



Tersedia daring pada: <http://ejurnal.undana.ac.id/jvn>

## Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur Ayam Kampung

Crecentia A. Butta<sup>1</sup>, Cynthia D. Gaina<sup>2</sup>, Nancy Diana F. K. Foeh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

<sup>2</sup>Laboratorium Klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

### Abstract

#### Riwayat Artikel:

Diterima: 12 Okt 2020

Direvisi: 9 Jan 2021

Disetujui: 11 Feb 2021

#### Keywords:

coconut water

native chicken egg yolk

water jacket

non-water jacket

Landrace boar

#### Korespondensi:

aprilinda.butta@gmail.com

*The aims of this study is to determine the effect and the best combination of coconut water (CW) and native chicken egg yolk (NCEY) as extender with water jacket and non-water jacket method in preserving of boar semen. Semen was collected from sexually mature boar 2-4 years of age. A good sample of semen will have motility above 70%, abnormality below 20% and spermatozoa concentration above 200 x 10<sup>6</sup> sel/mL. This study was designed with completely randomized design and faktorial patern with 2 controled group, 6 treated group, and 4 repitition. Controled group consist of fresh semen without extender. K0 was preserved with non-water jacket method, and K1 was preserved with water jacket method. Treated group were P1 (75% CW + 25% NCEY), P2 (85% CW + 15% NCEY), P3 (95% CW + 5% NCEY) that preserved with non-water jacket method, and P4 (75% CW + 25% NCEY), P5 (85% CW + 15% NCEY), P6 (95% CW + 5% NCEY) preserved with water jacket method. Motility and viability of spermatozoa were evaluated every 2 hours until motility value has reached 40%. The result shows that P3 and P5 is the best combination for preserving semen (32 hours). Water jacket method is the better option for preserving boar semen. P3 is the least in preserving boar semen.*

## PENDAHULUAN

Ternak babi mempunyai peranan penting untuk menopang ketahanan pangan dan sebagai pelengkap sosial budaya pada masyarakat Nusa Tenggara Timur (NTT), sehingga memiliki potensi yang cukup besar untuk dikembangkan (Dapawole, 2014). Usaha peternakan babi di NTT umumnya merupakan peternakan rakyat berskala rumah tangga atau skala kecil serta upaya peningkatan mutu genetiknya masih kurang mendapat perhatian. Salah satu cara untuk mempercepat perbaikan mutu adalah perkawinan melalui metode inseminasi buatan (IB). Teknik IB yang umum dilakukan adalah dengan semen cair atau semen beku (Pamungkas dkk., 2008).

Penggunaan semen segar dalam pelaksanaan IB akan mudah mengalami penurunan kualitas jika tidak ditambah dengan bahan pengencer yang tepat. Penggunaan semen cair untuk periode waktu yang lama memerlukan pengawetan dengan penambahan bahan pengencer yang mengandung sumber energi dan nutrisi yang cukup, bahan penyangga (*buffer*), bahan anti kejutan dingin (*cold shock*), mampu memberikan proteksi terhadap kontaminasi bakteri, serta dapat melindungi spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan (Rizal dan Thahir, 2016).

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

Bahan yang umum digunakan sebagai pengencer semen diantaranya adalah sitrat yang berguna untuk mempertahankan pH (Bohlooli *et*

*al.*, 2012) dan air kelapa muda sebagai sumber energi (Mere, 2016). Air kelapa mengandung karbohidrat (glukosa, fruktosa dan sukrosa), mineral, vitamin dan protein. Kandungan yang terdapat dalam air kelapa dapat menyediakan kebutuhan fisik dan kimiawi yang dibutuhkan oleh spermatozoa, sehingga air kelapa dapat mempertahankan kualitas spermatozoa (Sulabda dan Puja, 2010). Selain sitrat dan air kelapa, salah satu bahan yang umum digunakan sebagai pengencer adalah kuning telur. Pada pengenceran semen babi penambahan kuning telur diperlukan karena di dalam kuning telur terdapat lipoprotein dan letisin yang dapat mengurangi *cold shock* bagi spermatozoa, sehingga kerusakan pada saat pengenceran, pendinginan maupun pembekuan dapat berkurang (Garner and Hafez, 2000).

Kemampuan melindungi spermatozoa dari cekaman dingin pada kuning telur serta kandungan karbohidrat yang cukup tinggi pada air kelapa yaitu 1,56% (Mata Hine, 1991; Garner and Hafez, 2000) memungkinkan kuning telur ayam kampung dan air kelapa untuk dijadikan sebagai salah satu bahan pengencer pada semen babi. Selain itu telur ayam kampung dan buah kelapa memiliki ketersediaan yang cukup, mudah dijumpai dan memiliki harga yang relatif murah jika dibandingkan dengan pengencer lain seperti susu dan sitrat (Matahine dkk., 2014).

## METODOLOGI

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama bulan mei dan juni 2018. Semen segar babi dikoleksi dari Intalasi Pembibitan Ternak Babi Tarus, Dinas Peternakan Provinsi NTT. Evaluasi makroskopik dan mikroskopik, serta pembuatan bahan pengencer untuk semen dilakukan di Laboratorium Klinik, Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana.

### Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan ialah semen segar babi, air kelapa, kuning telur ayam kampung, *eosin-negrosin*, *formalsaline*, *aquabidest*, penicillin dan streptomisin. Peralatan yang digunakan pada

penelitian ini adalah *object glass*, *cover glass*, mikroskop, *gloves*, *cold box*, pipet tetes, mikropipet, spuit, tisu, gunting, pinset, kertas pengukur pH, tabung reaksi, gelas ukur, kertas label, *aluminium foil*, kamar hitung, rak tabung, bunsen, gelas beker, *slide dryer*.

## Metode Penelitian

### Penentuan kelompok perlakuan

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan kombinasi perlakuan yang disusun dalam pola faktorial 3 x 2 (3 macam kombinasi pengencer dan 2 metode penyimpanan) yang terdiri dari 6 perlakuan, 2 kontrol dan 4 kali ulangan.

Tabel 1. Kelompok perlakuan

Perlakuan	Ejakulat	Konsentrasi pengencer		Water Jacket
		Air kelapa (AK)	Kuning telur ayam kampung (KT)	
K0	Semen	-	-	√
K1	Semen	-	-	-
P1	Semen	75%	25%	-
P2	Semen	85%	15%	-
P3	Semen	95%	5%	-
P4	Semen	75%	25%	√
P5	Semen	85%	15%	√
P6	Semen	95%	5%	√

Keterangan : K (Kontrol), P (Perlakuan)

### Penyiapan bahan pengencer

Pada penelitian ini digunakan buah kelapa yang masih muda. Permukaan buah kelapa dibersihkan menggunakan kapas beralkohol kemudian dipotong pada bagian ujung kelapa yang tumpul menggunakan parang steril yang telah dibasahi dengan alkohol. Setelah bagian daging buah kelapa terlihat, selanjutnya sedot air kelapa menggunakan spuit steril. Air kelapa yang telah disedot, ditempatkan ke dalam gelas ukur dan ditutup dengan kertas aluminium steril.

