

## **PENGARUH PENAMBAHAN LEVEL BOVINE SERUM ALBUMIN DALAM PENGECER TRIS-KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPEMATOZOA BABI LANDRACE**

Ayustina Jedia<sup>1</sup>, Kirenus Uly<sup>2</sup>, F. M. S.Telupere<sup>3</sup>, Petrus Kune<sup>4</sup>

**Abstrak:** Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh level bovine serum albumin (BSA) dalam pengencer tris-kuning telur (T-KT) terhadap kualitas semen cair babi landrace. Materi penelitian adalah semen segar yang berasal dari satu ekor babi landrace yang berumur 2 tahun. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan dan lima ulangan yaitu: P0 =T-KT, P1=T-KT + BSA 0,1%, P2 =T-KT+ BSA 0,2%, P3=T-KT+BSA 0,3%, P4=T-KT+BSA 0,4%. Semen yang telah diencerkan disimpan pada suhu 18-20°C. Variabel penelitian meliputi: motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup (DTH) spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P2 menghasilkan kualitas spermatozoa yang lebih tinggi dari pada keempat perlakuan lainnya ( $P < 0,05$ ), dengan motilitas  $52,00 \pm 2,73\%$ , viabilitas  $57,40 \pm 2,07\%$ , abnormalitas  $9,60 \pm 0,54\%$  dan DTH spermatozoa 54,54 jam. Disimpulkan bahwa dengan penambahan level BSA 0,2% dan 0,3 % dalam pengencer tris-kuning telur dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap kualitas spermatozoa babi landrace.

**Kata Kunci:** Babi landrace, BSA, Tris, Kuning-telur, Spermatozoa..

**Abstract:** The aim of this study is to find out the influence of the level of bovine serum albumin in the tris-egg yolk diluent on the quality of the liquid semen of the landrace boar. The research material was fresh semen from a 2 years old landrace boar in healthy condition. The method was completely randomized design in which there were 5 treatments and 5 replicates, : T0=T-EY, T1=T-EY + BSA 0,1%, T2=T-EY +BSA 0,2%, T3=T-EY +BSA 0,3%, T4 =T-EY+BSA 0,4%. This diluted semen will be stored at a temperature of 18-20°C. Study variables include: motility, viability, abnormality, and survival of spermatozoa. The result showed that T2 produces higher quality of landrace pig sperms than the other four treatment ( $P < 0,05$ ), with motility  $52.00 \pm 2.73\%$ , viability  $57.40 \pm 2.07\%$ , abnormality  $9,60 \pm 0,54\%$ , and survival 54,54 hours. It could be concluded that the addition of BSA levels of 0.2% and 0,3% in the tris-egg yolk could a good effect on the quality of liquid boar semen of Landrace.

**Keywords:** BSA, Egg-yolk, Landrace boar, Spermatozoa, Tris

### **PENDAHULUAN**

#### **Latar Belakang**

Pencapaian tujuan program inseminasi buatan (IB) tergantung pada beberapa faktor diantaranya adalah kualitas semen yang digunakan (Tamoës et al., 2014). Semen adalah cairan atau suspensi semi gelatinous yang mengandung gamet jantan atau spermatozoa dan sekresi kelenjar pelengkap saluran reproduksi jantan, bagian cairan dari suspensi tersebut yang terbentuk pada ejakulat yang disebut plasma semen (Hafez, 2000). Semen segar tidak bertahan lama dalam penyimpanan in vitro yang diakibatkan oleh adanya kematian spermatozoa yang berlangsung secara cepat. Salah satu penyebab kematian spermatozoa adalah adanya serangan radikal bebas sebagai hasil dari proses transport elektron di mitokondria terhadap membran plasma spermatozoa (Hammerstedt, 1993). Oleh karena itu perlu dilakukan preservasi agar kualitas semen tetap dipertahankan dalam kurun waktu yang relatif lama. Bahan pengencer yang baik harus berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa, berfungsi sebagai buffer serta mampu mempertahankan pH dari semen tersebut. Syarat bahan pengencer yang lain yaitu tidak menghambat

pergerakan spermatozoa dan tidak bersifat toksik bagi spermatozoa. Agar sperma yang dihasilkan oleh seekor pejantan dimanfaatkan secara efisien maka semen ini dapat diencerkan untuk disimpan dalam waktu yang cukup lama dengan kualitas sperma yang baik. Kerusakan spermatozoa merupakan salah satu kendala dalam upaya mempertahankan semen pada suhu rendah. Selama penyimpanan spermatozoa membutuhkan nutrisi tambahan yang dapat melindunginya dari kejutan dingin, untuk menjaga kualitas semen itu sendiri dibutuhkan nutrisi tambahan yang diperoleh dari bahan pengencer yang berfungsi untuk mengurangi kepadatan dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa (Widjaya, 2011). Salah satu bahan pengencer yang dipakai dan umum adalah tris-kuning telur.

