

## **Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Kelor Segar dalam Pengencer BTS terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace**

### ***Effect of Fresh Moringa Leaf Extract in BTS Extender on Spermatozoa Quality of Landrace Boars***

**Lestiana Nurhayati<sup>1</sup>, Agustinus Ridolf Riwu<sup>2</sup>, Thomas Mata Hine<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan, Kelautan, dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana

Alamat Jln. Adisucipto Penfui, Kode Pos 104 Kupang 850001

Email koresponden: lestiananurhayati788@gmail.com

#### **ABSTRAK**

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun kelor segar (SDKS) ke dalam pengencer beltsville thawing solution (BTS) terhadap kualitas spermatozoa babi landrace. Semen ditampung dua kali seminggu dari satu ekor ternak babi landrace yang berumur 2 tahun. Semen dievaluasi secara makroskopis maupun mikroskopis, dan selanjutnya dibagi kedalam enam tabung sesuai jumlah perlakuan. Penelitian menggunakan rancangan acak engkap (RAL) dengan enam perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan tersebut terdiri atas BTS (P0), BTS + EDKS 2% (P1), BTS + EDKS 4% (P2), BTS + EDKS 6% (P3), BTS + EDKS 8% (P4), dan BTS + EDKS 10% (P5). Semen yang telah diencerkan disimpan didalam *coolbox* pada suhu 15-20°C. Pengamatan kualitas semen cair dilakukan setiap 8 jam sampai motilitas spermatozoanya dibawah 40%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa spermatozoa yang disimpan selama 48 jam dalam pengencer BTS+EDKS 2% (P1) memiliki motilitas ( $35,00 \pm 0,00\%$ ), viabilitas ( $51,81 \pm 10,96\%$ ), abnormalitas ( $4,10 \pm 1,42\%$ ), dan daya tahan hidup ( $46,17 \pm 0,77$  jam), dibanding perlakuan P2, P3, P4, P5, namun berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dengan perlakuan P0 atau kontrol. Disimpulkan bahwa penambahan EDKS kedalam pengencer BTS tidak dapat meningkatkan spermatozoa babi landrace, bahkan pada level EDKS yang tinggi menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa yang sangat drastis.

**Kata Kunci:** *babi landrace, BTS, ekstrak daun kelor segar, spermatozoa.*

#### **ABSTRACT**

A study was conducted with the aim to determine the effect of adding fresh moringa leaf extract (FMLE) to beltsville thawing solution (BTS) diluent on the spermatozoa quality of landrace boars. Semen was collected twice a week from one 2-year-old landrace boar. Semen was evaluated macroscopically and microscopically, and then divided into 6 tubes according to the number of treatments. The study used a completely randomized design with six treatments and five replications. The treatment consisted of (P0) BTS, (P1), BTS + 2% FMLE, (P2), BTS + 4% FMLE, (P3), BTS + 6% FMLE, (P4), BTS + 8% FMLE, and (P5), BTS + 10 % FMLE. The diluted sement were stored in a coolbox at 15-20°C. Observation of the quality of liquid semen were carried out every 8 hours until the motility of the spermatozoa were 40%. The results of this study indicated that spermatozoa preserved for 48 hours in BTS + 2% FMLE diluent (P1) had higher quality ( $P < 0.05$ ), namely motility ( $35.00 \pm 0.00\%$ ), viability ( $51.81 \pm 10.96\%$ ), abnormality ( $4.10 \pm 1.42\%$ ), and survival ( $46.17 \pm 0.77$  hours), compared to P2, P3, P4 and P5, but not significantly different ( $P > 0.05$ ) with P0 or control. It was concluded than the addition of FMLE to the BTS diluent could not improve the spermatozoa quality of landrace boars, even at high FMLE levels it caused a very drastic decrease in the quality of spermatozoa.

**Keywords:** *BTS, fresh moringa leaf extract, landrace boars, spermatozoa.*

## PENDAHULUAN

Semen segar tidak dapat bertahan lama pada penyimpanan disebabkan karena adanya kematian sperma yang begitu cepat. Tujuan dari program inseminasi buatan (IB) sangat bergantung dari beberapa faktor yaitu salah satunya kualitas semen babi yang dipakai (Tamoës dan Hine, 2014). Penyebab kematian spermatozoa salah satunya yaitu disebabkan karena terjadinya radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak berpasangan atau hanya memiliki satu elektron. Radikal bebas akan mengalami perubahan secara kimiawi serta dapat merusak zat penyusun sel hidup antara lain karbohidrat, protein, dan lemak. Kerusakan membran spermatozoa akibat ROS dapat dicegah dengan senyawa antioksidan yang akan melengkapi kekurangan elektron oleh radikal bebas sehingga reaksi berupa 4 peroksidasi lipid dapat terhambat (Fajrilah, 2013). Menurut (Beku and Semen, 2008) prinsip kerja dari antikosidan dalam menghambat otooksidasi pada lemak dapat dilihat sebagai berikut: oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh, kemudian radikal bebas yang terbentuk akan beraksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif.

Penyimpanan semen pada jangka waktu yang tidak singkat maka diperlukan larutan pengencer yang memiliki kandungan antibiotic, *buffer*, nutrisi, dan bahan anti *cold shock* yang berfungsi melindungi spermatozoa dalam proses pengenceran selama penyimpanan. Ternak babi memiliki semen yang berbeda dengan semen ruminansia lainnya seperti sapi dan kambing, karena spermatozoa semen babi mempunyai komposisi membran plasma yaitu phosphatidylethanolamine dan sphingomyelin mencapai 24% dan 14%, sehingga mudah mengalami *cold shock* saat proses preservasi. Karbohidrat sering dipakai untuk sumber nutrisi yang bermanfaat untuk spermatozoa, dan berfungsi untuk menjaga spermatozoa dari cekaman perubahan temperature (Dubé *et al.*, 2004). Inseminasi buatan dengan menggunakan semen cair diharapkan dapat meningkatkan genetik ternak.

