

KUALITAS SPERMATOZOA KAMBING BLIGON DALAM PENGECER TRIS-KUNING TELUR DENGAN PENAMBAHAN BERBAGAI LEVEL EKSTRAK KULIT BUAH NAGA

(SPERMATOZOA QUALITY OF BLIGON GOAT IN TRIS - EGG YOLK DILUENT ADDED WITH VARIOUS LEVELS OF DRAGON FRUIT PEEL EXTRACT)

Maria F. T. Leyn, Henderiana L. L. Belli, Wilmientje M. Nalley, Petrus Kune, Thomas Mata Hine*

Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana
Jl. Adisucipto, Penfui - Kupang

*Correspondent author, email: tomhin050566@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh penambahan berbagai konsentrasi ekstrak kulit buah naga (EKBN) dalam pengencer Tris-kuning telur (TKT) terhadap kualitas spermatozoa kambing bligon. Semen ditampung dua kali seminggu menggunakan metode vagina buatan dari tiga ekor kambing bligon jantan yang berumur tiga tahun dengan kondisi tubuh dan organ reproduksi yang normal. Pasca evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis, semen yang berkualitas baik dengan motilitas > 70%, konsentrasi > 800 x 10⁶/mL, dan abnormalitas < 15%, diencerkan dengan TKT + EKBN pada konsentrasi: 0% (P0; kontrol), 2% (P1), 4% (P2), 6% (P3), 8% (P4), dan 10% (P5). Semen yang masih memiliki motilitas spermatozoa di atas 70% selanjutnya dipreservasi pada suhu 3 - 5°C. Evaluasi terhadap kualitas spermatozoa dilakukan setiap 24 jam hingga motilitasnya menurun hingga 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sejak hari ke-1 hingga ke-5 preservasi, spermatozoa yang diencerkan dengan TKT + EKBN 6% (P3) memiliki motilitas dan viabilitas yang lebih tinggi (P<0,05) dibandingkan perlakuan lainnya. Abnormalitas spermatozoa yang teramati hingga hari ke-5 preservasi berada di bawah 6% untuk semua perlakuan, namun terdapat perbedaan yang signifikan (P<0,05) antara perlakuan kontrol dengan yang mendapat suplementasi EKBN. Disimpulkan bahwa penambahan EKBN dalam pengencer TKT hingga 6% dapat mengurangi penurunan kualitas spermatozoa kambing bligon selama preservasi *in vitro*.

Kata-kata kunci: tris, kuning telur, ekstrak kulit buah naga, spermatozoa kambing bligon

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the effect of adding various concentrations of dragon fruit peel extract (DFPE) in Tris-egg yolk diluent (TEY) on the quality of bligon goat spermatozoa. Semen was collected twice a week using the artificial vaginal method from three year old bligon male goats with normal body conditions and reproductive organs. After the macroscopic and microscopic evaluation, good quality semen with a sperm motility of > 70%, a concentration of > 800 x 10⁶ mL⁻¹, and abnormality of < 15 %, was diluted with TEY + DFPE at a concentration of 0% (P0), 2% (P1), 4% (P2), 6% (P3), 8% (P4), dan 10% (P5). The semen which still had a motility ≥ 70% was then stored at a temperature of 3-5°C. Evaluation of the quality of spermatozoa was carried out every 24 hours until the motility decrease to 40%. The results showed that from day 1 to day 5 of preservation, spermatozoa preserved in TEY + 6% DFPE diluent (P3) had higher motility and viability (P<0,05) than other treatments. The abnormalities of spermatozoa until the 5 day of preservation were below 6%, but showed a significant difference (P<0,05) between treatments that received DFPE supplementation with control (P0). It was concluded that the addition of DFPE in TEY up to 6% could reduce the decrease in sperm quality of bligon goats during *in vitro* preservation.

Keywords: tris, egg yolk, dragon fruit extract, spermatozoa, bligon goat

PENDAHULUAN

Kambing bligon merupakan hasil persilangan antara kambing kacang dan kambing ettawa. Salah satu upaya untuk mempertahankan

mutu genetik dan meningkatkan populasinya adalah dengan melakukan perkawinan dengan menggunakan teknologi inseminasi buatan (IB).

Teknologi ini telah diterima secara luas oleh peternak karena merupakan sarana yang efektif untuk menyebarkan bibit unggul.

Selama ini IB banyak menggunakan semen beku, akan tetapi karena ketersediaan straw/semu beku yang terbatas dan kontinuitas penyediaan nitrogen cair masih tergantung pengadaan/pengiriman dari luar wilayah penelitian, maka upaya maksimalitas pelayanan IB seringkali terkendala. Dengan demikian, penggunaan semen cair dalam kegiatan IB menjadi salah satu solusi yang tepat untuk diterapkan di Nusa Tenggara Timur. Keberhasilan penggunaan semen cair tergantung dari bahan pengencer semen yang digunakan yaitu bahan pengencer tersebut harus menyediakan sumber nutrisi dan zat antioksidan yang melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat radikal bebas.

Selama pengelolaan dan penyimpanan pada suhu dingin, sperma akan mengalami proses metabolisme untuk mempertahankan hidupnya. Hasil metabolisme sperma selain menghasilkan energi juga menghasilkan radikal bebas yang dapat merusak membran spermatozoa melalui reaksi peroksida lipid (Zaniboni et al., 2006). Kerusakan yang diakibatkan oleh peroksida lipid pada spermatozoa dapat menurunkan motilitas dan daya hidup spermatozoa (Maxwell dan Watson, 1996). Upaya untuk meminimalkan kerusakan membran spermatozoa akibat peroksida lipid selama proses pendinginan dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan pada bahan pengencer.