Pengencer dasar tris adalah bahan pengencer yang banyak mengandung zat nutrisi yang dapat memberikan kehidupan bagi spermatozoa karena tris sebagai sumber energi yang dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa dalam melakukan pengenceran. Tris-kuning telur (T-KT) memiliki kandungan yang relatif lengkap seperti Tris (hydroxymethyl aminometan), asam sitrat, dan fruktosa. Fruktosa merupakan gugus gula sederhana dengan bobot molekul kecil seperti glukosa dan umum digunakan sebagai sumber karbohidrat sebagai penyedia energi untuk menjalankan fungsi fisiologi sel dalam proses kriopreservasi (Naing et al., 2010). Komponen-komponen dalam T-KT dapat menjaga stabilitas pH, mempertahankan tekanan osmotik, menjaga keseimbangan elektrolit, mengikat butir-butir lemak, sumber energi, serta melindungi sel spermatozoa dari cold shock (Herdiawan., 2004). Sedangkan kuning telur mempunyai komponen berupa lipoprotein dan lesitin yang dapat mempertahankan dan melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (cold shock) (Robert, 2006). Kuning telur yang ditambahkan kedalam pengencer semen juga sebagai sumber energi karena mengandung agen protektif dan dapat memberikan efek sebagai penyangga terhadap spermatozoa. Ketersediaan sumber energi yang berasal dari glukosa merupakan salah satu persyaratan untuk pengencer semen yang baik, karena selama proses prservasi dibutuhkan bahan tambahan lain dalam mempertahankan kualitas spermatozoa.

Suhartono (2016) mengatakan bahwa metabolisme spermatozoa akan menghasilkan radikal bebas yang dapat merusak permeabilitas membran spermatozoa sehingga dibutuhkan penambahan antioksidan atau senyawa yang digunakan untuk mengatasi kerusakan oksidatif oleh radikal bebas dan menurunkan kecepatan autooksidasi. Salah satu bahan yang kaya antioksidan adalah Bovine Serum Albumin (BSA).

BSA merupakan salah satu sumber protein yang banyak mengandung asam amino. BSA berfungsi sebagai antioksidan sehingga mampu mensubsitusi penurunan konsentrasi berbagai bahan yang terkandung dalam plasma semen selama proses pengenceran, sehingga dapat menjaga stabilitas membrane sel spermatozoa (Gadea, 2003). Menurut penelitian A Rachmawati et al., (2020) Penambahan BSA dengan level 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 dan 1 % sebagai krioprotektan ekstraseluler mendukung fungsi kuning telur dalam CEP-2 untuk mencegah terjadinya kejutan dingin selama penyimpanan. Hasil penelitian menggunakan ejakulat dari semen segar sapi PO jantan memperoleh hasil terbaik dengan penggunaan BSA 0,2%.

## **METODE PENELITIAN**

Jenis penelitian ini adalah penelitian ekperimental dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan lima ulangan, sehingga terdapat 25 unit percobaan. Adapun perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: P0 =Tris Kuning Telur, P1=Tris Kuning Telur + BSA 0,1%, P2=Tris Kuning Telur + BSA 0,2%, P3=Tris Kuning Telur

+ BSA 0,3%, P4=Tris Kuning Telur + BSA 0,4%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas adalah gerak maju kedepan dari spermatozoa secara progresif. Oleh karena tujuan akhir dari pengenceran adalah untuk kegiatan inseminasi buatan maka daya gerak spermatozoa secara progresif (maju kedepan) menjadi patokan yang mutlak diperhitungkan. Motilitas sperma masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa babi landrace (%)

