

PENGARUH SUBSTITUSI SARI BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*) DALAM PENGECER SITRAT- KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI

(Effect of watermelon juice supplementation in citrate - egg yolk extender on spermatozoa quality of bali bulls)

Maria M. Bria* , Wilmientje M. Nalley, Johnny N. Kihe, Thomas M. Hine

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Kelautan, dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jln. Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia 850001

*Correspondent author, email: merybria0529@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh penambahan sari buah semangka (SBS) dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) terhadap kualitas spermatozoa sapi bali. Semen ditampung dua kali seminggu menggunakan metode vagina buatan dari 3 ekor sapi bali jantan dengan kondisi tubuh dan organ reproduksi yang normal. Semen yang memiliki motilitas > 70%, konsentrasi >1000 x 10⁶/mL dan abnormalitas ≤ 20 % diencerkan dengan: S-KT 100% (P0), S-KT - 25% SBS (P1), S-KT - 50% SBS (P2), (S-KT - 75% SBS (P3), SBS 100% (P4) dan selanjutnya disimpan didalam lemari pendinginan pada suhu 3-5oC. Evaluasi terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa dilakukan setiap 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spermatozoa yang diencerkan dengan S-KT yang disuplementasi dengan SBS 75% (P3) mempunyai kualitas lebih tinggi (P<0,05) dibandingkan dengan ketiga perlakuan lainnya, yaitu dengan motilitas 40,53%, viabilitas 47,35%, dan abnormalitas 4,21% dengan lama penyimpanan selama 6 hari. Disimpulkan bahwa penambahan SBS kedalam pengencer S-KT dapat mempertahankan kualitas spermatozoa sapi bali dengan konsentrasi SBS terbaik adalah 75%.

Kata-kata kunci: sitrat, kuning telur, sari buah semangka, spermatozoa, sapi bali

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of adding watermelon juice (WJ) into citrate-egg yolk (C-EY) diluents on the spermatozoa quality of bali cattle. Semen was collected twice a week using an artificial vaginal method of three bali bulls with normal body condition and reproductive organs. Semen that has motility > 70%, concentration >1000 x 10⁶ and abnormalities ≤ 20 % was used in this study. Semen then divided into five treatments: C-EY 100% (T0), C-EY-25% WJ (T1), C-EY-50% WJ (T2), C-EY-75% WJ (T3), WJ 100% (T4) and then stored in a refrigerator at temperature 3-5oC. The quality of spermatozoa was evaluated every 24 hours for sperm motility, viability, and abnormalities. The results showed that spermatozoa diluted with S-KT supplemented with 75% WJ (T3) had a higher quality (P<0,05) compared to the other treatments, with motility 40,53 %, viability 47,35%, and abnormalities 4,21% on the 6th day of preservation. It was concluded that the addition of WJ to C-EY diluent was able to maintain the quality of bali bull spermatozoa, with the best SBS concentration is 75%.

Keywords: citrate, egg yolk, watermelon juice, spermatozoa, bali cattle

PENDAHULUAN

Sapi bali adalah salah satu sapi lokal Indonesia yang memberikan kontribusi dalam penyediaan daging untuk memenuhi kebutuhan protein hewani, mempunyai keunggulan diantaranya memiliki tingkat fertilitas yang tinggi, mampu beradaptasi dengan baik terhadap lingkungan yang baru, memiliki daging

berkualitas baik dengan kadar lemak yang rendah serta memiliki produksi karkas yang tinggi (Handiwirawan dan Subandriyo, 2004).

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan populasi ternak sapi bali adalah dengan menerapkan teknologi reproduksi yaitu inseminasi buatan (IB). Diharapkan

melalui teknologi IB mampu mengoptimalkan penggunaan semen karena semen dari seekor pejantan unggul dapat digunakan untuk mengawini lebih banyak betina (Rizal dan Herdis, 2008).

Keberhasilan program IB sangat tergantung pada kualitas semen yang digunakan baik semen cair maupun semen beku. Semen cair mengalami penurunan kualitas selama penyimpanan yang disebabkan oleh aktivitas metabolisme sehingga dapat mengakibatkan kerusakan bahkan kematian, akibat kehabisan energi.

