



Pengaruh Kombinasi Pengencer Modifikasi Air Kelapa Muda-Sitrat Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace

The Effect Of The Combination Of Modified Diluent, Young Coconut Water-Citrate On The Quality Of Landrace Pig Spermatozoa

^{1)*} Marina Y. Jelita, ²Kirenius Uly, ³Agustinus ⁴R. Riwu, ⁵Petrus Kune

^{1,2,3,4,5} Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan-Universitas Nusa.

*Email: ¹⁾ yasintajelita1234@gmail.com

*Correspondence: ¹⁾ Marina Y. Jelita

DOI:

10.59141/comserva.v4i1.1325

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi pengencer modifikasi air kelapa muda-sitrat terhadap kualitas spermatozoa babi landrace. Materi penelitian adalah semen segar yang diperoleh dari satu ekor babi landrace umur 2 tahun. Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 ulangan yakni: (P0) AKM 100%, (P1) AKM 75% + Sitrat 25%, (P2) AKM 50%+ Sitrat 50%, (P3) AKM 25% + Sitrat 75%, (P4) Sitrat 100%, setiap perlakuan ditambahkan Ekstrak Daun Kelor/EDK sebesar 1 %. Semen yang telah diencerkan disimpan pada suhu 18-20°C. Evaluasi semen setelah pengenceran dilakukan setiap 8 jam terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa. Data penelitian dianalisis dengan *Analysis of Variance* (Anova) dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi modifikasi pengencer AKM 50% + Sitrat 50% (P2) mempunyai kualitas terbaik dibandingkan dengan perlakuan lainnya, yaitu dengan presentase motilitas $46,40 \pm 1,52\%$, viabilitas $45,00 \pm 4,63\%$, abnormalitas $8,29 \pm 0,72\%$, dan daya tahan hidup 44,90 jam. Dapat disimpulkan bahwa kombinasi pengencer modifikasi air kelapa muda-sitrat mampu memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas spermatozoa babi landrace.

Kata kunci: Air Kelapa Muda, Sitrat, Ekstrak Daun Kelor, Semen babi landrace

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of the combination of modified young coconut water-citrate diluent on the quality of spermatozoa in landrace pigs. The research material was semen obtained from two 2 year old landrace pigs. This study used a completely randomized design (CRD) method consisting of 5 treatments and 5 replications, namely: (T0) Young coconut water (YCW) 100%, (T1) YCW 75% + Citrate 25%, (T2) YCW 50%+ Citrate 50%, (T3) YCW 25% + Citrate 75%, (T4) Citrate 100%, every treatment add Moringa Leaf Extract (MLE) 1 %. The diluted cement is stored at a temperature of 18-20°C. Evaluation of semen after dilution is carried out every 8 hours for motility, viability, abnormalities and survival of spermatozoa. Research data was analyzed using Analysis of Variance (Anova) and continued with the Duncan test. The research results showed that the combination of modified YCW 50% + Citrate 50% (P2) had the best quality compared to other treatments, namely with a motility percentage of $46.40 \pm 1.52\%$, viability of $45.00 \pm 4.63\%$, abnormality $8.29 \pm 0.72\%$, and survival 44.90 hours. It can be concluded that the combination of modified Young Coconut Water-citrate has a good effect on the quality of landrace pig spermatozoa

Keywords: *Young Coconut Water, Citrate, Moringa Leaf Extract/MLE, Semen of landrace pigs*

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan, sering juga disebut dengan kawin suntik, merupakan teknik yang digunakan untuk meningkatkan produktivitas ternak dan kualitas genetik. Kualitas semen yang digunakan mempengaruhi keberhasilan program IB. Untuk menjaga kualitas semen dan memungkinkan penggunaannya dalam jangka waktu yang lama, semen cair harus disimpan. Hal ini dapat dicapai dengan menambahkan bahan pengencer yang berfungsi sebagai buffer terhadap cold shock, sumber energi bagi sperma, dan sarana perlindungan terhadap kontaminasi bakteri (Rizal dan Thahir, 2016).

Dalam proses pengenceran semen, air kelapa muda dan natrium sitrat sering digunakan sebagai bahan pengencer. Sitrat berfungsi sebagai penyangga untuk menjaga kestabilan pH (Bohlooli et al., 2012) serta air kelapa sebagai sumber energi (Merel, 2016). Kuning telur dan antibiotik merupakan komponen tambahan yang menjadikan kedua bahan tersebut sebagai pengencer sederhana yang mampu memenuhi kebutuhan hidup sperma selama penyimpanan in vitro (Akhtar et al., 2007; Kullaksiz et al., 2010; Lemma, 2011). Karbohidrat seperti fruktosa, glukosa, dan sukrosa yang terkandung pada air kelapa mampu memenuhi kebutuhan hidup sperma. Oleh karena itu, penggunaan air kelapa mampu meningkatkan kualitas sperma (Sulabda dan Puja, 2010). Selama proses penyimpanan sperma, fruktosa diperlukan sebagai sumber energi, dan air kelapa adalah salah satu bahan pengencer alternatif yang mengandung fruktosa. Namun, penggunaan air kelapa dalam jumlah yang lama dapat menyebabkan pH turun (Berlina, 2004) sehingga dibutuhkan penambahan bahan pengencer yang mengandung buffer untuk mempertahankan pH normal, dan salah satu bahan pengencer yang berfungsi untuk mempertahankan pH adalah natrium sitrat. Natrium sitrat selain berfungsi sebagai buffer juga memiliki fungsi untuk mengurai butir-butir lemak kuning telur. Penggunaan larutan sitrat sebagai pengencer semen seringkali dikombinasikan dengan kuning telur, hal ini dikarenakan karakteristik sifat semen babi yang mudah mengalami cekaman dingin (cold shock). Kandungan lesitin dan lipoprotein pada kuning telur berfungsi melindungi integritas selubung lipoprotein sel sperma dan mencegah cekaman dingin (Garner dan Hafez, 2000).

