

## **PERBANDINGAN KUALITAS SEMEN BABI LANDRACE DALAM PENGECER BELTSVILLE THAWING SOLUTION DENGAN ATAU TANPA PLASMA SEMEN DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam)**

Arnolda Astuti Adu<sup>1</sup>, W Marlene Nalley<sup>2</sup>, Yustiani Yualiana Bette<sup>3</sup>, Kirenius Uly<sup>4</sup>

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas semen babi landrace dalam pengencer beltsville thawing solution (BTS) dengan atau tanpa plasma semen dengan penambahan ekstrak etanol daun kelor (EEDK). Materi yang digunakan adalah semen segar babi landrace jantan yang berumur 2 tahun dalam kondisi yang baik dan sudah terlatih dalam penampungan semen. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 2 perlakuan dan 5 kali ulangan. Perlakuan tersebut terdiri atas P1 = BTS-KT + 2% EEDK dengan plasma semen, P2 = BTS-KT + 2% EEDK tanpa plasma semen. Semen yang sudah diencerkan disimpan dalam styrofoam box pada suhu 18-20o C dan untuk evaluasi semen terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa dilakukan setiap 8 jam penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan kualitas semen babi landrace dengan plasma semen dalam pengencer BTS-KT + 2% EEDK mempunyai kualitas yang lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan P2 selama 40 jam penyimpanan, dengan nilai motilitas ( $43,80 \pm 2,16\%$ ), viabilitas ( $58,22 \pm 2,64\%$ ), abnormalitas ( $5,47 \pm 0,88\%$ ), dan nilai daya tahan hidup ( $41,48 \pm 3,08$  jam). Dapat disimpulkan bahwa kualitas semen babi landrace dengan plasma semen dalam pengencer BTS-KT + 2% EEDK lebih efektif dalam mempertahankan kualitas semen babi.

**Kata Kunci:** – Babi Landrace, Beltsville Thawing Solution, Ekstrak Etanol Daun Kelor, Plasma Semen.

**Abstract:** *This study aims to determine the comparison of the quality of landrace boars semen in the Beltsville Thawing Solution (BTS) diluent with or without semen plasma with the addition of Moringa leaf ethanol extract (MLEE). The material used was fresh semen from landrace boars aged 2 years in good condition and trained in semen storage. This research used experimental methods and a completely randomized design consisting of 2 treatments and 5 replications. The treatment consists of T1 = BTS-EY + 2% MLEE with semen plasma, T2 = BTS-EY + 2% MLEE without semen plasma. The diluted semen was stored in a styrofoam box at a temperature of 18-20oC and evaluation of the semen for motility, viability, abnormalities and survival of spermatozoa was carried out every 8 hours of storage. The results showed that the quality of landrace boars semen with semen plasma in BTS-EY + 2% MLEE diluent was of higher quality ( $P < 0.05$ ) than T2 during 40 hours of storage, with a motility value of ( $43.80 \pm 2.16\%$ ), viability ( $58.22 \pm 2.64\%$ ), abnormality ( $5.47 \pm 0.88\%$ ), and survival value ( $41.48 \pm 3.08$  hours). It can be concluded that the semen quality of landrace boars with semen plasma in BTS-EY + 2% MLEE diluent was more effective in maintaining the quality of boars semen.*

**Keywords:** *Beltsville Thawing Solution, Moringa Leaf Ethanol Extract, Semen Plasma Landrace Pigs.*

### **PENDAHULUAN**

Produksi sperma seringkali mengalami kendala dalam penyimpanan karena sperma babi sensitif terhadap perubahan suhu. Selama penyimpanan, semen mengalami peristiwa kejutan dingin (cold shock). Peristiwa ini akan mengakibatkan terjadinya penurunan kualitas yang ditandai dengan penurunan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa (Guthrei dan Weich, 2012).

Semen terdiri dari sel spermatozoa dan plasma semen yang dapat digunakan untuk pembuahan. Ciri-ciri semen babi adalah mempunyai volume yang banyak dengan

konsentrasi yang rendah. Untuk memperoleh konsentrasi yang tinggi dalam program pembuatan semen beku perlu dilakukan pemisahan plasma dari spermatozoa, selain itu karena adanya gelatin dapat mengurangi daya gerak dari spermatozoa dan cold shock spermatozoa. Pemisahan plasma semen juga telah dilakukan oleh Aboagla dan Terada (2004); Rizal et al. (2008) pada semen kambing yang menyebabkan terjadinya koagulasi ketika dicampurkan dalam pengencer yang mengandung kuning telur. Hal ini disebabkan adanya enzim fosfolipase A yang dapat menghidrolisis lesitin dari kuning telur menjadi asam lemak dan lisolesitin, keduanya bersifat toksi bagi spermatozoa kambing.