Buah naga mengandung berbagai antioksidan, seperti flavonoid (Fitri et al., 2016). Kulit buah naga lebih banyak mengandung antioksidan jenis antosianin (Noor et al., 2016). Antosianin ini yang berfungsi sebagai penetralisir atau penangkal radikal bebas (Wulandari, 2016). Didalam setiap 1 mg/mL kulit buah naga merah mampu menangkal radikal bebas sebesar $83,48 \pm 5,03\%$ (Nurliyana et al., 2010). Ekstrak kulit buah naga (EKBN) mampu mencegah kerusakan spermatozoa akibat pengaruh dari radikal bebas atau *cold shock* (cekaman dingin).

Kulit buah naga juga mengandung vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6, vitamin B12, vitamin C, protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, flavonoid, glukosa, fenol, betasianin, polifenol, karoten, fosfor, zat besi dan fitoalbumin, yang beberapa diantaranya berperan sebagai antioksidan, dan lainnya berperan sebagai sumber energi dan metabolisme energi.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dalam penelitian ini, EKBN ditambahkan sebagai suplemen pada pengencer tris-kuning telur (TKT). Tris berfungsi sebagai penyangga pH pengencer sedangkan kuning telur mengandung lipoprotein dan lecithin yang berfungsi untuk mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein spermatozoa selama preservasi (Arifiantini dan Yusuf, 2006).

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Penelitian menggunakan semen segar yang ditampung dari tiga ekor kambing jantan bligon. Ternak dipelihara dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat makan dan minum. Pakan hijauan diberikan sesuai dengan berat badan yaitu 10% dari berat badan dan penambahan 0,5 kg konsentrat dan air minum secara *ad libitum*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan percobaan adalah Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari enam perlakuan dan lima ulangan sehingga terbentuk tiga puluh unit percobaan. Keenam perlakuan tersebut adalah: TKT + EKBN 0% (P0), TKT +

EKBN 2% (P1), TKT + EKBN 4% (P2), TKT + EKBN 6% (P3), TKT + EKBN 8% (P4), TKT + EKBN 10% (P5).

Pembuatan Bahan Pengencer

Tris *amminomethane* ditimbang sebanyak 3,634 gram, asam sitrat 1,99 gram, glukosa 0,50 gram. Ketiga bahan tersebut dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan aquadest 100 mL. Semua bahan tersebut dicampur hingga homogen.

Penyiapan kuning telur yaitu: (1) telur dibersihkan dengan alkohol 70% agar bersih dan steril lalu dipecahkan pada bagian yang lancip dan pisahkan kuning telur dari putih telur dengan cara ditiriskan. (2) kuning telur yang tinggal terbungkus selaput atau membrane

vitelin diletakan pada kertas saring agar menyerap sisa putih telur yang ada. (3) kuning telur dipecahkan dengan cara menyobek jaringan vitelin lalu secara perlahan kuning telur dituangkan kedalam gelas ukur. (4) kuning telur siap digunakan.

Ekstrak kulit buah naga dibuat dari kulit buah naga merah segar. Kulit buah naga dicuci dan dipotong-potong kecil, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C hingga

kadar air mencapai 10%. Kulit buah naga yang sudah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi bubuk, dan bubuk tersebut dicampur dengan aquabides 100 mL hingga homogen. Larutan tersebut dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Bagian cairan yang berada di atas tabung dipisahkan dengan endapan yang berada di bawahnya, dan selanjutnya disimpan di dalam lemari pendingin sebagai EKBN.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer (100 mL)

Bahan Pengencer	P0	P1	P2	P3	P4	P5
Tris (mL)	80	80	80	80	80	80
Kuning telur (mL)	20	20	20	20	20	20
EKBN (%)	0	2	4	6	8	10
Penisilin (IU/mL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Streptomisin (mg/mL)	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Penampungan dan Evaluasi Semen

Penampungan semen dilakukan dua kali seminggu menggunakan metode vagina buatan dari tiga ekor kambing jantan bligon yang berumur tiga tahun dengan kondisi tubuh dan organ reproduksi yang normal. Semen yang diperoleh dievaluasi kualitasnya baik secara makroskopis maupun mikroskopis

Evaluasi secara makroskopis meliputi:1) warna dan volume semen dapat dilihat langsung di dalam gelas penampungan semen, 2) konsistensi dinilai dengan memiringkan tabung yang berisi semen dan mengembalikan pada posisi semula. Jika pergerakan semen dalam tabung gerakannya lambat maka semen memiliki konsistensi kental dan jika gerakannya cepat maka semen memiliki konsistensi encer, 3) derajat keasaman semen dapat diketahui dengan cara meneteskan semen diatas kertas indikator pH berskala 1-14. Perubahan warna pada kertas pH tersebut disesuaikan dengan standar warna pada kertas indikator pH.

Evaluasi kualitas semen secara mikroskopis meliputi:1) gerakan masa spermatozoa, 2) konsentrasi spermatozoa, 3) motilitas spermatozoa, 4) viabilitas spermatozoa, dan 5) abnormalitas spermatozoa. Gerakan masa spermatozoa dikategorikan dalam 3 golongan, yaitu pergerakan masa spermatozoa menyerupai awan tebal dan bergerak cepat (+++), pergerakan masa spermatozoa awan tebal dan bergerak agak lambat (++) dan pergerakan masa spermatozoa menyerupai awan tipis dan bergerak lambat (+). Amati di bawah mikroskop

dengan pembesaran 10x10 dengan cahaya dikurangi.

