

PRESERVASI SPERMATOZOA BABI LANDRACE DALAM TIGA JENIS PENGECER MODIFIKASI

Preservation of Landrace Pig Spermatozoa in Three Types of Modified Diluents

¹⁾Mardan Laes Papituan, ²⁾Wilmientje Marlene Nalley, ³⁾Thomas Mata Hine

¹⁾ Program Magister Ilmu Peternakan, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan
Universitas Nusa Cendana, Jl. Adisucipto, Penfui Kupang, Indonesia

Corresponding author: mardanlae@gmail.com

Submitted 15 Maret 2024, Accepted 27 Mei 2024

ABSTRAK

Pengenceran semen memiliki dua fungsi utama yaitu untuk memperpanjang masa simpan dan memperbesar volume semen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan penambahan ekstrak daun kelor (EDK) 5% dalam pengencer tris- kuning telur (T-KT), sitrat-kuning telur (S-KT) dan *beltsville thawing solution*[®]-kuning telur (BTS[®] -KT) terhadap kualitas semen babi landrace selama penyimpanan. Semen babi diambil seminggu sekali menggunakan metode masase dari satu ekor babi jantan berumur 2 tahun dengan kondisi sehat dan organ reproduksi yang normal. Semen yang berkualitas baik dibagi dan diencerkan dengan pengencer perlakuan yaitu : P1: T-KT – 5% EDK , P2: S-KT – 5% EDK dan P3: BTS[®] -KT – 5% EDK. Kemudian pengenceran semen disimpan dalam syrofoam pada suhu 18-22° C dan dievaluasi setiap 8 jam meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas serta membran plasma utuh (MPU). Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap yang terdiri atas tiga perlakuan dan lima ulangan. Data yang telah diperoleh dianalisis dengan uji anova, apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengencer S-KT modifikasi (P2) mempunyai kualitas yang lebih baik ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu selama 40 jam dengan motilitas ($45,40 \pm 4,15$ %), viabilitas ($56,66 \pm 1,32$) dan MPU ($55,44 \pm 5,18$ %). Kesimpulan dari hasil penelitian ini yaitu pengenceran modifikasi terbaik adalah pengencer S- KT dengan penambahan EDK 5 % (P2).

Kata kunci: Tris-kuning telur; sitrat-kuning telur; *beltsville thawing solution*[®]-kuning telur; ekstrak daun kelor; kualitas semen.

How to cite : Papituan, M. L., Nalley, W. M., & Hine, T. M. (2024). Preservasi Spermatozoa Babi Landrace Dalam Tiga Jenis Pengencer Modifikasi. TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production Vol 25, No 1 (1-13)

ABSTRACT

Semen dilution has two main functions: to extend the shelf life and to increase the volume of semen. This study aims to determine the comparison of the addition of moringa leaf extract (MLE) 5% in the diluent tris-egg yolk (T-EY), citrate-egg yolk (C-EY) and beltsville thawing solution®-egg yolk (BTS® -EY) on the quality of landrace semen during storage. Semen was collected once a week using the mash method from two 2-year-old boar with healthy condition and normal reproductive organs. Semen of good quality was divided and diluted with treatment diluents namely: T1: T-EY- 5% MLE, T2: C-EY- 5% MLE and T3: BTS®-EY - 5% MLE. Then the semen dilution was stored in syrofoam at 18-22° C and evaluated every 8 hours including motility, viability, abnormality and intact plasma membrane (IPM). The design used was a completely randomized design consisting of three treatments and five replicates. The data obtained were analyzed by anova test, if there was a significant difference between treatments then continued with duncan test. The results showed that the modified T-EY diluent (T2) had better quality ($P < 0.05$) than the other treatments for 40 hours with motility ($45.40 \pm 4.15\%$), viability (56.66 ± 1.32) and IPM ($55.44 \pm 5.18\%$). The conclusion from the results of this study is that the best modified dilution is the S- EY diluent with the addition of MLE 5%.

Keywords: *Tris- egg yolk; citrate- egg yolk; beltsville thawing solution®- egg yolk; moringa leaf extract; semen quality.*

PENDAHULUAN

Semen segar pada ternak babi tidak dapat bertahan lebih lama, hal ini dikarenakan membran plama semen babi mengandung *phosphatidylethanolamine* (24%) dan *sphingomyelin* (14%) yang sangat tinggi (Zou dan Yang, 2000) dibanding ternak lainnya. Hal ini yang menyebabkan semen babi sangat sensitif terhadap proses penyimpanan pada suhu dingin. Selama proses penyimpanan, terjadi perubahan suhu dan tekanan osmotik yang ekstrim dapat merusak komposisi lipid membran plasma sehingga berdampak pada penurunan motilitas spermatozoa (Waluwanja *et al.*, 2019).

Oleh karena itu perlu dilakukannya pengenceran semen sehingga mampu melindungi membran spermatozoa, menambah lama daya simpan dan memperbesar volume semen yang dapat diinseminasikan ke lebih banyak induk babi. Pengencer yang sering digunakan dalam pengenceran semen babi adalah *Beltsville Thawing Solution*® (BTS®), Tris-kuning telur dan Sitrat-kuning telur. Dalam pengencer ini mengandung penyangga yang dapat menjaga kestabilan pH dalam

pengencer. Penambahan kuning telur dalam pengencer berfungsi sebagai sumber energi dan lipoprotein yang dapat memberikan perlindungan terhadap spermatozoa dalam proses penyimpanan pada suhu dingin (Nalley dan Arifiantini, 2011).