Lama penyimpanan dapat mempengaruhi kualitas semen cair yang disebabkan oleh ketersediaan energi yang semakin berkurang, tekanan osmotik terganggu, umur sperma yang semakin bertambah, dan pH semen yang semakin berkurang sehingga menyebabkan proses metabolisme sperma terganggu hingga menyebabkan penurunan motilitas, viabilitas, dan menyebabkan presentase abnormalitas yang tinggi.

Hayati et al. (2006) menyatakan bahwa semen akan mengalami proses metabolisme selama penyimpanan. Selama proses metabolisme tersebut, salah satu zat yang dihasilkan adalah peroksida lipid. Karena kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi, sperma dari ternak babi rentan terhadap spesies oksigen reaktif (ROS), yang dapat menyebabkan kerusakan morfologis sperma dan mengurangi motilitas (Situmorang et al., 2000). Untuk mengatasi masalah ini, bahan pengencer yang mengandung zat antioksidan harus ditambahkan ke dalam pengencer. Antioksidan memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas, yang dapat meningkatkan kualitas sperma dengan mencegah radikal bebas merusak membran plasma sel sperma selama preservasi sperma (Sittepu et al., 2018), sehingga dapat mempertahankan kualitas sperma. Menurut Kumala et al. (2016), senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun kelor mampu mengikat radikal bebas. Perbaikan kualitas semen yang diencerkan dengan

penambahan ekstrak daun kelor dilaporkan pada pengenceran semen/sperma sapi (Sokunbi et al., 2015) juga pada sperma babi landrace (Fafo et al., 2016).

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan pengencer air kelapa muda yang dikombinasikan dengan sitrat modifikasi terhadap kualitas sperma babi landrace.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 minggu di Laboratorium Yayasan Williams dan Laura Delsa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang. Materi penelitian menggunakan semen segar dari satu ekor babi jantan Landrace berusia 2 tahun yang sehat dengan organ reproduksi normal. Pengencer yang digunakan terdiri dari kombinasi air kelapa muda dan sitrat modifikasi. Metode yang diterapkan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan lima ulangan: AKM 100% (P0), AKM 75% + Sitrat 25% (P1), AKM 50% + Sitrat 50% (P2), AKM 25% + Sitrat 75% (P3), dan Sitrat 100% (P4). Setiap perlakuan ditambahkan 1% ekstrak daun kelor dan 20 ml kuning telur. Pengenceran dan penyimpanan semen dilakukan di dalam tabung berlabel dan disimpan dalam kotak berisi es pada suhu 18°C. Setiap delapan jam, dilakukan pengamatan hingga motilitas sperma mencapai 40%.

Tahap evaluasi semen meliputi penilaian makroskopis, seperti volume, bau, pH, warna, dan konsistensi, serta penilaian mikroskopis yang mencakup konsentrasi sperma, motilitas, viabilitas, dan abnormalitas sperma. Semen yang dievaluasi dan berkualitas baik kemudian diencerkan dengan pengencer yang berbeda, disimpan, dan dievaluasi kembali. Analisis data dilakukan menggunakan ANOVA dan uji Duncan dengan perangkat lunak SPSS 22.0 for Windows. Data yang dikumpulkan meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas sperma, yang dihitung dalam persen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai pengencer terhadap kualitas semen babi selama penyimpanan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Sangat penting untuk mengevaluasi semen segar sebelum dijadikan semen cair karena kualitas semen berfungsi sebagai dasar untuk menentukan apakah semen tersebut cocok digunakan dalam pengenceran. Tabel 1 menampilkan karakteristik semen babi yang diperoleh dari lima kali penampungan.

Tabel 1. Karakteristik semen segar babi Landrace.

Karakteristik Selmeln	Rataan
Elvalulasi makroskopis	
Volulmel (mL)	165,00 ± 14,14
Warna	Pultih sulsul
Kosistelsni	Elncelr
pH	6,52 ± 0,16
Elvalulasi mikroskopis	
Koselntansi (10 ⁶ sell/mL)	252,60 ± 18,30
Motilitas (%)	78,00 ± 2,74
Viabilitas (%)	92,18 ± 5,27

Abnormalitas (%)

3,89 ± 1,01

Dalam penelitian ini, jumlah rata-rata semen yang diperoleh selama penampungan per ejakulasi adalah $165,00 \pm 14,14$ ml (berkisar antara 160-200 ml). Temuan ini konsisten dengan pendapat Garner dan Hafez (2000) yang menyatakan bahwa jumlah semen babi per penampungan bisa mencapai 150-400 ml, tetapi bertentangan dengan hasil penelitian Ax et al. (2000) yang menunjukkan bahwa volume semen dapat mencapai 200-250 ml. Berbagai faktor, seperti jenis ternak, metode penampungan, umur ternak, pakan, lingkungan, dan kesehatan reproduksi ternak jantan, dapat mempengaruhi volume dan konsentrasi semen. Warna semen yang digunakan dalam penelitian adalah putih susu encer. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Garner dan Hafez (2000) maupun Johnson et al. (2000), bahwa pada umumnya semen segar memiliki warna putih susu dengan konsistensi encer. Derajat keasaman atau pH semen yang digunakan dalam penelitian ini adalah $6,52 \pm 0,16$, yang termasuk dalam kategori normal (6,4-7,8) menurut Garner dan Hafez (2000).