Telur ayam kampung yang baru dan segar dibersihkan dengan kapas beralkohol kemudian diberi lubang kecil pada bagian yang runcing untuk memisahkan kuning dan putih telur. Kuning

telur dituangkan secara perlahan ke atas kertas saring agar sisa putih telur dapat diserap dan diusahakan agar selaput kuning telur tidak pecah. Kuning telur tersebut kemudian dipecahkan dan dialirkan kedalam gelas ukur. Kuning telur ayam kampung selanjutnya di campur dengan air kelapa sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan dan dihomogenkan dengan menggunakan *strirer*.

Kedalam bahan pengencer tersebut perlu ditambahkan antibiotik berupa penisilin sebanyak 1000 IU dan streptomisin sebanyak 1 mg per mL pengencer.

### Prosedur penampungan semen

Pengambilan sampel dilakukan dua kali dalam satu minggu. Pengambilan semen dilakukan pada sore hari pukul 16.00-16.30 WITA. Penampungan semen dilakukan dengan metode pemijatan (*massage/gloves hand method*) pada korpus penis. Semen yang ditampung adalah fraksi kedua yang kaya akan spermatozoa. Semen yang ditampung harus segera dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi.

### Evaluasi semen

Setelah penampungan semen, dilakukan pengujian makroskopis (warna, konsistensi, bau, pH dan volume) serta mikroskopis (motilitas spermatozoa, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi spermatozoa). Semen segar yang akan diencerkan harus memenuhi syarat, yaitu minimal persentase motilitas 70% dan persentase abnormal tidak lebih dari 15% (Rizal dan Thahir, 2016). Semen yang telah selesai diperiksa segera dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi bahan pengencer sesuai perlakuan. Setelah semen diencerkan kemudian disimpan dalam lemari pendingin dan diamati kualitasnya (motilitas dan viabilitas spermatozoa) setelah penyimpanan.

### Evaluasi makroskopik

Volume semen pada satu kali penampungan dilihat langsung dari tabung penampungan berskala yang digunakan pada saat penampungan. Volume semen babi berkisar 200-250

mL/ejakulasi (Knox, 2006). Warna semen dilihat langsung dari tabung semen. Semen segar dapat berwarna putih susu, krem atau kekuningan. Semen babi yang normal memiliki warna putih susu (Garner and Hafez, 2000).

Konsistensi dapat dilihat langsung pada tabung penampung semen. Konsistensi diamati dengan cara memiringkan tabung penampung berisi semen segar kemudian ditegakkan kembali lalu diamati laju aliran semen kebawah melewati dinding tabung. Konsistensi normal semen babi adalah encer dikarenakan volume semen babi tinggi namun konsentrasi spermatozoa yang rendah (Knox, 2006).

Derajat keasaman (pH) diukur menggunakan kertas pH indikator dengan cara mencelupkan kertas pH kedalam semen lalu diamati perubahan warna pada indikator pH. Kisaran pH normal pada babi adalah 7,3 – 7,8 (Garner and Hafez, 2000). Aroma dari semen diperiksa dengan cara mencium aroma semen segar hasil penampunagn secara langsung menggunakan indera penciuman. Semen normal memiliki aroma khas semen disertai bau dari hewan tersebut (Kartasudjana, 2001).

### **Evaluasi mikroskopik**

Motilitas individu diamati dengan meneteskan semen di atas *object glass* yang ditutup dengan *cover glass* dan kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 40×10. Pengamatan dilakukan secara subjektif terhadap spermatozoa yang bergerak progresif, dengan angka yang diberikan berkisar antara 0 hingga 100%. Nilai 0 diberikan apabila spermatozoa tidak bergerak progresif sama sekali, nilai dibawah 50% apabila gerakan spermatozoa berputar di tempat atau melingkar, nilai 50-80% diberikan apabila gerakan spermatozoa progresif dan menghasilkan gerakan massa, serta nilai 80-90% apabila tampak gerakan sangat progresif, gelombang yang sangat cepat dan menunjukkan motil aktif (Ax *et al.*, 2000).

Pemeriksaan viabilitas semen dilakukan dengan menggunakan preparat ulas *eosin-negrosin*. Satu tetes semen diteteskan pada *object*

*glass* menggunakan pipet, kemudian *eosin-negrosin* diteteskan menggunakan pipet lain dan dihomogenkan. Campuran semen dengan *eosin-negrosin* dibuat olesan dengan ujung *object glass* lain hingga terbentuk olesan sepanjang permukaan *object glass*. Preparat ulas kemudian dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40×10. Spermatozoa minimal dihitung pada 10x lapang pandang dengan jumlah sel 200. Spermatozoa yang masih hidup pada bagian kepala tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa yang sudah mati akan menyerap zat warna (Audia dkk., 2017).

Uji abnormalitas menggunakan hasil ulasan *eosin-negrosin* untuk uji viabilitas, kemudian dilanjutkan pengamatan dibawah mikroskop cahaya pembesaran 40×10. Bentuk abnormalitas spermatozoa meliputi kepala besar atau kepala kecil, kepala pendek, lebar, ekor ganda, bagian ekor yang melipat, selubung akrosom yang terlepas dari kepala tanpa adanya ekor, dan ekor yang terputus (Afiati dkk., 2015). Jumlah spermatozoa yang diamati minimal 200 sel dari 10x lapang pandang.

Penentuan konsentrasi spermatozoa dengan menghitung jumlah spermatozoa yang ada menggunakan *haemocytometer* dengan pengenceran 10 µl semen dalam 990 µl *formolsaline* dalam tabung *ependorf*. Larutan dihomogenkan kemudian diambil menggunakan mikropipet sebanyak 1µl dan diletakan diatas kamar hitung lalu ditutup menggunakan *object glass*. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 40×10. Jumlah spermatozoa dihitung dalam 5 kamar secara diagonal atau empat sudut dan satu dibagian tengah (Arifiantini, 2012). Konsentrasi spermatozoa babi berkisar antara 150-300 x 10<sup>6</sup> sel/mL (Garner and Hafez, 2000).

### **Pengenceran semen**

Terhadap semen segar yang telah dievaluasi dan berkualitas baik dibagi menjadi 8 bagian dengan volume yang sama dan dilakukan perhitungan kadar pengenceran. Setelah itu, semen diencerkan dengan bahan pengencer yang telah disiapkan sesuai dengan perlakuan yang

ditentukan. Kemudian masing-masing tabung disimpan pada suhu 5 °C, dimana 4 perlakuan disimpan dengan metode *water jacket* dan 4 perlakuan disimpan tanpa metode *water jacket*. Kemudian dilakukan evaluasi (motilitas dan viabilitas) setiap 2 jam sekali terhadap semen yang telah diencerkan dan disimpan, untuk mengetahui penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa dalam kurun waktu yang dekat. Evaluasi dilakukan hingga kualitas spermatozoa mencapai 40%.

### Analisis Data

Hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen segar dianalisis secara deskriptif. Data evaluasi semen cair dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan nyata pada perlakuan, maka akan dilakukan uji lanjutan dengan uji *Duncan* untuk membandingkan hasil terhadap tiap perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Semen Segar

Rataan volume semen per ejakulat yang diperoleh selama penelitian adalah  $287,5 \pm 17$  mL (kisaran 240-320). Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan Ax *et al.* (2000) yang menyatakan volume semen babi berkisar 200 - 250 mL namun sejalan dengan Garner and Hafez (2000) dimana volume semen babi pada tiap penampungan dapat mencapai 150-400 mL. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi total volume dan konsentrasi semen adalah umur, makanan, lingkungan, musim, prosedur penampungan semen, frekuensi penampungan, perbedaan bangsa, dan kesehatan reproduksi pejantan (Ax *et al.*, 2000).