Dalam pengencer juga perlu ditambahkan bahan yang mengandung antioksidan sehingga dapat melindungi spermatozoa dari serangan radikal bebas yang berlebihan atau yang sering juga disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS). Salah satu bahan yang mengandung antioksidan yaitu daun kelor. Daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung antioksidan yaitu kelompok *flavonoid* seperti *quercetin*, *kaempferol* dan *proanthocyanidin* (Rahmahani *et al.*, 2013). Hasil penelitian yang dilakukan Fafu *et al.* (2016) menggunakan pengencer Sitrat-kuning telur dengan penambahan ekstrak daun kelor 5% sebagai sumber antioksidan mampu mempertahankan kualitas semen segar selama 24 jam dengan motilitas 42 % dan viabilitas 63,62 % lebih lama dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan sumber antioksidan. Penelitian mengenai perbandingan lama penyimpanan semen

babi dalam berbagai pengencer dengan penambahan antioksidan belum banyak dilaporkan. Oleh sebab itu, penelitian mengenai perbandingan berbagai pengencer modifikasi dalam mempertahankan kualitas semen babi perlu dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan pengencer semen babi yang dapat mempertahankan kualitas semen dalam waktu lebih lama.

MATERI DAN METODE

Pembuatan Bahan Pengencer

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan pengencer penelitian adalah Satu paket alat pengencer semen terdiri dari: tabung *erlenmeyer*, gelas ukur, pipet, kertas saring, pinset, kapas, spoit, baskom *stainless*, *stirrer*, timbangan, spatula, *aluminium foil* dan *spin bar*. Bahan yang digunakan sebagai pengencer semen dalam penelitian ini antara lain: alkohol 70%, aquades, kuning telur ayam, kertas saring, ekstrak daun kelor, pengencer tris, sitrat, BTS[®] dan antibiotik (*penicilin* dan *streptomycin*).

Pembuatan larutan penyangga tris yaitu timbang 3,634 gr Tris, 0,5 gr fruktosa dan asam sitrat 1,99g kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades pada gelas *erlenmeyer* lalu dicampur hingga homogen menggunakan *stirrer*. Pembuatan larutan penyangga sitrat yaitu timbang 2,9 gram Sitrat lalu dilarutkan dalam 100 ml aquades pada gelas *erlenmeyer* lalu dicampur hingga homogen. Pembuatan larutan penyangga BTS[®] yaitu timbang 25 % dari 1 kemasan BTS[®] kemudian dilarutkan dalam 250 ml aquades pada gelas *erlenmeyer* lalu dicampur hingga homogen.

Menyiapkan kuning telur yaitu telur ayam yang baik kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi dengan alkohol 70%. Pecahkan kulit telur dibagian lancipnya kemudian tuangkan semua putih telur dan pisahkan dari kuning telur. Setelah itu pisahkan sisa putih telur dengan kuning telur yang masih terbungkus oleh membrane viteline, dengan menempatkan pada kertas saring agar semua putih telur terserap habis. Pecahkan selaput vitelinnya, kemudian

tuangkan kuning telur kedalam gelas ukur dan siap digunakan sesuai yang di butuhkan.

Pembuatan ekstrak daun kelor yaitu memilih daun kelor yang baik, bentuknya masih utuh dan warnanya hijau, kemudian dikeringkan dalam suhu ruangan. Daun kelor yang telah kering kemudian diblender hingga menjadi tepung dan disimpan dalam toples. Timbang 260 gram tepung daun kelor dan dimaserasi dengan 1 liter etanol 70% selama 24 jam. Setelah 24 jam maserat disaring dan ditampung filtratnya. Filtrate yang diperoleh dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C sampai diperoleh ekstrak semi solid.

Pembuatan pengencer perlakuan yaitu; P1(80% tris dan 20% kuning telur selanjutnya tambahkan antibiotik, dihomogenkan kemudian ditambahkan 5% EDK), P2 (80% sitrat dan 20% kuning telur selanjutnya tambahkan antibiotik, homogenkan kemudian ditambahkan 5% EDK) dan P3 (100% BTS[®] dan 10% kuning telur yang dihomogenkan menggunakan *stirrer*, kemudian ditambahkan 5% EDK).

Penampungan Semen

Penelitian menggunakan semen segar yang diperoleh dari ternak 1 ekor babi pejantan yang telah terlatih untuk ditampung berumur 1-2 tahun, berada dalam kondisi sehat dan mempunyai organ reproduksi normal. Penampungan semen ternak babi menggunakan metode *massage* yaitu pejantan menaiki betina buatan (*dumy*). Penampungan menggunakan satu set alat penampungan semen yaitu tabung penampungan dan kain kasa sebagai penyaring untuk memisahkan semen dan gelatin.