Kerusakan spermatozoa terutama terjadi pada bagian membran diakibatkan oleh adanya reactive oxygen species (ROS) atau stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan penyebab utama kerusakan spermatozoa sehingga menghambat proses fosforilasi. Oksidasi fosforilasi yang terganggu menyebabkan peningkatan ROS dalam sel dan dapat mengoksidasi lipid, protein dan DNA. Membran plasma spermatozoa memiliki fosfolipid kadar yang tinggi menyebabkan spermatozoa sangat rentan terhadap ROS (Sanoeka dan Kurpisz, 2004).

Menghambat terjadinya kerusakan sel selama penyimpanan, perlu penambahan antioksidan yang dapat menghambat reaksi peroksidasi lipid, sehingga mengikat senyawa radikal bebas.

Likopen atau yang sering disebut sebagai α -carotene adalah suatu karotenoid pigmen merah terang yang banyak ditemukan dalam buah tomat dan buah-buahan lain yang berwarna merah (Mu'nisa, 2012). Likopen adalah senyawa antioksidan yang dapat melawan kerusakan oleh radikal bebas pada sel-sel tubuh. Senyawa antioksidan likopen memiliki peranan dalam melindungi spermatozoa dengan mencegah kerusakan pada membran plasma yang disebabkan oleh ROS. Beberapa penelitian sebelumnya bahwa menambahkan vitamin C dan β -karoten dalam pengencer dapat meningkatkan kualitas spermatozoa selama penyimpanan (Rizal, 2005; Coles, 2007; Savitri *et al.*, 2014; Siahn *et al.*, 2012).

Pengencer sitrat kuning telur merupakan pengencer yang lazim digunakan sebagai pengencer semen sapi, karena mengandung lecitin dan lipoprotein yang dapat digunakan sebagai bahan penyangga (buffer) semen dan mencegah terjadinya coldshock akibat penurunan temperatur yang mendadak (Trias, 2001). Pengencer ini dapat digunakan pada beberapa jenis ternak selama penyimpanan spermatozoa yaitu pada sapi ongole (Pubiandara *et al.*, 2016), pada sapi aceh (Wahyuni *et al.*, 2018), sapi bali (Nabilla, 2017), kambing PE (Siregar dan Hamdan, 2004).

METODE PENELITIAN

Materi penelitian

Semen segar diperoleh dari tiga ekor ternak sapi bali, ternak dipelihara dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum. Pakan hijauan diberikan 10% sesuai berat badan ternak serta penambahan konsentrat 0,5 kg/ekor/hari dan air minum.

Metode penelitian

Pembuatan pengencer perlakuan

Pembuatan sari buah semangka, yaitu buah semangka yang akan digunakan dibuat dengan memisahkan bagian kulit dan isi daging merah buahnya, kemudian daging buah merah diblender tanpa penambahan air setelah itu disentrifuse selama 15 menit dengan 35 rpm.

Penyiapan kuning telur yaitu bersihkan telur dengan alkohol 70% dan biarkan kering. Pecahkan kulit telur dibagian lancipnya/sudut yang runcing kemudian tuangkan semua putih telur dan pisahkan dari kuning telur. Kuning telur yang masih terbungkus dengan selaput vitelinnya diletakan diatas kertas saring, sehingga semua putih telur dapat terserap habis. Pecahkan selaput vitelinnya, kemudian masukkan kuning telur kedalam gelas ukur dan siap digunakan.

