>pengamatan | Perlakuan(<br>%        |                        |                        |                        |                        | P-<br>Value |
|-------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------|
|                   | P0                     | P1                     | P2                     | P3                     | P4                     |             |
| 0                 | 4,25±0,81 <sup>a</sup> | 4,16±0,73 <sup>a</sup> | 4,22±0,81 <sup>a</sup> | 4,15±0,75 <sup>a</sup> | 4,15±0,69 <sup>a</sup> | 0,99        |
| 8                 | 4,63±0,88 <sup>a</sup> | 4,55±0,86 <sup>a</sup> | 4,64±0,85 <sup>a</sup> | 4,60±0,76 <sup>a</sup> | 4,52±0,85 <sup>a</sup> | 0,99        |
| 16                | 5,19±0,84 <sup>a</sup> | 4,99±0,78 <sup>a</sup> | 5,04±0,83 <sup>a</sup> | 5,26±0,71 <sup>a</sup> | 5,11±0,74 <sup>a</sup> | 0,98        |
| 24                | 5,65±0,78 <sup>a</sup> | 5,37±0,77 <sup>a</sup> | 5,42±0,73 <sup>a</sup> | 5,40±0,70 <sup>a</sup> | 5,48±0,70 <sup>a</sup> | 0,97        |
| 32                | 6,16±0,99 <sup>a</sup> | 6,05±0,93 <sup>a</sup> | 6,01±1,07 <sup>a</sup> | 6,03±0,91 <sup>a</sup> | 5,89±0,92 <sup>a</sup> | 0,99        |
| 40                | 6,55±0,91 <sup>a</sup> | 6,60±1,01 <sup>a</sup> | 6,50±1,01 <sup>a</sup> | 6,62±1,07 <sup>a</sup> | 6,54±1,03 <sup>a</sup> | 1,00        |
| 48                | 7,22±1,57 <sup>a</sup> | 7,36±1,43 <sup>a</sup> | 7,54±1,11 <sup>a</sup> | 7,45±1,38 <sup>a</sup> | 7,19±1,38 <sup>a</sup> | 0,99        |

Keterangan : Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P>0,05$ ).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada jam ke-0 sampai ke-40 ada perbedaan tidak berpengaruh nyata ( $P0>0,05$ ) untuk setiap perlakuan. Persentase abnormalitas spermatozoa pada semua perlakuan mengalami kenaikan pada akhir pengamatan.

Suyadi et al. (2012) menyatakan bahwa peningkatan angka abnormalitas disebabkan tidak hanya pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan namun juga disebabkan oleh adanya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan kerusakan membran yang terjadi akibat adanya reaksi antara asam lemak tak jenuh dan juga radikal bebas. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan pada membran plasma pada bagian tengah/midpiece spermatozoa, pada bagian ini terdapat mitokondria yang terlibat dalam pembentukan energi, oksidasi asam lemak dan siklus krebs. Hal ini sesuai dengan pendapat Kamal et al. (2005) dan Arifiantini et al. (2006) terjadinya peningkatan abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh efek cekaman dingin (cold shock) dan ketidakseimbangan nutrisi.

Peningkatan abnormalitas terjadi pada perlakuan P3, P1, P0, P4 dan P2 pada jam ke-40 diduga karena semakin lama semen cair disimpan semakin berkurangnya ketersediaan makanan bagi spermatozoa dan terjadi ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama penyimpanan yang mempengaruhi perubahan fisik pada spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa juga dapat terjadi karena adanya pengaruh penurunan pH semen. Hal ini sesuai dengan pendapat Solihati et al. (2008) yang menyatakan bahwa, abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh kejutan suhu dingin yang menyebabkan ketidakseimbangan tekanan osmotik sebagai akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung.

#### **Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup**

Daya tahan hidup spermatozoa yang dimaksud adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap bertahan hidup dalam kurun waktu tertentu setelah penyimpanan in vitro (Hine et al., 2014).