Sementara itu, plasma semen juga berfungsi untuk menunjang daya hidup spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan, mengandung berbagai nutrisi dan mengandung buffer yang menjaga pH medium serta berbagai zat lain yang dapat berfungsi sebagai senyawa kriptoprotektif (Souhoka et al., 2019). Menghilangkan plasma semen merupakan salah satu metode untuk mengatasi terjadinya kejutan dingin (Rizal et al., 2008). Upaya mengatasi terjadinya kejutan dingin yaitu dengan menambahkan bahan pengencer yang tepat guna menjaga kualitas spermatozoa.

Beltsville thawing solution (BTS) merupakan bahan pengencer yang sering digunakan, 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 memberi nutrisi pada spermatozoa, ada juga natrium bikarbonat dan natrium sitrat yang berperan sebagai buffer yang dapat menjaga kestabilan pH untuk kelangsungan hidup dari sperma. Dilihat dari komposisinya BTS tidak memiliki kandungan bahan yang mampu melindungi sel sperma terhadap serangan radikal bebas atau yang biasa disebut Reactive Oxygen Species (ROS). Daun kelor merupakan salah satu bahan yang kaya akan antioksidan. Daun kelor (*Moringa oleifera lam*) mengandung antioksidan flavonid, saponin, alkoid, tanin, fenol, carotenoids, tocopherols, dan ascorbic acid (Putra et al., 2016).

## **METODE PENELITIAN**

### **Lokasi Dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Yayasan Williams dan Laura, di Tilong Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT). Penelitian ini dilaksanakan selama 6 minggu yang terbagi atas periode persiapan, pengumpulan data dan analisis data.

### **Materi Penelitian**

Ternak yang digunakan sebagai sumber sperma dalam penelitian ini adalah babi jantan landrace dengan umur 2 tahun, yang telah mencapai dewasa kelamin, keadaan sehat, dan telah terlatih untuk ditampung semen. Jenis pengencer yang digunakan adalah ekstrak etanol daun kelor dan BTS.

### **Metode penelitian**

Metode penelitian yang digunakan adalah percobaan (eksperimen), dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 2 perlakuan dan 5 ulangan. Adapun rancangannya disusun sebagai berikut P1= BTS -KT + 2% EEDK dengan plasma semen P2= BTS -KT + 2% EEDK tanpa plasma semen.

### **Tahap Persiapan Pengencer**

#### **Penyiapan Kuning Telur**

Mengambil telur ayam yang baik kemudian membersihkannya dengan kapas yang telah dibasahi dengan alcohol 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 cara menempatkan pada kertas saring agar semua putih telur terserap habis. Pecahkan selaput vitelinnya, kemudian masukan kuning telur kedalam gelas ukur dan siap digunakan sesuai yang dibutuhkan.

### **Penyiapan Pengencer BTS**

Pembuatan pengencer BTS, terlebih dahulu BTS ditimbang. Banyaknya BTS yang ditimbang adalah 50 gram, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan tambahkan 100 mL aquades, homogenkan menggunakan stirrer dan spin bar. Setelah dihomogenkan BTS akan disimpan sebagai stok.

### **Penyiapan Ekstrak Daun Kelor**

Memilih daun kelor yang baik, bentuknya masih utuh dan warnanya hijau. Kemudian diangin-anginkan dalam suhu ruangan, daun kelor yang telah dikeringkan kemudian diblender hingga halus. Ditimbang 260 gram serbuk 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 40oC sampai diperoleh ekstrak semi solid.

### **Penyiapan BTS-Kuning Telur**

Penyiapan pengencer BTS-KT dilakukan dengan cara mencampurkan 90 mL larutan BTS dan tambahkan 10 mL KT atau 9:1 kemudian dihomogenkan menggunakan stirrer dan spin bar. Setelah dihomogenkan larutan BTS-KT ditambahkan 2% EEDK dan pengencer siap digunakan

### **Evaluasi Dan Pengenceran Semen**

Semen yang diperoleh segera di evaluasi untuk mengetahui kualitasnya, semen yang memenuhi syarat yaitu motilitas >70%, abnormal <20% dibagi dalam dua tabung dengan volume yang sama kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000rpm selama 30 menit selanjutnya supermatan dibagi kedalam pengencer perlakuan yang telah tersedia

### **Variabel Penelitian**

Variabel yang diteliti adalah:

1. Motilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa melakukan gerak maju atau progresif. Pengamatan motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10×40, pada 10 lapang pandang yang berbeda. Nilai yang diberikan antar 5-100 dengan skala 5%.
2. Viabilitas spermatozoa. Viabilitas spermatozoa adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa (Sukmawati et al., 2014). Viabilitas spermatozoa diketahui dengan mengamati preparat hasil pewarnaan differensial (eosin-negrosin) menggunakan mikroskop. Dimana spermatozoa hidup memiliki kepala berwarna putih sedangkan yang mati berwarna merah.

