

**SUPLEMENTASI SARI DAGING BUAH LONTAR (*Borassus Flabelifer Linn*)
DALAM PENGECER *BELTSVILLE THAWING SOLUTION* TERHADAP
KUALITAS SEMEN CAIR BABI LANDRACE**
*Supplementation of Palm - Fruit (*Borassus Flabilifer Linn*) Juice in Belthsvile Thawing
Solution Dilution on the Semen Quality of Landrace Boars*

Nyongki Lote*, Wilmintje Marlene Nalley, Alvrado Bire Lawa, Aloysius Marawali
Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan. Universitas Nusa Cendana
*Corresponding author: nyongkilote27@gmail.com

ABSTRACT

This study was conducted with the aim to find the best dose of the palm- fruit juice (PFJ) supplementation in Beltsville thawing solution (BTS) diluent to preserve liquid semen of Landrace boars stored at 18-20°C. This study used fresh semen of sexually mature and healthy Landrace collected from the boars using the glove hand method. The research design in this study used a completely randomized design consisting of five treatments and five replications. Semen was diluted with diluent according to each treatment, namely: T0: BTS 100% + PFJ 0%, T1: BTS 95% + PFJ 5%, T2: BTS 90% + PJJ 10%, T3: BTS 85% + PFJ 15%, T4: BTS 80% + PFJ 20%. The diluted semen was stored in the styrofoam at 18-20°C. Semen was evaluated after dilution and every 8 hours of storage until motility was 40% at least. The variables were tested, motility, viability, abnormality and spermatozoa survival. The overall data obtained were tabulated using analysis of variance (ANOVA) and continued with Duncan's test. The results of this study showed that the P2 treatment was significantly different ($P<0.05$) with other treatments with the value of spermatozoa motility: $45.00\pm 3.53\%$, spermatozoa viability: $63.16\pm 7.76\%$, spermatozoa abnormality: $6.24\pm 0.70\%$ and survival: 44.34 ± 2.92 hours. The conclusion of this study is that supplementation of 10% palm fruit juice in 90% BTS diluent was the best supplementation in preserving liquid semen of Landrace the boars stored at 18-20°C.

Keywords: Beltsville thawing solution, Landrace boars' semen Palm -fruit juice

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan dosis terbaik dari suplementasi sari daging buah lontar (SDBL) dalam pengencer *Beltsville thawing solution* (BTS) guna mengawetkan semen cair babi jenis Landrace yang disimpan pada suhu 18-20°C. Penelitian ini memanfaatkan semen segar dari babi jenis Landrace yang telah mencapai kedewasaan seksual dan dalam keadaan sehat, yang diambil menggunakan teknik manual (*glove hand method*). Penelitian ini dirancang menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari lima perlakuan dan lima kali ulangan. Semen diencerkan dengan pengencer sesuai dengan perlakuan masing-masing yaitu: P0 : BTS 100%+SBL 0%, P1 :BTS 95%+SBL 5%, P2 : BTS 90%+SBL 10%, P3 : BTS 85%+SBL 15 %, P4 : BTS 80%+ SBL 20%. Larutan semen yang sudah diencerkan, disimpan dalam styrofoam pada suhu 18-20°C. Semen dievaluasi setelah pengenceran dan setiap 8 jam penyimpanan hingga motilitas minimal 40%. Variabel yang diuji ialah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup separmatozoa. Keseluruhan data yang diperoleh ditabulasi menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan P2 berbeda nyata ($P<0,05$) dengan perlakuan lainnya dengan nilai motilitas spermatozoa: $45,00\pm 3,53\%$, viabilitas spermatozoa: $63,16\pm 7,76\%$, abnormalitas spermatozoa: $6,24\pm 0,70\%$ dan daya tahan hidup: $44,34\pm 2,92$ jam. Kesimpulan dari penelitian ini ialah suplementasi 10% sari daging buah lontar dalam 90% pengencer BTS merupakan suplementasi terbaik dalam mengawetkan semen cair babi Landrace yang disimpan pada suhu 18-20°C.

Kata Kunci: Beltsville thawing solution, sari daging buah lontar, semen cair babi Landrace

PENDAHULUAN

Sel spermatozoa babi tetap aktif melakukan metabolisme selama proses penampungan maupun proses pengolahan spermatozoa hingga saat penyimpanan, sama seperti sel lainnya aktivitas ini dilakukan untuk menghasilkan energi dengan tujuan mempertahankan hidupnya. Saat spermatozoa melakukan metabolisme, tidak hanya energi yang dihasilkan tetapi juga terjadi produksi serangan radikal bebas melalui peroksidasi lipid (Zaeboni *et al.*, 2006). Serangan radikal bebas ini lebih dikenal sebagai *reactive oxygen species* (ROS). Dampak buruk dari serangan ROS pada semen adalah terjadinya kerusakan pada membran sel yang berdampak pada menurunnya kualitas dan daya tahan hidup spermatozoa (Parera *et al.* 2019)

Untuk mempertahankan kualitas spermatozoa agar mampu bertahan dalam jangka waktu yang lebih lama, maka perlu untuk melakukan pengenceran semen dengan menggunakan pengencer yang tepat. Fungsi dari pengencer ialah menyediakan zat nutrisi, sebagai *buffer* dan melindungi sel spermatozoa selama proses pengenceran maupun saat penyimpanan Ximenes *et al.*, 2022)