Tabel 4 Pengaruh perlakuan terhadap daya tahan hidup

| Perlakuan | Daya tahan hidup (jam)   |
|-----------|--------------------------|
| P0        | 37,34±1,90 <sup>ab</sup> |
| P1        | 38,97±2,36 <sup>bc</sup> |
| P2        | 40,44±4,00 <sup>bc</sup> |
| P3        | 34,13±3,06 <sup>a</sup>  |
| P4        | 42,87±2,72 <sup>c</sup>  |
| P-Value   | 0,00                     |

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ )

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Perlakuan P4 memiliki daya tahan hidup yang lebih lama yakni, 42,87±2,72 jam kemudian (P2) 40,44±4,00 diikuti (P1) 38,97±2,36, (P0) 37,34±1,9 dan yang lebih rendah yaitu (P3) 34,13±3,06. Hal ini semakin memperkuat fakta bahwa begitu pentingnya pengencer dalam memperpanjang kehidupan spermatozoa in vitro.

Pengencer SL100% pada perlakuan P4 memiliki kemampuan yang tinggi dalam mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa dibandingkan dengan perlakuan P3. Rendahnya daya tahan hidup pada perlakuan P3 karena berkurangnya bahan penyangga dalam menjaga kestabilan pH serta kondisi spermatozoa tidak mendapat suplementasi nutrisi dan bahan pelindung terhadap kejutan dingin, maka spermatozoa akan cepat mengalami kematian oleh karena kehabisan substrat energi, energi yang digunakan hanya mengandalkan bahan-bahan yang terdapat dalam pengencer dan plasma semen.

Menurut Hsieh et al. (2006), bahwa fertilitas optimal dari spermatozoa dapat dipertahankan beberapa lama sesudah penampungan dengan cara menambahkan bahan pengencer yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa. Serta pemberian antioksidan yang tepat memberikan hasil yang maksimal untuk mencegah peroksida lipid pada membran plasma spermatozoa dengan cara mencegah atau memutuskan reaksi rantai peroksida lipid pada membran plasma spermatozoa, sehingga mampu mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma spermatozoa. Membran yang utuh akan menyebabkan proses metabolisme dapat berjalan dengan baik, sehingga energi yang dihasilkan maksimal

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa kombinasi bahwa kombinasi BTS 50%+SL 50%+EDK 1% (P2) dan SL-KT 100%+EDK 1% (P4) mampu mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace sampai 40 jam.

## Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penggunaan bahan pengencer bahwa kombinasi BTS 50%+SL 50%+EDK 1% (P2) dan SL-KT 100%+EDK 1% (P4) mampu mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace sampai 40 jam penyimpanan dalam keberhasilan inseminasi buatan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afiati F, Yulnawati, Riyadi M, Arifiantini RI. 2015. Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi penampungan berbeda. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia 1(4): 930-934.
- Arifiantini RI, Ferdian F. 2006. Tinjauan aspek morfologi dan morfometri spermatozoa kerbau rawa (*Bubalus Bubalis*) yang dikoleksi dengan teknik masase. Jurnal Veteriner

7(2): 83-91.