Penyimpanan dan Evaluasi semen

Alat-alat yang digunakan dalam evaluasi semen adalah satu paket peralatan evaluasi semen terdiri dari: mikroskop, *object glass*, *cover glass*, *heating table*, kertas pH, *hemacyometer*, pipet, *epen doff*, tabung berskala, sterefoam, termometer dan *conthing chamber* lengkap dengan pipet eritrosit. Semen yang diencerkan disimpan dalam syrofoam yang diberi es batu dengan suhu 18-20° C dikontrol dengan termometer

dan melakukan evaluasi setiap 8 jam. Semen segar yang telah ditampung dievaluasi secara makroskopis (volume, pH, konsistensi, dan warna) dan mikroskopis (konsentrasi, motilitas, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh), sedangkan evaluasi pasca pengenceran meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap yang terdiri dari tiga perlakuan dan lima ulangan sehingga terbentuk lima belas unit percobaan. Data

yang diperoleh dianalisis dengan rancangan *analysis of variance* (Anova), dan dilanjutkan dengan uji lanjut *duncan* jika terdapat perbedaan yang nyata. Seluruh data dianalisis menggunakan software SPSS 26.0 *for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Kualitas Semen Segar

Pemeriksaan semen segar bertujuan untuk menguji layaknya semen segar yang akan digunakan dalam proses pengenceran. Hasil pemeriksaan kualitas semen segar penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik semen segar babi landrace

Karakteristik semen	Rerata ± standar deviasi
Makroskopis	
Volume (mL)	155.2± 16.21
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Encer
pH	6.58± 0.16
Mikroskopis	
Konsentrasi (x 10 ⁶ sel/mL)	260.60± 14.89
Motilitas (%)	79.00± 4.18
Viabilitas (%)	91.59± 2.93
Abnormalitas (%)	4.09± 0.55
MPU (%)	91.01±2.31

Karakteristik semen segar secara makroskopis yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian dengan hasil penelitian Garner dan Hafez (2000) yaitu volume semen babi tanpa gelatin berkisar 150-200 ml, namun agak berbeda dengan hasil penelitian yang diperoleh Lawa *et al.* (2021) ; Feka *et al.*, (2016) yaitu berkisar antara 200-220 mL. Derajat keasaman (pH) pada penelitian ini yaitu 6,58 dan masih dalam kisaran yang sama dengan penelitian Tosi *et al.*, (2021); Tamoës *et al.*, (2014) yaitu berkisar 6,4-6,64 namun sedikit berbeda dengan penelitian Priharyanthi *et al.* (2021) yaitu berkisar 7,4. Tinggi rendahnya pH dipengaruhi oleh umur, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulasi, lingkungan, dan kualitas pakan (Tamoës *et al.*, 2014).

Warna semen yang diperoleh yaitu putih susu, dengan konsistensi encer, hasil

ini sama dengan yang diperoleh (Lawa *et al.*, 2021; Ndeti *et al.*, 2015; Priharyanthi *et al.*, 2021; Tosi *et al.*, 2021). Menurut Ax *et al.* (2000).

Faktor-faktor yang mempengaruhi volume dan konsentrasi spermatozoa adalah umur, pakan, lingkungan, musim, prosedur penampungan semen, frekuensi penampungan, perbedaan bangsa, dan kesehatan reproduksi pejantan. Lawa *et al.*, (2021) mengemukakan bahwa karakteristik semen segar secara makroskopis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kualitas pakan yang diberikan, umur dari pejantan yang digunakan, frekuensi ejakulasi dan tingkat stimulasi selama proses penampungan. Hasil pemeriksaan semen segar secara mikroskopis diperoleh persentase motilitas spermatozoa 79,00%, viabilitas 91,59%, keutuhan membran plasma 91,01%, abnormalitas 4,09%; dan

nilai konsentrasi 260×10^6 sel/mL. Menurut BSN, (2017) semen segar dibekukan harus memiliki kualitas yang baik yaitu motilitas spermatozoa lebih dari 70%. Toelihere, (1993) dan Sumardani *et al.* (2008) menyatakan semen segar babi yang layak digunakan untuk IB harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu viabilitas diatas 80%, motilitas berada diatas 70%, dan abnormal dibawah 20%, sehingga semen

segar babi landrace yang digunakan dalam penelitian layak digunakan dan dapat diproses untuk IB.

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan setiap delapan jam hingga kualitas spermatozoa 40% (BSN, 2017). Motilitas sperma masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Motilitas spermatozoa (%) dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Jam ke-	Perlakuan		
	P1	P2	P3
0	79.00±4.18	79.00±4.18	79.00±4.18
8	73.00±2.74	73.60±3.50	73.00±2.74
16	65.00±3.00 ^{ab}	68.40±3.13 ^a	65.60±3.29 ^b
24	56.80±2.80 ^b	62.20±1.79 ^a	56.80±1.30 ^b
32	47.60±3.21 ^b	54.00±3.16 ^a	49.80±4.23 ^b
40	38.00±5.29 ^b	45.40±4.15 ^a	38.80±4.15 ^b
48	27.80±5.93 ^b	36.80±2.17 ^a	29.00±5.05 ^b

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

Penurunan motilitas spermatozoa mulai terjadi pada jam ke-8 penyimpanan dengan rata-rata penurunan dari yang terkecil hingga terbesar secara berturut yaitu P2 sebesar 7,03%, P1 sebesar 8,3% dan P3 sebesar 8,5%. Hasil analisis statistik terhadap motilitas spermatozoa menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) mulai dari jam ke 16 hingga jam ke-40 penyimpanan dengan nilai terbaik pada P2. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan P2 yaitu pengencer Sitrat-kuning telur modifikasi menghasilkan motilitas spermatozoa lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Motilitas spermatozoa merupakan kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif sehingga dapat melewati saluran reproduksi babi betina menuju ke tempat ampula tuba Fallopi untuk membuahi sel telur. Tujuan akhir dari pengenceran semen adalah untuk kegiatan inseminasi, oleh karena itu motilitas spermatozoa menjadi patokan yang harus diperhitungkan. Pada tabel diatas terlihat adanya penurunan motilitas di setiap perlakuan seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh semakin