Rumus perhitungan viabilitas spermatozoa adalah :

$$\text{Viabilitas} = (\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}) / (\text{Total spermatozoa yang terhitung}) \times 100\%$$

3. Abnormalitas. Abnormalitas spermatozoa dapat dibedakan menjadi abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Penentuan abnormalitas spermatozoa adalah perbandingan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa normal (Fitrik dan Supartini, 2012).

$$\text{Abnormalitas} = (\text{Jumlah spermatozoa abnormal}) / (\text{Jumlah spermatozoa yang terhitung}) \times 100\%$$

4. Daya tahan hidup. Daya tahan hidup spermatozoa dihitung berdasarkan periode lama penyimpanan sperma hingga nilai motilitas minimal 40%.

$$\frac{\text{Motilitas diatas standar} - \text{Standar Motilitas}}{\text{Motilitas diatas standar} - \text{Motilitas dibawah standar}} \times \text{WP} + \text{Jam motilitas diatas standar}$$

### **Analisis Data**

Analisis data diawali dengan menghitung rata-rata standar deviasi kemudian dilanjutkan

dengan analysis of variance (Anova) serta dilanjutkan dengan uji T. Data dianalisis menggunakan software. SSPSm 26.0 for window. Microsoft officeexcel 2010.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif sehingga bisa melewati saluran reproduksi babi betina menuju ke tempat ampula tuba fallopi untuk membuahi sel telur. Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan setiap delapan jam hingga kualitas spermatozoa menjadi 40% (SNI, 2023).

Tabel 1. Motilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer perlakuan

Jam ke-	Perlakuan		P Value
	P1	P2	
0	80,00±0,00 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	0,141
8	75,00±0,00 <sup>a</sup>	73,00±2,73 <sup>a</sup>	0,141
16	69,60±0,89 <sup>a</sup>	61,00±4,18 <sup>b</sup>	0,002
24	67,20±5,21 <sup>a</sup>	49,00±2,23 <sup>b</sup>	0,000
32	52,00±2,73 <sup>a</sup>	32,00±6,70 <sup>b</sup>	0,000
40	43,80±2,16 <sup>a</sup>	22,00±6,70 <sup>b</sup>	0,000
48	31,60±7,09 <sup>a</sup>	16,00±5,47 <sup>b</sup>	0,000

Keterangan: a, b superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Berdasarkan hasil analisis statistik, motilitas spermatozoa babi landrace setelah pengenceran jam ke 0 dan jam ke 8 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ( $P > 0,05$ ) pada P1 dan P2. Sedangkan pada jam ke-16, jam ke-24, jam ke-32, jam ke-40 dan jam ke-48 menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan ( $P < 0,05$ ). Penurunan motilitas selama penyimpanan dapat disebabkan oleh aktivitas seluler, sehingga substrat energi di dalam plasma semen babi cepat habis karena terjadi penimbunan asam laktat sebagai sisa metabolisme dengan konsentrasi tinggi dan bersifat toksik untuk spermatozoa (Sumardani et al., 2008).

Nilai motilitas tertinggi dalam penelitian ini adalah P1 dengan nilai yang diperoleh sebesar 43,80±2,16%, dan nilai persentase motilitas terendah pada P2 yaitu 22,00±6,70% pada jam pengamatan ke 40. Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian Fafo et al. (2016) yang menyatakan bahwa pada suhu yang sama dapat mempertahankan motilitas spermatozoa babi landrace berkisar 42,00±7,58% selama 24 jam dengan menggunakan sitrat kuning telur dan ekstrak daun kelor 5%. Namun hasil penelitian Bean (2023) lebih tinggi dari hasil penelitian ini dimana motilitas spermatozoa babi landrace 63,20±2,94% selama 24 jam dengan pengencer BTS dan ekstrak daun kelor 2%.