Salah satu pengencer yang dapat digunakan adalah pengencer *belthsvile thawing solution* (BTS). Bebas *et al.* (2015) melaporkan bahwa dalam pengencer BTS terkandung senyawa EDTA (*Ethylenediamine tetracetic acid*) dan glukosa yang berperan sebagai penyanggah semen. Zat yang mengandung penyanggah semen bertujuan untuk melindungi sel spermatozoa dari kerusakan yang dapat terjadi saat proses penyimpanan. Selain memiliki kelebihan, terdapat kekurangan dari pengencer BTS yaitu tidak adanya kandungan antioksidan dalam komposisi pengencer BTS. Parera *et al.* (2019) melaporkan bahwa perlu adanya penambahan senyawa yang mengandung antioksidan kedalam pengencer untuk dapat melindungi sel spermatozoa dari ROS. Salah satu contoh zat antioksidan yang

dapat melawan serangan radikal bebas adalah zat β karoten. Buah lontar mengandung senyawa β karoten sebesar 6.217,48 μ g/100 gram (Idayati *et al.*, 2014). Selain itu dalam buah lontar terdapat kandungan nutrisi sebagai sumber energi bagi spermatozoa berupa karbohidrat sebesar 22,5 gram, gula pereduksi 9,5 gram/100 gram, protein, tanin dan karatonoid yang berpengaruh signifikan terhadap daya tahan hidup spermatozoa (Vijaya *et al.*, 2015). Senyawa β karoten dilaporkan mampu menurunkan reaksi ROS (Pryor *et al.*, 2009). Lebih lanjut Banamtuan *et al.* (2021) juga melaporkan bahwa penggunaan air buah lontar sebanyak 6% pada pengencer durasperm dapat menjaga kualitas spermatozoa babi Duroc hingga masa simpan jam ke 64. Senyawa β karoten diyakini mampu menangkap dan menetralkan oksigen reaktif dan radikal peroksil (Esvandiary *et al.*, 2007).

Berdasarkan informasi dan data yang telah diuraikan, maka penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk menemukan dosis terbaik dari suplementasi sari daging buah lontar dalam pengencer BTS guna mengawetkan semen cair babi Landrace yang disimpan pada suhu 18-20°C. Hal ini dilakukan karena mengingat bahwa babi Landrace merupakan bangsa dengan bibit yang memiliki potensi tinggi dalam industri peternakan dan kualitas reproduksinya yang dapat dioptimalkan melalui teknik pengenceran semen yang inovatif dan efektif.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Yayasan Laura dan Williams, yang terletak di Kabupaten Kupang, Kecamatan Kupang Tengah, Desa Oelnasi. selama enam minggu yang dimulai dari tanggal 22 Agustus – 29 September 2023 dan terbagi dalam periode persiapan dan periode pengumpulan data

Materi Penelitian

Penelitian ini memanfaatkan semen segar babi jantan ras Landrace dengan umur 5-6 bulan yang telah mencapai kedewasaan seksual dan dalam keadaan sehat, yang diambil menggunakan teknik manual. Babi-Babi ini diperlihara pada kandang-kandang individu yang sudah dilengkapi dengan wadah pakan dan air minum. Setiap semen yang digunakan langsung dinilai atau dievaluasi secara makroskopis yang meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH dan mikroskopis yang meliputi gerakan masa, motilitas, viabilitas, abnormalitas. Syarat semen yang digunakan memiliki kriteria motilitas $\geq 75\%$, konsentrasi $\geq 200 \times 10^6$ sel /mL dan abnormalitas $\leq 20\%$ (Jahnson *et al.*, 2000).

Metode Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan metode rancangan acak lengkap yang terdiri dari lima perlakuan dan lima kali ulangan. Pengencer yang diuji dalam penelitian ini adalah pengencer BTS (*Beltsville thawing solution*) dengan suplementasi sari daging buah lontar (SDBL) dengan level yang penambahan yang berbeda. Kelima perlakuan tersebut adalah:

- P0: BTS 100% + SDBL 0%
- P1: BTS 95% + SDBL 5 %
- P2: BTS 90% + SDBL 10 %
- P3: BTS 85% + SDBL 15 %
- P4: BTS 80% + SDBL 20 %

Tahap Persiapan Pengencer Pembuatan sari daging buah lontar

Buah lontar yang telah diambil dipotong di bagian matanya hingga pelindung dagingnya terlihat menggunakan parang yang telah disterilkan menggunakan alkohol. setelah itu daging buah lontar diambil menggunakan spatula lalu dimasukkan ke dalam mortar dan dihaluskan menggunakan alu. Langkah berikutnya adalah mengambil daging buah lontar yang dihaluskan kemudian disentrifuge pada kecepatan 5.000 RPM, setelah disentrifuge sari daging buah lontar

diambil lalu dimasukkan kedalam *ependorf*.

Penyiapan Kuning Telur

Telur ayam yang baik diambil lalu dibersihkan menggunakan alkohol 70% lalu bagian lancip dari cangkang telur dipecahkan dan pisahkan seluruh putih telur dengan dituangkan hingga tersisa kuning telur. Kuning telur yang tersisa diletakkan pada kertas saring agar sisa kuning telur dapat terserap habis dan kuning telur yang masih dibungkus dengan selaput vitelin dipecahkan kemudian dimasukkan kedalam beaker glass lalu ditutup menggunakan aluminium foil.

Penyiapan Pengencer BTS + Kuning Telur

Persiapan bahan pengencer dilakukan dengan melarutkan 50 gr pengencer BTS dalam 1000 mL aquades, kemudian dihomogenkan menggunakan gelas *elemeyer*. Setelah homogen selesai dilakukan, pencampuran dengan kuning telur dilakukan dengan perbandingan 9:1 atau 90 mL larutan BTS +10 mL kuning telur.

Pengenceran Semen

Pada tahap pengenceran semen, langkah pertama yang dilakukan ialah masukkan larutan BTS Kuning Telur (BTS KT) kedalam tabung pengencer sesuai perlakuan, kemudian tambahkan sari daging buah lontar kedalam tabung pengencer tersebut dengan level yang sesuai dari setiap perlakuan. Setelah tabung pengencer diisi dengan larutan BTS KT dan sari daging buah lontar, langkah selanjutnya yaitu memasukkan semen segar yang telah dievaluasi ke dalam masing-masing tabung pengencer. Setelah diencerkan, semen langsung dievaluasi secara mikroskopis yang meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas. Semen yang telah dievaluasi dimasukkan ke dalam *Eppendorf* lalu dibungkus dengan plastik dan disimpan dalam kotak *styrofoam* dengan suhu 18-20°C. Semen dievaluasi

setiap 8 jam sekali hingga persentase motilitas minimal 40%.

Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang diteliti ialah sebagai berikut

1. Motilias Spermatozoa (%): Penilaian motilitas dilakukan dengan meneteskan setetes semen ke objek kaca, kemudian tutup dengan kaca penutup, lalu diamati dibawah mikroskop. Penilaian difokuskan pada gerakan progresif spermatozoa pada lima bidang pandang yang berbeda (Indrawati *et al.*, 2013).

2. Viabilitas Spermatozoa (%): Untuk mengetahui nilai viabilitas spermatozoa yang diamati, maka spermatozoa diperiksa di bawah mikroskop yang sebelumnya dipaparkan pada eosin-negrosin dengan membuat preparat ulas kemudian diamati dengan 10 lapang pandang yang berbeda. Spermatozoa yang tidak mati ditandai dengan kepala yang tidak berwarna sedangkan spermatozo mati terdapat warna dibagian kepalanya.

Nilai viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut ini:

$$\text{Viabilitas: } \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100$$

3. Abnormalitas Spermatozoa : Pegamatan abnormalitas Abnormalitas dapat dilakukan dengan cara meneteskan semen sebagai sampel pada objek glass lalu diwarnai dengan *eosinn-negrosinn* kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40 guna mengetahui bentuk abnormal sperma. Nilai abnormal spermatozoa dapat

dihitung dengan menggunakan rumus berikut ini :

$$\text{Abnormalitas: } \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100$$

4. Daya tahan hidup Spermatozoa: Untuk mengetahui nilai DTH, dapat dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\frac{A - B}{A - C} \times D + E$$

Keterangan

A : Motilitas di atas standar

B : Standar motilitas

C : Motilitas di bawah standar

D : Rentang waktu pengamatan

E : Lama preservasi

Analisis Data

Seluruh hasil data yang telah dikumpulkan ditabulasi kemudian dianalisis menggunakan ANOVA (*analisis of variance*) pada tingkat kepercayaan 95% lalu dilanjutkan uji Duncan dengan program software SPSS 16.0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas adalah salah satu parameter dalam menilai fertilitas spermatozoa dengan tujuan untuk mengukur tingkat pergerakan progresif spermatozoa menuju saluran reproduksi ternak betina untuk membuahi sel. Hasil akhir dari pemeriksaan ini adalah untuk melihat bahan pengencer terbaik dalam proses IB. Motilitas spermatozoa diamati setiap 8 jam sekali hingga motilitas spermatozoa memiliki kualitas 40% Badan Standarisasi Nasional (2017) disajikan pada Tabel 2 berikut ini:

Tabel 2. Rata-rata nilai motilitas spermatozoa dalam pengencer perlakuan.

WP	Perlakuan (%)					P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	1,00
8	72,00±4,47 ^a	71,00±6,51 ^a	75,00±3,53 ^a	70,04±6,18 ^a	70,00±6,12 ^a	0,06
16	62,00±4,47 ^a	63,00±4,47 ^a	72,00±4,47 ^b	62,00±7,58 ^a	59,00±4,51 ^a	0,01
24	53,00±5,70 ^a	54,00±5,47 ^a	64,00±5,47 ^b	52,00±8,36 ^a	48,00±5,70 ^a	0,00
32	42,00±2,73 ^b	41,00±2,23 ^b	55,00±3,53 ^c	40,00±3,53 ^b	35,00±0,00 ^a	0,00
40	30,00±6,12 ^b	31,00±4,18 ^b	45,00±3,53 ^c	27,00±5,70 ^b	20,00±5,00 ^a	0,00
48	20,00±6,12 ^{bc}	21,00±4,18 ^c	35,60±3,78 ^d	15,00±3,53 ^b	9,00±2,23 ^a	0,00

Keterangan: ^{abcd} superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata P (< 0,05) WP: Waktu Pengamatan, P0 : BTS 100% + SDBL0%, P1 : BTS 95% + SDBL5%, P2: BTS 90% + SDBL10%, P3: BTS 85% + SDBL 15%, P4: BTS 80% + SDBL 20%

Temuan dari penelitian menunjukkan motilitas sperma dari semua perlakuan saat awal pengenceran memiliki rerata yang sama yaitu 80±3,53% dan teramati berbeda saat jam penyimpanan ke-8 sampai jam ke-40. Hal ini menunjukkan bahwa belum adanya perubahan kualitas spermatozoa saat awal pengenceran. Berdasarkan hasil analisis, pada jam penyimpanan ke 0 dan ke-8 menunjukkan perbedaan tidak signifikan, sedangkan pada jam ke-16 hingga ke-40 memperlihatkan adanya perbedaan signifikan (P-value< 0,05).

Perlakuan P2 memperlihatkan perbedaan signifikan dari perlakuan yang lain pada jam ke-16 hingga jam ke-48 (<0,05). Temuan dari penelitian ini mengindikasikan bahwa P2 memiliki nilai motilitas spermatozoa di atas 40% pada penyimpanan jam ke-40, sedangkan perlakuan P0, P1 dan P3 memiliki rerata motilitas dibawah 40% pada jam penyimpanan ke-32 dan dan P4 pada jam ke-24. Kondisi ini diprediksi dapat terjadi karena pengaruh dari level suplementasi sari daging buah lontar dalam pengencer BTS. Pengencer BTS pada perlakuan P2 yang disuplementasi sari daging buah lontar sebanyak 10% adalah level terbaik dan mampu memenuhi kebutuhan akan nutrisi bagi spermatozoa selama proses preservasi. Pemberian sari daging buah lontar pada P3 dan P4 kemungkinan

melebihi dari nutrisi yang tersedia dari yang dibutuhkan oleh spermatozoa sehingga berubah menjadi toksik bagi spermatozoa, disisi lain pada P0 dan P1 kebutuhan nutrisi bagi spermatozoa belum terpenuhi. Hal ini didukung dengan laporan Bebas *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa penggunaan dosis senyawa yang sesuai sebagai sumber nutrisi dan antioksidan dalam satu bahan pengencer akan memberikan hasil yang lebih maksimal.