Pengencer Beltsville Thawing Solution (BTS) sudah sering dipakai dalam preservasi spermatozoa babi yang memiliki waktu penyimpanan yang cepat yakni satu hingga tiga hari. Pengencer BTS sendiri mengandung Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) yang berfungsi sebagai pelindung membran plasma dan glukosa yang mengandung nutrisi untuk spermatozoa, adapun bikarbonat dan natrium sitrat yaitu penyangga yang berfungsi untuk mengontrol kesetabilan pH dalam kelangsungan hidup bagi spermatozoa, penambahan antibiotik streptomycin dan penicilin berfungsi untuk menghambat bakteri berkembang (Dubé *et al.*, 2004). Pengencer BTS bisa dipakai untuk menjaga daya hidup pada proses penyimpanan spermatozoa terhadap suhu dingin sehingga proses metabolisme selama penyimpanan dapat berkurang.

Semen babi dapat bertahan pada suhu 15-20 °C serta daya penyimpanan semen babi yang relatif singkat yaitu kisaran 3-7 hari tergantung pada bahan pengencer yang digunakan (Gadea, 2003). Bahan dasar pengencer harus disuplementasi dengan berbagai bahan suplemen untuk melengkapi kekurangan atau ketiadaan unsur tertentu yang bermanfaat untuk sperma pada bahan pengencer dasar sehingga akan lebih efektif untuk mempertahankan kualitas sperma selama penyimpanan. EDKS adalah bahan alami yang bisa dipakai karena mempunyai berbagai nutrisi yang bermanfaat untuk spermatozoa.

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) mempunyai senyawa antioksidan serta memiliki kandungan protein, karoten, vitamin A, C, E, dan berbagai senyawa lainnya (Jang *et al.*, 2008). Vitamin C dan E bermanfaat untuk mencegah kerusakan membran plasma sperma akibat meningkatnya produksi radikal bebas selama proses pengenceran dan penyimpanan semen. Penambahan vitamin C pada pengencer semen dapat menyebabkan perubahan pH karena vitamin C bersifat asam.

## MATERI DAN METODE

### Materi Penelitian

Sumber semen yang dipakai pada penelitian ini yaitu sperma segar yang diperoleh dari satu ekor babi landrace jantan dengan umur 2 tahun dan telah mencapai dewasa kelamin, serta dalam kondisi sehat serta sudah sering digunakan dalam penampungan semen dengan berat badan 400 kg. Babi Landrace dipelihara pada kandang individu dan lengkap dengan perlengkapan tempat pakan. Pemberian konsentrat biasanya 3 kg setiap hari, dan pemberian air minum secara *add libitum*.

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan dan 5 kali ulangan. Adapun perlakuan yang digunakan yaitu BTS (P0), BTS+EDKS 2% (P1), BTS+EDKS 4% (P2), BTS+EDKS 6% (P3), BTS+EDKS 8% (P4) BTS+EDKS 10% (P5).

### Persiapan Pengencer BTS

Aluminium foil yang sudah disiapkan dipotong menjadi persegi empat lalu disimpan kedalam timbangan. Alat yang digunakan untuk mengambil BTS adalah spatula, kemudian BTS diletakkan diatas

aluminium foil sedikit demi sedikit hingga mencapai 7,5 gram menggunakan timbangan analitik dengan kapasitas 220 gram dengan tingkat ketelitiannya 0,1 mg. Setelah itu timbangan tersebut ditutup agar udara tidak masuk. Selanjutnya BTS yang sudah ditimbang dimasukkan kedalam tabung elenmeyer dan ditambahkan aquabides 150 mL, penicillin 0,75 mL dan streptomycin sebanyak 0,6 mL. Setelah semua bahan tercampur lalu distirer kurang lebih 15 menit dan kecepatan 3,2 rpm. Setelah itu larutan tersebut dibagi masing-masing 25 mL dalam enam perlakuan.

### Persiapan Ekstrak Daun Kelor Segar

Ekstrak daun kelor segar diperoleh dari daun kelor yang baru dipetik kemudian dipisahkan satu-persatu dari batangnya, setelah itu dicuci dan ditiriskan sampai airnya benar-benar tidak tersisa di daun kelor. Langkah selanjutnya daun kelor ditimbang sebanyak 100 gr kemudian dicampur aquabides sebanyak 100 mL dan diblender sampai halus. Setelah itu disaring menggunakan kain kasa dan dimasukan ke dalam tabung elenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil. Larutan yang telah dicampur dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu disentrifugasi menggunakan sentrifus *portable* pada kecepatan 3000 RPM dengan waktu 10 menit. Kemudian hasil endapan sentrifugasi dibuang dan yang diambil hanya supernatannya saja. Larutan EDKS disiapkan sehari sebelum proses pengenceran dan disimpan di dalam kulkas. Setelah itu larutan BTS yang sudah dibuat dibagi menjadi enam bagian sesuai kebutuhan pada setiap perlakuan lalu masukan larutan EDKS yang telah disiapkan sebelumnya sesuai perlakuan selanjutnya diaduk menggunakan pipet hingga merata.

### Penampungan Semen

Semen yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari satu ekor ternak babi landrace jantan yang berusia 2 tahun. Semen ini diambil di Laboratorium Yayasan Williams dan Laura, Tilog Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT). Semen biasanya diambil pada pagi hari yaitu jam 06:30-07.00 dan ditampung dua kali dalam seminggu. Semen yang dihasilkan disimpan ke dalam tabung penampung yang sudah dipasang kain kasa yang berfungsi untuk menyaring fraksi gelatin. Semen yang telah dikumpulkan segera dibungkus dengan tas atau kantong plastik kemudian dibawah untuk diperiksa di Laboratorium.