Menurut data Tabel 5, nilai motilitas spermatozoa pada P1 lebih tinggi dari P2 pada jam ke 40, hal ini karena komponen yang terpenting di dalam plasma semen seperti ion, protein dan metabolit lainnya masih tersedia dan aktif bekerja untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup serta melindungi membran plasma dan akrosom spermatozoa selama proses penyimpanan dan pembekuan. Plasma semen berperan dalam meningkatkan motilitas dan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan, pembekuan dan thawing (Maxwell dan Johnson 1999). Plasma semen juga berperan dalam mengurangi kerentanan spermatozoa terhadap kejutan dingin (Weitze dan Petzoldt, 1992).

Hasil analisis statistik juga menunjukkan bahwa menghilangkan plasma semen pada semen segar tidak memberikan dampak positif pada spermatozoa karena didalam plasma semen terdapat ion-ion, protein dan metabolit lainnya yang tetap tersedia dan aktif bekerja

untuk mempertahankan motilitas serta melindungi membran plasma dan akrosom spermatozoa (Tambing et al., 2008). Walaupun banyak penelitian yang melaporkan bahwa pemisahan plasma semen memberikan pengaruh yang baik pada motilitas spermatozoa, salah satunya pada spermatozoa kuda (Brinsko et al., 2000) tetapi pada keledai perlakuan menghilangkan plasma semen menunjukkan pengaruh yang positif (Rota et al., 2008). Moore et al. 2005) menyatakan bahwa menghilangkan plasma semen, pada penyimpanan jangka pendek plasma semen tidak menimbulkan efek yang signifikan terhadap motilitas spermatozoa tetapi apabila semen disimpan dalam jangka waktu yang lama maka akan menimbulkan efek yang dapat merusak spermatozoa.

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas adalah daya hidup sperma yaitu dengan mengamati jumlah sperma hidup dan mati dengan pewarnaan eosin-negrosin (Agarwal et al., 2016). Bebas et al. (2016) mengatakan bahwa sperma mati terkena eosin-negrosin berwarna merah sedangkan sperma hidup tampak transparan atau tidak berwarna.

Berdasarkan data Tabel 2 terlihat bahwa setiap perlakuan mengalami penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh kemampuan setiap pengencer dalam menyediakan nutrisi yang diperlukan untuk mempertahankan kehidupan sperma dan memperlambat penurunan tingkat keasaman melalui aktivitas metabolisme sperma (Fafu et al., 2016).

Tabel. 2 Viabilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer perlakuan (%)

Jam ke-	Perlakuan		P Value
	P1	P2	
0	90,35±2,80 <sup>a</sup>	90,31±2,78 <sup>a</sup>	0,983
8	83,60±3,68 <sup>a</sup>	69,72±1,57 <sup>a</sup>	0,456
16	82,01±2,34 <sup>a</sup>	69,60±3,55 <sup>b</sup>	0,000
24	77,45±1,24 <sup>a</sup>	60,55±3,35 <sup>b</sup>	0,000
32	67,11±1,69 <sup>a</sup>	43,42±6,01 <sup>b</sup>	0,000
40	58,22±2,64 <sup>a</sup>	32,61±6,31 <sup>b</sup>	0,000
48	47,53±6,61 <sup>a</sup>	24,73±0,95 <sup>b</sup>	0,000

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

Hasil analisis statistik terhadap viabilitas spermatozoa babi landrace menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan saat penyimpanan jam ke 0 ( $P > 0,05$ ). Namun pada jam penyimpanan ke 8 sampai ke 48 menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ( $P < 0,05$ ). Semakin lama waktu penyimpanan, maka ketersediaan nutrisi bagi spermatozoa semakin berkurang sehingga spermatozoa tidak dapat asupan nutrisi sehingga berdampak pada menurunnya daya hidup spermatozoa (Tamoës et al., 2014). Penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan juga dengan bertambahnya jumlah spermatozoa yang matidan rusak akibat keterbatasan energi (Susilawati et al., 2013).

Berdasarkan data Tabel 6, nilai viabilitas spermatozoa tertinggi saat jam penyimpanan ke 40 terdapat pada P1 dengan rerata 58,22±2,64%. Hal ini menunjukkan bahwa dalam plasma mani, komponen yang lebih penting seperti ion, protein dan metabolit tetap tersedia dan bekerja secara aktif menjaga dan melindungi membran plasma dan akrosom spermatozoa pada proses penyimpanan dan pembekuan (Nugroho, 2003). Menurut Maxwell dan Johnson (1999), Menurut Maxwell dan Johnson, plasma semen berperan dalam meningkatkan motilitas sperma dan viabilitas selama penyimpanan, pembekuan dan pencairan. Plasma semen juga berperan dalam mengurangi kerentanan spermatozoa terhadap kejutan dingin (Weitze dan Petzoldt, 1992).