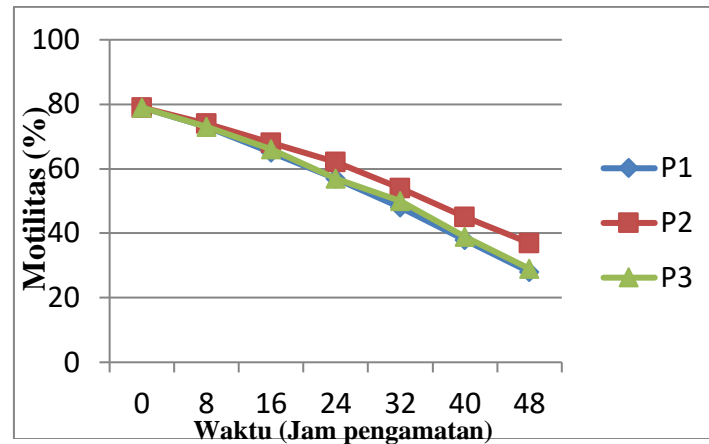
berkurangnya sumber energi yang terdapat dalam pengencer sehingga mengakibatkan jumlah spermatozoa yang bergerak progresif semakin berkurang dan pengaruh zat toksik hasil sampingan dari proses metabolisme spermatozoa.

Semen yang disimpan lama akan meningkatkan kadar ROS, kadar ROS yang tinggi mengakibatkan munculnya stress oksidatif yang dapat memengaruhi metabolisme energi karena dapat merusak membran plasma spermatozoa yang mengakibatkan rusaknya organel dalam sel spermatozoa, salah satu organel yaitu mitokondria yang berfungsi memproduksi *Adenosine Triphosphate* (ATP) yang dihasilkan saat respirasi sel (Priharyanthi *et al.*, 2021).

Tamoes *et al.* (2014) menambahkan bahwa kejutan dingin terhadap sel spermatozoa juga menurunkan motilitas dan daya hidupnya, terjadi perubahan permeabilitas dan komponen lipid pada membran. Suasana asam yang disebabkan oleh peningkatan asam laktat mengakibatkan kerusakan organel-organelnya sehingga proses metabolisme terganggu, kurangnya metabolisme dalam

sel mengakibatkan berkurangnya energi pada spermatozoa yang membuat motilitas

spermatozoa menjadi menurun (Fafu *et al.*, 2016).



Gambar 1. Penurunan persentase motilitas (%) spermatozoa babi landrace dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Hasil yang didapatkan berbeda dengan penelitian Fafu *et al.* (2016) menggunakan sitrat kuning telur dan ekstrak daun kelor 5% dapat mempertahankan motilitas spermatozoa babi landrace berkisar 42,00% selama 24 jam. Hal ini kemungkinan dapat terjadi karena terjadi perubahan suhu pada tempat penyimpanan semen saat dilakukan evaluasi, penelitian yang dilakukan Fafu *et al.* (2016) evaluasi dilakukan setiap 4 jam sehingga terjadi pertukaran udara dari luar kedalam tempat penyimpanan yang kemungkinan besar dapat mempengaruhi kestabilan suhu penyimpanan.

Hasil ini juga lebih tinggi dibandingkan dengan laporan Mere *et al.* (2019) dengan motilitas spermatozoa babi landrace 48,33% selama 8 jam dengan pengencer air kelapa pada suhu 32°C. Perbedaan hasil yang diperoleh dari penelitian Mere *et al.* (2019) karena hanya menggunakan air kelapa sebagai pengencer tanpa penambahan kuning telur. Kuning telur memiliki peran besar dalam mempertahankan kualitas spermatozoa. Dalam kuning telur mengandung substansi protektif yaitu lipoprotein dan lesitin yang berfungsi sebagai pelindung dan juga mampu mempertahankan integritas lipoprotein penyusun membran spermatozoa. Pemberian ekstrak daun kelor

dengan dosis yang tepat juga memberikan hasil yang maksimal dalam mencegah peroksidasi lipid pada membrane plasma spermatozoa yaitu dengan memutus reaksi rantai peroksidasi lipid pada membrane plasma spermatozoa, sehingga mampu mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma spermatozoa sehingga tidak terjadi reaksi berantai. Kurniasih, (2013) menyatakan bahwa daun kelor kaya akan nutrisi, dengan kandungan antioksidan berjumlah 46 jenis.

Daun kelor mengandung makronutrien maupun mikronutrien serta mengandung β -karoten, protein, vitamin C, kalsium, dan kalium; yang berfungsi sebagai sumber antioksidan alami. Makronutrien dan mikronutrien tersebut bermanfaat dalam mempertahankan motilitas spermatozoa (Johnson *et al.*, 2000). Antioksidan sebagai senyawa yang dapat memperlambat dan mencegah terjadinya reaksi outoksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Shui *et al.*, 2004). Dari hasil penelitian, motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa spermatozoa dalam pengencer S-KT modifikasi merupakan kombinasi terbaik dibanding dengan pelakuan lainnya. Jika dilihat dari komposisi bahan pengencer, pengencer T-KT dan BTS[®]-KT memiliki komposisi nutrisi yang lebih lengkap

dibanding pengencer S-KT. Misalnya pada pengencer T-KT mengandung fruktosa, Tris, asam sitrat dan kuning telur (Lawa *et al.*, 2021), sedangkan pengencer S-KT hanya mengandung natrium sitrat dan kuning telur (Ndeti *et al.*, 2015), kemungkinan penggunaan EDK 5% pada pengencer T-KT dan BTS[®]-KT bukan dosis yang baik untuk kedua pengencer sehingga menurunkan kuliass pengencer. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis EDK yang baik untuk pengencer T-KT dan BTS[®]-KT. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pengencer S-KT modifikasi dapat digunakan untuk inseminasi pada babi

dengan menggunakan semen cair sampai penyimpanan maksimal 40 jam sedangkan pengencer T-KT modifikasi dan BTS[®]-KT modifikasi maksimal 32 jam penyimpanan. Persentase motilitas spermatozoa yang dapat digunakan untuk IB yaitu memiliki motilitas diatas 40% (BSN. 2017).