Kandungan nutrisi yang terkandung dalam sari daging buah lontar berupa gula pereduksi sebesar 9,5 gram/ 100gram dan karbohidrat sebesar 22,5 gram/ 100 gram (Vijaya *et al.*, 2015), karbohidrat digunakan oleh spermatozoa saat melakukan metabolisme untuk menghasilkan energi demi mempertahankan hidupnya selama waktu preservasi. Idayati *et al.* (2014) melaporkan bahwa buah lontar mengandung karbohidrat berupa sukrosa, fruktosa dan glukosa. karbohidrat yang terkandung dalam buah. zat-zat karbohidrat ini akan diproses oleh spermatozoa melalui metabolisme untuk menjadi *adenosine trephosphate* (bentuk energi yang siap dipakai). Glukosa dan fruktosa adalah jenis karbohidrat yang disukai oleh spermatozoa karena memiliki karakteristik atom-atom yang berukuran kecil. Glukosa dan fruktosa akan dipecah untuk digunakan sebagai energi bagi pergerakan sel (Banamtuan *et*

al., 2021). Selain itu, Bebas *et al.* (2015) melaporkan bahwa dalam pengencer BTS terdapat *pottasium* dan glukosa sebagai penjaga jalur transportasi metabolik dan sumber energi. Sumber energi yang diperoleh oleh spermatozoa melalui proses metabolisme ini dapat menjaga spermatozoa dari kejutan dingin. Selanjutnya menurut Dapawole. (2014) pengencer BTS terdapat EDTA dan glukosa sebagai sumber energi bagi spermatozoa selama proses preservasi semen.

Nilai motilitas memperlihatkan penurunan sejalan dengan peningkatan waktu penyimpanan. Fakta ini sejalan dengan Banamtuan *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa semakin bertambah waktu penyimpanan maka kualitas motilitas spermatozoa pun menurun, pendapat tersebut juga didukung oleh Parera *et al.* (2019) yang melaporkan bahwa lama waktu penyimpanan akan menurunkan produksi ATP yang berakibat pada menurunnya daya motilitas spermatozoa. Selain itu, penurunan nilai motilitas spermatozoa pada setiap perlakuan dapat terjadi karena adanya kerusakan pada komposisi membran sel spermatozoa, kondisi ini terjadi karena adanya proses peroksidasi lipid yang diakibatkan oleh banyaknya jumlah lemak tak jenuh yang terkandung dalam spermatozoa babi. Fakta ini sesuai dengan temuan Amtiran *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa proses peroksidasi lipid dapat merusak membran sel spermatozoa karena membran sel spermatozoa babi kaya akan lemak tak jenuh, yang membuatnya sangat rentan terhadap proses peroksidasi. Lebih lanjut dijelaskan bahwa penurunan gerak progresif spermatozoa dapat terhadap karena adanya pembentuk asam laktat dalam pengencer.

Penelitian ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa dengan penggunaan 10% sari daging buah lontar ke dalam 90% BTS dapat menjaga pergerakan progresif spermatozoa babi Landrace sampai penyimpanan jam ke-40 dengan nilai

motilitas sebesar $45,0 \pm 3,53\%$. Hasil temuan menunjukkan persentase lebih tinggi jika dibandingkan dengan pelaporan Foeh *et al.* (2017) dengan menggunakan pengencer sari daging buah lontar yang hanya mampu mempertahankan motilitas spermatozoa hingga jam penyimpanan ke-28. Selain itu hasil penelitian ini juga memiliki nilai motilitas yang lebih tinggi dari yang dilaporkan oleh Mega *et al.* (2022) yang menggunakan air buah lontar dalam pengencer Duraspem modifikasi yang hanya mampu mempertahankan motilitas spermatozoa babi Landrace pada waktu ekulibrasi penyimpanan 2 jam dan 3 jam penyimpanan yang disimpan pada suhu $3-5^{\circ}\text{C}$ dengan nilai motilitas $28,13\%$, namun hasil penelitian ini menunjukkan lama waktu penyimpanan yang masih lebih rendah dari yang dilaporkan oleh Banamtuan *et al.* (2021) dan Hine *et al.* (2014) di mana penggunaan air buah lontar dalam pengencer durasperm dan penggunaan air buah lontar dalam kuning telur mampu dalam mempertahankan motilitas spermatozoa babi Duroc hingga jam penyimpanan ke-64 dengan nilai motilitas sebesar 40% dan masa simpan dengan motilitas 44% pada semen sapi. Perbedaan hasil yang diperoleh dari berbagai penelitian ini dipengaruhi oleh komponen kandungan nutrisi yang berbeda yang dimiliki oleh pengencer, metode kerja dan genetik dari ternak dan juga kemampuan serta cara kerja yang berbeda dalam mempertahankan motilitas spermatozoa (Tethol *et al.*, 2016).

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah parameter penilaian yang dipakai dalam mengukur kualitas semen, kualitas semen dikatakan baik apabila memiliki nilai viabilitas yang tinggi (Herdis dan Rizal, 2008). Pemeriksaan daya hidup sangat penting karena berkaitan erat dengan motilitas spermatozoa. Hasil analisis terhadap viabilitas spermatozoa menunjukkan tidak adanya perbedaan

signifikan antar perlakuan saat penyimpanan jam ke-0, ke-8 ($P > 0,05$). Akan tetapi, pada jam penyimpanan ke-16 hingga jam ke-40 menunjukkan bahwa adanya perbedaan signifikan antar perlakuan ($P < 0,05$).