Penurunan viabilitas sperma lebih banyak pada P2, disebabkan hilangnya zat dan substrat lain yang terkandung dalam plasma semen tidak dapat tergantikan seluruhnya oleh substrat keduanya. sebagai sumber energi dan sebagai sumber. Salah satu substrat plasma mani yang mempengaruhi membran plasma adalah lemak. Perbandingan konsentrasi kolesterol dan fosfolipid yang asimetris akan membuat membran sel sangat sensitif terhadap guncangan karena plasma sperma dikeluarkan, otomatis kandungan kolesterol dan fosfolipid menjadi tidak ada, demikian plasma akan mudah rusak akibat sengatan dingin, hal ini akan mempengaruhi fungsi membran, seperti meningkatkan permeabilitas terhadap kation dan enzim. (Johnson et al., 2000).

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa**

Abnormalitas spermatozoa adalah kelainan fisik yang terjadi akibat proses pembentukan sperma pada tubulus seminiferus atau proses pergerakan sperma melalui alat kelamin pria dan merupakan indikator penting untuk menentukan kualitas sperma. Sperma yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, kelainan tersebut terjadi pada tubulus seminiferus atau pada saluran kelamin laki-laki atau pada saat ejakulasi, dan sperma yang masih dapat digunakan adalah sperma yang mempunyai kelainan spermatozoa yang harus kurang dari 20% (SNI, 2023). Kelainan sperma pada penelitian ini bersifat sekunder, seperti patah atau ekor patah, yang banyak ditemukan dalam penelitian ini. Kelainan sekunder dapat disebabkan oleh kesalahan persiapan atau ejakulasi dan pada saat pewarnaan preparasi.

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer perlakuan (%)

Jam ke-	Perlakuan		P Value
	P1	P2	
0	3,49±1,09 <sup>a</sup>	3,49±0,95 <sup>a</sup>	0,998
8	3,66±1,10 <sup>a</sup>	3,87±1,17 <sup>a</sup>	0,787
16	4,22±1,03 <sup>a</sup>	4,76±1,38 <sup>a</sup>	0,500
24	4,78±1,02 <sup>a</sup>	5,62±1,55 <sup>a</sup>	0,344
32	5,06±2,73 <sup>a</sup>	6,26±1,38 <sup>a</sup>	0,139
40	5,47±0,88 <sup>a</sup>	6,88±1,30 <sup>a</sup>	0,081
48	6,07±1,00 <sup>a</sup>	8,19±0,95 <sup>a</sup>	0,009

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

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata terhadap abnormalitas spermatozoa ( $P > 0,05$ ). Persentase abnormalitas spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini adalah 3,49-8,19. Hasil penelitian ini masih rendah dengan hasil penelitian Fafu et al. (2016) yang memperoleh nilai berkisar 7,40-16,10. Hasil penelitian ini masih baik dan layak karena, laporan Foeh (2015) persentase abnormalitas spermatozoa mencapai 11,1% dan penelitian yang dilakukan oleh Nahak et al. (2022) persentase abnormalitas spermatozoa babi mencapai 10,5% sedangkan persentase normal abnormalitas spermatozoa per ejakulat tidak boleh lebih dari 20 % (Johnson et al., 2000).

Nilai abnormalitas meningkat sejalan dengan waktu penyimpanan. Peningkatan ini disebabkan tidak hanya pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan namun juga disebabkan oleh adanya peroksidasi lipid (Suyadi dan Iswanto, 2012). 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 (Wilandri. 2013). Kerusakan membran plasma dapat terjadi

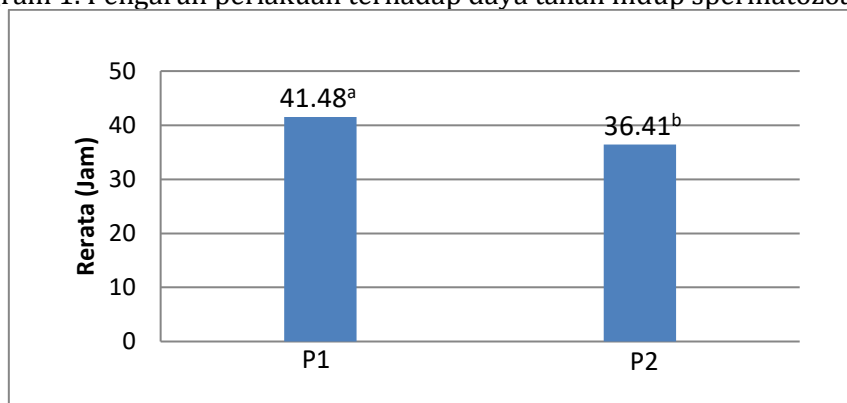
karena protein dari plasma sendiri, dimana protein plasma beraksi dengan lipid penyusun membran plasma sehingga dapat merusak membran plasma spermatozoa (Bebas dan Gorda. 2016).