Konsentrasi spermatozoa menunjukkan jumlah sel spermatozoa tiap satuan volume semen. Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan alat *haemocytometer*. Perhitungan konsentrasi: konsentrasi spermatozoa = $X \times \text{volume spermatozoa} \times 10^6$ sperma/mL. X = jumlah spermatozoa hasil perhitungan. Konsentrasi spermatozoa menunjukan jumlah sel spermatozoa tiap satuan volume semen dengan cara diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40x10. Persentase motilitas spermatozoa ditentukan melalui pengamatan spermatozoa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran lensa objektif 40x10. Penilaian terhadap persentase spermatozoa motil adalah spermatozoa yang bergerak progresif ditentukan secara subjektif pada sepuluh lapang pandang yang berbeda, nilai yang diberikan berkisaran antara 0% dan 100% dengan skala 5%.

Viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan diferensial eosin-negrosin, spermatozoa hidup ditandai dengan spermatozoa tidak menyerap warna merah (bening atau putih), sedangkan spermatozoa mati akan terlihat penyerapan warna merah ungu dari eosin-negrosin. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x10, hitung spermatozoa dengan total 200 spermatozoa atau pada 10 lapang pandang yang berbeda. Perhitungan nilai viabilitas diperoleh sesuai rumus: viabilitas =

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

Abnormalitas spermatozoa sama dengan evaluasi viabilitas dapat diketahui dengan cara semen diwarnai dengan melihat bentuk morfologi spermatozoa yang tidak normal baik abnormalitas

primer maupun sekunder. Abnormalitas =

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

Pengenceran dan Penyimpanan Semen

Semen yang berkualitas baik (motilitas > 70%, konsentrasi > 800×10^6 , dan abnormalitas < 15%; Johnson *et al.*, 2000), diencerkan dengan TKT yang ditambahkan dengan EKBN pada konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8, atau 10%.. Semen yang telah diencerkan, disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 3-5° C dan dilakukan evaluasi setiap 24 jam terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa.

Variable Penelitian

Variabel yang diukur dalam penelitian ini adalah: (1) motilitas spermatozoa (%), ditentukan melalui pengamatan spermatozoa dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x10. Penilaian terhadap persentase spermatozoa motil adalah spermatozoa yang bergerak progresif ditentukan secara subjektif pada 5 lapang pandang yang berbeda; (2) Viabilitas spermatozoa (%), dengan pewarnaan eosin-negrosin dan lihat dengan pembesaran 40x10. Sperma yang mati akan menyerap zat warna (berwarna merah) sedangkan sperma yang hidup tidak menyerap zat warna. Hitung total sperma $\geq 800\%$ spermatozoa atau pada 10 lapang pandang yang berbeda; (3) Abnormalitas spermatozoa (%), dilihat dengan mikroskop pembesaran 40x10 berdasarkan abnormalitas primer dan sekunder.

Analisis Data

Keseluruhan data yang terkumpul dianalisis dengan *analysis of variance* (Anova) dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan program software SPSS 22.0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Sebelum melakukan pengenceran, kualitas semen dievaluasi melalui uji

makroskopis dan uji mikroskopis. Hasil pengamatan semen segar setelah penampungan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik semen segar kambing bligon

Karakteristik semen	Rerata
Volume semen (mL)	1,00 ± 0,22
Warna semen	Krem
Konsistensi semen	Kental
pH semen	6,46 ± 0,13
Gerakan Massa sperma	+++
Konsentrasi sperma($\times 10^6$ sel/mL)	1667 ± 187,13
Motilitas sperma (%)	79,00 ± 2,23
Viabilitas sperma(%)	85,70 ± 0,85
Abnormalitas sperma (%)	3,00 ± 0,56

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata volume semen segar kambing bligon adalah 1,00 ± 0,22 mL dengan kisaran 0,7 - 1,3 mL. Hafez (2000) mengemukakan bahwa karakteristik semen kambing yang normal yaitu memiliki volume 0,8 – 1,2 mL. perbedaan volume semen dipengaruhi oleh individu ternak, umur, bangsa ternak, metode koleksi dan frekuensi ejakulasi (Toelihere, 1993).

Warna semen yang diperoleh pada penelitian ini adalah krem. Pada ternak kambing, warna semen krem termasuk warna yang normal, dan warna semen ada kaitan dengan konsentrasi spermatozoa. Semakin tinggi konsentrasi sperma maka warna semen akan semakin krem.

Konsistensi semen kambing dalam penelitian ini dapat digolongkan menjadi kental. Tingkat kekentalan semen dapat digunakan

untuk penafsiran konsentrasi spermatozoa dalam satu milliliter semen. Hafez (2000) menyatakan bahwa tingkat kekentalan semen memiliki korelasi positif dengan jumlah spermatozoa. Semen yang berkonsistensi kental memiliki konsentrasi spermatozoa yang tinggi, sebaliknya yang berkonsistensi encer memiliki konsentrasi spermatozoa yang rendah. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi kualitas semen adalah derajat keasaman (pH). Tinggi rendahnya pH semen akan menyebabkan kematian pada spermatozoa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pH semen kambing bligon yaitu $6,46 \pm 0,13\%$. Nilai yang diperoleh masih dalam kisaran normal pH semen kambing 6 – 7 (Suwarso, 1999; Tambing *et al.*, 2000).