Rerata persentase viabilitas spermatozoa diuraikan pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Rerata nilai viabilitas spermatozoa dalam pengencer perlakuan

WP	Perlakuan (%)					P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	91,29±3,58 ^a	91,4± 3,60 ^a	91,41±3,59 ^a	91,38±3,60 ^a	91,24±3,40 ^a	1,00
8	82,68±4,73 ^a	81,95±7,03 ^a	88,35±3,92 ^a	81,78±5,67 ^a	80,22±5,58 ^a	0,20
16	74,31±5,14 ^a	75,19±4,70 ^a	84,91±2,71 ^b	72,60±7,29 ^a	68,26±7,40 ^a	0,02
24	65,92±5,39 ^b	65,65±5,35 ^b	77,85±4,91 ^c	62,20±7,19 ^{ab}	57,73±5,03 ^a	0,00
32	52,68± 1,96 ^b	50,96±2,92 ^b	65,59±2,87 ^c	49,06±4,68 ^b	42,29±1,40 ^a	0,00
40	41,59±5,11 ^b	42,32±2,66 ^b	63,16±7,76 ^c	37,17±3,80 ^b	27,56±7,77 ^a	0,00
48	42,84±22,3 ^a	45,72±23,77 ^a	54,18±9,25 ^a	33,85±45,72 ^a	30,03±26,48 ^a	0,40

Keterangan: ^{abcd} superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) WP : Waktu Pengamatan, P0 : BTS 100% + SDBL0%, P1 : BTS 95% + SDBL5%, P2: BTS 90% + SDBL10%, P3: BTS 85% + SDBL 15%, P4: BTS 80% + SDBL 20%

Nilai viabilitas spermatozoa teramati pada jam penyimpanan ke-40 pada hasil penelitian Tabel 2 maka berdasarkan motilitas 40% maka nilai viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan P2 dengan rerata 63,16±7,76 %, hal ini menunjukkan perlakuan P2 menghasilkan nilai kemampuan bertahan hidup lebih lama dibandingkan perlakuan lainnya. Suplementasi sari daging buah lontar dalam pengencer BTS dapat menunjang viabilitas spermatozoa selama penyimpanan, fenomena ini mungkin terjadi karena kandungan senyawa β karoten yang terkandung dalam sari buah lontar yang dapat menetralkan hasil sisa metabolisme seperti serangan radikal bebas. Pernyataan didukung oleh Kusbandari *et al.* (2017) yang melaporkan bahwa β karoten adalah suatu senyawa yang bisa menetralkan radikal bebas. Selain itu, kandungan fruktosa yang terdapat dalam sari daging buah lontar berperan dalam menstabilkan tekanan osmotik dalam pengencer dengan tujuan mempertahankan viabilitas selama proses preservasi (Tsuji *et al.*, 2006).

Nilai viabilitas spermatozoa

teramati relatif turun setelah pengenceran. Sikka. (2004) menyatakan bahwa pada selama masa penyimpanan semen sel spermatozoa babi sangat rentan terhadap kejutan dingin (*cold shock*), juga disebabkan karena sel spermatozoa babi memiliki lapisan lipid pada membran sel yang tipis, sehingga sel spermatozoa sangat sensitif terhadap perubahan suhu yang sering terjadi saat proses penyimpanan, disisi lain proses metabolisme yang terjadi saat proses pengenceran dan penyimpanan akan menghasilkan serangan radikal bebas (ROS) kondisi ini dapat berpengaruh pada viabilitas spermatozoa. Lebih lanjut dijelaskan oleh Salamon dan Maxwell (2000) bahwa ROS yang merupakan produk hasil sampingan dihasilkan oleh spermatozoa saat melakukan metabolisme yang dibentuk dengan menggunakan reaksi oksidasi lipid dari membran sel spermatozoa apabila diproduksi dalam jumlah yang berlebihan dapat menurunkan mutu membran spermatozoa sehingga berpengaruh buruk pada viabilitas spermatozoa.

Semakin lama waktu penyimpanan

maka ketersediaan nutrisi bagi spermatozoa dalam pengencer mulai berkurang sehingga spermatozoa tidak mendapatkan asupan nutrisi dan berdampak pada menurunnya daya hidup spermatozoa (Tamoës *et al.*, 2014). Susilawati *et al.* (2013) melaporkan bahwa degradasi viabilitas spermatozoa saat preservasi dipengaruhi juga oleh peningkatan jumlah sperma yang rusak dan mati karena keterbatasan energi

Hasil viabilitas pada penelitian ini lebih baik dalam konteks lama penyimpanan jika dibandingkan dengan yang diuji oleh Foeh *et al.* (2019) pada babi Landrace, dimana hanya mampu bertahan hingga jam ke-28 dengan viabilitas (45%), tetapi lebih rendah yang dilaporkan oleh Parera *et al.* (2019) yaitu semen cair babi Landrace yang mampu bertahan hidup selama penyimpanan 96 jam yang disimpan pada suhu 13°C (5,50%) pada spermatozoa asal kauda epididimis babi dengan menggunakan ekstrak mesocarp buah lontar yang ditambahkan dalam pengencer BTS.