Ihsan, (2008) menjelaskan bahwa pendinginan menyebabkan peningkatan abnormalitas dan kerusakan sel namun masih dapat diatasi dengan adanya pengencer yang mengandung kuning telur yang didalamnya mengandung lesitin dan lipoprotein, serta penambahan antioksidan. Zat-zat tersebut berfungsi mempertahankan integritas selubung lipoprotein dari sel dan mencegah cekaman dingin.

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa**

Daya tahan hidup merupakan jumlah satuan waktu (jam) yang dibutuhkan spermatozoa hingga motilitas progesifnya menurun hingga 40% (Hine et al., 2014). Daya tahan hidup spermatozoa pada penelitian ini dapat dilihat pada Diagram 1.

Diagram 1. Pengaruh perlakuan terhadap daya tahan hidup spermatozoa



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

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap daya tahan hidup, pada P1 menunjukkan daya tahan hidup spermatozoa lebih tahan lama yaitu  $41,48 \pm 3,08$  jam. Tingginya daya tahan hidup spermatozoa disebabkan karena didalam plasma semen mengandung komponen-komponen seperti ion-ion, protein dan metabolit lainnya yang tetap tersedia dan aktif bekerja untuk mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup serta melindungi membran plasma dan akrosom spermatozoa (Nugroho. 2003). Sedangkan penurunan daya tahan hidup spermatozoa pada P2 disebabkan karena hilangnya zat-zat makanan dan substrat lainnya terdapat plasma semen yang tidak dapat diganti secara keseluruhan oleh substrat yang ada pada pengencer, baik sebagai sumber energi maupun sumber krioprotektif (Nugroho. 2003).

Rataan daya tahan hidup yang di peroleh yaitu  $41,48 \pm 3,08\%$ , relatif lebih tinggi dari hasil penelitian Nahak et al. (2023) yang memperoleh daya tahan hidup sebesar  $27,72 \pm 2,48\%$ . Hasil penelitian ini masih rendah dibandingkan hasil penelitian Bean et al. (2023) yang memperoleh nilai sebesar  $45,35 \pm 1,74$ . Bebas et al. (2016) menyatakan lama waktu penyimpanan berpengaruh terhadap penurunan daya hidup spermatozoa babi. Hal ini membuktikan semakin lama penyimpanan maka spermatozoa yang mati semakin banyak akibat perubahan kondisi larutan pengencer dan menurunnya zat-zat makanan sebagai sumber energi (Solihati et al., 2006). Kemampuan hidup spermatozoa dalam larutan pengencer semen dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, banyak sedikitnya zat-zat makanan yang tersedia dalam bahan pengencer, terjaganya keseimbangan elektrolit dan tekanan osmotik dalam penyimpanan (Tabatabaei et al., 2009).

Secara umum penyebab penurunan daya tahan hidup dan percepatan kematian

spermatozoa adalah karena keterbatasan jumlah penyangga didalam plasma semen dan juga akibat terjadinya penurunan pH karena penimbunan asam laktat yang terjadi dalam keadaan respirasi anaerob. Hal lain juga karena tidak adanya unsur pelindung didalam plasma semen sehingga ketika spermatozoa disimpan pada suhu yang rendah maka terjadi kerusakan membran sel dan berakibat pada kematian. Kehabisan substrat energi yang terjadi selama penyimpanan dapat menyebabkan proses glikolisis untuk menghasilkan energi tidak dapat berlangsung. Dalam kondisi tanpa oksigen, suplai energi bagi spermatozoa terutama disumbangkan melalui jalur glikolisis. Mukai dan Okuno (2004), menunjukkan bahwa glikolisis dapat mengimbangi kekurangan produksi ATP oleh mitokondria dalam mempertahankan motilitas spermatozoa mencit, dan gangguan terhadap mitokondria dapat menekan motilitas sperma hanya ketika proses glikolisis terhambat. Dengan demikian, penghambatan proses glikolisis akan menyebabkan kematian spermatozoa.

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semen babi landrace dalam pengencer BTS kuning telur dengan ekstrak etanol daun kelor dengan plasma semen lebih efektif dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace.

memiliki motilitas dan viabilitas lebih baik dibandingkan dengan BTS kuning telur dengan ekstrak etanol daun kelor tanpa plasma semen selama penyimpanan 40 jam dengan motilitas ( $43,80 \pm 2,16\%$ ), dan viabilitas ( $58,22 \pm 2,64\%$ ).

