

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK VITAMIN C DALAM PENGECER BELTSVILLE THAWING SOLUTION TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BABI LANDRACE

Metri Adelina Makleat¹, Marlene Nalley², Petrus Kune³, Kirenius Uly⁴

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C kedalam pengencer Beltsville Thawing Solution terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa babi landrace. Materi yang di gunakan yakni semen segar yang di peroleh dari seekor babi jantan landrace berada dalam kondisi sehat, yang diencerkan dengan pengencer perlakuan: P0: BTS, P1: BTS+0,05% Vit C, P2: BTS+0,10% Vit C, P3: BTS+0,15% Vit C, P4: BTS+0,20% Vit C, dan P5: BTS+0,25% Vit C, selanjutnya semen di evaluasi dan simpan pada coolbox dengan suhu 18-20°C, setiap 8 jam hingga pergerakan progresif 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan vitamin C pada perlakuan P1 mempunyai kualitas yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelima perlakuan lainnya, yaitu dengan motilitas $55,00 \pm 3,53\%$, viabilitas $55,00 \pm 3,53\%$, abnormalitas $3,51 \pm 0,91\%$ dan, daya tahan hidup $45,67 \pm 0,95$ jam. Dapat di simpulkan bahwa penambahan vitamin C 0,05% dalam pengencer Beltsville thawing solution memberikan pengaruh yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace selama penyimpanan.

Kata Kunci: Beltsville Thawing Solution, Babi Landrace Spermatozoa, Vitamin C.

Abstract: *This study aims to determine the effect of adding vitamin C to the Beltsville Thawing Solution diluent on the motility, viability, abnormalities and survival of landrace boars spermatozoa. The material used was fresh semen obtained from a landrace male boars in healthy condition, which was diluted with treatment diluent: T0: BTS, T1: BTS+0.5% Vit C, T2: BTS+0.10% Vit C, T3: BTS+0,15% Vit C, T4: BTS+0,20% Vit C, and T5: BTS+0,25% Vit C, then the cement was evaluated and stored in a coolbox at a temperature of 18-20° C, every 8 hours until 40% progressive movement. The results showed that the addition of vitamin C to P1 had higher quality ($P < 0.05$) compared to the other five treatments, namely with motility of $55,00 \pm 3,53\%$, viability of $55,00 \pm 3,53\%$, abnormality $3,51 \pm 0,91\%$ and survival $45,67 \pm 0,95$ hours. It can be concluded that the addition of 0,05% vitamin C in the Beltsville thawing solution diluent has a good effect in maintaining the quality of landrace boars spermatozoa during storage.*

Keywords: *Beltsville Thawing Solution, Boars Landrace Spermatozoa, Vitamin C.*

PENDAHULUAN

Usaha peternakan babi akan mengalami kerugian besar apabila angka kebuntingan babi rendah. Pencapaian tujuan program IB tergantung pada beberapa faktor yaitu kualitas semen, keterampilan inseminator, cara mempertahankan kualitas semen segar setelah ejakulasi, maupun selama preservasi semen (Tamoës, 2014). Menurut Putra, (2001) menyatakan bahwa IB merupakan salah satu teknik perkawinan buatan dengan menggunakan semen dari pejantan yang telah diseleksi dan tanpa adanya kehadiran pejantan secara langsung dengan tujuan untuk memperoleh ternak yang unggul dari segi kualitas maupun kuantitas serta menghindari perkawinan sedarah/inbreeding dan menghindari penularan penyakit.

Penggunaan semen segar dalam pelaksanaan IB akan mudah mengalami penurunan kualitas jika tidak ditambah dengan bahan pengencer yang tepat. Penggunaan semen cair untuk periode waktu yang lama memerlukan pengawetan

dengan penambahan bahan pengencer yang mengandung sumber energi dan nutrisi yang cukup, bahan penyangga (buffer), bahan anti kejutan dingin (cold shock), mampu memberikan proteksi terhadap kontaminasi bakteri, serta dapat melindungi spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan (Rizal dan Thahir, 2016).

Semen babi bersifat voluminous, memiliki ejakulat dengan volume sekitar 100-500 mL dan konsentrasi spermatozoa yang rendah yaitu $200-300 \times 10^6$ sel/mL (Garner dan Hafez, 2000). Semen babi mempunyai kadar asam lemak tidak jenuh pada fosfolipid membran plasma spermatozoa yang cukup tinggi. Hal ini menyebabkan semen babi sangat sensitif terhadap cold shock dan hanya dapat disimpan pada suhu 15-20°C (Paulenz, 2000). Berdasarkan hal tersebut, ke dalam semen perlu ditambahkan berbagai komponen yang berfungsi selain untuk memperbanyak volume semen (pengencer) juga berfungsi untuk melindungi spermatozoa selama penyimpanan (Hine et al., 2014).