Rataan gerakan massa semen kambing bligon yang diperoleh dalam penelitian dari pemeriksaan secara mikroskopis adalah ++++. Nilai gerakan massa spermatozoa ini sesuai yang dilaporkan oleh Yusuf *et al.* (2005) yaitu (++++) dan Setiadi *et al.* (2000) yaitu (++) dan (+++). Gerakan massa dalam penelitian ini dinilai cukup baik atau memenuhi syarat untuk pelaksanaan IB yaitu (++) dan (++++) (Siregar dan Hamdan, 2007).

Konsentrasi spermatozoa adalah jumlah spermatozoa per milliliter semen yang merupakan salah satu parameter kualitas spermatozoa dalam menentukan jumlah betina yang dapat di IB. Konsentrasi spermatozoa kambing bligon dalam penelitian ini adalah $1.667 \pm 187,13 \times 10^6/\text{mL}$. Nilai konsentrasi spermatozoa hasil penelitian ini lebih tinggi dari penelitian Partama (2000) yaitu $1471,11 \times 10^6/\text{mL}$. Perbedaan konsentrasi spermatozoa ini dipengaruhi oleh umur, bangsa ternak, bobot badan, frekuensi penampungan dan waktu penampungan (Yotov *et al.*, 2011). Konsentrasi spermatozoa juga dipengaruhi oleh manajemen dan pemberian pakan yang pada akhirnya akan berpengaruh pada konsistensi semen.

Motilitas adalah daya gerak spermatozoa yang dapat dijadikan sebagai acuan dalam penilaian kualitas spermatozoa untuk inseminasi buatan (Bintara, 2011). Menurut Siregar dan Hamdan (2007) persentase spermatozoa yang motil minimal mencapai 70%. Persentase motilitas spermatozoa semen kambing bligon dalam penelitian ini adalah $79,00 \pm 2,23\%$. Nilai motilitas ini lebih tinggi dari penelitian sebelumnya pada kambing PE yaitu 70% (Setiadi *et al.*, 2000) dan 72,2% (Konstaman dan Utama, 2004). Perbedaan persentase motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh volume ejakulat,

umur, bangsa ternak, dan perubahan temperature (Shukla *et al.*, 1992).

Jumlah spermatozoa kambing bligon yang hidup, hasil penelitian ini adalah $85,70 \pm 0,85\%$. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan Yustendi (2013) sebesar $79,4 \pm 3,13\%$. Nilai spermatozoa abnormal yang diperoleh dalam penelitian ini adalah $3,00 \pm 0,56$, nilai ini masih dalam kisaran normal sesuai pernyataan Garner dan Hafez (2000) dimana abnormalitas spermatozoa tidak boleh melebihi 20%.

Pengaruh Perlakuan terhadap Kualitas Spermatozoa

Kualitas spermatozoa dalam penelitian ini diukur dengan menggunakan variabel motilitas, viabilitas, dan abnormalitas. Motilitas individu spermatozoa merupakan salah satu faktor kualitas semen yang perlu diperhatikan dalam inseminasi buatan. Motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing bligon dalam pengencer TKT pada berbagai level EKBN dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan EKBN 6% dalam pengencer TKT menghasilkan motilitas dan viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi dari perlakuan lainnya ($P < 0,05$) setelah penyimpanan selama 5 hari (Tabel 3). Hingga hari ke-5 preservasi, abnormalitas spermatozoa pada semua perlakuan berada di bawah 6%, namun secara statistik, abnormalitas spermatozoa pada perlakuan yang mendapat EKBN secara nyata lebih rendah ($P < 0,05$) daripada kontrol (Tabel 4).

Berdasarkan persentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa yang diukur dalam penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi EKBN 6% dalam pengencer TKT efektif untuk mempertahankan kualitas spermatozoa kambing bligon.

Kandungan nutrisi yang ada dalam EKBN seperti karbohidrat, protein dan lemak berperan sebagai sumber energi untuk pergerakan spermatozoa (Hafez, 2000). Selain itu EKBN juga banyak mengandung vitamin C, vitamin E, alkaloid, terpenoid, flavonoid dan karoten yang dapat bersifat sebagai antioksidan. Sebagaimana dilaporkan oleh Manuhuruk (2016), kapasitas antioksidan kulit buah naga adalah $321,78 \pm 6,29 \text{ mg}/100\text{g}$. Antioksidan yang terkandung dalam EKBN pada pengencer dapat mengikat radikal bebas yang terdapat dalam sel, sehingga dapat mencegah peroksida lipid yang dapat menurunkan motilitas spermatozoa.