## **Saran**

Perlu dilakukan penelitian lanjut terkait penggunaan plasma semen atau tanpa plasma semen dalam menunjang keberhasilan IB.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Adu, W., Hine, T., Marawali, A., and Nalley, W. M. 2023. Spermatozoa quality of Landrace Boar in Beltsville thawing solution diluent with various levels of moringa leaf extract. *Jurnal Ilmu Peternakan Terapan*, 7(1), 1-9.
- Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. 2016. Eosin-nigrosin staining procedure. *Andrological Evaluation of Male Infertility: A Laboratory Guide*, 73-77.
- Ax RL, Dally M, Didion BA, Lenz RW, Love CC, Hafes B. Bellin, ME. 2000. Semen Evaluation. In: *Reprod in Farm Anim*. Hafes B. Hafes ESE (Ed). 7th ed. Pp. 365-389.
- Banamtuan, A. N., Nalley, W. M., dan Hine, T. M. 2021. Kualitas semen cair babi duroc dalam pengencer durasperm yang disuplementasi air buah lontar dan sari tebu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(1), 41-48.
- Bean A. Peni. 2023. Pengaruh Penambahan Ekstraksi Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lam) Dalam Pengencer Semen Life Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. In *Prosiding Joint Seminar Nasional*. Undana Press.
- Bebas W, Buyona GL, Budiasa MK. 2016. Penambahan vitaminE pada pengencer BTS® terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi landrace pada penyimpanan 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1): 1-7
- Bennett, R. N., Mellon, F. A., Foidl, N., Pratt, J. H., Dupont, M. S., Perkins, L., and Kroon, P. A. 2003. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(12), 3546-3553.
- Bibancos, M., Vaz, R. M., Mega, P. F., Borges Jr, E., Ribeiro, M., Buttros, D., and Garolla, A. 2021. Sperm selection for micro TESE-ICSI in Non-Obstructive azoospermia, a case report. *JBRA Assisted Reproduction*, 25(4), 653.
- Bibancos, M., Vaz, R. M., Mega, P. F., Borges Jr, E., Ribeiro, M., Buttros, D., and Garolla, A. 2021.



- Sperm selection for micro TESE-ICSI in Non-Obstructive azoospermia, a case report. *JBRA Assisted Reproduction*, 25(4), 653.
- Brinsko SP, Crockett EC, Squires EL. 2000. Effect of centrifugation and partial removal seminal plasma on equine spermatozoa motility after cooling and storage. *Theriogenology* 54(1): 129-136
- 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. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), 184-195.
- Feka, W. V., Dethan, A. A., dan 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.
- Feradis. 2009. Peran Antioksidan dalam Pembekuan Semen. *Jurnal Peternakan*, 6(2): 63-70.
- Foeh, N. D. F. K., Arifiantini, R. I. I. S., dan Yusuf, T. L. 2015. Kualitas semen beku babi dalam pengencer BTS dan MIII menggunakan krioprotektan dimethylacetamide dan gliserol dengan sodium dedocyl sulphate. Institut Pertanian Bogor.
- Foeh, N., Gaina, C., dan Tophianong, T. 2022. Kualitas Semen Segar dan Semen Cair Babi Landrace Asal Naioni Kabupaten Kupang Dengan Sistem Pemeliharaan Intensif. *Jurnal Kajian Veteriner*, 10(1), 61-66.
- Garner, DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In: E.S.e, Hafez (Ed). *Reproduction in Farm Animals*, 7th Ed. Lea and Fibiger. Philadelphia.
- Guthrie, H. D., and Welch, G. R. 2012. Effects of reactive oxygen species on sperm function. *Theriogenology*, 78(8), 1700-1708.
- Herdis., dan M. Rizal. 2008. *Inseminasi Buatan Pada Domba*. Rineka Cipta. Jakarta. 33-34, 39.
- Johnson, L. A. 1999. Comparison of Flow Cytometric and Morphological Assessment on Viability of Spermatozoa during Freezing Process of Boar Semen. *Journal of Embryo Transfer*, 14(1), 69-77.
- Johnson, L.A. Weitze, K.F., Fiser, P., Maxwell, W.M.C., 2000. Storage of boar semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62(1-3), 143-172.
- Kaka, A. 2020. Karakteristik dan Daya Fertilitas Spermatozoa Babi Peranakan Landrace. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 22(3), 277-283.
- Lawa, A. B., Hine, T. M., dan Nalley, W. M. 2021. Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil, Minyak Ikan dan Minyak Zaitun dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(2), 135-141.
- Mere CYL, Gaina CD, dan Foeh NDFK. 2016. Air Kelapa dan Air Buah Lontar Sebagai Pengencer Alternatif Pada Semen babi Landrace. *Jurnal Veteriner Nusantara*. 2(2): 20-29.
- Mesang-Nalley, W. M., Handarini, R., dan Purwantara, B. 2007. Viabilitas spermatozoa rusa Timor (*Cervus timorensis*) di dalam pengencer tris kuning telur dengan sumber karbohidrat berbeda yang disimpan pada suhu ruang. *JITV*, 12(4), 311-317.
- Moore AI, Squires EL, Graham JK. 2005. Effect of seminal plasma on the cryopreservation of equine spermatozoa. *Animal Reproduction* 63(9): 2372-2381.
- Nahak C. Stefania. 2023. Pengaruh Penambahan Pengencer Natrium Klorida Fisiologis-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. In *Prosiding Joint Seminar Nasional*. Undana Press.
- Nahak, S., and Sudita, I. D. N. 2022. Effect of Male Mating Time on Landrace Pig Reproduction. *Agriwar Journal*, 2(2), 44-48.
- Paulenz, H., Kommisrud, E., and Hofmo, P. O. 2000. Effect of long-term storage at different temperatures on the quality of liquid boar semen. *Reproduction in domestic animals*, 35(2), 83-87.
- 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.
- Purwanti, S. 2006. Pengaruh Penggunaan Berbagai Macam Pengencer terhadap Motilitas, pH dan