Pengencer sitrat terdiri dari natrium sitrat 2,9 mg, dilarutkan dalam 100 mL aquabidest hingga homogen. Pengencer perlakuan terdiri dari 80 mL larutan sitrat, dan 20 ml kuning telur, selanjutnya tambahkan penicillin 1000 (IU) dan 1 mg streptomycin homogenkan, kemudian dibagi kedalam lima perlakuan Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi pengencer perlakuan

Bahan pengencer	P0	P1	P2	P3	P4
Sitrar - KT	100	75	50	25	0
Sari buah semangka	0	25	50	75	100
Jumlah (ml)	100	100	100	100	100

Penampungan dan evaluasi semen

Penampungan semen menggunakan metode vagina buatan, semen segar yang diperoleh dilakukan evaluasi secara makroskopis meliputi (volume, warna, konsistensi dan pH) dan evaluasi secara mikroskopis meliputi (gerakan massa, motilitas, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas). Secara makroskopis: penilaian terhadap volume semen dapat dibaca secara langsung, dengan melihat pada tabung penampung berskala. Konsistensi atau derajat kekentalan dapat diketahui dengan cara memiringkan tabung yang berisi semen secara perlahan-lahan sambil melihat gerakan perpindahan semen ke posisi semula. Jika pergerakan semen dalam tabung gerakannya lambat maka semen memiliki konsistensi kental, dan jika gerakannya agak cepat maka semen memiliki konsistensi sedang, sedangkan gerakannya sangat cepat maka semen memiliki konsistensi encer. 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.

Penilaian semen secara mikroskopis meliputi gerakan massa spermatozoa dikategorikan dalam tiga golongan, yaitu gerakan cepat berpindah, awan tebal dan gelap, celah antara gumpalan awan satu dengan yang lainnya sedikit atau rapat (+++), gerakan cepat, terbentuk awan tetapi agak terang gumpalannya (++) , dan terlihat gerakan sperma sendiri, tidak ada gumpalan awan (+).

Motilitas spermatozoa ditentukan melalui pengamatan spermatozoa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran lensa objektif 40×10. Penilaian terhadap persentase spermatozoa motil adalah spermatozoa yang bergerak progresif ditentukan secara subjektif pada sepuluh lapang pandang yang berbeda, nilai yang diberikan berkisar antara 0% dan 100% dengan skala 5%.

Konsentrasi spermatozoa menunjukkan jumlah sel spermatozoa tiap satuan volume semen dengan cara diamati dibawah mikroskop

dengan pembesaran 40×10. Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan haemocytometer.

Perhitungan konsentrasi: Konsentrasi spermatozoa = $X \times \text{volume spermatozoa} \times 10^6$ sperma/ml. X = Jumlah spermatozoa hasil perhitungan.

Viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan differensial eosin-nigrosin, 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 40×10, hitung spermatozoa dengan total 200 spermatozoa atau pada 10 lapang pandang yang berbeda. Pehitungan nilai viabilitas sesuai rumus: $\text{Viabilitas} = (\sum \text{sperma hidup}) / (\text{Total spermatozoa}) \times 100 \%$.

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. $\text{Abnormalitas} = (\sum \text{sperma abnormal}) / (\text{total spermatozoa}) \times 100 \%$.

Pengenceran dan Penyimpanan Semen

Semen yang digunakan harus memiliki motilitas > 70%, konsentrasi > 800×10⁶, dan abnormalitas < 15% (Johnson *et al.*, 2000). Selanjutnya diencerkan dengan pengencer perlakuan (Tabel 1), disimpan pada suhu 3-50C. Evaluasi motilitas, viabilitas dan abnormalitas dilakukan setiap 24 jam.

Desain penelitian dan analisis data

Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), 5 perlakuan dan 5 ulangan. Variabel yang diamati dalam penelitian adalah: motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa.

Analisis ragam dilanjutkan dengan Uji Duncan (Steel dan Torrie, 1990). Analisis menggunakan paket Software SPSS 17.0 for Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Semen Segar

