

**PERBANDINGAN KUALITAS SPERMA BABI LANDRACE DALAM  
PENGECER MULBERRY III (MIII) DENGAN PENAMBAHAN  
EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR PADA  
KONSENTRASI BERBEDA**

*Comparison of Sperm Quality of Landrace Boars in Mulberry III (MIII) Diluent with the  
Addition of Different Moringa Leaf Ethanol Extracts*

**Jelitron Putra Lombo\*, Petrus Kune, Alvrado Bire Lawa, Wilmientje Marlene Nalley**  
Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana  
Jl. Adisucipto Penfui, Kupang, 85001, Nusa Tenggara Timur  
\*Corresponding author: [lomboputra4@gmail.com](mailto:lomboputra4@gmail.com)

**ABSTRACT**

*This study aims to determine the comparison of landrace boars sperm quality in Mulberry III (MIII) diluent with the addition of different moringa leaf ethanol extract. In this study used experimental methods with completely randomized design with 6 treatments and 5 replications, where the treatment consisted of T0 = MIII Egg Yolk, T1 = MIII EY + Moringa Leaf Ethanol Extrak 0.5%, T2 = MIII EY + MLEE 1%, T3 = MIII EY + MLEE 1.5%, T4 = MIII EY + MLEE 2% and T5 = MIII EY + MLEE 2.5%. After the semen was diluted, it will be stored in a styrofoam box with a temperature of 18-20°C, the semen will be evaluated every 8 hours, for motility, viability, abnormality and survival of sperm. The results showed that until the 40th storage hour, T1 with the addition of MIII EY + MLEE 0.5%, provide the best results with motility values ( $43.75 \pm 4.78\%$ ), viability ( $49.72 \pm 3.71\%$ ), abnormality ( $5.54 \pm 1.13\%$ ) and survival ( $39.66 \pm 2.73\%$ ). In conclusion, P1 with the addition of MIII EY + MLEE 0.5% was the best treatment and can maintain motility, viability, abnormality and survival of sperm.*

**Keywords:** Landrace pig, Moringa leaf ethanol extract, Mulberry III, Sperm Quality

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas sperma babi landrace dalam pengencer Mulberry III (MIII) dengan penambahan ekstrak etanol daun kelor yang berbeda. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan dan 5 kali ulangan, di mana perlakuan tersebut terdiri dari P0 = MIII Kuning Telur + Ekstrak Etanol Daun Kelor, P1 = MIII KT + EEDK 0,5%, P2 = MIII KT + EEDK 1%, P3 = MIII KT + EEDK 1,5%, P4 = MIII KT + EEDK 2% dan P5 = MIII KT + EEDK 2,5. Setelah semen di encerkan maka akan di simpan pada kotak *styrofoam* dengan suhu 18-20 °C, semen tersebut akan di evaluasi setiap 8 jam sekali, terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup dari sperma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hingga jam penyimpanan ke 40, P1 dengan penambahan MIII KT + EEDK 0,5% dapat memberikan hasil yang terbaik dengan nilai motilitas ( $43,75 \pm 4,78$ ), viabilitas ( $49,72 \pm 3,71$ ), abnormalitas ( $5,54 \pm 1,13$ ) dan daya tahan hidup ( $39,66 \pm 2,73$ ). Kesimpulannya P1 dengan penambahan MIII KT + EEDK 0,5% merupakan perlakuan terbaik dan dapat mempertahankan motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup dari sperma.

**Kata kunci:** Babi landrace, Ekstrak etanol daun kelor, Mulberry III, Kualitas Sperma

## PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB), juga dikenal sebagai kawin suntik, adalah teknologi reproduksi awal yang dirancang untuk memaksimalkan manfaat dari ternak jantan. Prosedur ini melibatkan penyuntikan sperma ke dalam saluran reproduksi ternak betina dengan menggunakan alat yang dikenal sebagai *insemination gun*. Pengelolaan semen bertujuan untuk meningkatkan jumlah ternak betina yang dapat dibuahi. Agar tujuan tersebut tercapai, semen diencerkan menggunakan bahan dengan kriteria seperti menyediakan sumber energi, berfungsi sebagai penyangga, tidak beracun, melindungi sperma dari kerusakan, serta murah dan mudah didapatkan (Toelihere, 1993).

Pengencer yang digunakan adalah MIII kuning telur yang di tambah ekstrak etanol daun kelor, ekstrak daun kelor dibuat dengan menggunakan daun kelor yang segar yang berwarna hijau muda, kemudian di keringkan dalam suhu ruangan, setelah dikeringkan daun kelor di blender sampai halus. Serbuknya ditimbang sebanyak 260 gram dan dimaserasi dengan 1 liter etanol 70% selama 24 jam. Setelah 24 jam hasil dari maserasi di saring kemudian ditampung filtratnya, filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan *rotary* evaporator dengan suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak semi solid. Dalam MIII, terkandung *Bovine Serum Albumin* yang berperan melindungi sperma selama proses pembekuan serta menjaga kestabilan pH dan tekanan osmotik. Sementara itu, protein bagi sperma bersumber dari glisin, terutama selama masa penyimpanan, sehingga sperma memiliki cukup nutrisi untuk bertahan hidup (Johnson *et al.*, 2002). Kuning telur merupakan bahan yang mengandung Lipoprotein dan lechitin, yang berperan menjaga selubung lipoprotein sperma (Toelihere, 1993).