Jam-ke	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	84,00±2,24 <sup>a</sup>	84,00±2,24 <sup>a</sup>	84,00±2,24 <sup>a</sup>	84,00±2,24 <sup>a</sup>	84,00±2,24 <sup>a</sup>	1,000
12	72,00±2,73 <sup>b</sup>	72,00±2,73 <sup>b</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	77,00±4,47 <sup>a</sup>	72,00±2,73 <sup>b</sup>	0,009
24	62,00±2,73 <sup>b</sup>	62,00±2,73 <sup>b</sup>	72,00±2,73 <sup>a</sup>	70,00±3,53 <sup>a</sup>	65,00±3,53 <sup>b</sup>	0,000
36	50,00±0,00 <sup>b</sup>	52,00±2,73 <sup>b</sup>	62,00±2,73 <sup>a</sup>	59,00±2,23 <sup>a</sup>	59,00±2,23 <sup>a</sup>	0,000
48	41,00±2,23 <sup>c</sup>	41,00±2,23 <sup>c</sup>	52,00±2,73 <sup>a</sup>	50,00±3,53 <sup>ab</sup>	48,00±2,73 <sup>b</sup>	0,000
60	19,00±5,47 <sup>b</sup>	22,00±4,47 <sup>b</sup>	30,00±3,53 <sup>a</sup>	21,00±2,23 <sup>b</sup>	20,00±0,00 <sup>b</sup>	0,001

Keterangan: a, b, c Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) P0=T-KT, P1=T-KT+BSA 0,1%, P2= T-KT+BSA0,2%, P3=T-KT+ BSA 0,3%, P4=T-KT+BSA 0,4%

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa pada jam pengamatan ke 0 motilitas spermatozoa pada semua perlakuan adalah sama yaitu 84,00±2,24 %, hal ini menunjukkan bahwa belum ada perubahan kualitas dari spermatozoa yang dipreservasi dengan bahan pengencer Tris-kuning telur maupun pengencer BSA. Mulai jam pengamatan ke 12 sampai jam pengamatan ke 60 terjadi penurunan motilitas spermatozoa dengan tingkat penurunan yang berbeda-beda pada setiap perlakuan.

Penurunan motilitas spermatozoa diduga sebagai akibat karena adanya peroksidasi lipid yang terjadi pada membran plasma spermatozoa yang disimpan lama, demikian juga dengan laju penurunan nilai motilitas spermatozoa, makin lama waktu penyimpanan maka nilai motilitas spermatozoa yang diperoleh menjadi lebih rendah. Penyebab lain penurunan motilitas spermatozoa disebabkan oleh semakin berkurangnya nutrisi makanan yang tersedia dalam pengencer akibat penyimpanan yang terlalu lama. Hunter et al. (2011) dan Bebas et al. (2016) menyatakan bahwa penurunan motilitas adalah disebabkan oleh berkurangnya energi yang tersedia didalam medium, juga pengaruh suhu dingin yang dapat mengganggu keutuhan membran sel, menyebabkan semakin bertambahnya jumlah spermatozoa yang rusak akibat suhu dingin tersebut.

Pada jam pengamatan ke 12, nilai penurunan motilitas tertinggi terlihat pada pengencer P0, P1, dan P4 yaitu sama sebesar 12%, diikuti oleh P3 sebesar 7% dan yang paling rendah adalah pada perlakuan P2 yaitu 6%. Hingga jam pengamatan ke 60 preservasi, secara keseluruhan besaran dari penurunan persentase motilitas spermatozoa tertinggi yaitu pada perlakuan P0 mencapai 65%, diikuti perlakuan P4, P3 dan P1 masing-masing 64%, 63%, dan 62 % dan terendah terdapat pada P2 sebesar 54%.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada jam ke-0 penyimpanan persentase motilitas spermatozoa berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) sedangkan pada penyimpanan jam ke-12 sampai jam ke-60 perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap angka motilitas spermatozoa babi landrace. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa secara umum P2 dan P3 berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Demikian juga motilitas spermatozoa pada P0 dan P1 menunjukkan perbedaan yang tidak nyata tetapi P0 dan P1 berbeda nyata dengan

P4. Nilai motilitas pada P2 dan P3 terlihat lebih tinggi sampai dengan jam pengamatan ke 48 sebesar  $52,00 \pm 2,73$  dan  $50,00 \pm 3,53$  %, sementara pada P0, P1 dan P4 dengan nilai motilitas yang lebih rendah yaitu masing-masing  $41,00 \pm 2,23$ ,  $41,00 \pm 2,23$  dan  $48,00 \pm 2,73$  %. Tingginya motilitas pada P2 dan P3 memberikan petunjuk bahwa penambahan BSA level 0,2 dan 0,3 % merupakan dosis terbaik dengan konsentrasi BSA yang mampu beradaptasi secara sempurna dalam menunjang pemenuhan kebutuhan nutrisi maupun dalam memberikan perlindungan ekstra terhadap sel spermatozoa untuk bisa bergerak dengan motilitas yang progresif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gadea (2003) bahwa konsentrasi pengencer yang tepat adalah efektif dalam membantu menjaga kestabilan spermatozoa dan menjaga tekanan osmotiknya agar tetap stabil.