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Pada saat penyimpanan viabilitas spermatozoa mengalami penurunan, pada tabel 3 dapat terlihat bahwa setiap perlakuan mengalami penurunan viabilitas spermatozoa yang berbeda pasca pengenceran. Persentase viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Viabilitas spermatozoa (%) dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Jam ke-	Perlakuan		
	P1	P2	P3
0	91.65±2.79	91.72±2.78	91.51±2.27
8	84.20±2.90	85.43±2.93	84.36±2.66
16	75.62±2.31 ^b	79.94±1.96 ^a	74.49±2.87 ^b
24	66.58±2.92 ^b	73.37±1.07 ^a	67.60±5.37 ^b
32	57.17±3.41 ^b	64.28±2.44 ^a	58.93±3.83 ^b
40	48.78±3.80 ^b	56.66±1.32 ^a	48.01±4.99 ^b
48	36.38±6.21 ^b	45.81±3.25 ^a	37.38±5.53 ^b

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

Berdasarkan hasil pengamatan, viabilitas spermatozoa tertinggi setelah disimpan selama 40 jam dihasilkan oleh perlakuan P2 yaitu 56,66%, P1 48,78% dan P3 48.01%. Pada jam ke-0 penyimpanan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05) antara perlakuan. Namun sejak jam ke-16, viabilitas spermatozoa pada perlakuan P2 berbeda nyata (P<0,05) terhadap perlakuan lainnya.

Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan menggunakan pewarnaan diferensial. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa penting dilakukan karena berhubungan dengan motilitas spermatozoa. Spermatozoa yang hidup memiliki kepala berwarna transparan karena tidak menyerap zat warna sedangkan yang mati berwarna merah. Hal ini disebabkan pewarnaan diferensial berupa eosin-negrosin akan masuk kedalam sel spermatozoa melalui

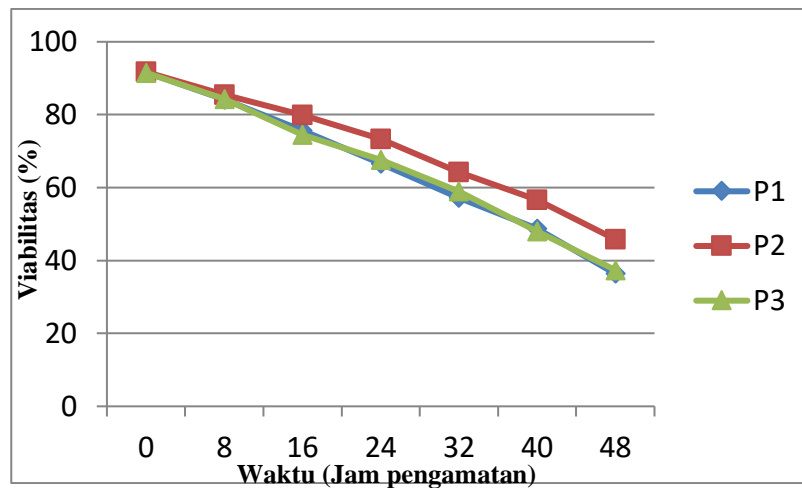
membrane plasma spermatozoa. Dalam perbandingan dengan motilitas, viabilitas spermatozoa yang ditampilkan pada Tabel 2 lebih tinggi dari motilitas. Hal ini sejalan dengan yang dinyatakan oleh Kostaman dan Suatama, (2006) bahwa spermatozoa yang hidup selalu lebih banyak daripada spermatozoa motil karena spermatozoa motil sudah pasti hidup, tetapi spermatozoa yang hidup belum tentu motil.

Data pada Tabel 3, terlihat bahwa setiap perlakuan mengalami penurunan viabilitas spermatozoa yang berbeda pasca pengenceran. Hal ini mungkin 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

(Fafu *et al.*, 2016). Penyebab lainnya terjadi penurunan viabilitas spermatozoa adalah terjadinya penurunan derajat keasaman. Derajat keasaman sangat memengaruhi kehidupan spermatozoa di dalam pengenceran semen. Tinggi ataupun rendah pH semen dari keadaan normal akan

membuat penurunan performa spermatozoa sehingga lebih cepat mati.

Perubahan pH menjadi asam terjadi karena penimbunan asam laktat yang merupakan hasil dari proses metabolisme spermatozoa secara anaerob (Simmons *et al.*, 2004).



Gambar 2. Penurunan persentase viabilitas (%) spermatozoa babi landrace dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Saat proses penyimpanan spermatozoa mengalami peningkatan nilai abnormalitas. Persentase nilai abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 4. Pada Tabel 4, rataan persentase abnormalitas spermatozoa pada semua perlakuan mengalami kenaikan pada akhir pengamatan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan ($P > 0,05$) abnormalitas spermatozoa antara perlakuan. (Suyadi dan Iswanto, 2012) menyatakan bahwa meningkatnya nilai abnormalitas disebabkan bukan hanya pada saat pembuatan preparat ulas sebelum dilakukan pengamatan namun juga disebabkan oleh adanya proses peroksidasi lipid.