Salah satu bahan pengencer yang digunakan untuk pengenceran semen babi adalah Beltsville Thawing Solution (BTS). Daya hidup spermatozoa babi pada pengencer BTS yaitu 2-3 hari. Pengencer BTS merupakan salah satu pengencer yang telah digunakan secara luas yang dapat mempertahankan motilitas spermatozoa selama proses penyimpanan pada suhu rendah Sumardani, (2008). sehingga aktivitas metabolisme dikurangi, dapat mengatasi kapasitas dini dengan mengikat kalsium yang merupakan mediator utama terjadinya proses kapasitas (Thomson, 2005). Dilihat dari komposisinya, BTS belum mempunyai kandungan bahan yang mampu memproteksi sel spermatozoa terhadap serangan radikal bebas yang sering juga disebut Reactive Oxygen Species (ROS). Yang terbentuk dari aktivitas metabolisme sel selama prosesing semen mulai pada saat penampungan, pengenceran dan penyimpanan (Chatterjee, 2001). Reaksi ROS ini sangat berbahaya bagi kehidupan sel karena mampu bereaksi dengan fosfolipid penyusun membran plasma sel sehingga mengakibatkan hilangnya integritas membran, inaktivasi enzim, kerusakan struktur DNA, dan kematian sel (Hsieh, 2006).

Vitamin C merupakan antioksidan non-enzimatik yang mudah larut dalam air, dan bekerja dalam cairan ekstrasvaskuler, Vitamin C mempunyai sifat polar yang tinggi karena banyak mengandung gugus hidroksil sehingga membuat vitamin ini mudah diubah oleh tubuh, karena kemampuannya ini vitamin C dapat bereaksi dengan radikal bebas yang bersifat aqueous dan mampu menetralkan radikal bebas (Rizal dan Herdis, 2010; Reza, 2011).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian ekperimental dengan metode penelitian rancangan acak lengkap yang terdiri dari enam perlakuan dan lima kali ulangan. Adapun perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

P0= Pengencer BTS 100%

P1= Pengencer BTS 100% + Vitamin C 0,05 mg/L

P2 = Pengencer BTS 100% + Vitamin C 0,10 mg/mL

P3 =Pengencer BTS 100% + Vitamin C 0,15 mg/mL

P4 =Pengencer BTS 100% + Vitamin C 0,20 mg/mL

P5 =Pengencer BTS 100% + Vitamin C 0,25 mg/mL

Persiapan Pembuatan Pengencer Perlakuan

Timbang BTS sebanyak 7,5 gram kemudian larutkan dalam 150 mL aquabides selanjutnya, Campuran tersebut di masukan dalam elenmeyer kemudian di homogenkan dengan magnetic stirer selama 15 menit, larutan pengencer yang telah

dihomogenkan dibagi dalam 6 elenmeyer dengan ukuran masing-masing 25 mL. Kemudian larutan tersebut dibagi dalam enam bagian sesuai dengan kebutuhan untuk setiap perlakuan.

Persiapan Vitamin C

Mempersiapkan satu tablet Vitamin C 50 gram setelah itu letakan Vitamin C pada mortar lalu di gerus menggunakan alu sampai benar-benar halus, kemudian di larutkan kedalam 100 mL, homogenkan menggunakan stirrer selama 10 menit. Langkah selanjutnya di tuangkan kedalam tabung untuk di sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm, fungsi dari sentrifugasi adalah untuk memisahkan larutan Vitamin C dari endapannya. Hasil endapan dari setrifugasi dibuang yang diambil supernatannya saja, larutan dari vitamin C dibuat satu hari sebelum penampungan kemudian disimpan dalam kulkas.

Penampungan semen

Penampungan semen segar di lakukan di Laboratorium Yayasan Willams dan Laura, di Tiling Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah Kabupaten Kupang, Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT). Sebelum penampungan ternak babi di mandikan untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Penampungan semen pada ternak babi menggunakan metode massage di mana pada saat pejantan sedang menaiki betina buatan (Dummy). Penampungan di lakukan pada pagi hari pukul 06.30-07.00. Biasanya semen yang di tampung hanya semen kedua saja karena semen tersebut yang mengandung banyak spermatozoa. Semen hasil koleksi di tampung dalam tabung penampung yang di lengkapi dengan kain kasa untuk menyaring fraksi gelatin. Semen yang telah di koleksi, dievaluasi secara makroskopis meliputi: volume, warna, bau, konsistensi, dan pH dan secara mikroskopis meliputi: motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi.