- Barek, M.E., Hine, T.M., Nalley, W.M., & Belli, H.L. 2020. Pengaruh Penambahan Sari Wortel Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Bligon. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), 109-117.
- Blegur J, Nalley WM, dan Hine TM. 2020. Pengaruh penambahan virgin coconut oil dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi bali selama preservasi. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2): 130–138.
- Djawapatty, D. J., H. L. L. Belli, dan T. M. Hine. 2018. Fertilitas in vitro dan in vivo Spermatozoa Babi Landrace pada Pengencer Sitrat- Kuning Telur yang disuplementasi Berbagai Level Fruktosa pada Penyimpanan Suhu 18°C. *Jurnal Sain Peternakan* 13 (1) : 43-54.
- Dube C, Beaulieu M, Reyes-Moreno C, Guilmette C, dan Bailey JL. 2004. Kapasitas penyimpanan sperma babi BTS dan androhep plus: viabilitas, motilitas dan kapasitansi dan fosforilasi tirosin. *Teriogenologi*, 62(5): 874- 886.
- Fafo M, Hine TM, Nalley WM. 2016. Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan* 3(2): 184-195.
- Feka W, Dethan A, Beyleto V. 2016. Pengaruh lama waktu penyimpanan terhadap viabilitas dan pH semen babi landrace yang diencerkan menggunakan bahan pengencer sitrat kuning telur. *Journal of Animal Science* 1(3): 34-35.
- Fitrik F, dan Supartini N. 2012. Pengaruh suhu dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa kambing peranakan etawa. *Buana Sains*, 12(1): 81-86..
- Foeh, N. D. F. K., dan C. D. Gaina. 2017. Sari Buah Lontar Sebagai Pengencer Alami Dalam Mempertahankan Kualitas Spermatozoa Babi. *Jurnal Kajian Veteriner* 5(1): 52-58.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In: Hafez B. Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins. Hlm. 96-109.
- Hidayaturrehman. 2007. Waktu motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio* L) pada beberapa konsentrasi larutan fruktosa. *Jurnal bioscientiae* 4(1): 9-18.
- Hine TM, Burhanuddin, Marawali A. 2014. Efektivitas air buah lontar dalam mempertahankan motilitas, viabilitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi bali. *Jurnal Veteriner* 15 (2) : 263-273.
- Hsieh Y.Y., Chang C.C and Lin C.S. 2006. Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *Int J Boil Sci*, 2:23-29
- Ismaya. 2014, *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press..
- Johnson LA, Weitze KF, FiserP, Maxwell WMC. 2000. Storage of Boar Semen. *J Anim Sci* 62: 143-172.
- Kaka A. 2020. Karakteristik dan daya fertilitas spermatozoa babi peranakan landrace. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 22(3): 277-283.
- Kamal A, Gubartallah, Ahmed A, Amel, Bakhiet O, Babiker A. 2005. Comparative studies on reproductif performance of nubian and saanen buck under the climatic conditions of khartoum. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 4(11) : 942-944.
- Nugroho Y, Susilawati T, dan Wahyuningsih S. 2014. Kualitas semen sapi limousin selama pendinginan menggunakan pengencer CEP-2 dengan penambahan berbagai konsentrasi kuning telur dan sari buah jambu biji. *Ternak tropika Journal of Tropical Animal Production*, 15(1): 31-42.
- Putra IWDP, Dharmayudha AAGO, Sudimartini LM. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus* 5(5): 464-473.
- Ridwan, 2008. Pengaruh Jenis Pengencer Semen Terhadap Motilitas Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Ayam Buras Pada Penyimpanan Suhu 5°C. *Jurnal Agroland*, 15(3):229:235

- Salisbury, G. W., & Vandemark, N. L. (1983). Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Alih Bahasa Djanuar R. Yogyakarta
- Solihati, N. dan P. Kune. 2009. Pengaruh Jenis Pengencer terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simental. Universitas Nusa Candana. Kupang
- Solihati, N., R. Idi., S.D. Rasad., M. Rizal., dan M. Fitriati. 2008. Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongole (PO) dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-5 °C. *Animal Production*, 10 (1): 22-29. ISSN: 1411- 2027.
- Sukmawati E, Arifiantini RI, and Purwantara B. 2015. Freezing Capacity of Sperm on Various Type of Superior Bulls. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 19(3):168–175. <https://doi.org/10.14334/jitv.v19i3.1079>
- Sumardani NLG. 2007. Viabilitas dan fertilitas spermatozoa dalam modifikasi pengencer BTS dan zorlesco dengan penyimpanan berbeda dalam rangkaian inseminasi buatan pada babi. Tesis Program Pasca Sarjana, IPB Bogor
- Sumardani, Suranjaya N, Manik I, dan Suberata I. 2016. Korelasi ukuran testis terhadap kualitas semen babi. Fakultas Peternakan Universitas Udayana Bali.
- Suyadi A, Rachmawati, Iswanto N. 2012. Pengaruh  $\alpha$ -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethane-kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 50 c. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan* 22(3):1-8.
- Tamoes JA, Nalley WM, Hine TM. 2014. Fertilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai. *J Sains Peternakan* 12(1): 20-3.
- Utomo, S., dan Sumaryati. 2000. Pengaruh Suhu Penyimpanan 50 C Terhadap Sperma Kambing dan Domba Dengan Pengencer Susu Skim. *Buletin Pertanian dan Peternakan*, 8 (2):70-79.
- Yusuf, T. L., R. I. Arifiantini, R. R. Dapawole, dan W. M. Nalley. 2017. Kualitas Semen Beku dalam Pengencer Komersial yang Disuplrmrntasi Dengan Trehalosa. *Jurnal Veterriner* 18 (1) : 69-75.
- Zhou, J.B., Yuek K.Z., Luo M.J., Chang Z.L., Liang H., Wang Z., Tan J.H. 2004, Effect of extender and temperatures on sperm viability and fertility capacity of harbin white boar semen during long- term liquid storage. *J Asian-Aus Anim. Sci.*17(11): 1501-1508.