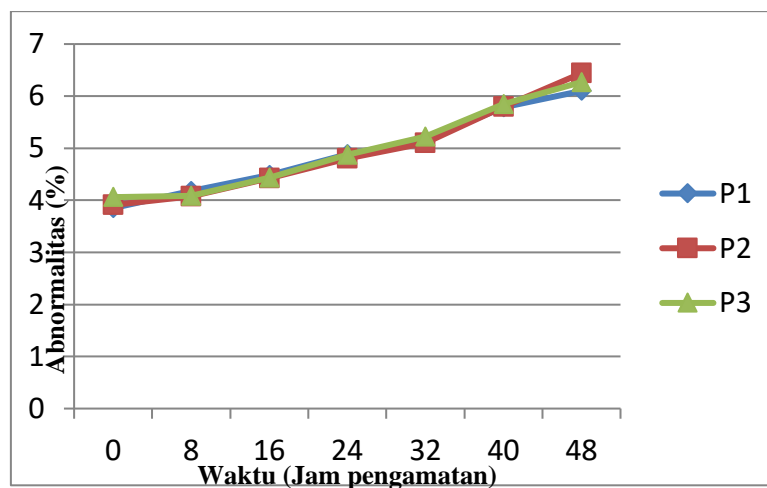
Peroksidasi lipid merupakan kerusakan membran yang terjadi akibat adanya reaksi antara asam lemak tak jenuh dan juga radikal bebas. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan rusaknya membran plasma spermatozoa pada bagian tengah/*midpiece*, bagian ini terdapat

mitokondria yang terlibat dalam pembentukan energi, oksidasi asam lemak dan siklus krebs (Wilandari *et al.*, 2013). Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan fisik dari spermatozoa yang terjadi karena pada saat proses pembentukan spermatozoa dalam tubuli seminiferi maupun karena proses perjalanan spermatozoa melalui saluran-saluran organ kelamin jantan (Bonet *et al.*, 1993). 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 di dalam tubuli seminiferi tidak berlangsung secara sempurna. Abnormalitas spermatozoa pada penelitian ini lebih banyak pada abnormalitas sekunder, seperti ekor patah atau putus. Abnormalitas sekunder kemungkinan disebabkan karena kesalahan dalam preparasi atau ejakulasi dan saat melakukan ulasan pada preparat.

Tabel 4. Abnormalitas spermatozoa (%) dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Jam ke-	Perlakuan		
	P1	P2	P3
0	3.85±0.59	3.91±0.4	4.06±0.56
8	4.18±0.59	4.07±0.49	4.09±0.38
16	4.48±0.07	4.42±0.62	4.43±0.47
24	4.88±0.54	4.80±0.51	4.87±0.46
32	5.16±0.52	5.10±0.49	5.22±0.50
40	5.79±0.50	5.80±0.32	5.85±0.48
48	6.10±1.33	6.44±0.22	6.27±0.67

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



Gambar 3. Persentase abnormalitas (%) spermatozoa babi landrace dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Pengaruh Perlakuan terhadap Membran Plasma Utuh Spermatozoa

Data hasil pengamatan membran plasma utuh spermatozoa babi landrace dalam tiga jenis pengencer modifikasi disajikan pada Tabel 5. Data hasil analisis pada Tabel 5 menunjukkan bahwa perlakuan P2 menghasilkan sperma dengan persentase MPU tertinggi dibanding perlakuan lainnya. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada awal penyimpanan tidak ada perbedaan MPU ($P > 0,05$) antara perlakuan P1, P2 dan P3. Namun setelah penyimpan jam ke-24 ketiga perlakuan tersebut mengalami perubahan yaitu P2 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P1 dan P3. Hal ini menggambarkan bahwa pengencer S-KT modifikasi lebih optimal dalam melindungi membran plasma sperma daripada perlakuan lainnya. Membran plasma utuh (MPU) mutlak harus dimiliki oleh spermatozoa supaya terjamin

kelangsungan hidupnya dan tercapai keberhasilan saat proses fertilisasi. Selain berfungsi untuk melindungi organel-organel yang berada di dalam sel, membran plasma berfungsi juga untuk mengatur keluar masuknya zat-zat makanan serta keseimbangan elektrolit intra maupun ekstraseluler (Marlize *et al.*, 2021). Spermatozoa yang memiliki MPU, setelah dipapar dengan larutan hiposmotik menggunakan metode hypoosmotik swelling test (HOS-Test) ditandai dengan ekor melingkar atau menggebu.

Hal ini dapat terjadi karena medium yang masuk ke dalam sel dipertahankan oleh membran plasma yang utuh tersebut, sebaliknya jika membran plasma sudah tidak utuh akan ditandai dengan ekor spermatozoa tetap lurus bila dipaparkan dalam larutan hiposmotik (Fafu *et al.*, 2016). Tingginya persentase MPU

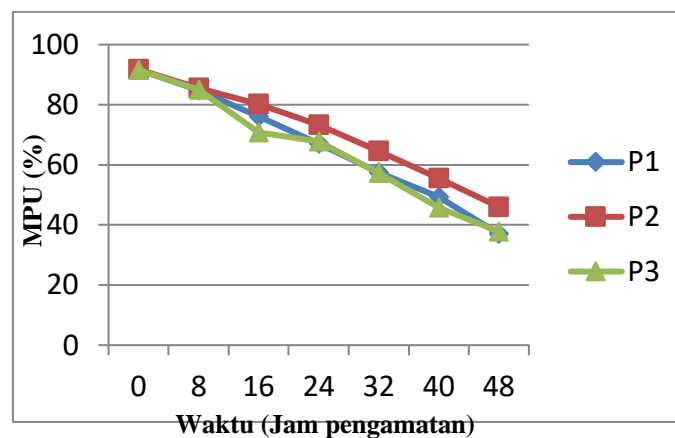
spermatozoa pada pengencer S-KT modifikasi menunjukkan keefektifannya dalam menghambat terjadinya peroksidasi

lipid pada membran spermatozoa. Penurunan persentase MPU dapat dilihat pada Gambar 4.