Rendahnya nilai motilitas pada perlakuan P0 dan juga pada P1 hal ini diduga disebabkan karena pada P0 tidak mempunyai krioprotektan ekstraseluler BSA yang memberikan perlindungan pada spermatozoa terhadap terjadinya proses oksidasi lipid yang menyebabkan terbentuknya ROS sehingga terjadinya serangan radikal bebas dan berdampak pada kerusakan membran sel spermatozoa. Menurut Rahman et al. (2015) ROS memiliki elektron tidak berpasangan, dapat mempengaruhi sifat fisiologi spermatozoa sehingga perlu diberikan perlindungan berupa pengencer dengan tambahan krioprotektan untuk menjaga kualitas spermatozoa pada saat proses kriopreservasi. Perumal et al. (2014) menyatakan bahwa BSA yang ditambahkan kedalam pengencer adalah memberikan peranan penting untuk meminimalkan terjadinya peroksidasi lipid dengan cara mengatur transport ion  $\text{OH}^-$  kedalam sel sehingga mengurangi terjadinya pembentukan yang dapat merusak struktur membran sel spermatozoa dan mengganggu proses metabolisme sel dalam melindungi organel-organel sel. Penambahan BSA sebagai krioprotektan ekstraseluler pada membran plasma bekerja sebagai enzim, reseptor saluran maupun carrier yang bertugas sebagai pengatur keluar masuknya berbagai zat dalam sel. BSA juga memiliki kandungan makronutrien berupa albumin yang dapat mempertahankan membran sel secara ekstraseluler. Mekanisme perlindungan BSA menurut Ducha (2018), dapat meminimalisir pembentukan radikal hidroksil (OH) karena adanya transport ion  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$ . Menurut Tvrdá et al., (2015), adanya ion  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  dalam perlindungan BSA sebagai komponen penyusun antioksidan endogen superoksida dismutase (SOD) dan katalase (CAT) sehingga membran sel akan lebih stabil dalam mempertahankan kualitas spermatozoa.

Sementara rendahnya motilitas pada P1 walaupun dengan penambahan BSA, ada kemungkinan karena konsentrasi BSA yang ditambahkan adalah sedikit sehingga memberikan efek manfaat yang kurang terhadap pergerakan atau motilitas spermatozoa. Gadea (2003) menyatakan bahwa konsentrasi pengencer yang tepat adalah efektif dalam membantu menjaga kestabilan spermatozoa dan menjaga tekanan osmotiknya agar tetap stabil.

Demikian juga motilitas pada P4 adalah lebih rendah dan berbeda secara signifikan dengan motilitas spermatozoa pada P2 dan P3. Penyebab terjadinya motilitas yang lebih rendah diduga disebabkan karena level BSA yang cukup tinggi melewati ambang tolerir spermatozoa dalam merespon kehadiran BSA yang ditambahkan dalam pengencer dasar Tris-Kuning Telur. Dalam hubungan dengan fungsi BSA adalah memberikan suplai protein dan asam amino dalam jumlah banyak, sekaligus berfungsi sebagai antioksidan maka level BSA yang ditambahkan dalam pengencer adalah terlalu banyak sehingga fungsinya sebagai antioksidan beralih fungsi menjadi paradoks dan bersifat prooksidan yang memicu terbentuknya radikal bebas dalam jumlah banyak sehingga hasil akhirnya adalah terjadi kerusakan yang lebih banyak pada membran sel spermatozoa.

## Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan viabilitas spermatozoa berguna untuk mengetahui seberapa lama tingkat hidup spermatozoa Hastuti dan Riviani (2020). Rata-rata viabilitas spermatozoa dalam pengencer perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2 .