### Evaluasi Semen Segar

Semen segar dievaluasi secara makroskopis diantaranya: volume semen diukur dengan cara melihat angka pada gelas ukur. Warna semen dapat langsung dilihat dari gelas ukur, pada umumnya semen berwarna putih susu. Derajat keasaman atau pH bisa dilihat dengan meneteskan semen di atas kertas pH pada skala 6,4-10. Warna kertas pH yang berubah disesuaikan pada indikator warna pada kertas. Cara mengetahui bau semen

yaitu mendekatkan pada hidung untuk mengetahui aromanya. Konsistensi bisa dilihat yakni wadah atau tabung yang berisi semen dimiringkan kemudian kembalikan ke posisi awal untuk melihat kekentalan. Penilaian konsistensi berdasarkan cepatnya semen kembali ke dasar tabung semen.

Evaluasi secara mikroskopis meliputi motilitas spermatozoa. Cara yang dilakukan yaitu teteskan semen pada glass objek dan ditutup menggunakan cover glas. Selanjutnya melihat pergerakan spermatozoa dibawah mikroskop pada pembesaran 10 x 40 serta membandingkan pergerakan progresif terhadap semua gerakan spermatozoa. Penilaian motilitas yaitu spermatozoa yang bergerak progresif maju ke depan dan yang tidak progresif atau bergerak ditempat.

Presentase viabilitas spermatozoa dapat dihitung dan dilihat melalui jumlah spermatozoa yang hidup dan mati menggunakan eosin-negrosin. Pemeriksaan dapat dilakukan dengan meneteskan satu tetes semen pada glass objek kemudian teteskan zat pewarna eosin-negrosin dan dicampur dengan cara mengaduk larutan dari arah eosin terlebih dahulu. Pengadukan dilakukan tidak terlalu lama, karena semen tersebut akan mati. Setelah dihomogenkan ulasan dibuat dengan cepat dan tipis pada glass objek, setelah itu preparat ulas tersebut dikeringkan dengan cara dipanaskan pada lampu bunsen kemudian diamati menggunakan mikroskop pada pembesaran 40 x10. Spermatozoa yang dihitung dengan jumlah minimal 200 sel spermatozoa dengan 8 lapang pandang. Spermatozoa hidup biasanya berwarna bening dan spermatozoa yang mati akan menyerap eosin sehingga berwarna merah ungu dari pada bagian kepala.

Abnormalitas dapat dilihat dengan cara semen diwarnai dengan eosin-negrosin dan dilihat dari bentuk spermatozoa yang tidak normal baik abnormalitas primer ataupun sekunder. Perhitungan konsentrasi spermatozoa menggunakan spermatozoa pada lima kotak dihitung pada arah diagonal. Pada lima kotak tersebut memiliki 16 ruang kecil dan pada setiap ruangan kecil memiliki volume 0,1 mm<sup>3</sup> dan pengencer 200 kali.

### Pengenceran Semen

Sperma segar yang telah dievaluasi dibagi menjadi 6 berisi bahan pengencer pada masing-masing perlakuan. Pengisian semen tersebut menggunakan mikropipet. Selanjutnya bahan pengencer dan semen tersebut dihomogenkan dengan cara diaduk.

### Penyimpanan Semen

Semen segar yang sudah diencerkan diisi ke sejumlah tabung *ependorf* yang berukuran 1,5 mL, ditutup rapat dan disimpan kedalam *coolbox* pada suhu 15 – 20 °C. Suhu dilihat dengan thermometer dan evaluasi dilakukan pada setiap 8 jam.

### Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini adalah:

### 1. **Motilitas**

Motilitas spermatozoa (%) Motilitas dapat dilihat dengan cara pemeriksaan visual yakni dengan bantuan mikroskop dan dinilai secara subjektif. Penilaian dilihat melalui cara meneteskan 1 tetes semen pada gelas objek, kemudian ditutupi menggunakan cover glass selanjutnya dihangatkan beberapa menit. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x40, amati pergerakan sperma motil progresif dari delapan lapang pandang yang berbeda, penilaian diberikan di antara 0-100 pada kisaran 5% (Nabilla, Arifiantini, and Purwantara 2018).

### 2. **Viabilitas**

Viabilitas spermatozoa (%) dapat dilihat melalui preparat dengan pewarna diferensial (eosin-negrosin) dengan bantuan mikroskop. Kepala spermatozoa yang hidup memiliki kepala bening dan berwarna merah atau ungu untuk spermatozoa yang mati. Pembuatan preparat dengan cara teteskan semen 1 tetes pada glass objek kemudian teteskan 1 tetes eosin pada glass objek yang sama namun pada posisi yang berbeda, setelah itu dicampur hingga tercampur. Selanjutnya buat preparat ulas tipis ke objek glass yang lainnya dengan sekali tarik, lalu panaskan diatas api bunsen sampai kering, kemudian preparat tersebut dapat diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x40.

Spermatozoa dapat dilihat melalui 8 lapang pandang yang berbeda dan dihitung jumlah minimal 200 spermatozoa. Viabilitas dinilai dari spermatozoa hidup yang tidak dapat menyerap warna dan spermatozoa mati terlihat berwarna ungu dan merah pada bagian kepala spermatozoa.

### 3. **Abnormalitas**

Abnormalitas spermatozoa (%) perhitungan abnormalitas dengan menempatkan preparat dengan pewarnaan differensial di mikroskop dan diamati dengan pembesaran 10x40, dan dihitung sebanyak 200 sel sperma. Abnormalitas biasanya terjadi pada bagian kepala ataupun ekor spermatozoa. Nilai perhitungan abnormalitas diperoleh sesuai rumus:

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

### 4. **Daya Tahan Hidup**

Daya tahan hidup spermatozoa dilihat menggunakan nilai motilitas dan daya gerak untuk dijadikan patokan dan cara yang mudah dalam penilaian semen segar pada proses IB, gerakan individu yang terbaik gerakan maju ke depan dan persentase motilitas mencapai 40%.