Evaluasi semen secara mikroskopis pada penelitian ini memperoleh nilai motilitas $78,00 \pm 2,74\%$, dan semen yang digunakan masih tergolong berkualitas baik karena nilai motilitas yang baik berkisar antara 50-80% (Garner dan Hafez, 2000). Persentase viabilitas yang didapatkan dalam penelitian ini adalah $92,18 \pm 5,27\%$, yang lebih besar dari $87,28 \pm 1,71\%$ yang ditemukan oleh Tamoels (2014). Persentase viabilitas spermatozoa sering kali dipengaruhi oleh konsentrasi, nilai pH, dan motilitas. Berdasarkan hasil penelitian terhadap nilai abnormalitas, dinyatakan bahwa semen yang digunakan berkualitas baik karena memiliki tingkat abnormalitas rendah dengan rata-rata $3,89 \pm 1,01\%$. Menurut Ax et al. (2000), nilai abnormalitas spermatozoa yang baik adalah kurang dari 10%. Konsentrasi spermatozoa dalam penelitian ini adalah $252,60 \pm 18,30$ sel/mL. Konsentrasi spermatozoa yang diperoleh sesuai dengan Garner dan Hafez (2000) serta Sumardani et al. (2008) yang menyatakan bahwa konsentrasi spermatozoa yang baik berkisar antara 200-300 juta sel/ml. Perbedaan jumlah konsentrasi spermatozoa dapat dipengaruhi oleh perbedaan jenis ternak sebagai sumber semen, umur pejantan, genetik, lingkungan, dan pakan (Johnson et al., 2000).

Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

Pengamatan motilitas spermatozoa merupakan syarat utama dalam menentukan kualitas semen. Kemampuan spermatozoa bergerak secara progresif (maju ke depan) menjadi patokan yang menentukan kemampuan spermatozoa dalam membuahi ovum atau sel telur. Feradis (2010) menyatakan bahwa spermatozoa yang baik adalah spermatozoa yang mampu bergerak secara progresif, sedangkan spermatozoa yang bergerak melingkar dan mundur menandakan adanya cold shock. Rata-rata nilai motilitas spermatozoa babi Landrace dari penelitian ini untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa (%)

Jam Ke.	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	$78,00 \pm 2,74^a$	$78,00 \pm 2,74^a$	$78,00 \pm 2,74^a$	$78,00 \pm 2,74^a$	$78,00 \pm 2,74^a$	1,000
8	$63,00 \pm 2,74^a$	$65,00 \pm 5,00^a$	$72,00 \pm 4,47^b$	$72,00 \pm 4,47^b$	$72,00 \pm 4,47^b$	0,004
16	$53,00 \pm 2,74^a$	$58,00 \pm 4,47^a$	$67,00 \pm 4,47^b$	$67,00 \pm 4,47^b$	$66,00 \pm 4,18^b$	0,000

24	42,80±2,59 ^a	49,00±2,24 ^b	61,00±4,18 ^c	61,00±4,18 ^c	60,00±3,54 ^c	0,000
32	33,80±2,68 ^a	40,60±2,61 ^b	55,00±3,54 ^c	55,00±3,54 ^c	52,60±3,71 ^c	0,000
40	22,80±2,59 ^a	29,40±2,61 ^b	46,40±1,52 ^d	43,20±2,17 ^c	44,40±2,35 ^{cd}	0,000
48	13,60±2,51 ^a	19,20±1,79 ^b	36,00±1,22 ^d	32,60±2,41 ^c	34,80±0,45 ^{cd}	0,000

^{a,b,c,d} Subskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). P0 (AKM 100%), P1 (AKM 75% + Sitrat 25%), P2 (AKM 50% + Sitrat 50%), P3 (AKM 25% + Sitrat 75%), P4 (Sitrat 100%).

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa setelah penyimpanan jam ke-0 pada setiap perlakuan adalah sama, yaitu $78,00 \pm 2,74\%$. Hal ini menunjukkan bahwa belum ada perubahan kualitas spermatozoa selama penyimpanan awal. Namun, sejak pengamatan jam ke-8 hingga jam ke-48 setelah penyimpanan, terjadi penurunan motilitas spermatozoa pada setiap perlakuan. Diduga, faktor-faktor berikut berkontribusi pada penurunan motilitas spermatozoa: waktu penyimpanan yang lebih lama, umur spermatozoa yang lebih tua, ketersediaan energi yang semakin berkurang, dan efek perlakuan prosedural yang lebih sedikit. Ini sesuai dengan pernyataan dari Sulgiarti et al. (2004) bahwa kondisi penyimpanan dalam jangka waktu lama menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa akibat adanya asam laktat hasil proses metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam. Kondisi ini dapat bersifat racun terhadap spermatozoa yang menyebabkan kematian sperma. Demikian juga Wiyanti et al. (2013) menyatakan bahwa waktu dilakukan preservasi, sumber energi yang terkandung pada pengencer akan semakin menurun seiring lama penyimpanan, zat nutrisi akan berubah menjadi beracun karena terjadi oksidasi selama tahap penyimpanan dan berkembangnya radikal bebas yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan kelutahan membran plasma spermatozoa.