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa babi landrace (%)

Jam ke-	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	93,40±1,67 <sup>a</sup>	93,40±1,67 <sup>a</sup>	93,40±1,67 <sup>a</sup>	93,40±1,67 <sup>a</sup>	93,40±1,67 <sup>a</sup>	1,000
12	75,40±2,50 <sup>a</sup>	75,60±2,50 <sup>a</sup>	81,80±4,08 <sup>c</sup>	80,40±3,91 <sup>ab</sup>	75,20±3,03 <sup>bc</sup>	0,008
24	65,40±2,88 <sup>b</sup>	65,80±3,56 <sup>b</sup>	77,60±2,40 <sup>a</sup>	73,00±5,52 <sup>a</sup>	69,60±6,80 <sup>b</sup>	0,002
36	53,20±0,44 <sup>b</sup>	55,00±2,34 <sup>b</sup>	66,60±2,19 <sup>a</sup>	62,60±3,20 <sup>a</sup>	65,60±5,81 <sup>a</sup>	0,000
48	44,80±1,92 <sup>b</sup>	45,80±2,58 <sup>b</sup>	57,40±2,07 <sup>a</sup>	54,20±4,76 <sup>a</sup>	53,40±5,31 <sup>a</sup>	0,000
60	25,20±3,03 <sup>b</sup>	25,80±3,27 <sup>b</sup>	35,60±2,60 <sup>a</sup>	24,60±2,50 <sup>b</sup>	24,40±0,54 <sup>b</sup>	0,000

Keterangan: a, b, c Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) P0=T-KT, P1=T-KT+BSA 0,1%, P2=T-KT+BSA 0,2%, P3=T-KT+ BSA 0,3%, P4=T-KT+BSA 0,4%

Data pada Tabel 2 menunjukkan bahwa rataan persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan, namun sama halnya dengan penurunan motilitas, kecepatan viabilitas dari tiap jam berbeda-beda. Lama waktu penyimpanan spermatozoa berpengaruh terhadap daya hidup spermatozoa, semakin lama waktu penyimpanan maka daya hidup spermatozoa semakin menurun disebabkan karena selama penyimpanan, spermatozoa tetap melakukan proses metabolisme yang menghasilkan reaksi oksidatif (Bebas et al., 2015). Penurunan viabilitas spermatozoa yang berfluktuasi selama penyimpanan dingin disebabkan oleh ketidakstabilan tegangan listrik, bahan yang terkandung dalam bahan pengencer tris-kuning telur dan waktu penyimpanan. Perubahan suhu dan lama penyimpanan mempengaruhi kondisi fisik dan kimiawi spermatozoa, meskipun didukung oleh pengencer yang berperan sebagai pelindung dan pemasok nutrisi, serta penurunan dan perubahan viabilitas selama penyimpanan dipengaruhi oleh kondisi fosfolipid membran spermatozoa yang mengalami kerusakan permanen, sehingga menurunkan fungsi membran spermatozoa dan mempengaruhi kemampuan spermatozoa dalam membuahi sel telur (ovum).

Hasil analisis statistik terhadap viabilitas spermatozoa setelah pengenceran pada jam pengamatan ke-0 menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P > 0,05$ ) diantara perlakuan, sedangkan pada penyimpanan jam ke-12 sampai jam ke-60 menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap viabilitas spermatozoa. Menurut Gundogan et al. (2010), bahwa penurunan viabilitas karena kerusakan spermatozoa diawali dengan hilangnya motilitas, terganggunya aktivitas metabolisme sel, rusaknya membran plasma, dan terakhir viabilitas spermatozoa yang rendah, sehingga penurunan viabilitas spermatozoa merupakan efek terakhir dari kerusakan spermatozoa. Spermatozoa yang mati akan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup, sehingga menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa secara umum menurun (Yulnawati dan Setiadi, 2005).

Hasil uji Duncan mulai jam ke-12 sampai jam ke-48 pengamatan menunjukkan P0 dan P1 berbeda nyata dengan P2, P3, P4, dengan viabilitas yang lebih rendah pada P0 dan P1 dari P2, P3 dan P4. Rendahnya viabilitas pada perlakuan P0 dan P1 disebabkan karena pada P0 tidak ada suplai BSA sebagai sumber protein dan asam amino yang dapat memproteksi sel sperma terhadap kerusakan oksidatif karena adanya peroksidasi lipid, sementara pada P1 viabilitas menjadi lebih rendah adalah diduga dosis BSA yang ditambahkan ke dalam



pengencer Tris-Kuning telur dengan level kecil sehingga tidak terlalu cukup memberikan manfaat untuk terpenuhinya kebutuhan spermatozoa dalam melindungi diri terhadap ancaman radikal bebas. Pada perlakuan P2, P3, P4 dengan penambahan level 0,2%, 0,3% dan 0,4% BSA lebih efektif dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa babi landrace dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil yang diperoleh relatif sama dengan penelitian Rachmawati et al. (2020) yang melakukan penambahan BSA 0,2% sekaligus merupakan dosis terbaik dalam mempertahankan kualitas semen sapi peranakan Ongole (PO).