### **Analisis Data**

Data yang dihasilkan ditabulasi kemudian diuji menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan apabila masih terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Analisis dilakukan dengan software SPSS 25.0.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa**

Penentuan nilai motilitas pada spermatozoa dengan cara menentukan kualitas semen setelah pengenceran. Motilitas dapat dilihat dari gerak majunya spermatozoa secara progresif. Kemampuan gerak spermatozoa maju ke depan secara progresif merupakan patokan yang diperhitungkan karena manfaat dari pengenceran semen yaitu untuk proses IB. Penilaian motilitas untuk memperhitungkan kemampuan spermatozoa untuk membuahi sel telur. Kualitas spermatozoa sebelum dan sesudah penambahan pengencer tidak berubah yakni motilitas 84,00%, viabilitas 88,86%, dan abnormalitas 1,09%. Menurut Sumardani *et al.*, (2008) semen segar digunakan dalam proses inseminasi buatan harus memiliki beberapa syarat yakni nilai motilitas harus diatas 70%. Agar semen segar babi *Landrace* layak digunakan dalam preservasi atau

IB. Bebas, (2016) menunjukkan bahwa lama waktu penyimpanan berpengaruh terhadap penurunan daya hidup spermatozoa babi, waktu pengamatan 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam terlihat terjadi penurunan daya hidup spermatozoa babi yang nyata ( $P < 0,05$ )

Persentase motilitas spermatozoa babi *Landrace* dapat dilihat pada Tabel 1 yakni terlihat menurunnya nilai motilitas dengan bertambahnya lama waktu penyimpanan. Penyebabnya adalah semakin meningkatnya total spermatozoa yang bergerak tidak progresif karena berkurangnya energi yang tersedia didalam medium pengencer dan umur spermatozoa yang semakin tua. Namun tidak semua perlakuan memiliki kecepatan penurunan motilitas yang sama, sehingga pada jam ke 48 penyimpanan, pengencer BTS dengan

suplementasi EDKS 2% (P1), memiliki presentase motilitas tertinggi, diikuti pengencer BTS tanpa suplementasi EDKS (P0), pengencer BTS dengan suplementasi EDKS 4% (P2), pengencer BTS dengan

suplementasi EDKS 6% (P3), pengencer BTS dengan suplementasi EDKS 8% (P4), dan yang terendah yaitu pengencer BTS dengan suplementasi EDKS 10% (P5)

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai motilitas spermatozoa pada jam ke 0 dan ke 8 preservasi terlihat bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ). Namun di jam ke 16 sampai jam ke 48 pengamatan perlakuan P1 berbeda tidak nyata dengan P0 ( $P < 0,05$ ) dan kedua perlakuan tersebut secara signifikan lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dari pada perlakuan P2, P3, P4, dan P5. P0 menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ). Hal tersebut mengindikasikan bahwa dengan

Tabel 1. Rataan motilitas spermatozoa babi Landrace dengan pengencer BTS yang ditambahkan berbagai level EDKS.

P0=BTS, P1=BTS + EDKS 2%, P2= BTS+EDKS 4%, P3= BTS+EDKS 6%, P4= BTS+ EDKS 8%, P5= BTS+EDKS 10%.

memperlihatkan penurunan motilitas spermatozoa yang lebih cepat. Penambahan EDKS yang terlalu tinggi akan menyebabkan tingginya zat aktif pada daun kelor seperti tannin yang menyebabkan penurunan kualitas sperma. Rizal *et al.*, (2003) menjelaskan nilai motilitas tergantung pada ketersediaan energi yakni hasil dari proses metabolisme sel berupa *adenosine triphosphate*, menurunnya motilitas spermatozoa disebabkan berkurangnya energi pada larutan pengencer akibatnya

| Jam | Perlakuan                |                         |                           |                          |                         |                         | P-Value |
|-----|--------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|---------|
|     | P0                       | P1                      | P2                        | P3                       | P4                      | P5                      |         |
| 0   | 84.00±2.24               | 84.00±2.24              | 84.00±2.24                | 84.00±2.24               | 84.00±2.24              | 84.00±2.24              | 1.000   |
| 8   | 81.00±2.24               | 81.00±2.24              | 80.00±2.24                | 78.00±3.53               | 77.00±4.47              | 77.00±4.47              | 0.293   |
| 16  | 75.00±0.00 <sup>ab</sup> | 77.00±2.74 <sup>a</sup> | 72.00±4.47 <sup>bc</sup>  | 70.00±3.53 <sup>c</sup>  | 69.00±2.24 <sup>c</sup> | 68.00±2.74 <sup>c</sup> | 0.000   |
| 24  | 70.00±0.00 <sup>ab</sup> | 73.00±2.74 <sup>a</sup> | 66.00±4.18 <sup>bc</sup>  | 64.00±4.18 <sup>c</sup>  | 63.00±2.74 <sup>c</sup> | 63.00±2.74 <sup>c</sup> | 0.000   |
| 32  | 63.00±2.74 <sup>ab</sup> | 67.00±2.74 <sup>a</sup> | 59.00±4.18 <sup>bc</sup>  | 58.00±4.47 <sup>bc</sup> | 57.00±2.74 <sup>c</sup> | 55.00±6.12 <sup>c</sup> | 0.001   |
| 40  | 57.00±2.73 <sup>ab</sup> | 61.00±2.24 <sup>a</sup> | 53.00±2.74 <sup>abc</sup> | 50.00±6.12 <sup>bc</sup> | 47.00±7.58 <sup>c</sup> | 46.00±9.62 <sup>c</sup> | 0.003   |
| 48  | 33.00±2.74 <sup>ab</sup> | 35.00±0.00 <sup>a</sup> | 29.00±2.24 <sup>bc</sup>  | 26.00±4.18 <sup>c</sup>  | 20.00±3.53 <sup>d</sup> | 17.00±4.47 <sup>d</sup> | 0.000   |

menambahkan EDKS kedalam pengencer BTS tidak memberikan dampak positif terhadap motilitas spermatozoa bahkan pada level EDKS yang tinggi (4-10%) menyebabkan penurunan motilitas yang lebih drastis daripada level yang rendah. Hal ini berbanding terbalik dari penelitian terdahulu (Fafo *et al.*, 2016) EDKS yang dicampurkan pada pengencer sitrat kuning telur dapat menjaga kualitas sperma babi landrace pada konsentrasi EDKS terbaik yakni 5%.