Nilai minimal motilitas spermatozoa untuk kegiatan IB adalah di atas 40%, dengan demikian spermatozoa babi Landrace dalam pengencer SKT tanpa penambahan AKM (P0) mampu mempertahankan motilitas sampai jam ke-24, pada P1 sampai jam ke-32, dan P2, P3 serta P4 dapat mempertahankan motilitas spermatozoa hingga jam ke-40 penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan kombinasi pengencer AKM dan SKT dengan penambahan ekstrak daun kelor mampu mempertahankan motilitas spermatozoa babi Landrace. Hasil terbaik yang diperoleh dalam penelitian ini untuk persentase motilitas sampai dengan penyimpanan 40 jam dengan motilitas spermatozoa berada di atas 40% adalah terdapat pada perlakuan P2 dengan kombinasi pengencer AKM 50% + SKT 50% + Ekstrak Daun Kelor (EDK) 1%, diikuti oleh P4 dan P3 dengan persentase motilitas masing-masing $46,40 \pm 1,52\%$, $44,40 \pm 2,35\%$, dan $43,20 \pm 2,17\%$.

Persentase motilitas pada perlakuan P0 dan P1 sangat rendah dengan daya simpan hanya bertahan sampai pada jam ke-24 dan jam ke-32 serta mengalami penurunan motilitas lebih cepat dibandingkan dengan persentase motilitas pada perlakuan P2, P3, dan P4. Hal ini diduga karena sedikit atau berlimpahnya fruktosa, serta kemungkinan perbedaan kapasitas penyangga dari semen. Salisbury dan Van Demark (1961) menyatakan bahwa kadar ion hidrogen berbahaya karena kondisi fruktosa yang tidak cukup atau berlebihan serta ketidakstabilan penyangga yang mencegah penurunan pH yang berlebihan. Semakin lama waktu penyimpanan, motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa akan menurun. Perlakuan P2 mampu mempertahankan rata-rata motilitas spermatozoa lebih tinggi pada semua jam pengamatan mulai dari jam ke-0 sampai akhir pengamatan jam ke-48 dibandingkan dengan semua perlakuan lainnya. Tingginya motilitas pada P2 dan terlihat adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) terutama dengan P0 dan P1 sejak pengamatan jam ke-8 sampai dengan motilitas tidak layak IB atau di bawah 40% menunjukkan adanya kombinasi yang tepat dari penambahan sitrat sebagai

penyangga atau buffer dan air kelapa muda yang ditambah EDK sebagai zat antioksidan 1%. Demikian juga perlakuan P3 dan P4 kombinasi SKT dan AKM dengan dosis yang tidak sama menunjukkan persentase motilitas yang lebih rendah dibandingkan P2 dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P3 sejak jam pengamatan ke-32 sampai jam ke-40 penyimpanan, sedangkan motilitas spermatozoa pada perlakuan P4 juga terlihat lebih rendah walaupun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) sejak jam pengamatan ke-8 sampai akhir jam ke-40. Hal ini sekaligus memberikan informasi bahwa penggunaan SKT dengan kombinasi AKM telah memperoleh kadar optimal, dengan perbandingan yang seimbang atau sama besar yaitu masing-masing sebesar 50%.

Penelitian Fafo et al. (2016) yang melakukan pengenceran semen babi Landrace yang menggunakan bahan pengencer SKT + 5% EDK mampu mempertahankan motilitas hingga jam ke-24 dengan persentase di atas 40% pada suhu penyimpanan 18-20°C. Dibandingkan hasil penelitian Fafo et al. (2016), maka hasil yang diperoleh dalam penelitian ini masih lebih tinggi, ini disebabkan karena dalam penelitian ini selain penambahan EDK 1%, ada tambahan AKM sebagai sumber karbohidrat yang memberikan energi tambahan bagi daya hidup dan juga untuk pergerakan/motilitas spermatozoa. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian Sullabda dan Pulja (2012), maka hasil yang diperoleh dalam penelitian ini lebih rendah yang memperoleh motilitas spermatozoa anjing dengan hasil terbaik pada kombinasi AKM dan SKT dengan perbandingan 75% dan 25% mencapai persentase motilitas $92,40 \pm 0,83\%$ - $68,40 \pm 1,82\%$ mulai hari pertama hingga hari kelima penyimpanan setelah pengenceran.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas merupakan daya hidup spermatozoa yang dijadikan penentu kualitas spermatozoa. Sulkmawati (2014) menyatakan bahwa peningkatan persentase viabilitas menunjukkan bahwa semen yang digunakan berkualitas tinggi. Penilaian viabilitas spermatozoa sangat penting karena akan mempengaruhi nilai motilitas (Sultama 2006). Viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan mengamati dan menjumlahkan spermatozoa yang hidup maupun yang mati, di mana sebelum pemeriksaan semen terlebih dahulu akan dicampur menggunakan eosin-nigrosin. Spermatozoa yang menyerap warna (merah) menunjukkan spermatozoa tersebut mati (Sulmardani et al., 2008). Persentase viabilitas layak IB adalah 45%. Rata-rata nilai viabilitas setiap perlakuan dari hasil penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa (%)