### **Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa**

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi Afiati et al., (2015). Abnormalitas spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini merupakan abnormalitas sekunder, seperti ekor putus. Abnormalitas sekunder disebabkan karena kesalahan dalam preparasi atau ejakulasi.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa babi landrace (%)

Jam-ke	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	3,00±1,22 <sup>a</sup>	3,00±1,22 <sup>a</sup>	3,00±1,22 <sup>a</sup>	3,00±1,22 <sup>a</sup>	3,00±1,22 <sup>a</sup>	1,000
12	4,00±0,70 <sup>b</sup>	3,40±1,34 <sup>b</sup>	2,80±0,83 <sup>a</sup>	4,20± 1,09 <sup>a</sup>	4,20± 0,44 <sup>b</sup>	0,117
24	5,60± 0,54 <sup>a</sup>	5,60±0,54 <sup>a</sup>	4,40±0,54 <sup>b</sup>	5,60±0,54 <sup>a</sup>	5,60±0,54 <sup>a</sup>	0,007
36	7,20±0,83 <sup>a</sup>	7,20±0,83 <sup>a</sup>	5,40±0,54 <sup>b</sup>	6,60±1,67 <sup>ab</sup>	6,80±1,30 <sup>ab</sup>	0,105
48	9,20±0,83 <sup>a</sup>	9,00±1,00 <sup>a</sup>	7,80±0,44 <sup>b</sup>	9,00±0,70 <sup>a</sup>	8,80±0,83 <sup>ab</sup>	0,077
60	10,40±0,89 <sup>b</sup>	10,60±0,54 <sup>a</sup>	9,60±0,54 <sup>b</sup>	11,00±0,70 <sup>a</sup>	11,20±0,44 <sup>a</sup>	0,008

Keterangan: a, b, c Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) P0=T-KT, P1=T-KT+BSA 0,1%, P2=T-KT+BSA 0,2%, P3=T-KT+ BSA 0,3%, P4=T-KT+BSA 0,4%

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan pada jam ke-0 tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ), sedangkan pada jam ke 12 sampai ke 60 perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap abnormalitas spermatozoa babi landrace. Hasil uji Duncan mulai jam ke-12 sampai jam ke-60 pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan P0, P2 berbeda nyata dengan P1, P3 dan P4. Rata-rata abnormalitas spermatozoa pada jam pengamatan ke-60 menunjukkan bahwa, perlakuan P0 sebesar 10,40%, perlakuan P1 sebesar 10,60%, perlakuan P2 sebesar 9,60%, perlakuan P3 sebesar 11,00% dan perlakuan P4 sebesar 11,20%.

Presentasi abnormalitas dalam penelitian ini mencapai 11,20%, hasil yang diperoleh lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Dethan et al. (2010) bahwa kelainan morfologis biasanya tidak dihubungkan dengan penurunan fertilitas jika proporsi abnormalitas spermatozoa tidak melampaui 20%. Pada penyimpanan jam ke 12 hingga jam ke 60, perlakuan P2 memiliki tingkat abnormalitas yang lebih rendah dan berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan P2 memberikan respon yang baik terhadap spermatozoa karena antioksidan yang terdapat dalam BSA mampu melawan radikal bebas. Menurut Suyadi et al. (2012) bahwa meningkatnya angka abnormalitas dapat juga disebabkan karena adanya peroksidasi lipid, yang mengakibatkan rusaknya membran plasma pada bagian tengah spermatozoa yang berakibat pada berhentinya pembentukan energi sebagai sumber nutrisi bagi spermatozoa dan selanjutnya spermatozoa akan mati. Membran plasma yang rusak terjadi karena serangan dari radikal bebas.

Susilawati et al. (2016) menyatakan bahwa abnormalitas sekunder terjadi pada saat proses pendinginan atau saat preparasi membuat ulas (smear). Secara umum, abnormalitas pada spermatozoa dapat disebabkan oleh berbagai faktor antara lain genetik, stres, suhu lingkungan, penyakit dan bahkan perlakuan pada saat pembekuan semen (Arifiantini dan Ferdian, 2006).

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

Daya tahan hidup spermatozoa adalah kemampuan gerak spermatozoa untuk tetap hidup dalam kurun waktu tertentu setelah disimpan dalam suhu tertentu (Hine et al., 2014).