Pengencer Semen

Semen segar yang telah dievaluasi dibagi ke dalam 6 tabung yang sudah di isi dengan bahan pengencer sesuai masing-masing perlakuan. Pengisian semen tersebut menggunakan mikro pipet. Selanjutnya bahan pengencer dan semen tersebut di homogenkan dengan cara diaduk menggunakan pipet.

Preservasi Semen

Selanjutnya semen yang telah diencerkan dibagi dalam ependorf dan di simpan dalam gelas aqua dan dialas dengan tissue sesuai dengan perlakuan masing-masing kemudian disimpan dalam styrofoam dengan suhu 18-20°C yang dicontrol dengan menggunakan thermometer dan dilakukan evaluasi setiap 8 jam.

Variabel Penelitian

Variabel yang diukur dalam penelitian ini yaitu:

Motilitas: spermatozoa (%) adalah pemeriksaan motilitas merupakan cara pemeriksaan visual dengan bantuan mikroskop yang di nyatakan secara subjektif. Penilaian dilihat dengan cara meneteskan 1 tetes semen pada gelass objek, setelah itu ditutup dengan cover glass selanjutnya dihangatkan beberapa menit. Kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40, amati pergerakan spermatozoa motil progresif dari delapan lapang pandang yang berbeda, penilaian yang diberikan antara 0-100 dengan kirsan 5% (Arifiantini, 2012).

Viabilitas: spermatozoa (%) diketahui dengan mengamati dengan preparat hasil pewarna diferensial (eosin negrosin) menggunakan mikroskop. Dimana spermatozoa hidup memiliki kepala berwarna putih sedangkan yang mati berwarna merah ungu. Pembuatan preparat dilakukan dengan cara teteskan satu tetes semen pada objek glass dan satu tetes eosin-negrosin pada objek glass yang sama namun posisi yang

berbeda, setelah itu campurkan sehingga tercampur. Selanjutnya buat preparat ulas tipis ke objek glass yang lainnya dengan sekali tarik, lalu dipanaskan di atas api busen sampai kering, kemudian preparat tersebut dapat diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40. Spermatozoa dinilai dari delapan lapang pandang yang berbeda dengan menghitung minimal 200 sperma. Dapawole (2014) melaporkan bahwa viabilitas dinilai dari spermatozoa yang hidup yang tidak menyerap warna dan spermatozoa mati terlihat menyerap warna merah pada bagian kepala spermatozoa karena ada permeabilitas yang meningkat. Perhitungan nilai viabilitas diperoleh sesuai rumus:

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100 \%$$

Abnormalitas:

spermatozoa (%) perhitungan dilakukan dengan cara menempatkan preparat hasil pewarnaan differensial di bawah mikroskop dan diamati dengan pembesaran 10x40, sebanyak kurang lebih 200 sel sperma. Abnormalitas dapat terjadi pada bagian kepala ataupun ekor spermatozoa.

Perhitungan nilai abnormalitas diperoleh sesuai rumus:

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang abnormal}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100 \%$$

Daya tahan hidup:

Daya tahan hidup spermatozoa dihitung berdasarkan periode lama penyimpanan spermatozoa hingga nilai motilitas $\leq 40\%$.

Analisis Data

Analisis data diawali dengan menghitung rata-rata dan standar deviasi kemudian dilanjutkan dengan Analysis of Variance (Anova) serta dilanjutkan dengan uji Duncan dengan program software SPSS 20.0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil evaluasi semen segar merupakan pemeriksaan awal semen yang dijadikan dasar untuk menentukan kelayakan penggunaan semen segar. Karakteristik semen segar babi yang digunakan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 . Karakteristik semen segar babi landrace

Karakteristik semen	Rerata ± Standar Deviasi
Makroskopis	
Volume (mL)	123,4±13,44
Warna	Putih Susu
Ph	6,7±0,12
Bau	Khas Semen Babi
Konsistensi	Encer
Mikroskopis	
Motilitas (%)	84,00±2,04
Viabilitas (%)	87,89±1,49
Abnormalitas (%)	2,44±0,46
Konsentrasi ($\times 10^6$ sel/mL)	253,20±22,00

Rataan volume semen yang di peroleh adalah 123,4±13,44 mL, menunjukkan bahwa volume semen yang dihasilkan dalam penelitian ini jauh lebih rendah dari hasil penelitian Foeh (2015), dengan rata-rata 176±4,85 mL. Hasil penelitian ini tergolong normal dan tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Ax et al. (2000) yang menyatakan bahwa volume semen babi berkisar 100-450 mL. Beberapa faktor yang memengaruhi karakteristik secara makroskopis adalah variasi umur dari pejantan,

tingkat stimulasi, kualitas pakan dan frekuensi ejakulasi.