- Daya Hidup Spermatozoa Selama Proses Pembuatan Semen Beku Ayam Kampung. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang.
- Putra, I. W. D. P., Dharmayudha, A. A. G. O., dan Sudimartini, L. M. 2016. Identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), 464-473.
- Rihimanging, M. A., Hine, M. T., Burhanudin. 2013. Pengaruh Suplementasi Susu Milea dalam Pengencer Zorlesco terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Babi Landrace. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*. 103-112.
- Robert, V. K. 2006. Semen processing, extending and storage for artificial insemination in swine. Dep. Of Animal Science University of Illinois.
- Rota A, Magelli C, Panzani D, Camillo F. 2008. Effect of extender, centrifugation and removal of seminal plasma on cooled-preserved Amiate donkey spermatozoa. *Theriogenology* 69(2): 176-185.
- Souhoka, D. F., Matatula, M. J., Mesang-Nalley, W. M., dan Rizal, M. 2009. Laktosa mempertahankan daya hidup spermatozoa kambing peranakan etawah yang dipreservasi dengan plasma semen domba priangan. *Jurnal Veteriner*, 10(3), 135-142.
- Sumardani, N.L.G., Budaarsa, K., Putri, T.I., Puger, A.W. 2019. Age affects semen volume dan motility of spermatozoa landrace boar's of baturiti artificial insemination center, Tabanan, Bali. *J. Vet.* 20(3), 324-329.
- Susilawati, T. 2011. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi Peranakan Ongole. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*, 12(2), 15-24.
- Suyadi, A. R., & Iswanto, N. 2012. Pengaruh  $\alpha$ -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethane kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 5oC. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan*, 22(3), 1-8.
- Tabatabaei, S., Batavani, R. A., and Talebi, A. R. 2009. Comparison of semen quality in indigenous and Ross broiler breeder roosters. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(1), 90-93.
- Tambing, S. N., Utama, I. K., dan Sariubang, M. 2008. Efektivitas konsentrasi kuning telur di dalam pengencer tris dengan dan tanpa plasma semen terhadap kualitas semen beku kambing Saanen. *JITV*, 13(4), 315-322.
- Tamoes, J.A., W.M. Nalley. T.M Hine. 2014. Fertilitas spermatozoa babi Landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai *Sains Peternakan*, 12 (1): 20-30.
- Waluwanja, Y. U. D., Nalley, W. M., Hine, T. M., and Uly, K. 2019. Efektivitas Berbagai Konsentrasi Minyak Zaitun Ekstra Virgin (*Oleum Olivae*) Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur (The Effectivity of Various Virgin Extra Oil Concentration (*Oleum Olivae*) in Citrate Egg-Yolk Diluent on the Quality of Duroc Liquid Semen). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 6(2), 55-62.
- Yusuf, T. L., Arifiantini, R. I. Dapawole, R. R., Nalley W. M. M. 2017. Kualitas Semen Baku Babi Dalam Pengencer Komersial Yang disuplementasi Dengan Trehalos. *Jurnal Veteriner*. 18 (1): 69-75.