Penyebab tidak adanya perbedaan motilitas antara perlakuan pada jam preservasi ke-0 dan ke-8 diduga disebabkan karena ketersediaan zat-zat makanan dan unsur pelindung dalam masing-masing pengencer tersebut masih dapat memenuhi kebutuhan spermatozoa. Pengencer BTS adalah bahan yang sudah sering digunakan pada preservasi spermatozoa babi dan memiliki daya simpan biasanya satu hingga tiga hari. Kandungan dari BTS sendiri terdiri dari *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) yang berfungsi untuk memproteksi membran plasma dan glukosa sebagai penyedia nutrisi untuk spermatozoa, ada juga natrium sitrat dan natrium bikarbonat yang berfungsi untuk penyangga untuk menjaga kesetabilan pH dan kelangsungan hidup spermatozoa.

Dari Tabel 1 di atas dapat dilihat penurunan motilitas spermatozoa selama 48 jam. Penambahan ekstrak daun kelor yang semakin meningkat cenderung

meningkatkan total spermatozoa mati tiap bertambahnya waktu. Menurut (Tamoos *et al.*, 2017), penyebab terjadinya *cool shock* pada sel spermatozoa yaitu menurunnya komponen lipid pada membran sel. Kandungan asam yang terjadi akibat penimbunan asam laktat mengakibatkan rusaknya organel-organelnya akibatnya proses metabolisme dalam mendapat energi terganggu. Menurunnya motilitas disebabkan kurangnya proses metabolisme menyebabkan energi yang dihasilkan berkurang.

Penambahan EDKS yang tepat bisa mendapatkan hasil yang sangat baik karena dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid yakni dengan mencegah proses peroksidasi lipid yang terjadi pada membran plasma spermatozoa. Salah satu penentu motilitas spermatozoa selama penyimpanan *in vitro* yaitu jumlah kandungan zat nutrisi yang terdapat dalam pengencer. Dwatmadji *et al.*, (2007) melaporkan bahwa kandungan yang berbeda pada pengencer adalah penyebab terjadinya nutrisi yang berbeda pada setiap pengencer. Pengencer dasar yang digunakan dalam penelitian ini yaitu BTS dimana kandungan dari bahan pengencer BTS terdiri dari *Ethylene Diamine Tetraacetic Acid* (EDTA) yang berfungsi untuk melindungi membran plasma, terdapat pula natrium sitrat dan natrium bikarbonat yang berfungsi menjaga pH tetap stabil, antibiotik (penicillin dan streptomycin) berperan

untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Dubé *et al.*, 2004).

Pengencer yang memiliki nutrisi baik mampu menjaga kualitas sperma lama. Menurut In dan Selatan, (2021) bahwa pada daun kelor terdapat kandungan antioksidan yang bermanfaat dalam mengatasi proses radikal bebas dan menjaga sel pada spermatozoa dari serangan radikal bebas.

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa

Pemeriksaan viabilitas sangat penting karena masih ada keterkaitan dengan motilitas spermatozoa. Nilai viabilitas umumnya lebih tinggi dibanding nilai motilitas dikarenakan spermatozoa hidup belum pasti motil progresif dan sebaliknya spermatozoa motilitas progresif pasti hidup. Perbedaan spermatozoa hidup dan yang mati bisa diketahui dari warna dari kepala spermatozoa, yakni kepala spermatozoa bening atau Tabel 2. Rata-rata viabilitas spermatozoa babi Landrace EDKS.

putih untuk spermatozoa hidup dan kepala spermatozoa yang berwarna merah berarti mati. Membran plasma pada spermatozoa hidup masih utuh sehingga masuknya eosin ke dalam sel, namun dikeluarkan melalui proses pompa sodium karena membran plasma masih berfungsi. Pada spermatozoa yang mati memiliki membran plasma dan mekanisme pompa sodiumnya sudah rusak sehingga cairan eosin dan natrium akan masuk dan tertahan didalam sel sehingga menyebabkan kepala spermatozoa yang mati berwarna. Viabilitas sperma pada semen segar yang dipakai dalam penelitian ini berkisar antara 83-87% sehingga masih dapat digunakan dalam penelitian. Semen segar yang baik untuk dipakai dalam inseminasi buatan harus memiliki persyaratan mulai dari nilai viabilitas harus diatas 80%, maka semen segar yang dipakai pada penelitian layak dipakai pada preservasi atau IB, (Sumardani *et al.*, 2008). Viabilitas spermatozoa ditampilkan pada Tabel 2.

dalam pengencer BTS yang ditambahkan berbagai level

| Jam | Perlakuan                 |                          |                          |                          |                          |                          | P-Value |
|-----|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
|     | P0                        | P1                       | P2                       | P3                       | P4                       | P5                       |         |
| 0   | 87.08±0.49 <sup>abc</sup> | 88.86±0.36 <sup>a</sup>  | 88.13±0.59 <sup>ab</sup> | 87.81±0.66 <sup>ab</sup> | 86.80±1.47 <sup>bc</sup> | 85.75±2.63 <sup>c</sup>  | 0.16    |
| 8   | 82.97±2.25 <sup>ab</sup>  | 85.26±1.15 <sup>a</sup>  | 81.24±1.49 <sup>bc</sup> | 79.60±1.65 <sup>c</sup>  | 80.04±2.82 <sup>bc</sup> | 80.14±3.10 <sup>bc</sup> | 0.002   |
| 16  | 76.72±3.43 <sup>ab</sup>  | 80.07±3.46 <sup>a</sup>  | 77.02±0.78 <sup>ab</sup> | 75.94±1.18 <sup>ab</sup> | 74.25±3.52 <sup>b</sup>  | 74.12±4.09 <sup>b</sup>  | 0.077   |
| 24  | 74.11±3.91 <sup>b</sup>   | 79.00±2.16 <sup>a</sup>  | 71.98±3.06 <sup>bc</sup> | 71.25±2.61 <sup>bc</sup> | 70.40±2.39 <sup>bc</sup> | 69.51±3.79 <sup>c</sup>  | 0.001   |
| 32  | 66.68±2.99 <sup>ab</sup>  | 73.12±2.98 <sup>a</sup>  | 68.98±3.65 <sup>ab</sup> | 66.86±5.63 <sup>ab</sup> | 66.81±5.80 <sup>ab</sup> | 61.97±9.68 <sup>b</sup>  | 0.103   |
| 40  | 59.99±6.68 <sup>ab</sup>  | 67.46±1.35 <sup>a</sup>  | 59.79±4.16 <sup>ab</sup> | 56.25±4.62 <sup>bc</sup> | 56.00±5.63 <sup>bc</sup> | 51.67±8.96 <sup>c</sup>  | 0.006   |
| 48  | 41.22±10.92 <sup>ab</sup> | 51.81±10.96 <sup>a</sup> | 39.36±9.45 <sup>ab</sup> | 37.84±7.58 <sup>ab</sup> | 30.56±10.27 <sup>b</sup> | 32.66±14.48 <sup>b</sup> | 0.069   |