Jam Ke	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	92,13±5,23 ^a	92,14±5,39 ^a	92,15±5,00 ^a	91,85±5,38 ^a	92,15±5,15 ^a	1,000
8	72,28±2,00 ^a	76,40±3,68 ^{ab}	83,42±5,35 ^c	81,91±5,41 ^{bc}	83,82±5,16 ^c	0,002
16	61,58±3,02 ^a	66,99±4,12 ^a	79,40±7,06 ^b	77,38±6,19 ^b	77,45±6,75 ^b	0,000
24	53,84±1,57 ^a	65,53±16,54 ^{ab}	76,17±14,20 ^b	73,81±14,40 ^b	68,30±7,52 ^{ab}	0,069
32	43,21±2,76 ^a	49,48±7,50 ^a	68,23±3,74 ^b	65,56±4,27 ^b	63,50±6,19 ^b	0,000
40	33,94±2,14 ^a	39,52±4,21 ^b	56,80±1,54 ^c	53,36±1,97 ^c	54,14±2,11 ^c	0,000
48	22,49±3,53 ^a	28,05±2,43 ^b	45,00±4,63 ^c	42,40±2,35 ^c	43,31±1,46 ^c	0,000

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$). P0 (AKM 100%), P1 (AKM 75% + Sitrat 25%), P2 (AKM 50% + Sitrat 50%), P3 (AKM 25% + Sitrat 75%), P4 (Sitrat 100%).

Pada Tabel 3, terlihat bahwa viabilitas sperma pada jam ke-0 adalah serupa untuk semua perlakuan, yaitu sekitar $91,85 \pm 5,38\%$ hingga $92,15 \pm 5,15\%$. Namun, sejak pengamatan pada jam ke-8 hingga jam ke-48, terjadi penurunan viabilitas sperma secara bertahap dan bervariasi di antara kelompok perlakuan. Penurunan ini kemungkinan disebabkan oleh perubahan struktur fosfolipid membran plasma akibat penyimpanan pada suhu rendah, yang mengganggu fungsi membran sel dan menyebabkan permeabilitasnya meningkat (Cotter et al., 2005). Selanjutnya, Sulkmawati et al. (2014) menyatakan bahwa kerusakan pada membran plasma sel dapat menghambat proses metabolisme dan sintesis Adenosin Tri Phosphate (ATP), yang akhirnya mengurangi viabilitas sperma. Metabolisme sel yang meningkat meningkatkan konsentrasi asam laktat dalam pengencer. Dengan menyimpan sperma pada suhu dingin, energi yang terkandung dalam pengencer juga berkurang (Kusumawati et al., 2017). Sperma akan mengalami stres oksidatif selama penyimpanan pada suhu rendah, yang mengurangi kelangsungan hidup sperma. Viabilitas sperma tertinggi setelah 48 jam penyimpanan ditemukan pada perlakuan P2 yang mencapai $45,00 \pm 4,63\%$, diikuti oleh P4 dan P3 dengan viabilitas rata-rata masing-masing $43,31 \pm 1,46\%$ dan $42,40 \pm 2,35\%$. Sementara itu, pada perlakuan P1 dan P0, viabilitas sudah berada di bawah 40%, dengan nilai masing-masing $28,05 \pm 2,43\%$ dan $22,49 \pm 3,53\%$.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada pengamatan jam ke-0, perlakuan tidak berpengaruh signifikan ($P > 0,05$) terhadap viabilitas sperma. Namun, sejak pengamatan jam ke-8 hingga jam ke-48 penyimpanan, perlakuan menunjukkan pengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap viabilitas sperma, terutama antara P0 dan P1 dengan P2, P3, dan P4. Hasil ini menunjukkan bahwa adanya interaksi antara pengencer dengan sperma, di mana zat-zat yang terkandung dalam bahan pengencer memberikan dampak positif terhadap sperma dalam mempertahankan viabilitasnya.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara P0 dan P1 ($P > 0,05$) menunjukkan bahwa penggunaan AKM tanpa penambahan sitrat dan dengan penambahan sitrat 25% memberikan hasil yang relatif sama terhadap nilai viabilitas sperma. Viabilitas sperma sampai jam ke-32 masih berada di atas 40%, ini menunjukkan bahwa viabilitas sperma pada perlakuan P0 dan P1 masih layak digunakan hingga jam ke-32, sedangkan untuk perlakuan P2, P3, dan P4 layak digunakan hingga jam ke-48 penyimpanan. Inoniel et al. (2016) menyatakan bahwa persentase viabilitas sperma sangat terkait erat dengan tingkat fertilitas sperma, yakni semakin tinggi nilai viabilitas, semakin tinggi tingkat kesuburan sperma.