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap daya tahan hidup spermatozoa babi landrace

Perlakuan	Daya Tahan Hidup/hari	Nilai P
P0	48,54±0,00 <sup>c</sup>	0,000
P1	48,63±1,34 <sup>c</sup>	
P2	54,54±1,30 <sup>a</sup>	
P3	52,13±0,54 <sup>b</sup>	
P4	51,42±0,00 <sup>b</sup>	

Keterangan: a,b,c Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) P0=T-KT, P1=T-KT+BSA 0,1%, P2= T-KT+BSA 0,2%, P3=T-KT+ BSA 0,3%, P4=T-KT+BSA 0,4%

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Perlakuan P2 menunjukkan bahwa daya tahan hidup spermatozoa lebih lama yaitu dengan lama penyimpanan 54,54±1,30 jam. Hasil yang diperoleh lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian Koelima et al. (2022) yang melakukan penelitian untuk melihat pengaruh lama waktu ekuilibrisasi terhadap kualitas semen beku babi duroc dalam pengencer tris-modifikasi dengan penambahan krioprotektan yang memperoleh nilai daya tahan hidup spermatozoa sebesar 55,86±5,41%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa P2 mampu mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa. Tingginya daya tahan hidup spermatozoa pada perlakuan P2 disebabkan karena kandungan nutrisi didalam tris-kuning telur dan BSA yang memberikan manfaat bagi spermatozoa yaitu melawan pembentukan radikal bebas.

Rendahnya daya tahan hidup spermatozoa pada perlakuan P0 disebabkan karena spermatozoa mendapat nutrisi yang terkandung didalam kuning telur saja, sehingga tidak cukup untuk spermatozoa bertahan hidup. Dalam kondisi spermatozoa tidak mendapat suplementasi zat nutrisi dan bahan pelindung terhadap kejutan dingin seperti pada perlakuan kontrol, maka spermatozoa akan cepat mengalami kematian yang disebabkan oleh kehabisan substrat energi, karena hanya mengandalkan bahan-bahan yang terdapat didalam plasma semen maupun di dalam sel spermatozoa, seperti fruktosa dan plasmalogen yang ketersediaannya sangat terbatas.

Secara umum rendahnya daya tahan hidup spermatozoa disebabkan oleh suhu penyimpanan, dan adanya aktifitas metabolisme spermatozoa yang membentuk asam laktat dalam media pengencer (Rhoyan et al., 2014). Toksisitas dapat terjadi karena aktifitas enzim amino yang hanya aktif ketika spermatozoa sudah mati. Akumulasi asam laktat yang berlebihan akan bersifat toksik bagi spermatozoa (Varasofiari et al., 2013).

### **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa dengan penambahan level BSA 0,2% dan 0,3% dalam pengencer tris-kuning telur dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap kualitas semen cair babi landrace