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

P0=BTS, P1=BTS + EDKS 2%, P2= BTS+EDKS 4%, P3= BTS+EDKS 6%, P4= BTS+ EDKS 8%, P5= BTS+EDKS 10%.

Hasil analisis statistik pada viabilitas spermatozoa sejak jam ke 0 hingga 48 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ), antara perlakuan P1 dengan P4 dan P5, sedangkan tidak ada perbedaan yang nyata ( $P > 0,05$ ) dengan perlakuan P0, P2, dan P3. Namun demikian, perbedaan tersebut lebih disebabkan karena menurunnya nilai viabilitas spermatozoa yang lebih signifikan pada perlakuan-perlakuan yang mendapat penambahan EDKS pada level yang tinggi terutama pada perlakuan P4 dan P5. Hal ini diduga dikarenakan ukuran larutan EDKS yang terlalu tinggi dan mengakibatkan toksik hingga dapat menyebabkan penurunan viabilitasnya. Hal lainnya mungkin disebabkan terlalu kentalnya pengencer sehingga menyebabkan semen susah untuk bergerak dan bertahan hidup.

Daun kelor memiliki kandungan metabolit sekunder flavonoid, phenols, alkaloid yang mampu memperlambat aktifitas bakteri. Namun pada pemberian terlalu banyak bisa bersifat racun untuk spermatozoa.

Dari hasil penelitian dapat dilihat P1 dengan larutan EDKS 2% mampu mempertahankan nilai viabilitas semen babi landrace. Hal ini menjelaskan bahwa perlakuan tersebut, mempunyai kandungan antioksidan pada EDKS sudah sangat baik untuk menghambat radikal bebas dan efek negatif. Manfaat dari antikosidan adalah menghambat terjadinya oksidasi lemak (Fafo *et al.*, 2016). Nutrisi pada daun kelor yang tinggi seperti sukrosa yang berfungsi sebagai sumber energi dan glutionin sebagai protein yang berfungsi sebagai antioksidan dan mineral.

Viabilitas pada spermatozoa mengalami penurunan, selain diakibatkan karena kekurangan energi dan rusaknya membran plasma diakibatkan protein plasma, penurunan viabilitas spermatozoa bisa jadi diakibatkan karena rusaknya membran plasma spermatozoa disebabkan proses peroksidasi lipid. Untuk itu diperlukan tambahan antioksidan yaitu daun kelor untuk dapat menekan kerusakan pada membran spermatozoa diakibatkan adanya peroksidasi lipid. Daun

kelor memiliki kandungan antioksidan: flavonoi, fenol, alkaloid, saponin, tanin (Putra *et al.*, 2016).

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Kelainan bentuk fisik atau abnormalitas spermatozoa yang sering terjadi pada waktu terbentuknya spermatozoa pada tubuli seminiferi maupun pada saat spermatozoa melewati saluran pada alat reproduksi jantan. Abnormalitas mungkin juga disebabkan oleh penyakit yang menyerang organ reproduksi sehingga menghambat atau mengganggu organ reproduksi terutama didalam tubuli seminiferi testis sehingga menyebabkan produksi spermatozoa tidak berlangsung secara sempurna.

Hasil pemeriksaan mikroskopis semen segar pada penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata abnormalitas spermatozoa adalah 1,09 % oleh karena itu masih mampu digunakan untuk diproses selanjutnya. Jika persentase abnormalitas lebih dari 20% maka kualitas semen tersebut termasuk rendah dan akan menyebabkan angka kebuntungan rendah. Abnormalitas spermatozoa yang dilihat di penelitian ini yaitu abnormalitas sekunder, yakni ekornya patah ataupun putus. Abnormalitas sekunder diakibatkan karena kesalahan pada waktu membuat preparasi dan melakukan ejakulasi. Abnormalitas yang terlihat biasanya ekor putus atau abnormalitas sekunder. Abnormalitas di bagian ekor diakibatkan oleh kesalahan pada saat ejakulasi dan kesalahan saat pembuatan preparat.

Tabel 3 Rataan abnormalitas spermatozoa babi Landrace dalam pengencer BTS yang ditambahkan berbagai level EDKS.