Terlihat bahwa penggunaan sitrat dengan dosis yang berbeda pada setiap perlakuan berpengaruh terhadap kestabilan pH semen. Perubahan pH semen menjadi lebih asam atau lebih basa akan menyebabkan sperma lebih cepat mati. Perubahan pH ke arah yang lebih asam terjadi karena peningkatan asam laktat yang merupakan hasil metabolisme sperma dalam kondisi anaerob (Daniel et al., 2004). Selain itu, penggunaan air kelapa dengan dosis di bawah 50% dapat menyebabkan penurunan persentase viabilitas maupun motilitas sperma. Perbedaan persentase viabilitas pada setiap perlakuan juga dapat disebabkan oleh adanya faktor kekurangan atau kelebihan fruktosa dan perbedaan kapasitas penyangga dari semen maupun pengencer yang digunakan. Hal ini diperkuat oleh pendapat Salisbury dan Van Demark (1961) yang menyatakan bahwa kondisi fruktosa yang tidak cukup dan yang berlebihan dapat menyebabkan ketidakstabilan penyangga untuk mencegah penurunan pH.

Situmorang et al. (2000) menyatakan bahwa keterbatasan viabilitas sperma, selain disebabkan oleh defisit energi dan kerusakan membran plasma akibat protein plasma, kematian sperma juga disebabkan oleh kerusakan membran plasma akibat peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan

proses yang kompleks akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda yang ada dalam fosfolipid membran sel dengan Reactive Oxygen Species (ROS). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi hal tersebut adalah dengan penambahan antioksidan dalam pengencer. Daun kelor merupakan salah satu bahan yang kaya akan antioksidan: flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, fenol, karotenoid, tokopherol, dan asam askorbat (Putra et al., 2016).

Penelitian Fafu et al. (2016) yang melakukan pengenceran semen babi landrace menggunakan bahan pengencer SKT + 5% ELDK mampu mempertahankan motilitas hingga 24 jam dengan persentase motilitas di atas 40% dan viabilitasnya 63,62% dengan suhu penyimpanan 18-20°C. Dalam penelitian ini, dosis ELDK yang digunakan sebagai antioksidan sebanyak 1% dan dalam kombinasinya dengan pengencer (AKM + sitrat) mampu mempertahankan viabilitas sperma hingga 48 jam penyimpanan dengan nilai 45,00±4,63%.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Persentase kelainan pada sperma merupakan ukuran penting dari kualitas sperma karena struktur sel yang abnormal akan menyebabkan gangguan saat fertilisasi (Afiati et al., 2015). Jenis abnormalitas yang dinilai dalam penelitian ini adalah abnormalitas struktural, yaitu berupa ekor dan kepala terpisah. Menurut Firdausi et al. (2014), kerusakan pada spermatozoa dapat disebabkan oleh proses persiapan ulasan di object glass sehingga abnormalitas yang terbentuk adalah spermatozoa dengan ekor patah atau kepala tanpa ekor.

Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa babi landrace dari setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa (%).

Jam Ke	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	3,92±0,94	3,94±0,85	3,94±0,83	3,89±0,91	3,88±0,82	1,000
8	4,24±8,81	4,33±0,82	4,41±0,70	4,28±0,88	4,26±0,64	0,997
16	5,32±0,91	5,59±0,88	5,20±0,63	5,29±0,72	5,36±0,90	0,959
24	6,17±0,67	6,24±0,75	6,16±0,76	6,10±0,83	6,12±0,73	0,999
32	6,74±0,61	6,76±0,55	6,64±0,50	6,74±4,7	6,73±0,56	0,996
40	7,10±0,50	7,05±0,59	6,96±0,55	6,95±0,92	7,06±0,56	0,994
48	8,29±0,72	8,47±0,50	8,45±0,77	8,49±0,70	8,42±0,73	0,990

Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($P>0,05$). P0 (AKM 100%), P1 (AKM 75% + Sitrat 25%), P2 (AKM 50% + Sitrat 50%), P3 (AKM 25% + Sitrat 75%), P4 (Sitrat 100%).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa setiap perlakuan memberikan pengaruh yang tidak signifikan ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa pengencer AKM-sitrat dengan penambahan ELDK 1% memberikan pengaruh yang cukup baik terhadap abnormalitas spermatozoa babi landrace. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa dalam setiap perlakuan mengalami peningkatan selama proses preservasi. Peningkatan persentase abnormalitas spermatozoa yang terjadi selama penyimpanan pada suhu 18-20°C masih berada dalam batasan standar abnormalitas spermatozoa yang layak untuk inseminasi buatan (IB), yaitu kurang dari 20%, dengan kisaran setiap perlakuan antara 3,92±0,94% hingga 8,29±0,72%. Menurut BSN (2017),

penggunaan semen segar ataupun semen beku dalam program inseminasi buatan sebaiknya memiliki persentase abnormalitas spermatozoa tidak lebih dari 20%.