Dalam daun kelor (*Moringa oleifera lam.*) terdapat banyak antioksidan, termasuk, alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, fenol, karotenoid, tokoferol, dan asam ascorbat (Putra *et al.*, 2016). Antioksidan dapat menangkal radikal bebas, antioksidan melakukan peranan penting dalam menghambat oksidasi lipida dengan menyumbangkan satu elektronnya ke senyawa oksidan, proses ini mengurangi aktivitas senyawa oksidan tersebut. (Muflihunna dan Mu'nisa, 2023).

Dengan demikian, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi perbedaan kualitas semen babi landrace dalam pengencer MIII dengan penambahan ekstrak etanol daun kelor yang berbeda.

## MATERI DAN METODE

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian berlokasi di Laboratorium Yayasan Williams dan Laura di Tilong, Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur.

Penelitian ini berlangsung selama 6 minggu yang terdiri atas masa persiapan (1 minggu) serta masa pengumpulan dan analisis data (5 minggu).

### Materi

Bahan yaitu semen segar babi jantan berumur 2 tahun dengan bobot 180 kg, pengencer Mulberry III (MIII), kuning telur (KT), ekstrak etanol daun kelor (EEDK), alkohol 70%, bahan pewarna eosin-nigrosin dan akuades.

### Metode penelitian

Pada penelitian ini digunakan jenis penelitian eksperimen dengan metode rancangan acak lengkap, 6 perlakuan dan 5 kali ulangan, di mana perlakuan tersebut terdiri dari:

P0 = MIII KT, P1 = MIII KT + EEDK 0,5%),  
P2 = MIII KT + EEDK 1%,  
P3 = MIII KT + EEDK 1,5%,  
P4 = MIII KT + EEDK 2%  
P5 = MIII KT + EEDK 2,5%.

## Tahap Persiapan Pengencer

### Persiapan kuning telur

Telur yang tersedia digunakan dengan langkah awal membersihkan menggunakan alkohol 70% dan mengeringkan telur tersebut, memecahkan telur pada bagian ujung runcing, tuangkan seluruh putih telur dan memisahkan kuningnya, meletakkan kuning telur yang terbungkus selaput vitelin di atas kertas saring lalu miringkan supaya semua putihnya dapat terserap, memecahkan selaput vitelin dan masukan kuning telur pada gelas ukur kemudian tutup dengan *aluminium foil*.

### Persiapan ekstrak etanol daun kelor

Ekstrak daun kelor dibuat menggunakan daun kelor yang segar yang berwarna hijau muda, kemudian di keringkan dalam suhu ruangan, setelah dikeringkan daun kelor di blender sampai halus. Serbuknya ditimbang hingga 260 gram dan selama 24 jam dimaserasi menggunakan 1 liter etanol 70%. 24 jam kemudian hasil dari maserasi di saring kemudian ditampung filtratnya. Filtrat tersebut dievaporasikan memakai *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak semi solid.

### Persiapan MIII-kuning telur

Pembuatan pengencer MIII-KT langkah awal ditimbang. Banyaknya MIII yang ditimbang adalah 5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam *elenmeyer*, tambahkan 100 mL akuades, homogenkan menggunakan *stirrer* dan *spin bar*. Sesudah dihomogenkan, pencampuran dengan kuning telur (kt) dilakukan dengan perbandingan 9:1, 90 mL + 10 mL(kt).

## Penampungan Semen

Semen ditampung menggunakan tangan (*Glove hand method*), untuk menampung semen babi dengan *dummy sow* setiap pagi, dengan satu periode penampungan dalam satu minggu. Untuk menyaring fraksi gelatin, semen di isi pada tabung penampung yang ditutup dengan kain kasa. Setelah evaluasi semen segar selesai, semen akan ditambahkan ke dalam bahan pengencer sesuai dengan perlakuannya masing-masing. Semen akan disimpan di tabung penampung dan di kotak *styrofoam* dengan suhu 18–20°C.

## Evaluasi Semen

Evaluasi semen yang diperoleh dengan cara makroskopis (warna, konsistensi, volume, dan pH) serta secara mikroskopis (abnormalitas, viabilitas, motilitas). Semen yang memiliki persentase motilitas setidaknya 70% dan persentase abnormal setidaknya 15% adalah semen yang memenuhi standar (Rizal dan Thahir, 2016).

## Variabel Penelitian

1. **Motilitas:** Metode evaluasi visual menggunakan mikroskop yang dinyatakan dengan subjektif dikenal sebagai motilitas. Untuk menilai, teteskan setetes semen ke *objek glass* yang telah dihangatkan lalu tutup menggunakan *cover glass*. Perhatikan pergerakan sperma motil progresif dari lima area pandang berbeda menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10 x 40. Diberikan penilaian dalam rentang 0-100 pada kisaran 5%.
2. **Viabilitas:** Untuk mengetahui nilai viabilitas sperma yang diamati, maka sperma akan diperiksa dibawah mikroskop dan diamati dengan 10 area pandang berbeda dengan minimal 200 sel sperma. Sperma yang mati menyerap

warna eosin-nigrosin, sehingga bagian kepalanya berwarna. Sebaliknya, sperma yang hidup tidak menyerap warna (transparan) (Foeh *et al.*, 2016). Menurut Dapawole (2014), permeabilitas yang meningkat menentukan viabilitas sperma hidup yang tidak menyerap warna. Nilai viabilitas sperma bisa dihitung dengan rumus berikut:

$$\frac{\text{Jumlah sperma hidup}}{\text{Total sperma}} \times 100\%$$

3. **Abnormalitas:** Abnormalitas dapat diketahui dengan mewarnai semen menggunakan eosin-nigrosin lalu diperhatikan menggunakan mikroskop pada pembesaran 10×40 untuk mengamati struktur morfologis sperma yang tidak normal seperti abnormalitas primer dan sekunder. Penentuan abnormalitas spermatozoa adalah perbandingan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa normal (Fitrik dan Supartini, 2012).

$$\frac{\text{Jumlah sperma abnormal}}{\text{Total jumlah sperma}} \times 100\%$$

4. **Daya tahan hidup:** Daya tahan hidup sperma dihitung sesuai lama periode penyimpanan sperma sampai dengan persentase motilitas pada 40 %.