| Jam | Perlakuan               |                        |                          |                          |                         |                        | P-Value |
|-----|-------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|---------|
|     | P0                      | P1                     | P2                       | P3                       | P4                      | P5                     |         |
| 0   | 1.67±0.50 <sup>ab</sup> | 1.09±0.12 <sup>a</sup> | 1.97±1.12 <sup>abc</sup> | 2.43±0.49 <sup>bc</sup>  | 2.51±0.79 <sup>bc</sup> | 2.87±0.58 <sup>c</sup> | 0.005   |
| 8   | 2.11±0.25 <sup>ab</sup> | 1.52±0.42 <sup>a</sup> | 2.13±0.71 <sup>ab</sup>  | 2.73±0.57 <sup>bc</sup>  | 2.57±0.72 <sup>b</sup>  | 3.42±0.69 <sup>c</sup> | 0.001   |
| 16  | 2.61±0.46 <sup>a</sup>  | 2.18±0.74 <sup>a</sup> | 3.14±0.90 <sup>a</sup>   | 3.17±0.69 <sup>a</sup>   | 3.13±0.94 <sup>a</sup>  | 4.17±0.17 <sup>b</sup> | 0.005   |
| 24  | 7.72±8.91               | 2.62±0.89              | 3.62±0.55                | 3.91±0.23                | 4.09±0.65               | 4.36±0.44              | 0.491   |
| 32  | 3.57±0.50 <sup>ab</sup> | 3.28±1.19 <sup>a</sup> | 4.09±0.83 <sup>abc</sup> | 4.36±0.33 <sup>abc</sup> | 4.54±0.66 <sup>bc</sup> | 4.87±0.77 <sup>c</sup> | 0.027   |
| 40  | 4.17±0.64 <sup>ab</sup> | 3.71±1.13 <sup>a</sup> | 4.66±1.00 <sup>ab</sup>  | 5.15±0.31 <sup>b</sup>   | 4.99±0.43 <sup>b</sup>  | 5.13±0.87 <sup>b</sup> | 0.027   |
| 48  | 4.92±1.03 <sup>ab</sup> | 4.10±1.42 <sup>a</sup> | 4.92±1.01 <sup>ab</sup>  | 5.44±0.52 <sup>ab</sup>  | 5.32±0.66 <sup>b</sup>  | 5.74±0.19 <sup>b</sup> | 0.113   |

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

P0=BTS, P1=BTS + EDKS 2%, P2= BTS+EDKS 4%, P3= BTS+EDKS 6%, P4= BTS+ EDKS 8%, P5= BTS+EDKS 10%.

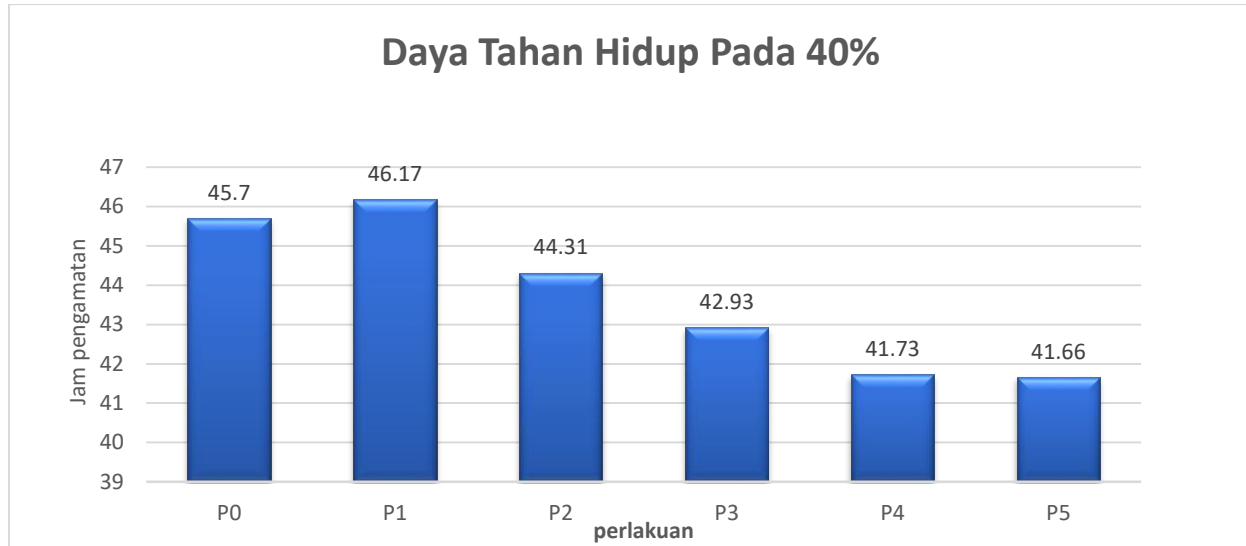
Hasil analisis statistik pada abnormalitas spermatozoa hingga pada jam ke-48 preservasi terlihat bahwa perlakuan P1 berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dengan perlakuan P0, P2, dan P3 namun berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan perlakuan P4 dan P5.

Abnormalitas sekunder kemungkinan disebabkan karena kesalahan dalam preparasi atau ejakulasi (Arifiantini *et al.*, 2006). Menurut Setiyani *et al.*, (2018) abnormalitas sekunder atau ekor yang terputus biasanya disebabkan waktu pembuatan preparate ulas (smear).

Persentase abnormalitas semakin meningkat seiring waktu penyimpanan yang semakin lama. Penyebabnya yakni karena cold shock dan tidak keseimbangan tekanan osmotik pada proses metabolisme yang selalu terjadi selama proses penyimpanan. Semakin meningkatnya waktu penyimpanan mengakibatkan tingkat keasaman (pH) semen mengalami penurunan

### Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Hidup Spermatozoa

Kemampuan gerak atau daya hidup dari spermatozoa dalam waktu tertentu pada media pengenceran. Dalam penelitian ini yang diamati yaitu motilitas spermatozoa paling kurang 40% karena spermatozoa layak IB harus diatas 40%. Walaupun pada penelitian sebelumnya pengamatan dilakukan hingga spermatozoa tidak terlihat pergerakan lagi. Pada keperluan IB, motilitas spermatozoa tidak boleh dibawah dari 40%, sehingga pengamatan daya tahan hidup spermatozoa dalam penelitian ini sampai motilitas spermatozoa mencapai 40%. Daya hidup spermatozoa bisa dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Rataan Daya Tahan Hidup Spermatozoa**

Hasil analisis statistik terlihat bahwa daya hidup spermatozoa di perlakuan P1 dan P0 secara nyata lebih lama ( $P < 0,05$ ) daripada perlakuan P3, P4, dan P5, namun berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dengan perlakuan P2.