Warna semen yang diperoleh dari penelitian ini adalah putih susu dengan konsistensi encer. Warna semen dan konsistensi semen yang diperoleh dalam penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Subrata et al. (2014). Derjat pH yang diperoleh dalam penelitian ini adalah (6,7-7,0) dengan rata-ran $6,7 \pm 0,12$ dan masih dalam kategori normal menurut Garner dan Hafez (2000), yakni berkisar antara 6,4-7,8. Adapun beberapa faktor yang memengaruhi perbedaan warna, konsistensi dan pH semen ialah umur, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulasi, kualitas pakan dan lingkungan (Johnson et al., 2000).

Bau yang diperoleh normal yaitu berbau khas sperma dari ternak itu sendiri. Hal ini sesuai dengan pendapat (Nur, 2019) yang mengatakan bahwa semen yang normal pada umumnya memiliki bau khas disertai dengan bau dari ternak itu sendiri.

Hasil pemeriksaan secara mikroskopis menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa adalah 80-85% dengan rata-ran $84,00 \pm 2,04$. Hasil tersebut lebih tinggi dari hasil penelitian Sumardani (2007), yang melaporkan bahwa motilitas spermatozoa adalah 65,56%. Sedangkan, konsentrasi spermatozoa yang diperoleh dari hasil penelitian ini dengan kisaran $230-280 \times 10^6$ sel/mL dengan rata-ran $253,20 \pm 22,00 \times 10^6$ sel/mL, dan tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Garner dan Hafez (2000) serta Knox (2006), yakni konsentrasi spermatozoa berkisar antara $200-600 \times 10^6$ sel/mL. Beberapa faktor yang memengaruhi motilitas dan konsentrasi spermatozoa antara lain ialah umur, jumlah ejakulat, interval penampungan. Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa yang hidup diidentifikasi dengan tidak menyerap warna (transparan) pada bagian kepala spermatozoa, sedangkan spermatozoa yang mati ditandai dengan menyerap merah pada bagian kepala spermatozoa karena permeabilitas spermatozoa yang meningkat. Rataan viabilitas spermatozoa dari penelitian ini adalah 85-87% dengan rata-ran $87,89 \pm 1,49\%$. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan yang dilaporkan Sumardani et al. (2008) bahwa rata-ran viabilitas spermatozoa adalah 87,76% dan hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian Kaka (2020) yang melaporkan rata-ran viabilitas spermatozoa babi landrace adalah 79,19%. Perbedaan kualitas semen ini dipengaruhi oleh umur ternak, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulat, lingkungan dan kualitas pakan (Feradis, 2010).

Pemeriksaan spermatozoa yang abnormalitas penting dilakukan sebab abnormalitas yang tinggi akan mengganggu fertilitas pejantan secara umum (Garner dan Hafez, 2000). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa presentase abnormalitas spermatozoa adalah 2-3% dengan rata-ran $2,44 \pm 0,46\%$. Hasil ini tergolong sangat baik karena menurut Johnson et al. (2000), persentase abnormalitas spermatozoa babi perezakulat tidak lebih dari 20%. 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 motilitas spermatozoa babi landrace.

Pemeriksaan motilitas spermatozoa merupakan salah satu cara penentuan kualitas semen sesudah pengenceran, motilitas dapat dilihat dari gerak majunya spermatozoa secara progresif dan menjadi patokan yang harus diperhitungkan karena tujuan dari akhir pengencer adalah inseminasi buatan.. Hasil pengamatan terhadap kualitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer Beltsville Thawing Solution dengan penambahan vitamin C yang disimpan pada suhu 18°C dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Rata-rata motilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer perlakuan

JP	Perlakuan						Nilai-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	1.000
8	78,00±4,47 ^a	79,00±2,23 ^a	79,00±2,23 ^a	79,00±2,23 ^a	78,00±4,47 ^a	78,00±4,47 ^a	0.987
16	64,00±4,18 ^{abc}	73,00±2,74 ^a	72,00±2,74 ^{ab}	72,00±2,74 ^{ab}	69,00±2,24 ^{bc}	68,00±2,74 ^c	0.038
24	57,00±2,74 ^{ab}	68,00±2,74 ^a	65,00±3,00 ^{ab}	65,00±3,53 ^{ab}	59,00±7,42 ^{bc}	57,00±6,71 ^c	0.017
32	50,00±3,54 ^{ab}	62,00±2,74 ^a	57,00±5,71 ^{ab}	56,00±2,24 ^b	52,00±4,47 ^{bc}	50,00±3,54 ^c	0.001
40	50,00±3,53 ^b	55,00±3,53 ^a	50,00±3,53 ^b	46,00±4,18 ^{bc}	42,00±2,73 ^{cd}	40,00±0,00 ^d	0.000
48	30,00±5,00 ^b	34,00±2,24 ^a	28,00±2,74 ^b	22,00±2,74 ^c	16,00±2,24 ^d	11,00±2,24 ^e	0.000