### Analisis Data

Keseluruhan data terkumpul ditabulasi kemudian dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) lalu dengan uji *duncan's Multiple Range Test* menggunakan program *software SPSS 22.0 for windows*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Semen babi Landrace yang ditampung diperiksa karakteristiknya guna menilai kualitas makroskopis (volume, warna, konsistensi, dan derajat keasaman) serta mikroskopis (motilitas, konsentrasi, viabilitas, dan abnormalitas). Dalam

penelitian ini diperoleh kualitas semen yang baik dan memiliki nilai rata-rata motilitas 77,5±5,00%, viabilitas 91,85±3,26% dan abnormalitas 3,81±0,94%.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dihasilkan rerata volume semen segar sebesar 132,5±78,89 mL, ini lebih besar daripada hasil dari Banamtuan *et al.* (2021) pengamatan mikroskopis menunjukkan volume semen sebesar 101,75 ml tanpa gelatin, namun data menunjukkan hasil ini lebih sedikit dari hasil Sumardani *et al.* (2016) yaitu rerata volume semen yang dihasilkan adalah 218,4 mL. Faktor-faktor yang mempengaruhi warna, konsistensi dan volume serta pH semen meliputi variasi usia, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulasi, serta kualitas pakan (Johnson *et al.*, 2000).

Warna semen segar pada penelitian ini yaitu putih susu dan berkonsistensi encer selaras yang dilaporkan oleh Kaka (2020) yang menyatakan semen segar babi berwarna putih dan berkonsistensi encer. Warna semen babi biasanya putih susu. Namun, jika semen menunjukkan warna yang berbeda, seperti merah, hal ini dapat mengindikasikan adanya infeksi saluran urogenital. Sementara itu, warna kuning bisa menandakan bahwa semen telah bercampur dengan urine (Foeh *et al.*, 2019).

Derajat keasaman(pH) berfungsi sebagai indikator untuk mengevaluasi kondisi hidup sperma dalam semen. Perubahan pH semen yang lebih tinggi atau lebih rendah dari nilai normal dapat menyebabkan percepatan kematian sperma. Dalam penelitian ini pH 6,55±0,17. Hasil penelitian ini mirip dengan yang dilaporkan oleh Kaka (2020), dengan pH 6,8, tetapi jauh lebih rendah dibandingkan dengan laporan Ma *et al.* (2019), yang mencatat pH sebesar 7,5. Pengukuran derajat keasaman penting dilakukan untuk memastikan apakah cairan semen hasil penampungan ber karakteristik normal atau tidak, semakin tinggi atau rendah

suatu derajat keasaman akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup dari sperma.

Pada evaluasi secara mikroskopis motilitas yang dihasilkan yaitu  $77,5 \pm 5,00\%$ . Hasil ini sejalan dengan laporan Foeh *et al.* (2022), yang mencatat nilai motilitas sperma sebesar  $77,5 \pm 2,50\%$ , tetapi lebih rendah dibandingkan dengan data yang dilaporkan oleh Nandja *et al.* (2019), motilitas yang dihasilkan sebesar  $82,5 \pm 0,00\%$ . Motilitas pada penelitian ini dikategorikan baik, karena syarat motilitas sperma 40% (Garner dan Hafez, 2000). Motilitas sperma dipengaruhi oleh konsentrasi sperma yang menjadi indikator dari kualitas semen yang dibutuhkan dalam menentukan total betina yang bisa diinseminasi. Pada penelitian ini dihasilkan konsentrasi sperma  $270,75 \pm 13,67\%$ . Jumlahnya lebih besar dari Baku *et al.* (2022), konsentrasi sperma yang dihasilkan sebesar  $230 \times 10^6$  sel/mL semen.

Viabilitas semen pada penelitian ini memiliki rerata  $91,85 \pm 3,26\%$ . Viabilitas tersebut lebih tinggi dari Aplugi *et al.* (2020) yang menyatakan nilai rerata dari viabilitas sperma  $90,66 \pm 0,30\%$ .

Persentase abnormalitas pada penelitian ini tergolong rendah dan bernilai  $3,81 \pm 0,94\%$ . Memenuhi syarat abnormalitas yang dianjurkan yaitu Abnormalitas sperma pada babi per ejakulasi seharusnya tidak melebihi 20% (Bassol *et al.*, 2005). Pada penelitian ini abnormalitas lebih baik dari Aplugi *et al.* (2020) nilai abnormal yang dihasilkan sebesar  $9,83 \pm 0,69\%$ . Menurut Suyadi dan Iswanto (2012), peroksidasi lipid dan saat pembuatan preparat sebelum pengamatan berkontribusi pada peningkatan tingkat abnormalitas.

### Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Sperma

Pergerakan sperma atau motilitas adalah salah satu faktor kunci dalam menilai kualitas sperma yang bertujuan Untuk menilai tingkat fertilisasi sperma, motilitas sperma digunakan sebagai indikator kemampuan sperma untuk melewati saluran reproduksi betina dan kemampuannya dalam membuahi sel telur. Rata-rata dari nilai motilitas sperma tersaji pada Tabel

Tabel 1. Persentase motilitas sperma

WP	Perlakuan (%)						P.Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	$76,25 \pm 6,29^a$	$77,50 \pm 5,00^a$	$77,50 \pm 5,00^a$	$77,50 \pm 5,00^a$	$77,50 \pm 5,00^a$	$77,50 \pm 5,00^a$	0,999
8	$71,25 \pm 6,29^a$	$73,75 \pm 4,78^a$	$72,50 \pm 5,00^a$	$72,50 \pm 5,00^a$	$72,50 \pm 5,00^a$	$72,50 \pm 5,00^a$	0,441
16	$67,50 \pm 5,00^a$	$68,75 \pm 4,78^a$	$67,50 \pm 5,00^a$	$67,50 \pm 5,00^a$	$65,00 \pm 7,00^a$	$63,75 \pm 4,78^a$	0,774
24	$57,50 \pm 5,00^{ab}$	$63,75 \pm 4,78^b$	$57,50 \pm 5,00^{ab}$	$57,50 \pm 5,00^{ab}$	$51,25 \pm 6,25^a$	$50,00 \pm 7,07^a$	0,031
32	$42,50 \pm 2,88^a$	$53,75 \pm 4,78^d$	$46,25 \pm 2,50^c$	$42,50 \pm 2,88^c$	$36,25 \pm 2,50^b$	$31,25 \pm 2,50^a$	0,000
40	$31,25 \pm 4,78^b$	$43,75 \pm 4,78^c$	$36,25 \pm 2,50^b$	$32,50 \pm 2,88^b$	$22,50 \pm 2,88^a$	$17,50 \pm 2,88^a$	0,000
48	$16,25 \pm 4,78^{bc}$	$32,50 \pm 6,45^e$	$25,00 \pm 4,08^d$	$21,25 \pm 6,29^{cd}$	$11,25 \pm 2,50^{ab}$	$6,25 \pm 2,50^a$	0,000

Ket: <sup>a,b,c</sup> Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ). WP: Waktu Perlakuan. PV: P Value. P0:  $40,24 \pm 5,48$ , P:  $49,72 \pm 3,71$ , P2:  $44,29 \pm 5,57$ , P3:  $43,15 \pm 5,53$ , P4:  $31,89 \pm 2,19$ , P5:  $26,95 \pm 1,69$

Hasil analisis ini menunjukkan bahwa motilitas semen cair memiliki kualitas yang berbeda-beda di setiap jam pemeriksaan. Pada P1 motilitas sperma bisa bertahan sampai pada jam ke-40 dan menjadi

perlakuan terbaik, untuk P2 motilitas sperma mampu bertahan di jam ke-32, P0 dan P3 sperma hanya mampu bertahan pada jam ke-32, sedangkan untuk P4 dan P5 motilitas sperma hanya mampu bertahan di jam ke-24.

Motilitas P1 dapat bertahan hingga jam ke-40 dikarenakan penggunaan dosis antioksidan yang tepat sehingga mampu melindungi sperma dari serangan radikal akibat proses metabolisme dalam sel selama preservasi. Sedangkan dosis antioksidan pada P2, P3, P4, dan P5 melebihi kebutuhan antioksidan bagi sperma sehingga dapat bersifat racun dan dapat merusak radikal bebas sedangkan P0 sebagai kontrol tidak menggunakan antioksidan. Kondisi ini dapat terjadi karena dalam ekstrak etanol daun kelor (EEDK) terkandung zat flavonoid yang apabila diberikan dalam jumlah yang tinggi akan mengubah peranan sebagai sumber antioksidan menjadi pro-oksidan yang dapat menghasilkan radikal bebas bagi sperma. Keadaan tersebut searah dengan pendapat Skibola dan Smith (2000) adapun laporannya pemberian senyawa yang terdapat flavonoid secara berlebihan akan mengakibatkan flavonoid bertindak sebagai mutagen dan pro-oksidan yang dapat menghasilkan serangan radikal bebas bagi sel.

Hasil uji lanjut pada jam ke-40 menunjukkan persentase motilitas sperma pada P1 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dari perlakuan lain. Sedangkan pada P0, P2, dan P3 menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan, begitu juga dengan perlakuan P4 dan P5. Namun persentase motilitas sperma pada P0, P2 dan P3 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan P4 dan P5.

Hasil penelitian menyiratkan hingga jam pengamatan ke-40 persentase motilitas tertinggi pada perlakuan P1 ( $43,75 \pm 4,78\%$ ), diikuti P2 ( $36,23 \pm 2,50\%$ ), P3 ( $32,50 \pm 2,88\%$ ), P0 ( $31,25 \pm 4,78\%$ ), P4 ( $22,50 \pm 2,88\%$ ), dan persentase motilitas terendah pada P5 ( $17,50 \pm 2,88\%$ ). Hal ini menyatakan bahwa komposisi kandungan antioksidan yang terkandung dalam EEDK pada P1 dapat memenuhi kebutuhan antioksidan bagi sperma dalam menangkal

radikal bebas di bandingkan perlakuan lainnya, pada P0 atau kontrol motilitasnya hanya mampu bertahan hingga jam pengamatan ke-32 karena dalam P0 tidak di tambahkan antioksidan sehingga tidak mampu menangkal radikal bebas. Selain itu pada P2, P3, P4, dan P5 kandungan antioksidan dalam ekstrak etanol daun kelor yang di tambahkan dalam pengencer melebihi batas kebutuhan antioksidan bagi sperma. Hal ini sesuai dengan Bebas *et al.* (2015), penambahan dosis senyawa antioksidan yang tepat dalam bahan pengencer dapat menangkal radikal bebas. Metabolisme sperma menghasilkan radikal bebas selama masa penyimpanan, yang dapat merusak permeabilitas membran sperma. Oleh karena itu, dibutuhkan penambahan antioksidan atau senyawa yang dapat mengatasi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas atau Reaktif