Berdasarkan pengamatan secara langsung, warna semen segar yang didapat dalam penelitian ini adalah putih-susu dengan konsistensi encer. Hasil ini sama dengan pernyataan Garner and Hafez (2000) serta Johnson *et al.* (2000) yakni semen segar babi berwarna putih-susu dengan konsistensi encer. Warna semen memiliki kaitan dengan konsentrasi dan kekentalan.

Nilai derajat keasaman (pH) semen dari penelitian ini berkisar 7,4-7,6 dengan rata-ran  $7,4 \pm 0,05$  (Tabel 7.) Nilai tersebut sesuai dengan nilai pH normal semen babi yaitu berkisar antara 7,3-7,8 (Garner and Hafez, 2000; Johnson *et al.*, 2000; Gadea, 2003). Nilai pH dipengaruhi oleh perbedaan ras, kondisi lingkungan, dan perbedaan *buffer* (Evans and Maxwell, 1987).

Hasil penelitian menunjukkan nilai motilitas semen segar sebesar  $80 \pm 0,00\%$ . Semen tersebut memiliki kualitas yang baik sebab spermatozoa yang baik memiliki nilai motilitas dengan kisaran 50 – 80% (Garner and Hafez, 2000). Nilai yang diperoleh pada penelitian ini sedikit lebih rendah dari hasil penelitian Neno (2016) yang menyatakan motilitas semen babi berkisar  $84,50 \pm 0,50\%$  namun hampir sama dengan penelitian Foeh (2015) yaitu  $80,85 \pm 0,72\%$ . Berbagai faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa antara lain ras, individu, umur, volume ejakulat, dan perubahan temperatur.

Hasil penilaian viabilitas menunjukkan nilai  $93 \pm 0,70\%$ . Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil yang didapat Tamoos (2014) yaitu  $87,28 \pm 1,71\%$ . Hasil ini tidak berbeda jauh dari Garner and Hafez (2000) yang menyatakan persentase viabilitas spermatozoa berkisar 70 – 90%. Persentase viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi dari motilitas spermatozoa dikarenakan tidak semua dari jumlah spermatozoa yang hidup bergerak progresif (Kostaman dan Sutarna, 2006). Beberapa faktor yang mempengaruhi persentase viabilitas spermatozoa adalah konsentrasi, motilitas dan nilai pH.

Berdasarkan hasil penelitian, semen tersebut dinyatakan sangat baik karena memiliki nilai abnormalitas yang tergolong rendah dengan rata-ran  $3,50 \pm 1,19\%$ . Ax *et al.* (2000) menyatakan bahwa nilai normal abnormalitas spermatozoa adalah dibawah 10%.

Abnormalitas diklasifikasikan dalam dua bentuk yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Bentuk abnormalitas primer yang ditemukan meliputi bentuk abnormalitas *abaxial*, dan *double head*. Bentuk

abnormalitas sekunder yang ditemukan adalah *lose abnormal head* dan *coiled*.

Konsentrasi spermatozoa yang diperoleh dalam penelitian ini adalah  $263 \pm 22,78 \times 10^6$  sel/mL. Konsentrasi spermatozoa yang diperoleh sesuai pendapat Garner and Hafez (2000) dan Sumardani dkk. (2008) yaitu berkisar antara 200 - 300 x 10<sup>6</sup> sel/mL. Variasi nilai konsentrasi spermatozoa dapat disebabkan oleh perbedaan individu ternak yang digunakan dan kondisi ternak saat penampungan semen, breed, genetik, jumlah ejakulat, umur pejantan, kandungan pakan, dan temperature (Johnson *et al.*, 2000).

### Motilitas Spermatozoa Pasca Pengenceran

Motilitas atau daya gerak spermatozoa biasanya digunakan sebagai ukuran kesanggupan spermatozoa untuk melewati saluran reproduksi babi betina dan kemampuan membuahi sel telur. Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan setiap dua jam hingga kualitas spermatozoa mencapai angka 40%.

Tabel 2. Rataan Motilitas Spermatozoa Pasca Pengenceran dan Preservasi

Pengamatan (Jam ke-)	Rataan Motilitas (%)							
	Non-Water Jacket				Water Jacket			
	K0	P1	P2	P3	K1	P4	P5	P6
0	72,50± 1,44	76,25± 1,25	78,75± 1,25	75,00± 3,53	73,25± 1,18	76,25± 1,25	80,00± =,00	75,00± 3,53
2	48,75± 3,14	75,00± ,00	77,50± 1,44	75,00± 3,53	46,25± 5,54	75,00± ,00	80,00± =,00	75,00± 3,53
4	32,50± 4,78	73,75± 1,25	75,00± 2,04	73,75± 3,14	35,00± 5,40	72,50± 1,44	75,00± =,00	72,50± 3,22
6	15,00± 9,57	68,75± 1,25	71,25± 1,25	67,50± 3,22	15,00± 9,57	72,50± 1,44	75,00± =,00	71,25± 2,39
8	0	65,00± 2,04	70,00± ,00	66,25± 1,25	8,75± ,75	68,75± 1,25	71,25± ±2,39	68,75± 2,39
10	0	62,50± 1,44	62,50± 1,44	60,00± ,00	0	65,00± ,00	67,50± ±2,50	63,75± 1,25
12	0	60,00± 2,04	62,50± 1,44	60,00± ,00	0	61,25± 1,25	63,75± ±1,25	61,25± 1,25
14	0	55,00± 2,04	57,50± 1,44	57,50± 1,44	0	57,50± 1,44	61,25± ±1,25	58,75± 2,39
16	0	53,75± 2,39	56,25± 1,25	53,75± 1,25	0	53,75± 2,39	60,00± =,00	56,25± 1,25
18	0	50,00± 2,04	52,50± 1,44	50,00± ,00	0	52,50± 1,44	57,50± ±1,44	53,75± 2,39
20	0	50,00± 2,04	52,50± 1,44	48,75± 1,25	0	50,00± 2,88	55,00± =,00	50,00± 0
22	0	46,25± 1,25	51,25± 1,25	45,00± ,00	0	47,50± 1,44	55,00± =,00	45,00± 0
24	0	43,75± 1,25	50,00± ,00	41,25± 1,25	0	46,25± 1,25	52,50± ±1,44	42,50± 1,44
26	0	40,00± 0,00	43,75± 1,25	31,25± 1,25	0	45,00± 2,04	50,00± =,00	37,50± 1,44
28	0	35,00± 0,00	41,25± 1,25	23,75± 2,39	0	40,00± ,00	46,25± ±1,25	30,00± 0
30	0	28,75± 1,25	40,00± ,00	10,00± ,00	0	37,50± 2,50	43,75± ±1,25	23,75± 1,25
32	0	15,00± 2,88	28,75± 3,14	7,50± ,50	0	21,25± 1,25	40,00± =,00	10,00± 0

Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada Tabel 2, diketahui bahwa dengan metode penyimpanan *non-water jacket* kelompok perlakuan P2 dapat

disimpan selama 30 jam dengan persentase motilitas  $40,00 \pm 0,00\%$ . Kelompok perlakuan P1 ( $40,00 \pm 0,00\%$ ) dapat disimpan hingga jam ke-26, sedangkan waktu penyimpanan paling singkat adalah kelompok perlakuan P3 ( $41,25 \pm 1,25\%$ ) dengan lama waktu penyimpanan yaitu 24 jam. Kelompok K0 ( $48,75 \pm 3,14\%$ ) hanya mampu mempertahankan kualitasnya sampai jam ke-2. Pada metode penyimpanan *water jacket*, P5 dapat disimpan paling lama yaitu hingga jam ke-32 dengan persentase motilitas  $40,00 \pm 0,00\%$ , sedangkan P4 ( $40,00 \pm 0,00\%$ ) mampu mempertahankan kualitasnya hingga jam ke-28 dan diikuti P6 ( $42,50 \pm 1,44\%$ ) dengan waktu penyimpanan 22 jam. Kelompok K1 juga hanya mampu mempertahankan kualitasnya selama 2 jam dengan persentase  $46,25 \pm 5,54\%$ .

Dampak negatif utama yang timbul akibat penyimpanan pada suhu rendah adalah menurunnya motilitas spermatozoa akibat *cold shock*. Pengaruh *cold shock* berkaitan dengan perubahan fosfolipid penyusun membran plasma spermatozoa dari bentuk cair ke gel pada suhu penyimpanan di bawah 20 °C yang dapat berakibat pada kerusakan membran plasma (White, 1993). Kerusakan pada membran plasma dapat mengakibatkan enzim *aspartat-aminotrasferase* (AspAT), yang merupakan enzim utama dalam produksi ATP (*adenosine triphosphate*), dikeluarkan dari dalam sel dan bercampur dengan plasma semen atau pengencer sehingga produksi ATP terganggu dan menghambat motilitas (Colenbrander *et al.*, 1992). Kondisi tersebut membuktikan bahwa spermatozoa babi tidak mampu mempertahankan kualitasnya apabila langsung disimpan pada suhu dibawah 15 °C tanpa adanya penambahan bahan pengencer yang tepat yang mampu melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (Paulenz *et al.*, 2000).

Selain karena kondisi *cold shock* ataupun pengaruh bahan pengencer, motilitas akan menurun seiring dengan lama penyimpanan. Selama proses penyimpanan, karbohidrat berupa fruktosa dan glukosa akan dimetabolisir oleh spermatozoa melalui proses glikolisis. Selain

menghasilkan energi, metabolisme glikolisis juga menghasilkan asam laktat. Penyimpanan semen dalam waktu lama mengakibatkan penimbunan asam laktat yang menyebabkan pH semen menurun dan menciptakan kondisi asam bagi spermatozoa yang dapat mempercepat penurunan motilitas serta viabilitas spermatozoa (Sumardani dkk., 2008; MataHine dkk., 2014).

Berdasarkan hasil penelitian juga diketahui bahwa kelompok perlakuan dalam rasio kombinasi yang sama menunjukkan hasil yang lebih baik pada metode *water jacket* (P4, P5, P6) dibandingkan dengan kelompok metode *non-water jacket* (P1, P2, P3). Penurunan temperatur akan menurunkan metabolisme spermatozoa yang berakibat pada menurunnya produksi energi yang dapat digunakan spermatozoa untuk bergerak (Susilawati, 2016). Penyimpanan dengan bantuan media air menciptakan lingkungan mikro yang stabil sehingga tidak menimbulkan terjadinya cold shock secara mendadak (Yusuf dkk. 2013). Pemanfaatan media air diduga dapat menyesuaikan dengan penurunan suhu yang bertahap sehingga nilai motilitas dari metode *water jacket* lebih baik dari pada *non-water jacket*.

Analisa data menggunakan ANOVA pada jam ke-24 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada enam kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil uji lanjutan Duncan pada Tabel 9, kelompok perlakuan P5 memiliki rata-rata persentase motilitas spermatozoa yang lebih tinggi dibanding P1, P2, P3, P4, dan P6.

Tabel 3. Motilitas Spermatozoa pada Waktu Penyimpanan 24 Jam

Perlakuan	Rataan Motilitas Spermatozoa (%)
P1 (75% AK + 25% KT + NWJ)	43,75 <sup>a</sup>
P2 (85% AK + 15% KT + NWJ)	50,00 <sup>c</sup>
P3 (95% AK + 5% KT + NWJ)	40,00 <sup>a</sup>
P4 (75% AK + 25% KT + WJ)	46,25 <sup>b</sup>
P5 (85% AK + 15% KT + WJ)	52,50 <sup>c</sup>
P6 (95% AK + 5% KT + WJ)	42,50 <sup>a</sup>

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata  $p(0,05)$

Hasil pengujian menunjukkan bahwa P2 ( $50,00 \pm 0,00$ ) dan P5 ( $52,50 \pm 1,44\%$ ) memberikan hasil yang nyata lebih baik ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok kombinasi pengencer P1 ( $43,75 \pm 1,25\%$ ), P3 ( $40 \pm 0,00\%$ ), P4 ( $46,25 \pm 1,25\%$ ) dan P6 ( $42,50 \pm 1,44\%$ ). Kelompok

P4 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dari kelompok P1, P3 dan P2. Hasil yang didapat berbeda dengan Toelihere (1981) yang menyatakan bahwa kadar optimum kuning telur yang dianjurkan untuk pengenceran semen adalah 20% pada suhu 5 °C.

Persentase motilitas lebih rendah dan waktu penyimpanan yang lebih singkat pada P1, P3, P4 dan P6 diduga karena adanya faktor kecenderungan kurangnya atau berlimpahnya kandungan kuning telur sebagai pelindung dari *cold shock* dan fruktosa sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Sulabda dan Puja, 2010). Salah satu komponen karbohidrat dalam air kelapa adalah fruktosa, sedangkan Garner and Hafez (2000) menyatakan bahwa spermatozoa sangat mudah memanfaatkan fruktosa sebagai sumber energi. Perombakan fruktosa menjadi energi terjadi lebih cepat yang berdampak pada kurangnya energi untuk waktu penyimpanan yang lama serta meningkatnya asam laktat hasil metabolisme yang bersifat toksik terhadap spermatozoa dan menyebabkan penurunan motilitas (Sumardani dkk., 2008). Pada penelitian ini penggunaan air kelapa dengan komposisi 85% pada P2 dan P5 dianggap optimal untuk mempertahankan kualitas spermatozoa, berbeda dengan Sulabda dan Puja (2010) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi air kelapa muda dalam pengencer melebihi 75% menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa yang sangat nyata.

Karbohidrat berupa fruktosa yang terkandung dalam air kelapa berguna sebagai sumber nutrisi yang akan dimetabolisir oleh spermatozoa untuk menghasilkan ATP yang berguna untuk motilitas spermatozoa (Paulenz *et al.*, 2000). Karbohidrat yang berupa glukosa dan fruktosa dapat dijadikan sumber energi bagi spermatozoa dan diharapkan mampu mempertahankan kehidupan spermatozoa. Spermatozoa memanfaatkan fruktosa dan glukosa sebagai sumber energi dalam proses pergerakannya sehingga tetap motil dan mempertahankan daya hidupnya. Perbedaan kadar karbohidrat yang terdapat pada air kelapa dapat

mempengaruhi motilitas spermatozoa (Kewilaa dkk., 2013).