Keterangan: a b c, Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). P0=BTS tanpa Vitamin C, P1=BTS + Vitamin C 0,05mg/mL, P2=BTS + Vitamin C 0,10mg/mL, P3=BTS + Vitamin C 0,15mg/mL, P4=BTS + Vitamin C 0,20mg/mL, P5=BTS + Vitamin C 0,25mg/mL

Berdasarkan Tabel 2 terlihat adanya penurunan motilitas dengan bertambahnya waktu penyimpanan. Penurunan motilitas mulai terjadi pada jam ke-8 pengamatan dengan nilai penurunan tertinggi 6% terlihat pada perlakuan P0, P4 dan P5, diikuti 5% pada P1, P2 dan P3. Hingga jam ke-40 preservasi, besaran penurunan persentase motilitas spermatozoa tertinggi yaitu pada perlakuan P5 mencapai 44%, diikuti perlakuan, P4 yakni 42%, P3 yakni 38%, P2 dan P0 sebesar 34%, dan P1 yang terendah yakni 29%.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa jam ke-0 penyimpanan persentase motilitas spermatozoa berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) antara perlakuan, sedangkan pada jam ke-8 hingga jam ke-40 penyimpanan terjadi penurunan motilitas yang cukup drastis pada perlakuan P5 sehingga menyebabkan terjadi perbedaan persentase motilitas yang berbeda nyata pada P1 ($P < 0,05$).

Pada dosis vitamin C 0,05mg/mL menunjukkan daya hidup dan motilitas yang baik, sehingga dosis 0,05mg/mL dianggap sebagai dosis terbaik karena lebih efisien.

Hasil uji lanjut sampai jam ke-40 terhadap motilitas spermatozoa menunjukkan perbedaan secara nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan P1 (55,00±3,53) lebih tinggi di bandingkan dengan P2 (50,00±3,53); P3 (46,00±4,18); P4 (42,00±2,73); P5 (40,00±0,00) dan P0 (50,00±3,53). Keadaan tersebut di duga karena kandungan vitamin C dalam BTS terjadi optimalisasi laju fruktolisis berupa asam laktat sehingga kebutuhan energi untuk motilitas dan kelangsungan hidup dapat terpenuhi. Pola penurunan motilitas spermatozoa pada pengamatan jam ke-40 pada P4 teramati mulai rendah dengan rata-rata 40.00%.

Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa babi landrace.

Viabilitas merupakan kemampuan spermatozoa untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya dalam waktu tertentu. Zhou et al. (2004),

Spermatozoa yang hidup memiliki kepala yang transparan sedangkan yang mati berwarna merah karena menyerap zat pewarna. Tabel 3. Rataan viabilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer perlakuan.

JP	Perlakuan (%)						Nilai Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	87,17±2,05	88,34±0,9	87,23±1,04 ^a	86,23±2,47 ^a	85,62±2,67 ^a	85,60±2,57	0,28
8	^a	2 ^a	87,23±1,04	86,23±2,47	85,62±2,67	^a	3
16	87,17±2,05	88,34±0,	^{ab}	^{ab}	^c	85,60±2,5	0,02
24	^{abc}	92 ^a	67,±2,62 ^{ab}	75,53±1,97	73,95±2,15	7 ^{bc}	8
32	76,44±2,97		69,58±4,65	^{ab}	^{ab}	72,02±2,	0,23
40	^a	72,90±3,9	^{ab}	67,85±4,85	64,25±8,36	63 ^b	4
48	68,83±4,33	0 ^{ab}	63,68±3,98	^{ab}	^b	61,48±6,	0,05
	^{ab}	72,90±3,	^{ab}	63,61±3,66	58,89±4,56	92 ^b	9
	62,53±5,73	90 ^a	50,00±3,53	^{ab}	^b	58,68±4,	0,02
	^{ab}	68,20±2,	^b	46,00±4,18	42,00±2,73	56 ^b	2
	50,00±3,53	94 ^a	33,06±1,74	^{bc}	^c	40,00±0,	0,00
	^{ab}	55,00±3,	^{bc}	28,00±1,33	26,28±1,46	00 ^c	0
	35,97±3,54	53 ^a		^{cd}	^{de}	20,951,3	0,00
	^{4b}	50,88±10,				9 ^e	0
		15 ^a					

Keterangan: a b c d, Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). P0=BTS tanpa Vitamin C, P1=BTS + Vitamin C 0,05mg/mL, P2=BTS + Vitamin C 0,10mg/mL, P3=BTS + Vitamin C 0,15mg/mL, P4=BTS + Vitamin C 0,20mg/mL, P5=BTS + Vitamin C 0,25mg/mL.