Pada perlakuan EDKS 4 sampai 8 % menyebabkan penurunan daya hidup spermatozoa, hal ini disebabkan kandungan seperti tannin berupa

kandungan zat aktif yang tinggi akibatnya daya hidup spermatozoa menurun. EDKS memiliki kandungan tannin yang tinggi, yaitu kisaran 831,92 mg/100ml, Oka *et al.*, (2016) menjelaskan bahwa tannin memiliki senyawa yang bersifat asam yaitu fenol. Larutan yang bersifat asam dapat mempercepat kematian spermatozoa

## SIMPULAN

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa penambahan EDKS pada pengencer BTS tidak mampu meningkatkan kualitas spermatozoa babi landrace, bahkan pada level EDKS yang tinggi menyebabkan

penurunan kualitas spermatozoa yang sangat drastis. Pada penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji keberhasilan dalam pelaksanaan inseminasi buatan menggunakan pengencer BTS yang ditambahkan ekstrak daun kelor segar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R I, D A N Tl. 2006. Departemen Klinik, Reproduksi Patologi, And Fakultas Kedokteran Hewan. N.D. "1.6. Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer," 1–11.
- Bebas, Wayan, Geovany Larastiyani Buyona, And Kota Budiasa. 2016. "Penambahan Vitamin E Pada Pengencer Bts ® Terhadap Daya Hidup Dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace Pada Penyimpanan 15 ° C (The Addition Of Vitamin E In Diluent Bts ® Of Viability And Mortality Of Spermatozoa Landrace Pig Stored In Temperature 15 ° C)."
- Beku, Semen, And Kualitas Semen. 2008. "Optimalisasi Penambahan Vitamin E Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Untuk Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Boer." *Journal Indon.Trop.Anim.Agric* 33 (1): 11–19.
- Dubé, Charlotte, Martin Beaulieu, Carlos Reyes-Moreno, Christine Guillemette, And Janice L. Bailey. 2004. "Boar Sperm Storage Capacity Of Bts And Androhep Plus: Viability, Motility, Capacitation, And Tyrosine Phosphorylation." *Theriogenology* 62 (5): 874–86. <https://doi.org/10.1016/J.Theriogenology.2003.12.006>.



- Dwatmadji, Dwatmadji, Siwitri Kadarsih, Edi Soetrisno, And Yanti Fisniarsih. 2007. "Pengaruh Pengencer Kuning Telur Dengan Air Kelapa Dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Semen Kambing Nubian." *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 2 (2): 65–71. <https://doi.org/10.31186/Jspi.Id.2.2.65-71>.
- Fafo, Melianus, Thomas Mata Hine, And Marlene Nalley. 2016. "Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace (The Effectivity Of Moringa Leaf Extract Concentration In Citrate Egg-Yolk Diluent On The Quality Of Landrace Liquid Semen)" 3 (2): 184–95.
- Fajrilah, Bela R. 2013. "Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Kadar Malondialdehyde ( Mda ) Plasma Darah Pada Tikus Putih Galur Wistar Yang Diinduksi Alloxan." *Sains Medika* 5 (2): 98–100.
- Gadea, J. 2003. "Review: Semen Extenders Used In The Artificial Insemination Of Swine." *Spanish Journal Of Agricultural Research* 1 (2): 17. <https://doi.org/10.5424/Sjar/2003012-17>.
- I Wayan Dwika Pratama Putra, Anak Agung Gde Oka Dharmayudha, Luh Made Sudimartini. 2016. "Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa Oleifera L) Di Bali." *Indonesia Medicus Veterinus Oktober* 5 (5): 464–73.
- In, Oleifera, And Denpasar Selatan. 2021. "Doi : <https://doi.org/10.32382/Medkes.V16i1.2038> Doi : <https://doi.org/10.32382/Medkes.V16i1.2038>" *Xvi* (1): 135–39.
- Jang, M.H., X.L. Piao, J.M. Kim, S.W. Kwon, And J.H. Park. 2008. "Inhibition Of Cholinesterase And Amyloid- $\beta$  Aggregation By Resveratrol Oligomers From Vitis Amurensis." *Phytotherapy Research* 22 (4): 544–549. <https://doi.org/10.1002/Ptr>.
- Nabilla, Anna, Raden Iis Arifiantini, And Bambang Purwantara. 2018. "Kualitas Semen Segar Sapi Bali Umur Produktif Dan Non-Produktif Serta Penentuan Konsentrasi Krioprotektan Dalam Pengencer Tris Kuning Telur." *Jurnal Veteriner* 19 (2): 242. <https://doi.org/10.19087/Jveteriner.2018.19.2.242>.
- Miwada. 2016. "Identifikasi Sifat Fungsional Dari Daun Jati, Kelor Dan Kayu Manis Dan Potensinya Sebagai Sumber Antioksidan Pada Edible Film." *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 11 (1): 1–8. <https://doi.org/10.31186/Jspi.Id.11.1.1-8>.
- Rizal, M, Mr Toelihere, Tl Yusuf, B Purwantara, And B Situmorang. 2003. "Kualitas Semen Beku Domba Garut Dalam Berbagai Konsentrasi Gliserol." *Jitv* 7: 194–99.
- Setiyani, Dwi Susan, Aulia Puspita Anugra Yekti, Kuswati Kuswati, And Trinil Susilawati. 2018. "Keberhasilan Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Sexing Beku Pada Sapi Persilangan Ongole." *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 28 (3): 259. <https://doi.org/10.21776/Uj.Jiip.2018.028.03.09>.
- Sumardani, Nlg, Ly Tuty, And Ph Siagian. 2008. "Viabilitas Spermatozoa Babi Dalam Pengencer Bts (Beltsville Thawing Solution) Yang Dimodifikasi Pada Penyimpanan Berbeda." *Jurnal Media Peternakan* 31 (2): 81–86.
- Tamoes, J A, And W M Nalley T M Hine. 2014. "Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace Dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco Dengan Susu Kacang Kedelai" 12 (1): 20–30.
- Tamoes, J A, W M Nalley, And T M Hine. 2017. "Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace Dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco Dengan Susu Kacang Kedelai." *Sains Peternakan* 12 (1). <https://doi.org/10.20961/Sainspet.V12i1.4772>.
- Oka, A.A, K.A. Wiyana, I.M. Sugitha, And I.N.S.