Persentase kuning telur yang tinggi (25%) pada P1 dan P4 menyebabkan jumlah lemak kuning telur juga semakin besar serta menghalangi pergerakan spermatozoa dan spermatozoa menjadi lebih aktif untuk melewati butiran lemak kuning telur. Kondisi tersebut menyebabkan peningkatan konsumsi energi yang lebih cepat yang berakibat berkurangnya sumber energi bagi spermatozoa serta penumpukan asam laktat hasil metabolisme yang mempengaruhi motilitas spermatozoa dan menurunkan daya simpan semen (Setyaningsih, 2012). Penggunaan telur ayam kampung dengan kandungan lemak dan karbohidrat yang tinggi menyebabkan penggunaan rasio konsentrasi sebesar 15% pada P2 dan P5 sudah mampu memberikan hasil yang optimal dengan waktu penyimpanan yang lebih lama.

Kuning telur mengandung fosfolipid berupa lesitin yang dapat mencegah kerusakan membran plasma spermatozoa akibat kondisi *cold shock*. Lesitin dalam kuning telur mengandung gliserol, asam lemak sederhana, fosfat dan kolin (Briand-Amirat *et al.*, 2007). Lesitin yang terkandung didalam kuning telur bersifat sebagai membran *cuting* yang bekerja mempertahankan konfigurasi membran *phospholipid bilayer* yang merupakan susunan utama membran sel spermatozoa (Moussa *et al.*, 2002). Kandungan kolesterol pada kuning telur efektif untuk melindungi spermatozoa saat terjadi perubahan suhu dari suhu tubuh ke suhu ruang (*holding time*) dan kemudian penyimpanan pada suhu dingin (Aboalga dan Terada, 2004). Kuning telur juga mengandung karbohidrat berupa glukosa (Djanuar, 1985) yang dapat digunakan spermatozoa sebagai sumber energi selain fruktosa. Kondisi tersebut menjadi alasan mengapa dosis kuning telur yang rendah (5%) pada P3 dan P6 belum dapat melindungi integritas membran spermatozoa secara optimal.

### Viabilitas Spermatozoa Pasca Pengenceran

Viabilitas spermatozoa ditentukan dengan metode pewarnaan *eosin-negrosin*. Spermatozoa

yang hidup ditandai dengan tidak menyerap zat warna, sedangkan spermatozoa yang mati ditandai oleh sel spermatozoa yang menyerap zat warna. Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan setiap dua jam hingga kualitas spermatozoa mencapai angka 40%.

Tabel 4. Rataan Viabilitas Spermatozoa Pasca Pengenceran dan Preservasi

Pengamatan (Jam ke-)	Rataan Viabilitas (%)							
	Non-Water Jacket				Water Jacket			
	K0	P1	P2	P3	K1	P4	P5	P6
0	81,25± ,47	81,00± 1,22	79,75± 1,65	78,25± 2,65	80,75± ,47	81,00± 1,58	81,00± 2,00	80,00± 2,70
2	64,00± 1,78	75,25± 1,31	76,50± 1,65	75,25± 2,49	66,25± 2,92	76,25± 1,25	77,00± 1,22	76,50± 2,72
4	53,75± 1,25	75,25± 1,18	76,25± 1,65	76,25± 1,65	58,00± 1,41	75,00± 1,08	75,00± 1,35	74,50± 3,01
6	45,50± 2,02	73,25± 1,03	73,75± 1,79	72,00± 3,10	45,75± 2,49	72,50± ,86	74,75± 1,79	73,25± 2,72
8	26,50± 9,35	70,00± ,00	72,25± ,94	71,75± 1,75	10,25± 10,25	68,25± 1,25	70,00± ,00	71,75± 1,03
10	0 ,95	69,50± ,62	71,25± ,62	67,00± 1,00	0	70,50± 1,04	69,75± ,75	71,00± 1,08
12	0 ,94	69,25± 1,25	70,25± 2,63	66,50± 2,63	0	67,50± 2,25	68,25± ,94	65,25± 5,12
14	0 ,50	66,50± ,25	68,25± 2,48	64,00± 2,48	0	65,75± 2,78	67,00± 1,00	64,00± 4,08
16	0 1,32	66,50± 1,00	66,00± 2,72	61,50± 2,72	0	63,25± 1,75	65,75± ,75	62,50± 3,42
18	0 2,28	60,75± 2,28	62,50± 2,02	58,75± 2,83	0	59,00± 1,22	64,50± ,95	61,50± ,95
20	0 2,52	58,75± 1,03	60,25± 2,25	56,50± 2,25	0	57,75± 1,31	62,75± 1,25	57,00± 4,35
22	0 1,31	54,75± ,85	57,75± 47	46,25± 47	0	55,75± 1,49	59,75± 1,65	50,75± 1,60
24	0 1,31	52,25± 1,75	55,75± 47	44,75± 47	0	53,25± 1,49	57,00± 1,22	47,75± ,85
26	0 ,64	47,50± ,94	50,75± 47	42,75± 47	0	49,75± ,47	54,50± 3,06	44,50± 1,19
28	0 ,64	45,50± 1,68	48,00± 47	40,25± 47	0	45,75± ,62	49,25± ,47	43,25± ,25
30	0 ,85	42,25± ,47	44,25± 62	36,25± 62	0	41,75± ,47	47,00± ,00	33,75± ,75
32	0 ,64	36,50± 2,53	41,50± 47	33,75± 47	0	35,00± ,40	43,50± 4,71	30,75± 4,71

Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada Tabel 4, diketahui bahwa dengan metode penyimpanan *non-water jacket* kelompok perlakuan P2 dapat mempertahankan viabilitasnya selama 32 jam dengan persentase 41,50±2,53%. Kelompok perlakuan P1 (42,25±,85%) mencapai minimal viabilitasnya pada jam ke-26, sedangkan perlakuan yang paling singkat dalam mempertahankan viabilitas adalah P3 (40,25±,47%) dengan lama waktu penyimpanan yaitu 28 jam. Kelompok K0 (45,50±2,02%) hanya mampu mempertahankan kualitasnya sampai jam ke-6. Pada metode penyimpanan *water jacket*, P5 dapat mempertahankan viabilitasnya hingga jam ke-32 dengan persentase 43,50±,64%, sedangkan P4 (41,75±,47%) mampu mempertahankan

viabilitasnya hingga jam ke-30 dan diikuti P6 (43,25±,25%) dengan waktu penyimpanan 28 jam. Kelompok K1 juga hanya mampu mempertahankan viabilitasnya selama 6 jam dengan persentase 45.75±2.49%.

Preservasi semen pada suhu rendah akan menyebabkan terjadinya kerusakan membran plasma spermatozoa akibat *cold shock* dan dapat berakibat terhadap kematian sel (Rizal dan Thahir, 2016). Perubahan tatanan rantai asam lemak dan protein pada membran plasma menyebabkan kebocoran atau rusaknya selektivitas membran plasma. Dampak negatif dari *cold shock* adalah menurunnya motilitas dan terjadinya kematian spermatozoa akibat dari kontraksi selubung lipoprotein membran plasma, sehingga selubung lipoprotein membran plasma spermatozoa pecah dan menyebabkan keluarnya substansi intraseluler yang vital (White, 1993).