Berdasarkan hasil pengamatan viabilitas pada tabel 3 terlihat bahwa setiap perlakuan mengalami penurunan viabilitas yang mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-40, sama seperti penurunan motilitas, kecepatan penurunan viabilitas dari masing-masing perlakuan berbeda-beda

Pada Tabel 3 persentase viabilitas pada jam ke-0 untuk semua perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap rataan persentase hidup spermatozoa babi landrace. Rataan persentase tertinggi pada perlakuan P1 88,34±0,92, kemudian secara berturut-turut diikuti P0 87,17±2,05, P2 87,23±1,04, P3 86,23±2,47, P4 85,67±2,67 dan P5 85,60±2,57. Sejak pengamatan pada jam ke-8 sampai jam ke-40, menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$), dimana perlakuan P1 menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi yaitu 55,00±3,53% diikuti P0 50,00±3,53%, P2 50,00±3,53%, P3 46,00±4,18%, P4 42,00±2,73% dan yang paling terendah adalah P5 40,00±0,00%.

Nilai viabilitas spermatozoa pada perlakuan P1 (40 jam) yang mempunyai persentase spermatozoa hidup terendah yaitu 40,00 %. Hasil ini menunjukkan bahwa semen yang diencerkan dengan vitamin C mampu mempertahankan persentase viabilitas sebesar 55,00% dalam kurun waktu 40 jam, viabilitas spermatozoa telah mengalami penurunan dan tidak layak lagi digunakan dalam program inseminasi. Hasil penelitian ini masih lebih baik dari hasil penelitian Delviona (2016), yang meneliti menggunakan pengencer sari buah wortel pada semen cair babi menunjukkan rataan viabilitas dengan lama penyimpanan 0 jam (85,55±1,00), 48 jam (78,84±1,52), dan jam 96 (32,14±10,57).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan lama simpan semen cair babi landrace dalam pengencer semen vitamin C berbeda nyata ($P < 0,05$). Rataan persentase viabilitas spermatozoa yang terdapat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa penyimpanan dalam pengencer BTS memiliki nilai rata-rata persentase spermatozoa hidup sebesar 50,00%, P1 (40 jam) dengan nilai viabilitas spermatozoa 40,00% dan terjadi penurunan pada perlakuan P5 (40 jam).

Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan fisik dari spermatozoa yang terjadi karena faktor genetik, stress, suhu lingkungan, pada saat pembuatan preparat dan pembekuan semen (Arifiantini et al.,2006).

Tabel 4. Rataan Abnormalitas Spermatozoa Babi Landrace dalam pengencer perlakuan

JP	Perlakuan						Nilai-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	2,42±0,61 ^d	1,22±0,34 ^a	2,36±0,54 ^{cd}	1,72±0,25 ^{ab}	1,85±0,23 ^{bc}	2,22±0,17 ^{bcd}	0,000
8	2,83±0,04 ^d	1,80±0,24 ^a	2,36±0,40 ^{bc}	2,06±0,81 ^{ab}	2,62±0,26 ^{cd}	2,63±0,29 ^{cd}	0,000
16	2,99±0,65 ^b	2,37±0,12 ^a	2,77±0,17 ^{ab}	2,72±0,39 ^{ab}	2,66±0,42 ^{ab}	2,99±0,35 ^b	0,172
24	3,54±0,24 ^b	2,49±0,14 ^a	3,33±0,53 ^b	3,33±0,49 ^b	3,62±0,11 ^b	3,61±0,31 ^b	0,000
32	3,84±0,30 ^b	2,87±0,46 ^a	3,81±0,60 ^b	4,00±0,49 ^b	3,89±0,58 ^b	3,97±0,66 ^b	0,024
40	3,90±0,84 ^{ab}	3,51±0,91 ^a	4,57±0,34 ^b	4,44±0,44 ^b	4,62±0,31 ^b	4,53±0,75 ^b	0,066
48	4,61±0,21 ^b	3,94±0,69 ^a	4,90±0,60 ^{bc}	4,89±0,50 ^{bc}	5,23±0,56 ^{bc}	5,44±0,26 ^c	0,002