Tabel 3. Rataan motilitas dan viabilitas (%) spermatozoa kambing bligon

	Hari penyimpanan					
	0	1	2	3	4	5
Motilitas (%)						
P0	79,47 ± 2,17 ^a	68,53 ± 1,65 ^b	58,39 ± 4,22 ^b	49,02 ± 3,13 ^b	39,82 ± 1,13 ^b	30,19 ± 0,87 ^b
P1	79,59 ± 2,39 ^a	68,80 ± 2,12 ^b	58,72 ± 4,88 ^b	50,66 ± 2,91 ^b	40,53 ± 0,59 ^b	31,72 ± 1,78 ^b
P2	79,53 ± 2,35 ^a	69,90 ± 2,28 ^b	61,06 ± 3,76 ^b	52,70 ± 3,89 ^b	41,57 ± 1,89 ^b	33,53 ± 2,53 ^b
P3	79,79 ± 2,25 ^a	75,03 ± 3,04 ^a	67,86 ± 2,30 ^a	61,82 ± 2,16 ^a	52,83 ± 3,27 ^a	43,30 ± 3,08 ^a
P4	79,31 ± 2,09 ^a	67,47 ± 2,14 ^{bc}	57,08 ± 3,06 ^b	41,15 ± 4,85 ^c	34,30 ± 5,98 ^c	25,23 ± 5,12 ^c
P5	79,25 ± 2,06 ^a	64,59 ± 3,56 ^c	52,10 ± 2,60 ^c	37,71 ± 3,24 ^c	29,08 ± 2,67 ^d	20,05 ± 2,27 ^d
Viabilitas (%)						
P0	85,85 ± 0,88 ^a	72,67 ± 1,76 ^b	62,03 ± 4,38 ^b	52,64 ± 2,97 ^b	41,69 ± 4,17 ^{bc}	34,41 ± 0,69 ^b
P1	85,57 ± 0,95 ^a	73,03 ± 2,06 ^b	62,88 ± 4,61 ^b	54,49 ± 2,90 ^b	44,58 ± 0,57 ^b	35,77 ± 1,67 ^b
P2	85,79 ± 0,73 ^a	74,47 ± 2,22 ^b	65,88 ± 4,15 ^b	57,56 ± 4,07 ^b	46,57 ± 2,13 ^b	38,26 ± 2,88 ^b
P3	85,76 ± 0,95 ^a	81,80 ± 2,50 ^a	74,69 ± 1,97 ^a	68,49 ± 2,86 ^a	59,32 ± 2,95 ^a	50,16 ± 2,71 ^a
P4	85,65 ± 0,91 ^a	71,44 ± 1,72 ^b	60,94 ± 3,13 ^b	45,06 ± 4,98 ^c	38,42 ± 6,56 ^c	29,68 ± 5,23 ^c
P5	85,84 ± 1,04 ^a	67,00 ± 3,58 ^c	54,74 ± 2,26 ^c	40,51 ± 3,28 ^c	32,43 ± 2,51 ^d	23,80 ± 2,01 ^d

Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05).

Tabel 4. Rataan abnormalitas (%) spermatozoa kambing bligon

Perlakuan	Hari penyimpanan					
	0	1	2	3	4	5
P0	2,55 ± 0,58 ^a	3,00 ± 0,48 ^a	3,48 ± 0,36 ^{ab}	3,61 ± 0,33 ^b	3,76 ± 0,28 ^b	4,45 ± 0,39 ^b
P1	2,63 ± 0,55 ^a	2,91 ± 0,47 ^a	3,49 ± 0,27 ^{ab}	3,76 ± 0,46 ^b	3,92 ± 0,44 ^b	4,32 ± 0,43 ^b
P2	2,62 ± 0,56 ^a	3,05 ± 0,56 ^a	3,42 ± 0,23 ^b	3,55 ± 0,25 ^b	3,79 ± 0,34 ^b	4,34 ± 0,35 ^b
P3	2,79 ± 0,56 ^a	2,75 ± 0,65 ^a	3,51 ± 0,25 ^{ab}	3,64 ± 0,27 ^b	3,88 ± 0,41 ^b	4,23 ± 0,21 ^b
P4	2,66 ± 0,52 ^a	2,76 ± 0,54 ^a	3,64 ± 0,38 ^{ab}	3,94 ± 0,35 ^{ab}	4,42 ± 0,36 ^a	4,66 ± 0,38 ^b
P5	2,46 ± 0,44 ^a	2,83 ± 0,48 ^a	3,89 ± 0,36 ^a	4,35 ± 0,52 ^a	4,86 ± 0,24 ^a	5,22 ± 0,20 ^a

Superskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P> 0,05).

Selain nutrisi dan antioksidan dalam EKBN juga, terdapat lipoprotein dan lecitin yang terkandung didalam kuning telur yang berfungsi untuk mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein spermatozoa. Selain itu tris mengandung zat nutrient yang lengkap dan konsentrasi yang cukup dalam melindungi spermatozoa. Didalam tris juga mengandung asam sitrat yang berfungsi sebagai zat penyanggah. Zat penyanggah diperlukan untuk mencegah penurunan pH medium secara drastis, sehingga berdampak baik terhadap daya hidup sperma. Foote (1980) mengemukakan bahwa didalam pengencer tris terdapat bahan-bahan yang dapat mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik, menjaga keseimbangan elektrolit, mengikat butir-butir lemak, sebagai sumber energi, melindungi spermatozoa terhadap cold shock.

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa hasil persentase motilitas spermatozoa setelah penambahan EKBN 10% (P5) lebih rendah dibandingkan dengan penambahan EKBN 6% (P3). Hal ini diduga terjadi

perubahan pH pada pengencer semen yang diberikan EKBN. Pemberian EKBN dengan dosis yang tinggi diduga menyebabkan pH pengencer menjadi terganggu karena pH pada kulit buah naga 5,5 (Abdullah dan Abdullah, 2011).

Rataan persentase motilitas spermatozoa hasil penelitian ini sebesar 43,30 ± 3,08% lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Siswandoko *et al.* (2017) yaitu 41 ± 4,18%. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan level EKBN yang digunakan yang selanjutnya akan berkorelasi dengan konsentrasi antioksidan serta zat nutrisi yang terkandung di dalamnya. Selain itu, adanya perbedaan karakteristik yang berbeda antara semen segar dan semen beku menyebabkan perbedaan dalam level EKBN yang optimal dalam kedua penelitian ini.