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas pada sperma merupakan kerusakan kelainan fisik pada spermatozoa yang terjadi selama proses pembentukan sel di dalam tubuli seminiferi ataupun terjadi saat proses perjalanan spermatozoa melalui saluran organ kelamin ternak jantan (Manehat *et al.*, 2021). Abnormalitas spermatozoa dikategorikan baik apabila memiliki nilai persentase <20% (Knox, 2011). Terdapat beberapa faktor yang dapat mengakibatkan abnormalitas pada spermatozoa yaitu faktor genetik dan penyakit yang menyerang organ reproduksi. Penyakit yang menyerang organ reproduksi akan

mengakibatkan produksi spermatozoa dalam tubuli seminiferi tidak dapat berlangsung secara sempurna.

Terdapat dua bentuk abnormalitas spermatozoa yaitu primer dan sekunder. Yulnawati *et al.* (2015) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa primer dapat terjadi karena kegagalan dalam proses spermatogenesis di tubuli seminiferus, jenis abnormal ini disebabkan oleh faktor keturunan atau genetik. Sedangkan abnormalitas sekunder adalah jenis abnormalitas spermatozoa yang bisa saja terjadi karena kesalahan saat mempersiapkan sampel pengamatan (Prastowo, 2008). Bentuk abnormalitas spermatozoa yang teramati pada penelitian ini ialah bentuk abnormalitas sekunder, yang ditandai dengan kepala dan leher putus, dan ekor seperti tergulung.

Berdasarkan Hasil analisis statistik terhadap abnormalitas spermatozoa dari jam ke-0 hingga jam ke-40 menunjukkan perbedaan tidak signifikan ($P_{value} > 0,05$). Kondisi ini menunjukkan bahwa suplementasi sari daging buah lontar dalam pengencer BTS disetiap perlakuan memberikan pengaruh yang relatif sama dan dapat menghambat peningkatan abnormalitas spermatozoa babi landrace selama proses preservasi. Pengencer BTS yang disuplementasi sari daging buah lontar berperan dalam menekan kenaikan abnormalitas karena adanya reaksi peroksidasi lipid. Fakta ini selaras laporan Banamtuan *et al.* (2021) yaitu pengencer durasperm dengan suplementasi air buah lontar sebanyak 6% mampu dalam mengurangi peningkatan abnormalitas spermatozoa hingga jam penyimpanan ke-64.

Rerata nilai abnormalitas yang diperoleh dalam penelitian ini diuraikan dalam Tabel 4 berikut ini

Tabel 4. Rerata abnormalitas spermatozoa dalam pengencer perlakuan

WP	Perlakuan (%)					P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	3,47±1,7 ^a	3,37±0,83 ^a	3,50±0,85 ^a	3,59±0,91 ^a	3,48±1,11 ^a	0,99
8	3,96±0,91 ^a	3,73±0,77 ^a	3,37±0,82 ^a	3,81±0,93 ^a	3,87±0,90 ^a	0,99
16	4,59±1,19 ^a	4,39±0,99 ^a	4,07±0,84 ^a	4,56±0,96 ^a	4,58±1,01 ^a	0,91
24	5,27±1,08 ^a	5,07±0,88 ^a	4,66±0,69 ^a	5,16±0,56 ^a	5,24±0,43 ^a	0,72
32	5,62±0,50 ^a	5,99±0,69 ^a	5,54±0,58 ^a	6,07±0,49 ^a	6,19±5,56 ^a	0,27
40	6,68±1,11 ^a	7,22±0,67 ^a	6,24±0,70 ^a	7,68±1,35 ^a	8,00±1,81 ^a	0,29
48	7,77±7,32 ^a	8,20±0,90 ^a	7,07±0,74 ^a	8,79±0,91 ^a	9,25±1,29 ^a	0,30

Keterangan: ^{abcd} superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata P (< 0,05) WP : Waktu Pengamatan, P0 : BTS 100% + SDBL0%, P1 : BTS 95% + SDBL5%, P2: BTS 90% + SDBL10%, P3: BTS 85% + SDBL 15%, P4: BTS 80% + SDBL 20%

Peningkatan nilai abnormalitas spermatozoa dapat terjadi karena adanya kejutan dingin yang dialami oleh spermatozoa selama penyimpanan. Solihati *et al.* (2018) melaporkan bahwa *cold shock* yang dialami oleh spermatozoa diakibatkan karena adanya ketidakseimbangan tekanan osmotik dalam pengencer. Ketidakseimbangan tekanan ini diakibatkan oleh aktivitas metabolisme yang terus berlangsung selama periode penyimpanan berlangsung selama masa penyimpanan.

Penelitian ini memperoleh nilai abnormalitas spermatozoa antara 3,37-9,25% lebih rendah berdasarkan laporan yang disampaikan oleh Parera *et al.* (2019) yang melaporkan rerata abnormalitas spermatozoa yakni 11,55%, namun lebih tinggi dari pelaporan Banamtuan *et al.* (2021) yaitu 2,40–4,57%. Nilai persentase abnormalitas yang diperoleh ini tergolong rendah dan jauh dari batas maksimum yang disarankan menurut Garner dan Hafes (2000) yakni ≤ 20%.

Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa adalah kapasitas atau kemampuan spermatozoa dalam bertahan hidup selama penyimpanan yang ditunjukkan dengan kemampuan bergerak progresif, namun daya tahan hidup spermatozoa yang dihitung dalam penelitian ialah spermatozoa yang hanya bertahan hidup selama motilitas minimal 40%. Hasil analisis terhadap daya tahan hidup spermatozoa menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan (P < 0,05). Kondisi ini menandakan bahwa penambahan sari daging buah lontar dalam pengencer BTS berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa babi Landrace. Daya tahan hidup spermatozoa babi Landrace pada penelitian ini dapat diuraikan pada Tabel 4 berikut ini:

Tabel 4. Rerata daya tahan hidup spermatozoa dalam pengencer perlakuan

Perlakuan	Daya Tahan Hidup (Jam)
P0	36,60±2,19 ^b
P1	32,80±1,78 ^b
P2	44,34±2,92 ^c
P3	31,20±4,38 ^{ab}
P4	28,13±2,42 ^a
Nilai P	0,00

Keterangan: ^{abcd} superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata P (< 0,05) WP : Waktu Pengamatan, P0 : BTS 100% + SDBL0%, P1 : BTS 95% + SDBL5%, P2: BTS 90% + SDBL10%, P3: BTS 85% + SDBL 15%, P4: BTS 80% + SDBL 20%

Hasil analisis terhadap daya tahan hidup spermatozoa menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan (P < 0,05). Kondisi ini menandakan bahwa penambahan sari daging buah lontar dalam pengencer BTS berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa babi Landrace.