*Reactive Oxygen Species* (ROS), serta mengurangi laju autooksidasi. (Suhartono, 2016). Dari eksplanasi tersebut maka P1 dengan penambahan EEDK sebanyak 0,5% ke dalam MIII+KT bisa menstabilkan motilitas sperma babi landrace hingga jam pengamatan ke-40. Motilitas penelitian lebih tinggi dibandingkan penelitian Priharyanthi *et al.* (2021), yang menggunakan ekstrak daun kelor dan air kelapa sebagai pengencer di mana motilitas sperma pada penelitian tersebut bertahan sampai jam pengamatan ke-16 (nilai motilitas  $55,10 \pm 1,06\%$ ). Motilitas pada penelitian lebih tinggi daripada motilitas yang disampaikan oleh Fafo *et al.* (2016) yang memperoleh nilai motilitas  $42 \pm 7,58\%$  pada jam pengamatan ke-24.

### **Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Sperma Babi Landrace**

Viabilitas sperma merujuk pada kemampuan sperma untuk tetap hidup setelah diencerkan, dengan kata lain viabilitas sperma adalah persentase sperma yang bertahan hidup dan dapat bergerak secara

motil. Viabilitas sperma ditentukan melalui perbedaan zat warna pada sperma mati dan sperma hidup. Sperma mati terlihat berwarna merah sebaliknya sperma hidup terlihat transparan/ tanpa warna (Zhou *et al.*, 2004). Data pada tabel 3 telah disajikan nilai viabilitas dari masing-masing perlakuan, viabilitas tertinggi sperma pada jam ke-40 terdapat pada P1 (49,72±3,71%) dan diikuti P2 (44,29±5,57%), P3 (43,15±5,53%), P4 (31,89±2,19%), sedangkan nilai terendah terdapat pada perlakuan P5 (26,95±1,69%).

Nilai viabilitas dari P1 mampu bertahan hingga jam pengamatan ke-48 diakibatkan dosis antioksidan yang tepat. Viabilitas pada P0 hanya bertahan hingga jam pengamatan ke-40 karena kontrol tanpa EEDK, P2, P3 mampu bertahan hingga jam pengamatan ke-40, untuk P4 dan P5 masing-masing mampu bertahan hingga jam pengamatan ke-32 dan ke-24, kandungan antioksidan yang terdapat pada P2, P3, P4, P5 melebihi batas yang dibutuhkan dan bersifat toksik bagi sperma.

Tabel 2. Persentase viabilitas sperma

WP	Persentase(%)						P.Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	88,44±4,39 <sup>a</sup>	89,52±2,84 <sup>a</sup>	88,60±3,08 <sup>a</sup>	89,03±4,71 <sup>a</sup>	88,59±3,91 <sup>a</sup>	88,78±3,82 <sup>a</sup>	0.998
8	81,15±4,84 <sup>a</sup>	83,00±3,87 <sup>a</sup>	81,19±3,63 <sup>a</sup>	80,78±4,74 <sup>a</sup>	81,15±4,47 <sup>a</sup>	80,11±4,69 <sup>a</sup>	0.963
16	73,32±4,26 <sup>a</sup>	76,39±3,83 <sup>a</sup>	74,21±3,00 <sup>a</sup>	72,05±3,42 <sup>a</sup>	70,17±4,03 <sup>a</sup>	69,15±3,95 <sup>a</sup>	0.128
24	63,52±4,81 <sup>a</sup>	67,08±3,12 <sup>a</sup>	65,47±4,67 <sup>a</sup>	62,60±5,35 <sup>a</sup>	60,23±5,35 <sup>a</sup>	60,23±5,11 <sup>a</sup>	0.092
32	51,33±5,16 <sup>bc</sup>	59,19±6,33 <sup>c</sup>	54,80±6,96 <sup>c</sup>	51,33±6,53 <sup>bc</sup>	44,27±2,94 <sup>ab</sup>	39,88±2,18 <sup>a</sup>	0.001
40	40,24±5,48 <sup>c</sup>	49,72±3,71 <sup>c</sup>	44,29±5,57 <sup>bc</sup>	43,15±5,53 <sup>bc</sup>	31,89±2,19 <sup>a</sup>	26,95±1,69 <sup>a</sup>	0.000
48	29,07±7,48 <sup>bc</sup>	41,88±4,77 <sup>d</sup>	33,58±3,21 <sup>c</sup>	29,99±3,21 <sup>bc</sup>	24,47±3,00 <sup>a</sup>	13,12±9,75 <sup>a</sup>	0.000

Ket: <sup>a,b,c,d</sup>, Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P < 0,05). WP: Waktu Pengamatan. PV: P Value

Berdasarkan uji lanjut, pada jam ke-0 sampai jam ke-24 tidak ada perbedaan nyata (P > 0,05). Pada jam ke- 32 sampai jam ke-48 terdapat perbedaan nyata dengan perlakuan lainnya (P < 0,05). Satu-satunya perlakuan yang bertahan sampai dengan jam ke-48 adalah P1 dengan penambahan ekstrak etanol daun kelor sebesar 0,5% dan menjadikan P1 sebagai perlakuan dengan dosis terbaik untuk menunjang viabilitas dari sperma. Penggunaan dosis EEDK yang tepat berpengaruh besar bagi viabilitas sperma karena dapat mencegah penurunan persentase viabilitas dari sperma yang diakibatkan peroksidasi lipid, peroksidasi lipid adalah proses zat oksidan seperti radikal bebas menyerang molekul lipid.. Shui *et al.* (2004), senyawa yang dikenal sebagai antioksidan memiliki kemampuan untuk

menunda dan menghalangi reaksi autooksidasi radikal bebas dalam proses oksidasi lipid.