Berdasarkan uraian tersebut maka dapat diketahui bahwa penambahan EKBN ke dalam medium TKT memberikan nilai motilitas lebih baik dibandingkan tanpa penambahan EKBN. Kandungan antioksidan pada EKBN mampu mempertahankan motilitas spermatozoa lebih baik dibandingkan tanpa penambahan EKBN

(Imansih, 2014). Penambahan EKBN pada pengencer TKT mampu memberikan motilitas lebih tinggi serta meningkatkan gerak progresif spermatozoa (Munawaroh, 2014). Sehingga penambahan antioksidan berperan penting dalam menghambat reaksi peroksida lipid yang mampu merusak membran spermatozoa akibat penyimpanan. Membran plasma spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh oleh karena itu rentan terhadap kerusakan peroksida (Rizal dan Herdis, 2010). Antioksidan juga berperan mencegah kerusakan membran plasma spermatozoa yang disebabkan oleh cekaman dingin (cold shock) dan memberikan perlindungan terhadap spermatozoa.

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentu kualitas semen karena berhubungan dengan daya hidup spermatozoa. Evaluasi persentase viabilitas spermatozoa biasanya ditentukan berdasarkan penyerapan zat warna eosin yang dicampurkan pada spermatozoa. Spermatozoa yang mati tampak berwarna merah sedangkan spermatozoa yang hidup tampak bening transparan atau tidak berwarna (Zhou et al, 2004). Viabilitas spermatozoa tergantung pada keutuhan membran spermatozoa dan kerusakan membran spermatozoa yang akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme intraseluler spermatozoa sehingga spermatozoa akan melemah dan bahkan bisa menyebabkan kematian (Ihsan, 2008).

Viabilitas spermatozoa untuk pembuatan semen yang diencerkan minimal memiliki 60% sampai dengan 75% spermatozoa hidup (Garner dan Hafez, 2000). Persentase hidup spermatozoa ditentukan oleh membran plasma utuh. Membran plasma spermatozoa berfungsi untuk melindungi organel spermatozoa dan transport elektrolit untuk metabolisme spermatozoa. Membran plasma yang rusak dapat berpengaruh fungsi fisiologis dan metabolisme spermatozoa sehingga menyebabkan spermatozoa mati. Metabolisme spermatozoa dapat mempengaruhi daya hidup spermatozoa karena pada spermatozoa yang memiliki aktivitas metabolisme yang tinggi menghasilkan asam laktat yang tinggi yang dapat membunuh spermatozoa (Varasofiari et al., 2013). Membran plasma yang utuh memiliki korelasi dengan motilitas spermatozoa, semakin banyak membrane plasma spermatozoa yang utuh maka semakin banyak spermatozoa yang motil (Azzahra et al., 2016). Kualitas spermatozoa dikatakan baik jika memiliki jumlah

spermatozoa yang hidup tinggi dan spermatozoa mati <15% (Bintara, 2011).

Rataan persentase viabilitas spermatozoa pada penelitian ini adalah $50,16 \pm 2,71\%$ lebih rendah daripada hasil penelitian Siswandoko et al., (2017) yaitu 74,6%. Nalley et al (2007) menyatakan bahwa nilai persentase viabilitas spermatozoa biasanya sedikit lebih tinggi dari persentase motilitas. Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang tidak motil progresif, tetapi sebenarnya masih hidup sehingga tidak akan menyerap warna dari larutan eosin yang digunakan.

Tingginya viabilitas spermatozoa pada perlakuan EKBN 6% dibandingkan dengan perlakuan yang lain terjadi karena adanya ketersediaan antioksidan dalam EKBN yang mampu mempertahankan nilai viabilitas spermatozoa. Kandungan antioksidan pada EKBN mampu mencegah dan mengurangi peroksida lipid akibat radikal bebas sehingga mampu menekan efek peroksidasi pada spermatozoa yang dapat menyebabkan penghambatan fruktolisis dan respirasi, pengikatan enzim intraseluler dan kerusakan struktur membran plasma terutama pada bagian akrosom dan mampu mempertahankan viabilitas semen. Penambahan zat antioksidan pada pengencer memiliki manfaat yang cukup baik diantaranya mencegah aktivitas radikal bebas terhadap kerusakan membran sel spermatozoa yang berpengaruh terhadap viabilitas dan fertilitas spermatozoa, berperan sebagai sumber energi untuk mempertahankan viabilitas spermatozoa, disamping itu juga untuk memperbaiki komposisi dan kondisi fisiologis dari pengencer tersebut (Aslam et al., 2014; Lubis et al., 2013).

Terjadinya peningkatan persentase viabilitas spermatozoa kambing bligon dari semen segar dan pasca pengenceran menggunakan pengencer TKT ditambahkan dengan EKBN, kemungkinan disebabkan oleh aktivitas kandungan bahan bioaktif dalam EKBN yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk mempertahankan stabilitas dan permeabilitas sel seperti karbohidrat, protein, kalsium, vitamin C, vitamin E, flavonoid dan karoten. Menurut Putranti et al. (2010), protein berperan dalam kestabilan dan permeabilitas membran plasma spermatozoa. Protein akan membungkus membran plasma spermatozoa, sehingga fosfolipid membran plasma spermatozoa hanya sedikit yang mengalami proses peroksidasi yang akan merusak membran sel spermatozoa.

Kandungan mineral dalam EKBN seperti natrium, kalium dan klorida sangat diperlukan untuk menjaga integritas fungsional membran plasma spermatozoa dan bikarbonat berperan sebagai agen penyanggah untuk mencegah penurunan pH semen selama proses penyimpanan (Purdy, 2006). Kandungan EKBN seperti vitamin C, vitamin E, flavonoid dan karoten, yang berperan penting dalam mengoptimalkan laju fruktolisis sehingga kebutuhan energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa selama penyimpanan terpenuhi. Vitamin C, vitamin E, flavonoid dan karoten sebagai antioksidan dapat mengikat oksigen radikal yang terdapat didalam sel sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksida lipid yang dapat menghambat glikolisis.