Perlakuan P2 memiliki nilai yang paling tinggi yakni dapat bertahan sampai waktu penyimpanan ke-44,34, dari fakta ini dapat memberikan informasi bahwa pemberian sari daging buah lontar sebanyak 10 % ke dalam pengencer BTS memiliki nilai daya preservasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sedangkan perlakuan P4 memiliki daya preservasi yang paling rendah dan hanya bertahan hingga jam penyimpanan ke-28,13. Perbedaan pemberian level sari daging buah lontar dalam tiap perlakuan memberikan dampak yang berbeda dalam preservasi semen terhadap daya hidup spermatozoa. Fakta ini selaras dengan temuan Bebas *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa pemberian seyawa antioksidan yang terkandung dalam sari daging buah lontar yang sesuai dengan dengan dosis sesuai akan menghasilkan hasil yang optimal dalam menghentikan rekasi perosidasi lipid pada membran spermatozoa. sehingga daya tahan hidup spermazoa bisa terjaga.

Hasil temuan ini pada penelitian serupa dengan pelaporan Parera *et al.* (2019) yang menggunakan mesocarp buah lontar melaporkan bahwa semakin banyak

dosis mesocarp buah lontar yang ditambahkan dalam pengencer BTS akan mempersingkat viabilitas spermatozoa. Kondisi ini disebabkan karena tindakan penambahan konsentrasi larutan dalam jumlah yang besar tidak bagus sebagai media hidup bagi spermatozoa, karena cara kerja metabolisme spermatozoa akan maksimal apabila bahan pengencer memiliki konsentrasi yang sama (bersifat isotonik) (Rahardianto *et al.*, 2012).

Parera *et al.* (2019) juga menjelaskan bahwa penambahan ekstrak mesocarp buah lontar dalam larutan pengencer dapat meningkatkan jumlah alkaloid dan tanin. Zat tanin dan alkaloid dapat menghambat sistem kerja ATP-ase pada membran sel spermatozoa dibagian ekor. Jika sistem kerja ATP-ase maka akan mengakibatkan rusaknya permeabilitas membran spermatozoa sehingga proses penyaluran nutrisi akan terganggu. Nutrisi dalam pengencer sangat dibutuhkan oleh sel spermatozoa karena jika transport nutrisi terganggu maka sel spermatozoa tidak mendapatkan nutrisi sehingga tidak mampu bertahan hidup dan menghambat pergerakannya (Salisbury dan Ross, 1995).

Hasil pada penelitian ini memberikan bukti yang kuat bahwa pengenceran sangat memegang peranan penting untuk melambatkan kerusakan spermatozoa guna memperpanjang masa hidup sel spermatozoa saat proses preservasi. Spermatozoa membutuhkan energi agar terus melakukan metabolisme

dan sumber substrak energi itu diperoleh dari zat-zat gizi yang terkandung dalam seminal plasma dan larutan pengencer. (Tamoës *et al.*, 2014). Kekurangan pasokan nutrisi sebagai sumber energi yang berlangsung sewaktu proses preservasi Kehabisan suplai energi yang terjadi selama masa penyimpanan akan membuat spermatozoa berhenti bergerak dan mati. Selain faktor kehabisan zat-zat nutrisi, kejutan dingin yang dialami oleh spermatozoa juga ikut mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa. Kejutan dingin akan menyebabkan kerusakan pada membran, jika lapisan membran rusak maka spermatozoa akan kehilangan enzim aspartate amino transferase dan sistem kerja mitokondria akan rusak dan tidak mampu merubah *Adenosin trifosfat* menjadi *Adenosina difosfat* dan pada akhirnya sel berhenti bergerak dan mati.

KESIMPULAN

Suplementasi sari daging buah lontar sebanyak 10% dalam 90% pengencer BTS adalah suplementasi terbaik dalam mengawetkan semen cair babi Landrace yang disimpan pada suhu 18-20°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Amtiran, D. E., Hine, T. M., dan Uly, K. 2020. Pengaruh Penambahan Vitamin E Dalam Pengencer Tris-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*. 2(4): 1111–1118.
- Badan Standarnisasi Nasional. 2017. *Semen Beku-Bagian 1*: Sapi. BSN.JKT.ID
- 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 Sains Peternakan Indonesia*. 16 (1) :41-48.
- Bebas, W, Budiasa, M., K, Astutik., dan I.Y. 2015. Penambahan Vitamin C Pada Pengencer Spermatozoa Babi Landrace Yang Disimpan Pada Suhu 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*. 7(2):179-185.
- Dapawole, R.R. 2014, Preservasi dan Kriopreservasi Semen Babi dalam Pengencer BTS dan MIII yang disuplementasi dengan dan tanpa Trehalosa. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Esvandry. J.Utami., dan Wijoyo, M.F.S.Y. 2017. Efek Analgetik dan Efek Ant Beta Karoten Pada Mencit. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Foeh, N.D.F.K., Arifiantin., Raden I., dan Yusuf, T.L. 2016. Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Babi Duroc dalam Extender Beltsville Thawing Solution Menggunakan Kripkrotektan Gliserol dan Dimetilacetamida. *Jurnal Kajian Veteriner*. 4 (1): 24-32.
- Foeh, N. D. F. K dan C. D. Gaina. 2017. Sari Buah Lontar sebagai Pengencer Alami dalam mempertahankan Kualitas Spermatozoa Babi. *Jurnal Kajian Veteriner*. 5 (1): 52-58.
- Hine, M.T., Burharnudin., dan Marawali, A. 2014. Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motiitas, Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Veteriner*. 15(2): 263-273.
- Idayati, E dan Darmadji, P, 2014. (Borassus flabeliffer L.) Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Agritech*. 34(3):277-283.
- Indrawati., D, Bebas, W., Trilaksana., I. G. N. B. 2013. Motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung dengan penambahan astaxanthin pada suhu 3– 5 0C. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2 (4): 445 – 452.
- Johnson, L.A., K.F. Weitze., P. Fiser., dan W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of Boar Semen. *J. Anim. Sci*. 62: 143-