Peningkatan nilai abnormalitas spermatozoa babi landrace dalam perlakuan ini dapat disebabkan oleh penurunan lipoprotein pada kuning telur yang semakin lama akan semakin menurun fungsinya dalam melindungi spermatozoa dari stres dingin (cold shock) dan ketidakseimbangan nutrisi yang ada dalam pengencer. Hal ini didukung oleh pendapat Afiati et al. (2015) bahwa abnormalitas sperma meningkat sebagai akibat dari cold shock dan ketidakseimbangan gizi. Selain itu, menurut Yani dan Nuryadi (2001), semakin lama waktu penyimpanan, semakin tinggi persentase abnormalitas spermatozoa, karena disebabkan oleh sperma yang terkena stres dingin dan juga ketidakseimbangan tekanan osmotik yang diakibatkan oleh proses metabolik yang berlangsung selama penyimpanan in vitro.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah abnormalitas sperma pada perlakuan P1, P2, P3, dan P4 lebih rendah dibandingkan dengan persentase abnormalitas pada P0 (kontrol). Lebih tingginya nilai abnormalitas pada P0 dapat disebabkan karena tidak adanya penyangga yang berasal dari pengencer sitrat kuning telur yang dapat berfungsi untuk menjaga ketahanan spermatozoa. Sementara pada perlakuan P1, P2, P3, dan P4, abnormalitasnya lebih rendah karena adanya kombinasi pengencer AKM-sitrat dengan penambahan ELDK sebagai antioksidan dalam pengencer yang berfungsi untuk mengatasi kerusakan spermatozoa yang disebabkan oleh radikal bebas sehingga mampu meminimalisir peningkatan jumlah abnormalitas. Siswanto et al. (2015) menyatakan bahwa penambahan antioksidan pada pengencer semen dapat menekan produksi reactive oxygen species (ROS) berlebih sehingga dapat mempertahankan kualitas spermatozoa.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa (Jam)

Daya tahan hidup yang dimaksud adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap hidup dalam kurun waktu tertentu setelah penyimpanan in vitro (Hine et al., 2014). Daya tahan hidup spermatozoa dapat diukur dengan melihat kemampuan hidup spermatozoa selama penyimpanan (48 jam) dengan standar motilitas 40%. Daya tahan hidup spermatozoa setiap perlakuan dari penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Perlakuan	Rerata ± SD
P0	26,48 ± 2,27 ^a
P1	32,15 ± 1,90 ^b
P2	44,90 ± 1,00 ^d
P3	42,38 ± 1,58 ^c
P4	43,18 ± 1,80 ^{cd}
Nilai P	0,000

^{a,b,c,d} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

P0 (AKM 100%), P1 (AKM 75% + Sitrat 25%), P2 (AKM 50% + Sitrat 50%), P3 (AKM 25% + Sitrat 75%), P4 (Sitrat 100%).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Hal ini disebabkan karena pengencer sitrat mengandung buffer yang

mampu menjaga ketahanan dan daya simpan atau daya hidup sperma (Garnel dan Hafez, 2000). Selain itu, kuning telur yang dicampurkan dengan sitrat juga mengandung lesitin dan lipoprotein yang dapat melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa dan mencegah kejutan dingin (cold shock) sehingga spermatozoa yang disimpan pada suhu 18-20°C tetap bertahan hidup (Garnel dan Hafez, 2000). Adanya zat antioksidan yang berasal dari ELDK juga membantu menjaga membran plasma agar tidak rusak akibat serangan peroksida lipid. Peroksida lipid berkaitan dengan peningkatan pembentukan radikal bebas yang berdampak pada penurunan motilitas spermatozoa. Apabila struktur membran plasma mitokondria spermatozoa rusak, maka sperma akan kehilangan sumber energi untuk bergerak. Hal ini akan menyebabkan kemampuan hidup sperma tidak bertahan lama.

Perlakuan P0 dan P1 memiliki kemampuan hidup sperma yang lebih singkat karena penggunaan air kelapa dengan level yang tinggi dan kurangnya pengencer sitrat sebagai penyangga serta rendahnya penggunaan zat antioksidan dalam pengencer pada kedua perlakuan tersebut. Hal ini didukung oleh Sullabda dan Pulja (2010), yang menyatakan bahwa motilitas sperma secara signifikan berkurang ketika konsentrasi air kelapa muda meningkat dalam pengencer yang lebih dari 75%. Sokumbi et al. (2015) menyatakan bahwa penambahan ELDK 4-6% dalam pengencer dapat mempertahankan motilitas, morfologi, dan integritas membran plasma spermatozoa sapi. Selain itu, kelebihan bahan larut akan meningkatkan tekanan osmotik di media pelarut, yang berdampak negatif pada kelangsungan hidup sperma (Kulaksiz et al., 2013). Perbedaan kadar karbohidrat yang terkandung dalam air kelapa dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa (Kelwilaa et al., 2013).

Menurut Paullenz et al. (2000), fruktosa dalam air kelapa adalah pasokan nutrisi yang berharga yang dapat dicerna untuk menciptakan ATP, yang diperlukan untuk motilitas sperma. Baik fruktosa maupun glukosa berperan sebagai sumber energi dengan tujuan dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa. Glukosa dan fruktosa inilah yang akan dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dalam pergerakannya agar tetap motil dan untuk mempertahankan daya tahan hidupnya.

Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi pengencer AKM 50% + sitrat 50% + ELDK 1% mampu memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas spermatozoa babi landrace.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F., Yulnawati, M. R., dan Arifiantini, R. I. 2015. Abnormalitas Spermatozoa Domba dengan Frekuensi Penampungan Berbeda. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(4), 930–934.
- Ax, R.L., Dally, M., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, C.C., Varner, D.D., Hafez, B. and Bellin, M.E. 2000. *Semen Evaluation*. In: Hafez ESE, Hafez B, editor. *Reproduction in farm Animals*. 7th Ed. USA: Williams & Wilkins.
- Barlina, R. 2004. Potensi buah kelapa muda untuk kesehatan dan pengolahannya. Balai penelitian tanaman kelapa dan palma lain, manado, perspektif, iii (2) : 60
- Bohlooli, s., cedden, f., pishjang, j., razzaghzadeh, s., bozoölu, s. 2012. The effect of different extenders on post-thaw sperm viability, motility and membrane integrity in cryopreserved semen of zandiram. *Journal basic application science respiratory*. 2(2):1120-1123
- BSN (Badan Standarisasi Nasional). 2017. SNI 4869-1:2017. Semen Beku-Bagian 1: Sapi. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Das AK, Rajkumar V, Verma AK, Swarup D. 2012. Moringa oleifera leaves extract: a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties. *International Journal of Food Science and Technology* 47: 585–591.
- Fafo M, Hine TM, Nalley WM. 2016. Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan* 3(2): 184-195.
- Firdausi PA, Susilawati T, Wahyuningsih S. 2014. Kualitas semen sapi limousin selama pendinginan menggunakan pengencer cep-2 dengan penambahan berbagai konsentrasi santan. *Ternak Tropika* 15(1) : 21–30.
- Foeh NDFK, Gaina CD, Titong AP, Butta CA, Bei MSB. 2019. Daya Tahan Spermatozoa dalam Semen Cair Babi Landrace pada Metode Penyimpanan Berbeda. *Jurnal Kajian Veteriner* 7(1): 47-52.
- Garner, D.L. and Hafez, E.S.E. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In: Hafez B. Hafez ESE, editor. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins.
- Hafez, e.s.e. 2000. Semen evaluation, in: hafez, b., and e.s.e. hafez (eds). *Reproduction in farm animals*. 7th. Ed. Lippincott williams and wilkins. Philadelphia
- 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
- Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P., and Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of boar semen. *Journal Animals Reproduction Science*. 62: 143-172.
- Kasolo JN, Bimeya GS, Ojok L, Ochieng J, Okwal-okeng JW. 2010. Phytochemicals and uses of Moringa oleifera leaves in Uganda rural communities. *Journal of Medical Plant Research* 4: 753-757.

- Kewilaa, A.I., Ondho, Y.S., Setiantin, E,T. 2013, Pengaruh Berbagai Jenis Pengencer Air Kelapa Muda dengan Penambahan Kuning Telur yang Berbeda terhadap Kualitas Spermatozoa Semen Cair Domba Ekor Tipis (DET). *Jurnal Agrinimal*. 3(1):1-9
- Kulaksiz R, Ari UC, Daskin A, Uner AG. 2013. The effect of different glycerol concentrations on freezeability of semen from angora, kilis, and saanen goats. *Slovak J Anim Sci* 46:39-44.
- Kumala IN, Masfufatun, Devi DRE. 2016. Potensi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai hepatoprotektor pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksis. *Jurnal Ilmiah Kedokteran* 5: 58-66.
- Mere, c.y.l. 2016. Air kelapa dan air buah lontar sebagai modifikasi pengencer alternatif pada semen babi landrace. *Skripsi*. Fakultas kedokteran hewan, universitas nusa cendana.
- Paulenz, H., Kommisrud, E. and Hofmof, P.O. 2000. Effect of Long-Term Storage at Different Temperatures on The Quality of Liquid Boar Semen. *Animals Reproduction Domestic*. 35: 83-85.
- 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.
- Rizal, m. Dan thahir, m. 2016. Daya hidup spermatozoa kambing peranakan etawa yang dipreservasi dengan berbagai jenis pengencer. *Jitro*. 3(3) : 81-89
- Situmorang P, Triwulaningsih E, Lubis A, Caroline W, Sugiarti T. 2000. Pengaruh Proline, Carnitine Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Yang Disimpan Dalam Suhu 5oc (Chilling Semen). *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(1): 1-6.
- Sitepu SA, Udin Z, Jaswandi, Hendri. 2018. Quality differences of Boer liquid semen during storage with addition sweet orange essential oil in tris yolk and gentamicin extender. *Journal of Community Service and Research* 1: 78-82.
- Sumardani NLG, Tuty LY, Siagian PH. 2008. Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda. *Media Peternakan* 31(2): 81-86.
- Sokunbi OA, Ajani OS, Lawanson AA, Amao EA. 2015. Antibiotic potential of moringa leaf (*Moringa oleifera Lam*) crude extract in bull semen extender. *European Journal of Medicinal Plants* 9: 1-8.
- Tamoes, J.A., Nalley, W.M dan Mata Hine, T. 2014, Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco dengan Susu Kacang Kedelai. *Jurnal Sains Peternakan*, 20(1):20-30.
- Yani A, dan Nuryadi P. 2001. Pengaruh tingkat substitusi santan kelapa pada pengencer tris kuning telur dan waktu penyimpanan terhadap kualitas semen kambing etawa. *Jurnal Biosains*, 1(1), 12–15.



© 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY SA) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).