Tabel 5. Persentase MPU (%) spermatozoa dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Jam ke-	Perlakuan		
	P1	P2	P3
0	91.66±2.87 ^a	91.77±2.85 ^a	91.59±2.52 ^a
8	84.74±2.65 ^a	85.45±3.04 ^a	84.95±2.63 ^a
16	76.14±2.23 ^a	80.24±1.68 ^a	70.72±3.01 ^a
24	67.00±2.94 ^b	73.20±1.46 ^a	67.84±5.40 ^b
32	57.49±3.42 ^b	64.62±2.70 ^a	57.32±3.45 ^b
40	49.26±3.98 ^{ab}	55.44±5.18 ^a	45.76±5.05 ^b
48	37.05±6.03 ^b	46.01±3.30 ^a	37.78±5.35 ^b

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



Gambar 4. Penurunan persentase MPU spermatozoa babi landrace dalam tiga jenis pengencer modifikasi

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa Persentase MPU dalam pengencer S-KT modifikasi merupakan kombinasi terbaik dibanding dengan pelakuan lainnya, kemungkinan karena adanya penambahan EDK 5% dalam pengencer T-KT dan BTS[®]-KT mengakibatkan tekanan osmotik pada kedua pengencer meningkat sehingga mengganggu keutuhan membran plasma. Menurut Maulida, (2014) meningkatnya tekanan osmotik atau hipertonik dalam pengencer dapat mengganggu permeabilitas membran plasma spermatozoa menjadi menurun dan terjadinya perpindahan cairan dari dalam sel spermatozoa menuju keluar tubuh spermatozoa, hal ini menyebabkan persentase kematian spermatozoa menjadi meningkat. Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran

plasma akan berpengaruh terhadap proses metabolisme dan berhubungan dengan motilitas serta daya hidup spermatozoa yang dihasilkan.

Metabolisme sel akan berlangsung baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh, sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas masuk dan keluar dari sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme (Luzardin *et al.*, 2020). Selama proses pematangan spermatozoa di dalam epididimis, juga terjadi perubahan susunan komponen senyawa-senyawa penyusun membran plasma sel spermatozoa. Membran plasma sel spermatozoa akan kehilangan sebagian kolesterol, sehingga terjadi peningkatan asam lemak tak jenuh dan kolesterol. Hal ini menyebabkan membran plasma menjadi lebih rapuh.

Kondisi membran plasma yang demikian ini secara fisiologis memang dibutuhkan untuk memudahkan spermatozoa menjalani proses kapasitas di dalam uterus dan pada waktu fusi dengan membran plasma oosit saat terjadi fertilisasi, namun jika hal tersebut terjadi selama penyimpanan spermatozoa maka akan berdampak negatif terhadap kemampuan fertilisasi spermatozoa (Arvioges *et al.*, 2021).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari hasil penelitian ini yaitu pengenceran modifikasi terbaik adalah pengencer S-KT modifikasi (P2) dari perlakuan lainnya yaitu selama 40 jam dengan motilitas ($45.40 \pm 4.15\%$), viabilitas ($56.66 \pm 1.32\%$) dan MPU ($55.44 \pm 5.18\%$). Berdasarkan hasil dan kesimpulan maka disarankan untuk menggunakan pengencer Sitrat-kuning telur dengan menambahkan ekstrak daun kelor 5% untuk preservasi semen cair babi landrace.

DAFTAR PUSTAKA

Arvioges, A., Anwar, P., & Jiyanto, J. (2021). Efektifitas suhu thawing terhadap keadaan membran plasma utuh (mpu) dan tudung akrosom utuh (tau) spermatozoa Sapi Bali. *Green Swarnadwipa: Jurnal Pengembangan Ilmu Pertanian*, 10(2), 342-350.

Ax, R. L., Dally, M., Didion, B. A., Lenz, R. W., Love, C. C., Varner, D. D., Hafez, B., & Bellin, M. E. (2000). Semen evaluation, in: Hafez, B., Hafez, E. S. E. (Eds.), *Reproduction in Farm Animals*. Wiley, p: 363-375. <https://doi.org/10.1002/9781119265306.ch25>

Badan Standarisasi Nasional. (2017). *Semen beku-bagian 1: Sapi*. Badan Standarisasi Nas. Jkt. ID.

Bonet, S., Briz, M., & Fradera, A. (1993). Ultrastructural abnormalities of boar spermatozoa. *Theriogenology* 40(2): 383-396. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(93\)90276-B](https://doi.org/10.1016/0093-691X(93)90276-B)

Fafo, M., Hine, T. M., & Nalley, W. M. (2016). Pengujian efektivitas ekstrak daun kelor dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi landrace. *J. Nukl. Peternak*. 3(2): 184-195.