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Afiati F, Yulnawati, Riyadi M, Arifiantini RI. 2015. Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi penampungan berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 1(4): 930-934.
- Arifiantini, R. I. and F. Ferdian. 2006. Tinjauan aspek morfologi dan morfometri spermatozoa kerbau rawa (*Bubalus bubalis*) yang dikoleksi dengan Teknik Mesase. *JVet.* 7: 83-91.
- Bebas, W., L. B. Geovany dan K. B. Made. 2016. Penambahan Vitamin E pada Pengencer BTS terhadap Daya Hidup dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace Pada Penyimpanan 150C. *Buletin Veteriner Udayana* 8(1) : 1-7.
- Blegur J, Nalley WM, dan Hine TM. 2020. Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Selama Preservasi. *Jurnal Nukleus Peternakan.* 7(2):130–138.
- Dethan, A. A., Kustono, Hartadi, H. 2010. Kualitas dan Kuantitas Sperma Kambing Bligon Jantan yang Diberi Pakan Rumput Gajah dengan Suplementasi Tepung Darah. *Buletin Peternakan,* 34(3) : 145-153.
- Ducha N, 2018. The Test about Blood Serum Capabilities in Maintaining The Quality of Bull Spermatozoa During Storage in CEP Diluent at Refrigerator Temperature. *Earth and Environmental Science.* 130 : 1-5.
- 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. Fakultas Pertanian Universitas Diponegoro Semarang.
- Gadea J. 2003. Pig industry-semen extenders used in the artificial insemination of swine. A review. *Spanish J. Agric. Res.* 1(27): 17-27.
- Gundogan M, Yeni D, Avdatek FA, Fidan F. 2010. Influence of sperm concentration on the motility, morphology, membrane and DNA integrity along with oxidative stress parameters of ram sperm during liquid storage. *J Anim Reprod Sci* 122: 200-207.
- Hafez, E. S. E. 2000. Semen Evaluation, In: Hafez, B., and E.S.E. Hafez (Eds). *Reproduction in Farm Animals.* 7 th . Ed. Lippincot Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Hammerstedt RH. 1993. Maintenance of bioenergetic balance in sperma and prevention of lipid peroxidation: A review of the effects on design and storage preservation system. *Reprod. Fert.Div.* 5:675-690.
- Hastuti DWB, Riviani. 2020. Efektifitas Penggunaan Jenis Ekstender dan Dosis Madu Berbeda terhadap Motilitas dan Viabilitas Sperma Ikan Nilem (*Osteochilus vittatus*) Setelah Penyimpanan. *Jurnal Airaha* 9(2) : 122- 129.
- Herdiawan I. 2004. Pengaruh Laju Penurunan Suhu dan Jenis Pengencer terhadap Kualitas Semen Beku Domba Priangan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 9(2): 98- 107.
- Hunter RH, Coy P, Gadea J, Rath D. 2011. Considerations of viscosity in the preliminaries to mammalian fertilisation. *J Assist Reprod Genet* 28:191-197.
- Koelima, B. V. W., Belli, H. L. L., Kihe, J. N., Nalley, W. M., Peternakan, P. S., Peternakan, F., Cendana, U. N., & Timur, N. T. (2022). Pengaruh lama ekuilibrasi terhadap kualitas semen beku babi duroc dalam pengencer tris-modifikasi dengan penambahan. 105.
- Naing SW, Wahid H, Azam KM, Rosnina Y, Zuki AB, Kazhala S, Bukara MM, Thein M, Kyaw T, San MM. 2010. Effect of Sugars on Characteristics of Boer Goat Semen After Cryopreservation. *Anim Reprod Sci* 122 (1- 2): 23-28.
- Perumal P, Nahak A K, Vupru K, Khate K, Balamurugan T C, dan Prakash Krupakaran R, 2015. Effect of Addition of Bovine Serum Albumin on The Liquid Storage (5°C) of Minthun (*Bos frontalis*) Semen. *Cell and Tissue Research.* 15(01) : 4795-4800.



- Rachmawati A, Ismaya, Widyobroto B P, Bintara S and Susilawati T 2020 Effect of Different Bovine Serum Albumin (BSA) Levels on the Sperm Viability of Ongole Cross Bred Bull during 5°C Storage IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 478 6–11.
- Rahman Z, M Anwar, Sayed M H A, Abid M, Liaqat A, dan Husain A, 2015. Effect of Bovine Serum Albumin in Extender on Post Thaw Quality and In Vitro Fertility of Buffalo Bull Semen. Buffalo Buletin. 3 4(04) : 417-42.
- Rhoyan YH, Lestari TD, dan Setiawan R. 2014. Kualitas semen cair dingin domba garut pada tiga jenis larutan pengencer. Jurnal Ilmu Ternak, 14(1) : 63–67.
- Robert, V. K. 2006. Semen Processing, Extending & Storage for Artificial Insemination in Swine. Dep. of Animal Science University of Illinois.
- 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.
- Suyadi, A.Rachmawati, N. I. 2012. Pengaruh  $\alpha$ -Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 50C. Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan. 22(3): 1–8.
- Tamoes JA, Nalley WM, Hine TM. 2014. Fertilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai. J Sains Peternakan 12(1): 20-30.
- Tvrda E, Rohan P, Suresh C, Sikka, dan Ashok A, 2015. Iron and Copper in Male Reproduction : a Double-Edge Sword. Assist Reprod Genet. 32 : 3-16.
- Varasofiari LN, Setiatin ET, Sutopo D. 2013. Evaluasi kualitas semen segar sapi jawa brebes berdasarkan lama waktu penyimpanan. Animal Agriculture Journal, 2(1) : 201–208.
- Widjaya N. 2011. Pengaruh Pemberian Susu Skim Dengan Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Pada Suhu Penyimpanan 50C.Sains Peternakan. Vol. 09 (02): 72-76.
- Yulnawati MA, Setiadi H. 2005. Pemanfaatan sari buah melon dan sari wortel sebagai media pengencer alternatif semen cair domba garut. Protein 1(2): 151-160.