Hasil tersebut membuktikan bahwa agar semen babi mampu mempertahankan kualitasnya pada penyimpanan mendekati 0 °C, maka perlu ditambahkan bahan pengencer yang mengandung pelindung seperti fosfolipid kuning telur dan fruktosa dari air kelapa sebagai sumber energi dan krioprotektan (Rizal dan Thahir, 2016).

Berdasarkan hasil pada Tabel 4, diketahui bahwa persentase viabilitas menurun seiring dengan lama penyimpanan. Penurunan persentase viabilitas spermatozoa terjadi akibat semakin lama waktu penyimpanan menyebabkan menurunnya ketersediaan nutrisi untuk dimetabolisir menjadi energi karena motilitas dan viabilitas spermatozoa bergantung pada suplai energi dari hasil metabolisme (Audia dkk., 2017). Selain itu menurut Dwatmaji dkk. (2007), faktor lain yang mempengaruhi penurunan persentase viabilitas adalah bahan pengencer yang tidak mampu memberikan perlindungan terhadap *cold shock* dan penurunan pH akibat penumpukan asam laktat hasil metabolisme. Spermatozoa yang mati selama proses preservasi juga dapat menjadi toksik bagi spermatozoa yang hidup dan menurunkan persentase viabilitas spermatozoa (Campbell *et al.*, 2003). Penurunan viabilitas spermatozoa yang terjadi secara perlahan dikarenakan kerusakan

spermatozoa diawali dengan hilangnya motilitas, terganggung aktivitas metabolisme sel, rusaknya membran plasma, dan terakhir adalah viabilitas spermatozoa yang rendah. Penurunan viabilitas merupakan efek terakhir dari kerusakan spermatozoa (Gundongan *et al.*, 2010).

Analisa data menggunakan ANOVA pada jam ke-24 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada enam kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan hasil uji lanjutan *Duncan* diperoleh bahwa kelompok perlakuan P2 dan P5 memiliki rata-rata persentase viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi dibanding P1, P3, P4, dan P6.

Tabel 5. Viabilitas Spermatozoa pada Waktu Penyimpanan 24 Jam

Perlakuan	Rataan Viabilitas Spermatozoa (%)
P1 (75% AK + 25% KT + NWJ)	52,25 <sup>b</sup>
P2 (85%AK + 15% KT + NWJ)	55,75 <sup>bc</sup>
P3 (95% AK + 5% KT + NWJ)	44,75 <sup>a</sup>
P4 (75% AK + 25% KT + WJ)	53,25 <sup>b</sup>
P5 (85% AK + 15% KT + WJ)	57,00 <sup>c</sup>
P6 (95%AK + 5% KT + WJ)	47,75 <sup>a</sup>

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf nyata  $p < 0,05$

Hasil pengujian menunjukkan bahwa P2 (55,75±1,75%) dan P5 (57,00±1,22%) memberikan hasil yang nyata lebih baik ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kelompok kombinasi pengencer P1 (52,25±1,31%), P3 (44,75±,47%), P4 (53,25±1,49%) dan P6 (47,75±,85%). Kelompok P2 tidak berbeda nyata dengan P1 dan P4 namun berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan P3 dan P6. Persentase viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi dibanding persentase motilitas spermatozoa, dikarenakan sel spermatozoa yang hidup belum tentu dapat bergerak, namun sel spermatozoa bergerak sudah pasti hidup (Kostaman dan Sutarna, 2006).

Daya tahan spermatozoa dapat dipengaruhi oleh suhu dalam perlakuan dan penyimpanan (Toelihere, 1993). Berdasarkan data pengamatan pada jam ke-24 (Tabel 5.) diketahui bahwa metode penyimpanan yang berbeda berpengaruh nyata terhadap viabilitas spermatozoa. Diketahui bahwa metode *water jacket* memberikan hasil yang lebih baik jika dibandingkan dengan metode *non-water jacket* sejalan dengan pernyataan Neno (2016) bahwa metode *water jacket* lebih baik dari metode *non-water jacket*.

Persentase viabilitas spermatozoa yang lebih rendah serta daya simpan yang lebih singkat pada kelompok perlakuan P3 dan P6 diduga disebabkan oleh komposisi air kelapa yang lebih tinggi (95%) dan kuning telur yang lebih rendah (5%). Kandungan fruktosa yang tinggi pada air kelapa mudah di metabolisir menjadi energi oleh spermatozoa sehingga menghasilkan produk sampingan berupa asam laktat yang tinggi (Sumardani dkk., 2008). Selain itu kandungan kuning telur yang terlalu rendah, kurang optimal dalam mempertahankan integritas selubung membran plasma spermatozoa. Sama seperti pada penilaian motilitas, kedua faktor tersebut yang menyebabkan kerusakan dan kematian pada spermatozoa berlangsung lebih cepat selama penyimpanan.

Pada kelompok perlakuan P1 dan P4, penurunan persentase viabilitas terjadi karena komposisi kuning telur yang cukup tinggi (25%) menyebabkan kandungan lemak dalam pengencer juga menjadi lebih tinggi. Lemak yang tinggi akan meningkatkan viskositas larutan dan dapat menyebabkan ketengikan sehingga mempengaruhi kestabilan pH, dimana kondisi tersebut dapat menyebabkan kematian yang lebih cepat pada spermatozoa (Solihati, 2008).

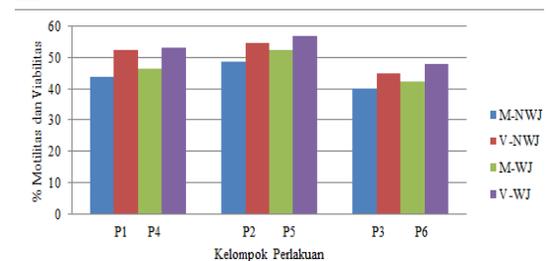
Variasi yang terjadi pada nilai viabilitas diduga karena proporsi zat pelindung lesitin dan lipoprotein yang terkandung dalam setiap level penambahan kuning telur berbeda. Meskipun lipoprotein berupa lesitin pada kuning telur berguna untuk melindungi spermatozoa dari cekaman dingin, akan tetapi dengan bertambah lamanya penyimpanan, akan terjadi penurunan kualitas spermatozoa. Hal ini diduga disebabkan oleh dua faktor, faktor pertama adalah menurunnya kualitas pengencer (semakin asam) akibat pengaruh penimbunan asam laktat hasil proses metabolisme dan faktor kedua adalah terbentuknya radikal bebas (Kewilaa dkk. 2014).

Proses metabolisme secara normal akan menghasilkan radikal bebas. Reaksi radikal bebas dikenal dengan terbentuknya peroksidasi lipid yang menyebabkan terganggunya integritas membran plasma spermatozoa. Kerusakan

membran plasma akan berlanjut pada bagian internal sel sehingga dapat menurunkan kualitas spermatozoa yaitu terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa (Werdhany, 1999). Faktor kondisi asam pada pengencer akibat hasil metabolisme spermatozoa dan semakin bertambahnya radikal bebas yang terbentuk, mengakibatkan fungsi lesitin dan lipoprotein pada perlakuan tidak cukup efektif lagi sehingga akan mempercepat kerusakan membran plasma spermatozoa. Membran plasma yang rusak dapat menghambat aktivitas metabolisme untuk motilitas dan pada akhirnya akan mempercepat kematian spermatozoa (Toelihere, 1993) Kondisi tersebut menggambarkan mengapa kelompok perlakuan P1, P3, P4 dan P6 memiliki nilai viabilitas yang lebih rendah dari P5 dan P2.