Feka, W. V., Dethan, A. A., & Beyleto, V. Y. (2016). Pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas dan ph semen babi landrace yang diencerkan menggunakan bahan pengencer sitrat kuning telur. *JAS* 1(3): 34-35. <https://doi.org/10.32938/ja.v1i03.253>

Garner, D. L. & Hafez, E. S. S. (2000). Spermatozoa and seminal plasma. In: Hafez E. S. E, and B. Hafez, editor. *Reproduction in farm Animals*. 7th Ed. USA. <https://doi.org/10.1002/9781119265306.ch7>

Kostaman, T. & Suatama, I. K. (2006). Studi Motilitas dan daya hidup spermatozoa kambing pada pengencer tris-sitrat-fruktosa= motility and viability test of boer goat spermatozoa at tris-citrat-fruktosa extenders. *J. Sain Vet*. 24(1).

Kurniasih, E. (2013). *Khasiat dan manfaat daun kelor*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Baru Press.

Lawa, A. B., Hine, T. M., & Nalley, W. M. (2021). Pengaruh penambahan virgin coconut oil, minyak ikan dan minyak zaitun dalam pengencer tris terhadap kualitas semen cair babi landrace. *J. Sain Peternak*. Indones. 16(2): 135-141. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.2.135-141>

Luzardin, T. S. & Aku, A. S. (2020). Hubungan lama waktu sexing dengan kualitas spermatozoa sapi bali (bos sondaicus) pada medium sexing tris-kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Halu Oleo: Vol*, 2(1):15-18. <https://doi.org/10.56625/jipho.v2i1.1154>

- Marlize, S., Hine, T. M., & Nalley, W. M. (2021). Pengaruh waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen beku babi landrace dalam pengencer durasperm termodifikasi (Effect of equilibration time on the quality of landrace boar frozen semen in modified durasperm extender). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(2):150-160.
<https://doi.org/10.35508/nukleus.v8i2.4867>
- Maulida, A. N. (2014). Evaluasi post thawing motility (ptm) pada semen beku sapi simental produksi bibit ungaran [dissertation]. Fakultas Peternakan & Pertanian Undip.
- Mere, C. Y., Gaina, C. D., & Foeh, N. D. (2019). Air kelapa dan air buah lontar sebagai modifikasi pengencer alternatif pada semen babi landrace. *J. Vet. Nusant.* 2(2): 20-29.
- Nalley, W. M. M., & Arifiantini, R. I. (2011). The viability of local ram semen in tris buffer with three different egg yolks. *Anim. Prod.* 13(1): 39-44.
- Ndeta, A. K., Belli, H. L., & Uly, K. (2015). Pengaruh sari wortel dengan level yang berbeda pada pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas, viabilitas, derajat keasaman spermatozoa babi landrace. *J. Nukl. Peternak.* 2(2): 117-128.
- Priharyanthi, L. K. A. P., Bebas, W., & Trilaksana, I. G. N. B. (2021). Ekstrak daun kelor dapat mempertahankan motilitas progresif dan viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer air kelapa kuning telur. *Indones. Med. Veterinus* 10(3): 389-398.
<https://doi.org/10.19087/imv.2021.10.3.389>
- Rahmahani, F. N., Indra, M. R., & Lyrawati, D. (2013). Ekstrak metanol daun kelor mempengaruhi ekspresi p53 mukosa kolon tikus yang diinduksi DMBA. *J. Kedokt. Brawijaya* 27(4): 207-211.
<https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2013.027.04.5>
- Shui, G., Wong, S. P., & Leong, L. P. (2004). Characterization of antioxidants and change of antioxidant levels during storage of manilkara zapota L. *J. Agric. Food Chem.* 52(26): 7834-7841.
<https://doi.org/10.1021/jf0488357>
- Simmons, D. L., Botting, R. M., & Hla, T. (2004). Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol. Rev.* 56(3): 387-437.
<https://doi.org/10.1124/pr.56.3.3>
- Sumardani, N. G., Tuty, L. Y., & Siagian, P.H. (2008). Viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer BTS (beltsville thawing solution) yang dimodifikasi pada penyimpanan berbeda. *Media Peternak.* 31(2): 81-86
- 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. *J. Ilm. Ilmu-Ilmu Peternak.* 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 Peternak. J. Penelit. Ilmu Peternak.* 12(1): 20-30.
<https://doi.org/10.20961/sainspet.12.1.20-30>
- Toelihere, M. R. (2006). Pokok-pokok pikiran tentang perkembangan (bio) teknologi reproduksi di masa lalu, masa kini, dan masa yang akan datang dalam menunjang pembangunan peternakan di Indonesia. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. In Seminar Nasional Peranan Bioteknologi Reproduksi dalam Pembangunan Peternakan di Indonesia. Fakultas Kedokteran Hewan-IPB, Bogor (Vol. 8)
- Tosi, W. A., Foeh, N. D. F. K., & Gaina, C. D. (2021). Pengaruh penambahan kuning telur ayam ras dalam bahan pengencer alami air buah lontar

terhadap kualitas semen babi landrace pada suhu preservasi 5° c. J. Vet. Nusant. 4(1): 14-14.

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). J. Nukl. Peternak. 6(2): 55-62.

Wilandari, T. D., Abdul, A., & Ibrahim, M. (2013). Pengaruh Pemberian Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) Terhadap Morfologi Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) yang Dipapar Asap Rokok. Universitas Negeri Gorontalo.

Zou, C. X. & Yang, Z. M. (2000). Evaluation on sperm quality of freshly ejaculated boar semen during in vitro storage under different temperatures. *Theriogenology* 53(7): 1477-1488. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00290-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00290-9)