Abnormalitas merupakan kelainan bentuk yang dialami oleh spermatozoa. Bentuk spermatozoa yang normal terdiri dari kepala, leher bagian tengah (badan) dan ekor yang sesuai dengan bentuk morfologinya. Morfologi abnormal pada spermatozoa berhubungan dengan fertilitas ternak (Susilawati, 2011).

Berdasarkan hasil analisis statistik menyatakan bahwa penambahan EKBN berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Abnormalitas terendah terdapat pada perlakuan 6% (4,23%) yang disimpan selama lima hari. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan flavonoid dari EKBN mampu mempertahankan nilai abnormalitas. Rizal & Herdis (2010) menyatakan bahwa penambahan antioksidan mampu menghentikan reaksi yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Siswandoko (2017) menambahkan bahwa pemberian antioksidan dengan dosis yang tepat memberikan hasil

maksimal untuk mencegah dan mengurangi reaksi peroksida lipid akibat aktivitas radikal bebas pada membran plasma spermatozoa, dimana bagian tersebut kaya akan asam lemak tak jenuh sehingga rentan terhadap reaksi peroksida lipid. Berkurangnya reaksi peroksida lipid akan berdampak pada rendahnya nilai abnormalitas spermatozoa. Kandungan flavonoid dalam EKBN berguna sebagai antioksidan yang akan menetralkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan pada spermatozoa (Khaki et al., 2011).

Persentase spermatozoa sangat penting untuk diketahui karena abnormalitas yang tinggi hingga 20% dari jumlah spermatozoa akan mengganggu fertilitas pejantan secara umum (Hidayati et al., 2015). Nilai persentase abnormalitas dari penelitian ini masih dapat digunakan untuk IB. Kusumawati et al. (2017) menyatakan bahwa standar persentase abnormalitas spermatozoa kambing yang layak digunakan untuk IB tidak lebih dari 15%. Sedangkan menurut Susilawati (2011) nilai abnormalitas yang dapat digunakan untuk IB adalah kurang dari 20% morfologi spermatozoa abnormal. Menurut Hafez (2000) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa pada semen kambing sebesar 8-10% tidak berpengaruh terhadap fertilitas, tetapi apabila abnormalitas melebihi 25% dari total ejakulasi maka akan berpengaruh pada fertilitas. Kemudian Partodhiardjo (2002) juga menyatakan bahwa abnormalitas yang lebih dari 20% menunjukkan kualitas spermatozoa yang jelek. Spermatozoa yang abnormal biasanya dapat membuahi sel telur, tetapi biasanya akan menyebabkan kematian anak sebelum lahir.

SIMPULAN

Penambahan EKBN dalam pengencer TKT hingga 6% dapat mengurangi penurunan

kualitas spermatozoa kambing bligon selama preservasi *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah A, Abdullah N. 2011. Quality characteristics and acceptability of three types of pitaya fruit in a consumer acceptance test. *Journal of Tourism Hospitality & Culinary Arts* 3(1): 89-98.
- Arifiantini RI, Yusuf TL. 2006. Keberhasilan menggunakan tiga bahan pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi frisien holstein. *Majalah Ilmiah Peternakan* 9(3): 89-93.
- Aslam, Dasrul HA, Rosmaidar. 2014. Pengaruh penambahan vitamin C dalam pengencer andromed terhadap persentase motilitas dan membrane plasma utuh spermatozoa sapi Aceh setelah pembekuan. *Jurnal Medika Veterinaria* 8(1): 20-26.