Hasil pengamatan semen segar setelah penampungan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2. Dari hasil penampungan semen segar sapi bali (Tabel 2) diperoleh bahwa rata-rata volume semen $4,62 \pm 0,67$ ml, hasil ini hampir sama dengan laporan Prastowo *et al.* (2018) $4,83 \pm 1,40$ ml, namun lebih rendah dari laporan Anwar *et al.* (2014) dimana volume semen sapi bali mencapai $6,30 \pm 3,32$ ml, Sunarti *et al.* (2016) dengan volume $5,5 \pm 0,53$. Perbedaan volume semen sapi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu bangsa, umur, suhu,

pakan, ukuran badan dan testis, frekuensi penampungan, lingkungan dan kondisi dari ternak itu sendiri. Menurut Fuerst-waltl *et al.* (2006) bahwa interval penampungan semen pejantan sapi yang baik dilakukan yaitu 3-5 hari untuk menjaga kualitas semen yang dihasilkan dan tetap menjaga kuantitas produksi. Perbedaan volume semen yang diperoleh dari beberapa peneliti, Garner and Hafez (2000) melaporkan bahwa volume semen sapi setiap penampungan memiliki variasi antara 1 sampai 15 ml atau 5 sampai 8 ml per ejakulasi.

Tabel 2. Hasil pengamatan karakteristik semen segar sapi bali

Karakteristik semen	Rerata \pm standar deviasi
Volume (mL)	$4,62 \pm 0,67$
Warna	Krem
Konsistensi	Sedang
pH	$6,46 \pm 0,13$
Gerakan Massa sperma	+++
Konsentrasi sperma ($\times 10^6$ sel/mL)	$1518 \pm 98,33$
Motilitas sperma (%)	$79,0 \pm 2,23$
Viabilitas sperma (%)	$86,11 \pm 3,12$
Abnormalitas sperma (%)	$2,75 \pm 0,43$

Hasil pemeriksaan warna semen segar sapi bali adalah krem, warna semen ini normal sesuai pendapat Feradis (2010) dan Nursyam (2007) bahwa semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihandan keruh. Hasil ini sebanding dengan laporan Nabilla *et al.* (2018) dengan warna semen yaitu putih susu krem pada ternak sapi bali umur produktif dan non produktif, Sunarti *et al.* (2016) dengan warna semen putih krem. Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa. Kirakira kurang dari 10% semen sapi yang normal menghasilkan warna kekuningan yang disebabkan oleh riboflavin yang dibawa oleh satu gen autosom resesif dan tidak mempunyai pengaruh terhadap fertilitas. Semen sapi mempunyai volume tinggi tetapi konsentrasi spermanya rendah sehingga memperlihatkan warna krem atau putih susu.

Hasil pemeriksaan konsistensi semen segar adalah sedang, hal ini sama dengan penelitian Nabilla *et al.* (2018) pada ternak sapi bali dengan konsistensi semen adalah sedang. Menurut Suyadi *et al.* (2012) menyatakan bahwa warna, konsistensi dan konsentrasi spermatozoa mempunyai hubungan erat satu sama lain,

artinya jika semen semakin encer maka konsentrasi spermatozoa semakin rendah dan warnanya semakin pucat. Konsentrasi semen segar dalam penelitian ini sebanyak $1518 \pm 98,33$ juta/ml, hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Ishak (2012) pada sapi bali dengan konsentrasi spermatozoa semen segar sebesar $1309,3 \pm 21,4$ juta/ml, akan tetapi hasil ini lebih tinggi dari penelitian Sunarti *et al.* (2016) pada sapi bali dengan nilai konsentrasi $1185,57 \pm 392$ juta/ml, sesuai dengan pendapat Feradis (2010) yang menyatakan bahwa konsistensi semen sapi dikatakan kental apabila mempunyai konsentrasi 1.000 juta sampai 2000 juta sel spermatozoa per ml.

Derajat keasaman memegang peranan penting karena dapat mempengaruhi viabilitas spermatozoa. Derajat keasaman semen segar sapi bali diperoleh $6,46 \pm 0,13$, hasil ini hampir sama dengan laporan Prastowo (2018) dengan pH $6,51 \pm 0,12$ pada kelompok umur ternak sapi bali yang berbeda, beberapa hasil penelitian lainnya menyatakan pH semen yang berbeda-beda tetapi masih dalam kisaran yang normal, seperti Butar-Butar (2009) menyatakan bahwa

semen segar mempunyai pH antara 6,4-7,8, Nursyam (2007) melaporkan bahwa pH semen antara 6,8-6,7, Ratnawati *et al.* (2008) memperoleh nilai pHsemen segar sebesar 6,5. Perbedaan ini didukung oleh Feradis (2010) yang mengatakan bahwa setiap bangsa sapi mempunyai nilai pH semen segar yang berbeda-beda.