### Evaluasi Kualitas Semen Cair Babi *Landrace* antara tiap Kombinasi Pengencer dengan Metode *Water Jacket* dan *non-Water Jacket*

Evaluasi kualitas semen cair yang meliputi persentase motilitas dan viabilitas dalam konsentrasi yang berbeda pada kombinasi pengencer air kelapa-kuning telur ayam kampung pada penelitian ini menunjukkan hasil yang berbeda antar konsentrasi. Demikian pula halnya dalam penyimpanan semen cair pada metode *water jacket* dan metode *non-water jacket* menunjukkan hasil yang berbeda antar kedua metode.



Gambar 1. Grafik perbandingan pengaruh pengenceran dengan metode penyimpanan berbeda pada jam ke-24

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa keenam kombinasi pengencer berpengaruh nyata terhadap kualitas spermatozoa ( $p < 0,05$ ). Kombinasi pengencer 85% air kelapa + 15% kuning telur ayam kampung menunjukkan hasil yang lebih baik dalam metode *non-water jacket* (P2) maupun *water jacket* (P5) diikuti oleh

kombinasi 75% air kelapa + 25% kuning telur ayam kampung (P1 dan P4) serta kombinasi 95% air kelapa + 5% kuning telur ayam kampung (P3 dan P6). Namun, dalam mempertahankan kualitas, P5 (40,00±0,00%) merupakan kelompok perlakuan terbaik dengan lama waktu penyimpanan 32 jam diikuti P2 (30 jam), P4 (28 jam), P1 (26 jam), P6 (24 jam) dan P3 (22 jam). Data pada grafik (Gambar 1.) juga menunjukkan bahwa pada tiap konsentrasi perlakuan, metode *water jacket* dapat mempertahankan kualitas spermatozoa lebih baik dibandingkan metode *non-water jacket*.

Komponen spesifik dari kuning telur yang bertanggung jawab sebagai agen krioprotektif adalah *phosphatidyl choline* (lesitin), *fraksi low densitylipoprotein* (LDL), dan ekstrak lipid, sehingga menyebabkan membran plasma tetap stabil saat melalui zona temperatur kritis. Dengan terlindunginya membran plasma, maka spermatozoa dapat hidup lebih lama selama proses preservasi namun, berdasarkan hal tersebut dengan konsentrasi kuning telur yang terlalu sedikit tidak mampu melindungi spermatozoa secara optimal (Vishwanath and Shannon, 2000). Sebaliknya, komposisi kuning telur yang terlalu tinggi (25%) menyebabkan tingginya jumlah lemak kuning telur. Kondisi tersebut mengakibatkan pergerakan spermatozoa terhalangi dan membuat spermatozoa lebih aktif untuk melewati butiran-butiran lemak kuning telur. Terjadi peningkatan konsumsi energi dan sumber energi menjadi lebih cepat habis serta menumpuknya asam laktat hasil metabolisme yang dapat menyebabkan kerusakan dan kematian pada spermatozoa (Setyaningsih, 2012).

Air kelapa mengandung karbohidrat berupa fruktosa, sedangkan spermatozoa sangat mudah memanfaatkan fruktosa sebagai sumber energi (Sumardani dkk., 2008). Perombakan fruktosa menjadi energi terjadi lebih cepat karena fruktosa dapat langsung diubah menjadi fruktosa 6-fosfat (6P) untuk menghasilkan ATP dan asam laktat sebagai sisa metabolisme, yang mempercepat terjadinya penurunan viabilitas spermatozoa (Garner and Hafez, 2000).

## SIMPULAN

Kombinasi pengencer P5 (85% air kelapa + 15% kuning telur ayam kampung + *water jacket*) merupakan kelompok perlakuan terbaik dan mampu mempertahankan motilitas spermatozoa babi hingga 32 jam dengan motilitas 40,00±0,00%, diikuti P2 (85% air kelapa + 15% kuning telur ayam kampung + *non-water jacket*) selama 30 jam (40,00±0,00%), P4 (75% air kelapa + 25% kuning telur ayam kampung + *water jacket*) selama 28 jam (40,00±0,00%), P1 (75% air kelapa + 25% kuning telur ayam kampung + *non-water jacket*) selama 26 jam (40,00±0,00%), P6 (95% air kelapa + 5% kuning telur ayam kampung + *water jacket*) selama 24 jam (42,50±1,44%) dan P3 (95% air kelapa + 5% kuning telur ayam kampung + *non-water jacket*) selama 22 jam (41,25±1,25%)

Kombinasi pengencer 85% air kelapa + 15% kuning telur ayam kampung (P2 dan P5) adalah level kombinasi yang lebih baik dibandingkan 75% air kelapa + 25% kuning telur ayam kampung (P1 dan P4) dan 95% air kelapa + 5% kuning telur ayam kampung (P3 dan P6) dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi baik dalam penyimpanan *water jacket* maupun *non-water jacket*.

Penggunaan metode *water jacket* mampu memberikan hasil lebih baik dengan waktu penyimpanan lebih lama (P5 32 jam; motilitas 40,00±0,00%, P4 28 jam; motilitas P4 40,00±0,00%, P6 28 jam; motilitas 42,50±1,44%) dibandingkan metode penyimpanan *non-water jacket* (P2 30 jam; motilitas 40,00±0,00%, P1 26 jam; motilitas 40,00±0,00%, P3 24 jam; motilitas 41,25±1,25%).