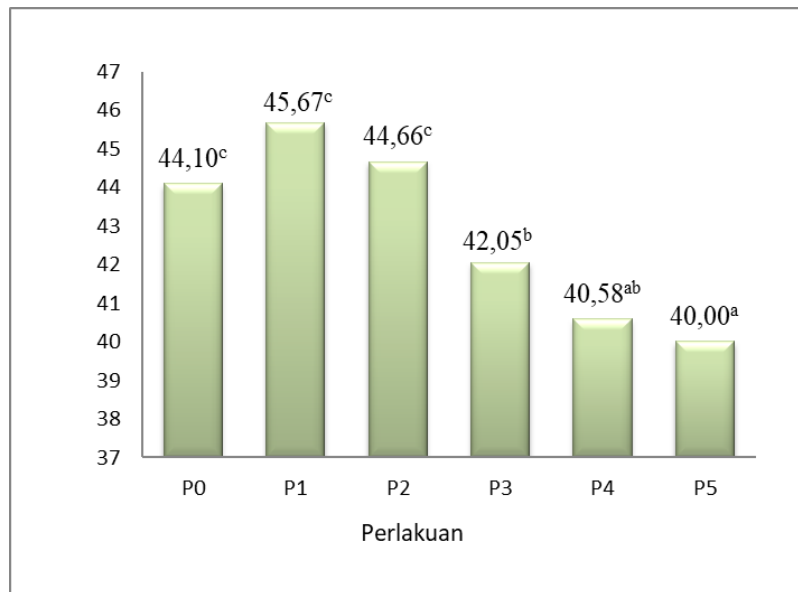
Keterangan: a b c d, Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). P0=BTS tanpa Vitamin C, P1=BTS + Vitamin C 0,05mg/mL, P2=BTS + Vitamin C 0,10mg/mL, P3=BTS + Vitamin C 0,15mg/mL, P4=BTS + Vitamin C 0,20mg/mL, P5=BTS + Vitamin C 0,25mg/mL.

Tabel 4 dapat dilihat persentase abnormalitas spermatozoa pada jam ke-0 untuk semua perlakuan tidak sama yaitu P0 2,42%, P2 2,36%, P5 2,22%, P3 1,72%, P4 1,85% dan P1 1,22%. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada jam ke-0 penyimpanan persentase abnormalitas spermatozoa berbeda nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan. Pada jam ke-8 sampai jam ke-40 penyimpanan, perlakuan P1 memiliki tingkat abnormalitas yang lebih rendah dari pada kelima perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa mencapai 3,51% . Hasil ini masih baik karena menurut Foeh (2017), persentase abnormalitas babi hanya mencapai 11,1%. Sedangkan menurut Johnson et al. (2000); Arifiantini (2021) persentase abnormalitas babi per ejakulat tidak boleh lebih dari 20%, yang dapat digunakan untuk IB.

Hasil analisis sidik ragam (Anova) menunjukkan bahwa pada perlakuan P0 hingga P5 terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan. Hal itu disebabkan karena BTS merupakan bahan pengencer yang dapat menyediakan sumber energi bagi spermatozoa, mampu mempertahankan abnormalitas spermatozoa, serta mampu mengurangi peningkatan abnormalitas yang terjadi akibat peroksidasi lipid secara bersamaan. Secara umum, abnormalitas pada spermatozoa dapat disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain karena genetic ternak, stres, suhu lingkungan, penyakit, dan bahkan penanganan pada saat pengambilan semen (Arifiantini dan Ferdian, 2006)..

Pengaruh perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap hidup dan bergerak progresif dalam kurun waktu tertentu selama penyimpanan in vitro (Hine et al., 2014). Daya tahan hidup spermatozoa hasil penelitian ditampilkan pada grafik di bawah ini.



Keterangan: a b c, Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). P0=BTS tanpa Vitamin C, P1=BTS + Vitamin C 0,05mg/mL, P2=BTS + Vitamin C 0,10mg/mL, P3=BTS + Vitamin C 0,15mg/mL, P4=BTS + Vitamin C 0,20mg/mL, P5=BTS + Vitamin C 0,25mg/mL.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap daya tahan hidup. Perlakuan P1 menunjukkan bahwa daya tahan hidup spermatozoa lebih lama yaitu dengan lama penyimpanan 45,67 jam, diikuti, P2 = 44,66 jam, P0 = 44,10 jam P3 = 42,05 jam, P4 = 40,58 jam dan P5 = 40,00 jam. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh ketiadaan dan perbedaan dosis unsur pelindung didalam pengencer spermatozoa sehingga saat spermatozoa disimpan pada suhu yang rendah memperlihatkan daya tahan hidup pada setiap perlakuan juga berbeda.