Hasil pemeriksaan gerakan massa semen segar sapi bali yang diperoleh memiliki nilai +++, hasil inilebih tinggi dari laporan Anwar (2014) pada sapi bali dengan nilai ++, Fadilah (2016) pada sapi bali dengan nilai ++. Hal ini menunjukkan bahwa semen segar memiliki gerakan aktif. Menurut Arifiantini *et al.* (2006) menyatakan bahwa gerakan massa pada sapi lokal lainnya seperti sapi bali diperoleh rata-rata sebesar 2,7 setara dengan (++) yang disebabkan karena kondisi ternak maupun lingkungan. Garner and Hafez, (2016) menyatakan bahwa perbedaan gerakan massa ini disebabkan oleh perbedaan bangsa, umur, kematangan sperma dan plasma semen.

Rataan nilai motilitas spermatozoa sapi bali yang diperoleh adalah $79,0 \pm 2,23$ dengan kisaran 75-80% yang menunjukkan bahwa spermatozoa bergerak progresif dan didukung dengan adanya pergerakan, hasil ini lebih tinggi dari laporan Anwar *et al.* (2014) pada ternak sapi bali dengan nilai motilitas sebesar $62,50 \pm 5,00$. Ratnawati *et al.* (2008) melaporkan

bahwa motilitas spermatozoa sapi bali mencapai 88,7%, menurut Garner and Hafez (2000) motilitas spermatozoa sapi berkisar antara 40-75%.

Rataan persentase viabilitas spermatozoa semen segar yang diperoleh sebesar $86,11 \pm 3,12$ hasil ini tidak jauh berbeda dengan pendapat Rizal (2009) yang diperoleh dari aspirasi epididimis dengan nilai viabilitas spermatozoa sapi bali sebesar 86,75 %, akan tetapi yang dilaporkan oleh Fadilah (2016) pada sapi bali lebih rendah dengan nilai $77,74 \pm 4,34$. Viabilitas spermatozoa untuk pembuatan semen yang diencerkan atau semen beku minimal memiliki 60% -75% spermatozoa hidup (Garner and Hafez, 2000).

Persentase abnormal sperma yang diperoleh dalam penelitian ini adalah $2,75 \pm 0,43\%$ nilai ini berada dalam kisaran normal sesuai pernyataan Garner dan Hafezz (2000) dimana sperma abnormal tidak lebih 20%.

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas adalah daya gerak spermatozoa yang dapat dijadikan sebagai acuan dalam penilaian kualitas spermatozoa untuk inseminasi buatan (Bintara, 2011). Rataan nilai motilitas spermatozoa dalam pengencer perlakuan selama pengamatan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan persentase motilitas spermatozoa sapi bali

Hari ke	Perlakuan(%)				
	P0	P1	P2	P3	P4
0	$79,22 \pm 2,14^a$	$79,32 \pm 2,18^a$	$79,31 \pm 2,25^a$	$79,41 \pm 2,22^a$	$79,26 \pm 2,19^a$
1	$70,35 \pm 3,36^{ab}$	$70,32 \pm 3,28^{ab}$	$71,61 \pm 2,57^{ab}$	$74,55 \pm 2,77^a$	$69,52 \pm 3,46^b$
2	$59,86 \pm 3,44^b$	$61,49 \pm 4,65^b$	$64,16 \pm 1,50^b$	$68,87 \pm 2,24^a$	$59,97 \pm 2,71^b$
3	$47,71 \pm 5,18^c$	$51,95 \pm 5,80^{bc}$	$55,00 \pm 1,11^b$	$61,27 \pm 1,84^a$	$48,93 \pm 2,89^c$
4	$39,81 \pm 0,70^c$	$40,56 \pm 1,0^c$	$44,40 \pm 1,33^b$	$54,06 \pm 2,51^a$	$39,82 \pm 2,05^c$
5	$29,46 \pm 0,60^c$	$31,07 \pm 0,97^c$	$37,33 \pm 1,89^b$	$47,10 \pm 2,64^a$	$31,31 \pm 2,31^c$
6	$20,42 \pm 2,27^c$	$22,65 \pm 1,12^c$	$29,06 \pm 2,87^b$	$40,53 \pm 1,29^a$	$21,93 \pm 2,14^c$