- Azzahra FY, Setiatin ET, Samsudewa D. 2016. Evaluasi motilitas dan presentase hidup semen segar sapi PO kebumen pejantan muda. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia* 2: 99-107.
- Bintara S. 2011. Rasio X:Y dan kualitas sperma pada kambing kacang dan peranakan ettawa. *Sains Peternakan* 9(2): 65-71.
- Fitri NL, Susetyarini RE, Waluyo L. 2016. The effect of ciplukan (*Physalis angulata* L) fruit extract on SGPT and SGOT levels against white male mice (*Mus Musculus*) hyperglycemia induced by alloxan as biology learninf reso urces. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia* 2(2): 180-187.
- Foote RH. 1980. Artificial insemination. In: E.S.E. Hafez (Ed.) *Reproduction in Farm Animals* 4th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In *Farm Animals*. Edited by E.S.E. Hafez. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA.
- Hafez ESE. 2000. *Reproduction In Farm Animal*. 7th ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Hidayati N, Arifiantini RI, Sajuthi D. 2015. Preservasi semen kambing peranakan ettawa dalam pengencer tris dan sitrat kuning telur dengan penambahan sodium dodecyl sulphate. *Jurnal Veteriner* 16(3): 334-342.
- Ihsan MN. 2008. Upaya peningkatan konsentrasi spermatozoa hasil pemisahan dengan sentrifugasi gradient densitas percoll pada sapi friesien holstein (FH). Disertasi. Program Pascasarjana, Universitas Brawijaya, Malang.
- Kartusudjana R. 2001. *Ciri-ciri atau Tanda Keabnormalitasan pada Semen Kambing Peranakan Ettawa* (PE). Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, Amir AK. 2011. Effect of *Ocimum basilicum* on apoptosis in testis if rats after exposure to electromagnetic field. *Afr J Pharm Pharmacol*. 5(1): 1534-1537.
- Kusumawati DE, Utomo KN, Krisnaningsih AJN, Syam R. 2017. Kualitas semen kambing Kacang dengan lama simpan yang berbeda pada suhu ruang menggunakan pengencer tris aminomethan kuning telur. In Seminar Nasional Hasil Penelitian. *JITRO* 4(2): 42-51.
- Lubis TM, Dasrul, Thasmi CN, Akbar T. 2013. Efektivitas penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas spermatozoa kambing boer setelah penyimpanan dingin. *Jurnal S. Pertanian* 3(1): 347-361.
- Manuhuruk FM. 2016. Efektivitas penambahan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai pewarna, antioksidan, dan antimikroba pada sosis daging sapi selama penyimpanan dingin. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Maxwell WMC, Watson PF. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *J. Anim. Reprod. Sci.* 42(10): 55-65.
- Munawaroh. 2014. Penambahan ekstrak buah naga (*Hylocereus ondotus*) untuk pengawetan spermatozoa kambing peranakan boer pada suhu 5°C. *Scripta Biologica* 4(4): 223-247.
- Nalley WM, Handarini R, Purwantara B. 2007. Viabilitas spermatozoa rusa Timor (*Cervus timorensis*) di dalam pengencer tris kuning telur dengan sumber karbohidrat yang berbeda yang disimpan pada suhu ruang. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 12(4): 311-317.
- Noor MI, Yufita EY, Zulfalina. 2016. Identifikasi kandungan ekstrak kulit buah naga merah menggunakan fourier transform infrared (FTIR) dan phytochemistry. *Journal of Aceh Physics Society* 5(1):14-16.
- Nurliyana R, Zahir IS, Suleiman KM, Aisyah MR, Rahim KK. 2010. Antioxidant study of pulpl and peels of dragon fruids: a comparave study. *International Food Research Journal* 17(1):367-375.
- Partama IBG. 2000. Kebutuhan energi dan protein kambing peranakan ettawah calon pejantan. *Disertasi*. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Partodihardjo S. 2002. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Purdy PH. 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rumin Research* 63(3): 215-225.
- Putranti OD, Kustono, Ismaya. 2010. Pengaruh penambahan crudetannin pada sperma cair kambing peranakan ettawa yang disimpan selama 14 hari terhadap

- viabilitas spermatozoa. *Buletin Peternakan* 34(1): 1-7.
- Rizal M, Herdis M. 2010. Peranan antioksidan dalam meningkatkan kualitas semen beku. *Jurnal Wartazoa* 20(3):139-146.
- Setiadi B, Utama IK, Situmorang P, Supriyati, Adiati U, Budiarsa IGM, Kostaman T, Maulana, Mulyawan. 2000. Evaluasi karakteristik semen kambing calon bibit. Laporan Bagian Proyek Rekayasa Teknologi Peternakan ARMP-II: 74-87. Balai Penelitian Ternak.
- Shukla SN, Singh BB, Tomarand NS, Misra BS. 1992. Factors affecting spermatozoa motility in preserved semen. *Indian Vet. J.* 69 (2): 856-857.
- Siregar TN, Hamdan. 2007. *Teknologi Reproduksi Pada Ternak*. CV. Mita Mulia, Banda Aceh.
- Siswandoko B, Zaenab S, Husamah. 2017. Penambahan ekstrak kulit buah naga ke dalam pengencer tris kuning telur untuk meningkatkan kualitas semen beku kambing peranakan ettawa. *Jurnal Scripta biologica* 4(4): 247-251.
- Susilawati T. 2011. *Spermatology*. UB Press. Malang.
- Sutiyono, Riyadi S, Kismiati S. 2006. Fertilisasi dan daya tetas telur dari ayam petelur hasil inseminasi buatan menggunakan semen ayam kampung yang diencerkan dengan bahan berbeda. *J. Pengembangan Peternakan Tropis*. 31 (1): 36-40.
- Suwarso. 1999. Peranan ranifosa dalam pengencer tris sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing peranakan ettawah. *Thesis*. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tambing SN, Toelihere MR, Yusuf TL, Utama IK. 2000. Pengaruh gliserol dalam pengencer tris terhadap kualitas semen beku kambing peranakan ettawa. *JITV* 5(1): 84-91.
- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Varasofitari LN, Setiatin ET, Sutopo. 2013. Evaluasi semen segar sapi jawa brebes berdasarkan lama waktu penyiapan. *Animal Agriculture* 2(1): 201-208.
- Wulandari R, Budiyanta MAK, Waluyo L. 2016. The influence of various concentration of red roses (*Rosa damascene mill*) flower extract to anthocyanin color stability jelly as biology learning source. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia* 2(1): 40-48.
- Yotov S, Fasulkov I, Vassilev N. 2011. Effect of ejaculation frequency on spermatozoa survival in diluted from plevan blackhead rams. *Turk. J.Vet. Anim. Sci.* 2(2): 117-122.
- Yustendi D. 2013. Penambahan tepung daun katuk (*Saurupus androgynus L. merr*) dalam ransum kambing jantan peranakan ettawa terhadap konsumsi pakan, pertambahan berat badan, lingkaran scrotum dan kualitas spermatozoa. *Thesis*. Program Pascasarjana. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Yusuf TL, Arifiantini RI, Rahmiwati N. 2005. Daya tahan semen cair kambing peranakan ettawa dalam pengenceran kuning telur dengan kemasan dan konsentrasi spermatozoa yang berbeda. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 30(4): 217-223.
- Zaniboni L, Rizzi R and Cerolini S. 2006. Combined effect of DHA and α tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology* 65(1): 1813-1827.
- 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 boer semen during long-term liquid storage. *Asian-Au J. Sci* 17(11):1501-1508.