Dari hasil yang telah di dilakukan dapat diketahui bahwa persentase motilitas yang baik ada pada P1 karena mampu mempertahankan viabilitas sperma hingga jam pengamatan ke-40. Temuan dari penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan laporan Gena *et al.* (2021), yang menyatakan bahwa penambahan Ekstrak Etanol Daun Kelor ke dalam pengencer semen babi landrace berbasis air buah lontar dapat mempertahankan viabilitas sperma hingga 40 jam, dengan nilai sebesar 54,00±2,24%.

### Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Sperma

Abnormalitas sperma dikenal juga dengan kelainan atau kerusakan fisik sperma. Abnormalitas sperma dapat berupa berbagai bentuk, seperti ekor yang melingkar, leher yang patah, serta kepala dan leher yang terpisah. Abnormalitas sperma adalah faktor penting dalam menentukan kualitas sperma. Jika persentase abnormalitasnya melebihi 20%, tingkat fertilitasnya akan rendah, yang dapat mengakibatkan kegagalan fertilisasi saat kopulasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa dari jam ke-0 hingga jam ke-48 tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ). Hal tersebut menjelaskan bahwa setiap perlakuan dapat memberikan perlindungan yang sama bagi sperma dari abnormalitas hingga jam ke-48.

Persentase abnormalitas sperma terendah terdapat pada P4 ( $5,83 \pm 0,9\%$ ), P1 ( $5,95 \pm 1,03\%$ ), P3 ( $5,99 \pm 0,86\%$ ), P0 ( $6,00 \pm 0,73$ ), P2 ( $6,04 \pm 1,12\%$ ), dan P5 ( $6,08 \pm 1,01\%$ ). Abnormalitas yang rendah

disebabkan oleh lipoprotein dan lesitin dalam kuning telur, yang berperan dalam menjaga dan melindungi integritas membran plasma sperma, sehingga mengurangi kemungkinan kerusakan pada membran tersebut. Pendapat Susilawati (2011) mendukung hal ini, yang menyatakan bahwa lipoprotein dan lesitin berperan dalam menjaga serta melindungi integritas selubung membran plasma sperma, sehingga dapat mengurangi kerusakan pada membran plasma tersebut. Nilai abnormalitas pada penelitian ini berkisar  $3,71\% - 6,08\%$  abnormalitas pada penelitian ini rendah dari penelitian Nahak *et al.* (2022) yang mendapatkan nilai abnormalitas sebesar  $10,5\%$ . Penyebab abnormalitas tersebut tergolong rendah diakibatkan oleh vitamin c yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kelor, Hal ini konsisten dengan Nugraheni *et al.* (2003), yang mengatakan bahwa vitamin C berfungsi sebagai antioksidan untuk melawan radikal bebas, sehingga melindungi membran sel sperma dan mengurangi tingkat abnormalitas.

Tabel 3. Persentase perlakuan terhadap abnormalitas sperma

WP	Perlakuan (%)						P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	$3,71 \pm 0,76^a$	$3,71 \pm 1,11^a$	$3,71 \pm 1,24^a$	$3,71 \pm 0,73^a$	$3,71 \pm 1,01^a$	$3,71 \pm 0,85^a$	0.999
8	$3,95 \pm 0,84^a$	$3,98 \pm 1,17^a$	$4,06 \pm 1,24^a$	$4,02 \pm 0,80^a$	$3,91 \pm 1,04^a$	$4,13 \pm 0,95^a$	1.000
16	$4,29 \pm 0,78^a$	$4,29 \pm 1,09^a$	$4,41 \pm 1,23^a$	$4,52 \pm 0,57^a$	$4,20 \pm 1,03^a$	$4,48 \pm 0,91^a$	0.997
24	$4,67 \pm 0,80^a$	$4,66 \pm 1,12^a$	$4,85 \pm 1,20^a$	$4,93 \pm 0,68^a$	$4,77 \pm 0,69^a$	$4,94 \pm 1,01^a$	0.996
32	$5,11 \pm 0,80^a$	$5,07 \pm 1,15^a$	$5,14 \pm 1,35^a$	$5,28 \pm 0,64^a$	$5,20 \pm 0,73^a$	$5,34 \pm 1,03^a$	0.999
40	$5,58 \pm 0,76^a$	$5,54 \pm 1,13^a$	$5,71 \pm 1,12^a$	$5,43 \pm 1,08^a$	$5,35 \pm 1,04^a$	$5,79 \pm 0,99^a$	0.991
48	$6,00 \pm 0,73^a$	$5,95 \pm 1,03^a$	$6,04 \pm 1,12^a$	$5,99 \pm 0,86^a$	$5,83 \pm 0,94^a$	$6,08 \pm 1,01^a$	0.999

Ket: <sup>a,b,c</sup> Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ). WP: Waktu Perlakuan. PV: P Value.