Superscript yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis statistika motilitas spermatozoa sapi bali pada pengamatan pasca pengenceran (H0) untuk setiap perlakuan mempunyai nilai motilitas yang sama besar ($P > 0,05$). Padahari kedua penyimpanan persentase motilitas spermatozoa pada perlakuan kontrol, P1, P2 dan P4 secara tidak nyata ($P > 0,05$) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan P3. Hari ketiga penyimpanan spermatozoa pada perlakuan P2 dan P3 secara

nyata lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol, P1 dan P4. Penyimpanan hari keempat untuk perlakuan P1 (SKT-SBS 25%) dan P2 (SKT-SBS 50%) menghasilkan nilai rata-rata motilitas sebesar $40,56 \pm 1,0$ dan $44,40 \pm 1,33$. Perlakuan P3 pada hari ke-4 sampai hari ke-6 menunjukkan bahwa penambahan SKT-SBS 75% memberikan hasil yang lebih baik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa dengan rata-rata motilitas

54,06±2,51, 47,10±2,64, dan 40,53±1,29. Nilai motilitas spermatozoa 40% didapat dalam perlakuan P1 pada hari keempat dan P3 pada hari keenam penyimpanan.

Tingginya motilitas spermatozoa dikarenakan kandungan karbohidrat pada sari buah semangka yang merupakan gula pereduksi yaitu glukosa dan fruktosa yang berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Pergerakan spermatozoa sangat erat kaitannya dengan energi yang dibutuhkan (Yohana *et al.*, 2014). Senyawa antioksidan seperti likopen, vitamin C dan vitamin A sangat bermanfaat untuk menangkal atau melindungi sel spermatozoa terhadap serangan radikal bebas yang produksinya selama penyimpanan. Proteksi oleh antioksidan tersebut sangat nyata berkontribusi terhadap peningkatan motilitas spermatozoa.

Dari aspek motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa perlakuan kontrol, P1, P2 masih layak digunakan untuk kegiatan inseminasi buatan (IB) pada hari ketiga dan hari keempat penyimpanan karena masih memiliki persentase motilitas antara 40-45%, namun tidak layak digunakan pada hari kelima sampai hari keenam karena nilai motilitas spermatozoa sudah menurun dibawah standar IB yaitu 40%. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa semakin lama masa penyimpanan maka persentase motilitas individu semakin menurun karena sumber energi yang tersedia sudah berkurang dan kemungkinan terjadi penumpukan sisa hasil metabolisme yang biasa disebut asam laktat.

Hasil pada penambahan SKT-sari buah semangka 75% (P3) lebih tinggi dari dilaporkan Andrianto (2016) pada ternak domba dengan nilai motilitasnya 26,75% setelah penyimpanan hari kelima dalam pengencer sitrat dan sari buah semangka. Demikian juga hasil menurut Syahputra (2019) melaporkan bahwa pemberian jus semangka selama 30 hari terhadap tikus wistar yang dipapari Monosodium Glutamat (MSG) pada kelompok kontrol positif (KP) yang diberi perlakuan MSG dengan dosis 10 mg/gr BB dan jus semangka 100% memberikan efek paling baik terhadap motilitas spermatozoa tikus wistar dengan nilai motilitas yang bergerak 56,14±8,59%. Penggunaan SKT-sari buah semangka dalam penelitian ini memberikan hasil yang lebih tinggi dari beberapa peneliti yang menggunakan pengencer alternatif yang memiliki kandungan antioksidan vitamin C. Sabile (2016) penambahan ekstrak buah mengkudu dalam