Rendahnya daya tahan hidup spermatozoa pada Perlakuan P0 mungkin disebabkan karena tidak memiliki unsur pelindung spermatozoa seperti antioksidan sehingga tidak mampu mencegah atau mengurangi kerusakan akibat radikal bebas. Penambahan vitamin C 0,05% dalam pengencer BTS pada P1 mampu mencegah kerusakan akibat radikal bebas.

Rendahnya daya tahan hidup spermatozoa pada P2, P3, P4 dan P5 mungkin disebabkan oleh aktifitas asam yang berlebihan. Rendahnya persentase daya tahan hidup disebabkan oleh adanya aktivitas metabolisme spermatozoa yang membentuk asam laktat dalam pengencer (Savitri et al., 2014).

KESIMPULAN

Penambahan vitamin C dengan dosis 0,5 mg/mL dalam pengencer BTS merupakan dosis terbaik untuk mempertahankan motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya hidup.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R. T, W., dan EF, R. 2006. Pengujian Morfologi Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Menggunakan Pewarnaan Wilimams. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*, 31(2), 105-110.
- Arifiantini R. dan Ferdian F. 2006. Tinjauan aspek morfologi dan morfometri spermatozoa kerbau rawa (*Bubalus bubalis*) yang dikoleksi dengan teknik masase. *Jurnal Veteriner*, 7 (2): 83-91.

- Chatterjee S, D. L. 2001. Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione. *Mol Reprod Dev*: 60(3):498-506.
- Delviona, F.Y. 2016. Kualitas Semen Cair Babi Dalam Pengencer Beltsville Thawing Solution yang Ditambah Kuning Telur dan Gliserol yang Disimpan Pada Suhu 5°C. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Foeh, N. D. F. K. 2015. Kualitas Semen Beku Babi dalam pengencer BTS Dan MIII Menggunakan Krioprotektan Dimethylacetamide dan Griselor dengan so-dium Dedocyl Sulphate. Thesis. IPB Bogor
- Foeh, N.D.F.K. Dan Gaina CD. 2017. Sari Buah Lontar Sebagai Pengencer Alami dalam mempertahankan Kualitas Spermatozoa Babi. *Jurnal Kajian Veteriner* 5 (1): 52-58.
- Garner DL, Hafez 2000. Spermatozoa and seminal plasma, In: Hafez B. Hafez ESE, editor. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins. 96-109.
- Hine, MT., Burhanuddin dan 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, LA, K. F. Weitze, Fiser P, and WMC. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. *Animals. Reproduction Science* 64(2): 133-134.
- Kaka A. 2020. Karakteristik dan Daya Fertilitas Spermatozoa Babi Peranakan Landrace *J Pet. Indon* 22(3): 277-283.
- Knox, R.V. 2006. Semen Processing, Extending and Storage for Artificial Insemination in Swine. Department of Animal Science University of Illinois.
- Nur NE. 2019. Pengaruh pengencer tris kuning telur itik dan konsentrasi spermatozoa berbeda terhadap kualitas semen sapi sapi bali. Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
- Paulenz, H., E. Komisrud dan P. O. Hofmo. 2000 Effect on the long-term storage at different temperatures on the quality of liquid boar semen. *Reprod. Dom. Anim.*, 35(2): 83-85.
- Putra H IDK. 2001. Penerapan Teknik Inseminasi Buatan dalam upaya meningkatkan populasi ternak babi. *Jurnal Veteriner* 2(2):65-72.
- Reza A, Rezi J, Nasrabadi HT. 2011. Influence of added vitamin C and vitamin E on frozen-thawed bovine sperm cryopreserved in citrate and tris-based extenders. *Vet Res Forum*, 4(1): 37-44.
- Rizal M, Herdis. 2010. Peran antioksidan dalam meningkatkan kualitas semen beku. *Wartazoa* 20(3):139-145.
- Rizal, M. dan Thahir, M. 2016. Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa yang Dipreservasi dengan Berbagai Jenis Pengencer. *JITRO*. 3(3) : 81-89.
- Savitri AM, Florman HM, Arnoult, C. Kazam I. G. Li. 2014. Rendahnya persentase daya tahan hidup spermatozoa babi landrace berdasarkan sifat litter size dan bobot lahir keturunannya. *J Trop Anim Husbandry*, 2(1): 28-33.
- Subrata I, Artiningsih N, Sumardani N, Putra W, Uminiarti A. 2014. Pengaruh bahan pengencer biologis terhadap kualitas semen babi Hampshire. *Prosiding. Fakultas Peternakan Universitas Udayana*.