- 172.
- Knox, R. 2011. Semen Processing Extending and Storage for Artificial Insemination In Swine: Swine Reproductive Extension Specialist. Departement of Animal Sciences. University of Illinois.
- Kusbandari dan A, Susanti, H. 2017. Kandungan Beta Karoten Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap Dpph (1,1-Difenil 2-Pikrihidrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis Melo Var. Cantalupensis L*) Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *J Pharm Sci Community*. 14 (1):37–42.
- Manehat, F.X, Dethan, A.A, Tahuk, P.K, 2021. Motility, Viability, Spermatozoa Abnormality, and pH of Bali Cattle Semen in Another-Yellow Water Driller Stored in a Different Time. *Journal Trop Anim Sci Technology*. 3(2):76–90.
- Mega, M.G, Nalley, W.M., Marawali, A., dan Belli, H.L.L. 2022. Pengaruh Perbedaan Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Babi Landrace Dalam Pengencer Durasperm Modifikasi Dengan Air Buah Lontar. *JNP*. 9 (1):57–65.
- Mere, C. Y, Gaina, C. D. Foeh, N. D .2019. Air Kelapa dan Air Buah Lontar sebagai Modifikasi Pengencer Alternatif pada Semem Babi Landrace. *Jurnal Veteriner Nusantara*. 2(2);20-29.
- Parera, H, Ndoen., B, Lenda., V, Sirat., dan M.M.P. 2019. Efektivitas Penambahan Ekstrak Mesocarp Borassus Flabellifer Pada Pengencer Beltsville Thawing Solution Terhadap Viabilitas Spermatozoa Asal Kauda Epididimis Babi. *Jurnal Ilmu Peternakan Indonesia*. 7(1): 212-219.
- Prasotowo, A. 2008. Morfologi dan Morfometri Sprmatozoa Babi Yorkshire dalam nilai Ejakulat dengan pewarnaan Wiliams. Bogor.
- Pryor, W. A, Stahl dan W, Rock, C. L. 2009. BetaCarotene From Biochemistry to Clinical Trials. *Nutrition Reviewer*. 58(1): 39-53.
- Rahardianto, A., Abdulah, N., dan Trisyani, N. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NACL Fisiologis terhadap Viabilitas dan Motilitas Masa Penyimpanan. *Jurnal Sains Dan Seni*. 1(1): 5-63.
- Rizal, M, Maheshwari, H, N.D. 2007. Peningkatan Kualitas Spermatozoa Epididimis Kerbau Belang Yang Dikriopreservasi Dengan Beberapa Konsentrasi Sukrosa.. *Jurnal Veteriner*. 188-191.
- Robert, V. K. 2006. Semen Processing. Extending and Storage for Artificial Insemination in Swine. Dept. of Animal Science University of Illinois.
- Salisbury, B., dan C.W. Ross. 1995. Fisiologis Tumbuhan. *Jilid 1. Edisis IV*. Bandung.
- Salmon, S., dan W.M.C. Maxwell. 2000. Frozen storage of ram semen processing, freezing,
- Sikka, Suresh, C. 2004. Role of Oxidative Stress and Antioxidant in Andology and Assisted Reproductive Technology. *Journal Androl*. 25(1): 5-18.
- Susilawati dan T, Wahyuningsih, S. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. *Jurnal Veteriner*. 14 (3): 379-386.
- Solihati N., Lestari., dan T.D, Setiawan R. 2008. Penggunaan albumen untuk separasi spermatozoa epididymis domba garut. *Jurnal Ilmu Ternak*. 8(1):133–143.
- Tamoes, J, A., Nalley, W.M., dan Hine,

- T.M. 2014. Fertilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Modifikasi Zorleco dengan Susu Kacang Kedelai. Sains Petenak. Jurnal Ilmu Peternakan. 12(1);20-30.
- Tethool, A. N., Ciptadi, G, Wahjuningsih., dan S, Susilawati, T. 2022. Karakteristik dan Jenis Pengencer Semen Sapi Bali: Suatu Review: Bali Cattle Semen Characteristics and Diluent Types: A Review. J. Ilmu Peternakan. .12(1);45-57.
- Tsuji, Hiroshi. 2004. Reproductive Ecology and Mating Success of Male *Limnonectes kuhlii*, A Fanged Frog from Taiwan. *Herpetologica*. 60(2): 155-167
- Vijaya Kumara B., V.P, Prasad Kr dan M.G, 2015. Physico-Chemical Properties of Palmyrah fruit Pulp (*Borassus flabellifer* L). *J Nutr Food Sci*. 5(5): 2-4.
- Yulnawati., Afiati F., Rizal M., dan Arifiantini RI. 2013. Gambaran Abnormalitas Spermatozoa Sapi Subtropis di Lingkungan Tropis. Forum Komunikasi dan Seminar Nasional Peternakan. 19 September 2013. Pusat Bioteknologi LIPI.Cibinon.
- Zaneboni, L, R. Rizzi dan S. Cerolini. 2006. Combined effect of DHA and atocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology*. 65 (1);113-1827.