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh penambahan pengencer dengan kombinasi air kelapa-kuning telur ayam kampung dalam level konsentrasi dan suhu penyimpanan yang berbeda. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian lanjutan (inseminasi buatan) terhadap semen yang telah diencerkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla, E.M. and Terada, T. 2004. Effects of Egg Yolk During The Freezing Step of Cryopreservation on The Viability of Goat Spermatozoa. *Theriogenology*. **62**: 1160-1172.
- Afiati, F., Yulnawati., Riyadi, M. dan Arifiantini, R.I. 2015. Abnormalitas Spermatozoa Domba dengan Frekuensi Penampungan Berbeda. *Proseding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. **1(4)**: 930-934
- Arifiantini, R.I. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*. IPB Press. Bogor.
- Audia, R.P., Salim, M.A., Isnaini, N. Dan Susulawati, T. 2017. Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau sebagai Bahan Pengencer yang Ditambah 10% Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika*. **18(1)**: 58-68
- Ax, R.L., Dally, M., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, C.C., Varner, D.D., Hafez, B. and Bellin, M.E. 2000. *Semen Evaluation*. In: Hafez ESE, Hafez B, editor. *Reproduction in farm Animals*. 7th Ed. USA: Williams & Wilkins.
- Bohlooli, S., Cedden, F., PishJang, J., Razzaghzadeh, S., Bozođlu, S. 2012. The Effect of Different Extenders on Post-Thaw Sperm Viability, Motility and Membrane Integrity in Cryopreserved Semen of Zandiram. *Journal Basic Application Science Respiratory*. **2(2)**:1120-1123
- Briand-Amirat, L., Tainturier, D. and Antor, M. 2007. *Use of Egg Coumpounds for Cryoprotection of Spermatozoa*. In *Bioactive Coumpounds*. Houपालahti, R., Lopez-Fandino, R., Anton, M. and Schade, R (Eds.). Springer, New York
- Colenbrander, B., Fazeli, A.R., Van Buiten, A., Parlevliet, J. and Gadella, B.M. 1992. Assesment of Sperm Cell Membran Integrity in the Horse. *Acta Veterinaria Scandinavica Journal*. **88**:49-58.
- Dapawole, R.R. 2014. Preservasi dan Kriopreservasi Semen Babi dalam Pengencer BTS dan MIII yang Disuplementasi dengan dan Tanpa Trehalosa. *Tesis*. IPB Bogor
- Djanuar, R. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Dwatmaji, Siwitri, K., Edi, S. Dan Yanti, F. 2007. Pengaruh Pengencer Kuning Telur dengan Air Kelapa dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Semen Kambing Nubian. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. **2(2)**: 65-71
- Evans, G. and Maxwel, W.M.C. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goat*. Butterworths, Sydney.
- Foeh, N.D.F.K. 2015. Kualitas Semen Beku Babi dalam Pengencer BTS Dan MIII Menggunakan Krioprotektan *Dimethylacetamide* dan Gliserol dengan *Sodium Dedocyl Sulphate*. *Thesis*. IPB. Bogor
- Foeh, N.D.F.K. dan Gaina, C.D. 2017. Sari Buah Lontar sebagai Pengencer Alami dalam Mempertahankan Kualitas Spermatozoa Babi. *Jurnal Kajian Veteriner*. **5(1)**: 52-58.
- Gadea, J. 2003. Semen Extenders Used in The Artificial Insemination of Swine. *Spanish Journal of Agricultural Research* **1(2)**: 17-27.
- Garner, D.L. and Hafez, E.S.E. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In: Hafez B. Hafez ESE, editor. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins.
- Gundongan, M., Yeni, M., Avdatek, F. and Fidan, A.F. 2010. Influence of Sperm Concentration on the Motility, Morphology, Menbrane and DNA Integrity Along with Oxidative Stress Parameters of Ram Sperms During Liquid Storage. *Animal Reproduction Science*. **122**: 200-207

- Indriani, Susilawati, T. dan Wahyuningsih, H. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode *Water Jacket* dan *Free Water Jacket*. *Jurnal Veteriner*. **14(3)** :379-386
- Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P., and Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of boar semen. *Journal Animals Reproduction Science*. **62**: 143-172.
- Kartasudjana, R. 2001. *Teknik Inseminasi Buatan pada Ternak*. Jakarta.
- Kewilaa, A.I., Ondho, Y.S., Setiantin, E.T. 2013, Pengaruh Berbagai Jenis Pengencer Air Kelapa Muda dengan Penambahan Kuning Telur yang Berdeda terhadap Kualitas Spermatozoa Semen Cair Domba Ekor Tipis (DET). *Jurnal Agrinimal*. **3(1)**:1-9
- Knox, R.V. 2006. *Semen Processing, Extending and Storage for Artificial Insemination in Swine*. Departmen of Animal Science University of Illinois
- Kostama, T. dan Utama, I.K. 2006. Studi Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Kambing Boer pada Pengencer Tris Sitrat-Fruktosa, *Jurnal Sain Vet*. **24(1)**: 58-64
- Mata Hine T. 1991. *Pengaruh Penambahan Beberapa Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali*. Kupang. Fakultas Peternakan Universitas Nusa Cendana.
- Mata Hine, T., Burhanuddin dan Marawali, A. 2014. Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas, Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Veteriner*. **15(2)**:263-273
- Mere, C.Y.L. 2016. Air Kelapa dan Air Buah Lontar sebagai Modifikasi Pengencer Alternatif pada Semen Babi Landrace. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana.
- Neno, M.E.W. 2016. Pengaruh Pengencer Komersial dengan Metode *Water Jacket* dan *Non Water Jacket* terhadap Kualitas Semen Babi *Landrace*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
- Pamungkas, F.A., Mahmilia, F. dan Elieser, S. 2008. Perbandingan Karakteristik Semen Kambing Boer dengan Kacang. *Prosiding*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner
- Paulenz, H., Kommisrud, E. and Hofmof, P.O. 2000. Effect of Long-Term Storage at Different Temperatures on The Quality of Liquid Boar Semen. *Animals Reproduction Domestic*. **35**: 83-85.
- Rizal, M. dan Thahir, M. 2016. Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa yang Dipreservasi dengan Berbagai Jenis Pengencer. *JITRO*. **3(3)** : 81-89
- Setyaningsih, N. I. 2012. Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba Merino *Post Thawing*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Solihati, N. 2008. Stidi Terhadap Kualitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Cauda Epididimis Domba Garut Menggunakan Berbagai Jenis Pengencer. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2008*. 401-408
- Sulabda, I.N dan Puja, I.K. 2010. Pengaruh Substitusi Air Kelapa Muda dengan Pengencer Sitrat Kuning Telur terhadap Motilitas dan Presentase Hidup Spermatozoa Anjing. *Buletin Veteriner Udayana*, **2(2)**:109-117.
- Sumardani, N.L.G., Tuty, L.Y., dan Siagian, P.H. 2008, Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer *Beltsville Thawing Solution* (BTS) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda. *Media Peternakan*. **31(2)**: 81-86.
- Susilawati, T., Wahyudi, F.E., Anggraeni, I., Isnaini, N. dan Ihsan, M.N.. 2016. Penggantian *Bovine Serum Albumin* pada Pengencer CEP-2 dengan Serum Darah Sapi dan Putih Telur terhadap Kualitas

- Semen Cair Sapi Limousin selama Pendinginan. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **10(2)**: 98-102.
- Tamoos, J.A., Nalley, W.M dan Mata Hine, T. 2014, Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco dengan Susu Kacang Kedelai. *Jurnal Sains Peternakan*, **20(1)**:20-30.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak Cetakan II*. Angkasa. Bandung.
- Vishwanath, R. and P. Shannon. 2000. Storage Bovine Semen in Liquid Frozen State. *Animals Reproduction Science*. **62**: 23-53.
- Werdhany, W.I. 1999. Efektifitas Penambahan Alfa Tokoferol di Dalam Pengencer Tris dan Susu Skim Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawa. *Tesis*. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- White, I.G. 1993. Lipid and Calcium Uptake of Sperm in Relation to Cold Shock and Preservation : A Review. *Reproduction Fertility and Development* **5**: 639-658.
- Wilson, M.E., Rozeboom, K.J. and Crenchaw, T.D. 2004, Boar Nutrition for Optimum Sperm Production, *Advances in Pork Production*, **15**:295-306.
- Yusuf, T.L., Arifiantini, R.I. dan Rahmiwati, N. 2005. Daya Tahan Semen Cair Kambing Peranakan Etawah dalam Pengencer Kuning Telur dengan Kemasan dan Konsentrasi Spermatozoa yang Berbeda. *Journal Indonesian Tropical Animals Agriland* **30(4)**: 219-22