Abnormalitas dalam penelitian ini tergolong rendah, karena persentasenya tidak melebihi 20%. Hal ini sejalan dengan penjelasan Alawiyah dan Hartono (2006), yang menyatakan bahwa semen dapat diencerkan dan digunakan untuk inseminasi buatan jika tingkat abnormalitasnya di bawah 20%. Abnormalitas yang ditemukan lebih

tinggi daripada temuan Wawang *et al.* (2024) yang menggunakan antioksidan untuk mencegah produksi reactive oxygen spesies (ROS) di mana nilai dari abnormalitas pada jam pengamatan ke-40 sebesar  $4,55 \pm 0,54\%$ .

## Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup

Daya tahan hidup sperma merupakan kondisi di mana sperma tetap hidup selama periode tertentu dan memiliki motilitas di atas 40%. Daya tahan berarti kesanggupan sperma dalam bertahan hidup pada saat motilitas sperma masih pada ambang batas yang layak untuk inseminasi buatan. Persentase daya tahan hidup sperma disajikan dalam tabel berikut ini:

Tabel 4. Daya tahan hidup sperma

Perlakuan	Daya Tahan Hidup (Jam)
P0	34,00±2,30 <sup>b</sup>
P1	39,66±2,73 <sup>c</sup>
P2	38,66±3,25 <sup>c</sup>
P3	34,00±2,30 <sup>b</sup>
P4	29,33±1,88 <sup>a</sup>
P5	27,93±1,76 <sup>a</sup>
P-Value	0,00

Ket: <sup>a,b,c</sup> Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ).

Analisis ragam memperlihatkan perbedaan sangat nyata ( $P < 0,05$ ) nilai tertinggi terdapat adalah P1 sebesar 39,66 jam. Ini disebabkan oleh penggunaan ekstrak etanol daun kelor dalam konsentrasi yang tepat, yaitu 0,5% dan menjadikan perlakuan ini sebagai perlakuan terbaik. Antioksidan membantu sperma melawan radikal bebas dan mempertahankan daya tahan hidup. Daya hidup sperma pada P2 menunjukkan nilai yang tidak jauh berbeda dengan P1 hal tersebut diakibatkan penambahan ekstrak etanol daun kelor sebesar 1% berpengaruh terhadap daya tahan hidup sperma, sedangkan untuk P0 dan P3 memiliki nilai yang sama persis, dan untuk P5 menunjukkan nilai yang paling rendah di antara 5 perlakuan lainnya. Hal tersebut menjelaskan bahwa semakin tinggi dosis antioksidan dalam ekstrak etanol daun kelor maka daya tahan hidup semakin rendah. Hal tersebut sejalan dengan Bebas *et al.* (2015) bahwa pemberian

antioksidan yang tepat memungkinkan pencegahan peroksidasi lipid pada membran plasma sperma dengan menghentikan reaksi rantai peroksidasi lipid. Hasil penelitian lebih rendah daripada Adu *et al.* (2023) di mana penggunaan beltsville thawing solution di tambah ekstrak etanol daun kelor mampu bertahan hidup hingga 45,87 jam.

## KESIMPULAN

Penambahan ekstrak etanol daun kelor pada dosis optimal (0,5%) ke dalam pengencer Mulberry III dan kuning telur menghasilkan hasil terbaik, dengan motilitas dan viabilitas sperma yang baik serta kemampuan bertahan hingga 40 jam. Kesimpulannya P1 dengan penambahan MIII KT + EEDK 0,5% merupakan perlakuan terbaik dan dapat mempertahankan motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup dari sperma.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adu, W., Hine, T. M., Marawali, A., Nalley, W. M. 2023. Sperma quality of Landrace Boar in Beltsville thawing solution diluent with various levels of moringa leaf extract. *Jurnal Ilmu Peternakan Terapan*. 7(1): 1-9
- Alawiyah, D., dan M. Hartono. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Boer. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 31(1): 53-63.
- Aplugi, M. Gaina, C. D. Foeh D. F. K. 2020. Kualitas Sperma Babi Landrace Yang Diberi Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Sebagai Antioksidan Pada Suhu Penyimpanan Berbeda. *Jurnal kajian veteriner*. 3(2): 156-160.

- Baku, A., Dethan, A. A., dan Tahuk, P. K. 2022. Quality of Landrace Semen in Yolk Citrate Cement Which Plus Glucose with Different Concentrations. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1), 42–55.
- Banamtuan, A.N., Nalley, W.M., Hine, T.M., 2021. Kualitas Semen Cair Babi Duroc Dalam Pengencer Durasperm Yang Disuplementasi Air Buah Lontar Dan Sari Tebu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*.16(1), 41–48.
- Bassol, J., E. Kádár, M. D. Briz, E. Pinart, S. Sancho, N. Garcia-Gil, E. Badia, A. Pruneda, M. G. Coll, E. Bussalleu, M. Yeste dan S. Bonet. 2005. In vitro culture of boar epididymal epithelial cells. *Theriogenology* 63:363-369.
- Bebas, W., Budiasa, M. K., Astutik, I.Y., 2015. Penambahan Vitamin C Pada Pengencer Sperma Babi Landrace Yang Disimpan Pada Suhu 15°C. 7(2), 179-185
- CF. Skibola. Smith MT, 2000Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Radic Biol Med*. 29(3-4):375-83.
- Dapawole, R.R. 2014, Preservasi dan Kriopreservasi Semen Babi dalam Pengencer BTS dan MIII yang disuplementasi dangan dan tanpa Trehalosa, *Tesis*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fafo. M., Hine. T. M., Nalley. W. M. 2016. Pengujian Efektivitas Ekstak daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 03(2), 184-195.
- Foeh, N., Gaina, C. D., Titong, A. P., Butta, C. A., dan Bei, M. S. B. 2019. Daya tahan sperma dalam semen cair babi landrace pada metode penyimpanan berbeda. *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), 47–52.
- Foeh, N., Gaina, C., dan Tophianong, T. 2022. Kualitas Semen Segar dan Semen Cair Babi Landrace Asal Naioni Kabupaten Kupang dengan Sistem Pemeliharaan Intensif. *Jurnal Kajian Veteriner*, 10(1), 61–66.
- Foeh, N. D. F. K. dan Arifiantini, R. I. Yusuf, T. L. 2016. Viabilitas Sperma Babi Duroc dalam Extender Betlthsvile Thawing Solution Menggunakan Kriptoketan Gliserol dan Demitillacetamida. *Jurnal Kajian Veteriner*, (1),24-32.
- Fitrik, Supartini, N 2012. Pengaruh Suhu Dan Lama Thawing Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa.
- Garner, D.L. dan E.S.E. Hafez. 2000. *Sperma and Seminal Plasma*.di dalam E.S.E. Hafez dan B. Hafez, editor. *Reproduction in Farm Animals*. Ed. ke-7. Lippincott Williams and Wikins, USA: 96-109.
- Gena. M G. G. Foeh N. D. F. K. Gaina C. D. 2021. Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Sebagai Antioksidan Dalam Pengencer Semen Babi Landrace Berbasis Air Buah Lontar. *Jurnal Veteriner Nusantara*. 4(1), 7-8.
- Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P. and Maxwell, W.M.C.2000, Storage of Boar Semen. *J Anim. Sci*. 18(62):143-172.

- Kaka A. 2020. Karakteristik dan Daya Fertilitas Sperma Babi Peranakan Landrace. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 22(3): 277-283.
- Ma. M. B. L. Feoh N. D.F.K. Gaina C. D. 2019. Pengaruh pengencer komersial terhadap motilitas dan viabilitas sperma semen babi landrace yang disimpan pada temperatur berbeda. *Jurnal Veteriner Nusantara*. 2(2): 60-71.
- Muflihunna, A., Mu'nisa A. 2023. *Studi literatur analisis antioksidan terhadap fotoprotektif kulit dari beberapa jenis tanaman*. Makassar. UNM Online Jurnal System.
- Nahak, S., dan Sudita, I. D. N. 2022. Effect of Male Mating Time on Landrace Pig Reproduction. *Agriwar Journal*. 2(2): 44-48.
- Nandja. Y. R. 2019. Hubungan Ukuran Testis Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Sperma Babi Landrace Dan Babi Duroc. *E-Journal Undana*. 6(2): 55-62
- Nugraheni, T., O. P. Astirin dan T. Widiyani. 2003. Pengaruh Vitamin C Terhadap Perbaikan Spermatogenesis dan Kualitas Sperma Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*). *Biofarmasi*. 1(1): 13-19.
- Prihayanti. L. K. A. P. Bebas W. Trilaksana I G. N. B. (2021). Ekstrak Daun Kelor Dapat Mempertahankan Motilitas Progresif dan Viabilitas Sperma Babi dalam Pengencer Air Kelapa Kuning Telur. *Indonesia Medicus Veterinus*. 10(3):389-398.
- Putra I. W. D. P. Dharmayudha A. A. G. O. Sudimartini L. M. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus* 5(5): 464-473.
- Rizal, M. dan Thahir, M. 2016. Daya Hidup Sperma Kambing Peranakan Etawa yang Dipreservasi dengan Berbagai Jenis Pengencer. *JITRO*. 3(3): 81-89
- Shui, G., Wong, S.P., Leong, L. P. 2004. *Characterization of Antioxidants and Change of Antioxidant Levels During Storage of Manilkara zapota L. Agricultural and Food Chemistry*. 52(26): 34-41.
- Suhartono, E. 2016. *Toksisitas Oksigen Reaktif dan Antioksidan di Bidang Kedokteran dan Kesehatan*. ISBN 978-602-1107-80-5 p83, 151-156
- Sumardani, N. L. G., I. G. Suranjaya., I. G. N. A. Manik, dan I. W. Suberata. 2016. Korelasi Ukuran Testis Terhadap Kualitas Semen Babi Landrace Dalam Rangkaian Inseminasi Buatan. *Jurnal Peternakan Tropika* 3(1): 93-104.
- Susilawati, T. 2011. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan Dengan Kualitas dan Deposisi Semen Yang Berbeda Pada Sapi Peranakan Ongole. *J. Ternak Tropika*. 12(2): 15-24.
- Suyadi, A., Racmahwati dan Iswanto, N. 2012. Pengaruh Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang di Simpan Pada Suhu 5°C. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 22(3): 1-8.

Toelihere. 1993, *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa, cetakan ke-3, Bandung.

Wawang. S. K., Nalley. W. M., Hine. T. M. Kualitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur dengan Substitusi Sari Buah Melon (*Cucumis melo* L). *Jurnal Penelitian*

dan Pengabdian Masyarakat. 03(11): 4689-4699.

Zhou JB, Yuek KZ, Luo MJ, Chang ZL, Liang H, Wang ZY, Tan JH. 2004. Effect of extender and temperatures on sperm viability and fertility capacity of harbin white boar semen during long-term liquid storage. *Asian-Aus J Anim Sci* 17(11): 1501-1508.