pengencer andromeda dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sapi bali dengan nilai sebesar 45,12% selama empat hari penyimpanan. (Parera *et al.*, 2009) melaporkan penambahan pengencer Tris kuning telur 70% + sari wortel 30% mampu mempertahankan motilitas spermatozoa epididimis sapi bali pada penyimpanan hari keempat dengan nilai rata-rata motilitas 45,00±0,00. Marawali *et al.* (2019) melaporkan penambahan filtrat jambu biji dalam pengencer air kelapa-kuning telur (AKKT 20% + FJB 0,09%) dapat mempertahankan nilai motilitas spermatozoa sapi bali selama tiga hari penyimpanan dengan nilai rata-rata 53,40±2,30 hasil tersebut lebih rendah dalam penelitian ini dengan nilai rata-rata 61,27±1,84. Hal ini dikarenakan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn), sari wortel dan filtrat jambu biji mengandung banyak antioksidan vitamin C yang berfungsi menangkal radikal bebas penyebab menurunnya motilitas spermatozoa selama penyimpanan.

Adanya perbedaan hasil yang diperoleh dari berbagai hasil penelitian mungkin disebabkan oleh beberapa faktor yakni suhu, waktu penelitian, jenis bahan pengencer yang digunakan dan lingkungan.

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Nilai viabilitas spermatozoa merupakan indikator untuk menilai kualitas pengenceran semen. Semakin tinggi nilai viabilitas semen maka semakin baik kualitas semen tersebut (Rizal dan Herdis, 2008). Viabilitas sapi bali hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Persentase viabilitas spermatozoa setelah diencerkan menggunakan SKT-SBS pada HO untuk semua perlakuan memiliki nilai yang sama besar ($P > 0,05$). Viabilitas spermatozoa sapi bali pada penyimpanan hari pertama untuk lima kelompok perlakuan dengan nilai tertinggi pada perlakuan P3 diikuti dengan P2, P1 dan perlakuan kontrol. Berdasarkan hasil analisis statistika penyimpanan hari pertama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$) pada perlakuan kontrol, P1, dan P2 namun secara nyata pada P3. Penyimpanan viabilitas hari kedua sampai hari keenam pada perlakuan kontrol dan T1 menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$), akan tetapi nilai viabilitas P1 untuk hari ketiga tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol maupun P2 tetapi berbeda secara nyata dengan P3. Pada hari kedua, keempat sampai hari keenam

perlakuan P2 dan P3 secara nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan P1.

Viabilitas spermatozoa sapi bali pada penelitian ini sampai hari kelima penyimpanan lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Andrianto (2006) pada ternak domba memiliki nilai

viabilitas spermatozoa sebesar $32,25 \pm 1,29\%$. Marawali *et al.*, (2019) melaporkan persentase viabilitas spermatozoa sapi bali sampai hari ketiga penyimpanan dengan penambahan filtrat jambu biji 0,9% kedalam pengencer air kelapa kuning telur memiliki hasil $56,97 \pm 1,69\%$ jauh lebih rendah dari hasil yang diperoleh dalam penelitian ini $68,39 \pm 1,78\%$.

Tabel 4. Rataan persentase viabilitas spermatozoa sapi bali

Hari ke-	Perlakuan(%)				
	P0	P1	P2	P3	P4
0	86,29±3,11 ^a	86,32±3,26 ^a	86,38±3,24 ^a	86,10±3,31 ^a	86,38±3,23 ^a
1	74,08±3,44 ^b	75,18±3,22 ^b	76,32±2,15 ^b	80,61±2,20 ^a	73,40±3,17 ^b
2	63,69±3,74 ^c	64,66±3,11 ^c	68,78±1,67 ^b	75,15±2,67 ^a	64,17±2,88 ^c
3	53,77±3,31 ^c	58,16±6,73 ^{bc}	60,28±1,30 ^b	68,39±1,78 ^a	53,47±3,08 ^c
4	44,01±0,98 ^c	44,85±1,53 ^c	49,62±1,65 ^b	60,26±2,40 ^a	44,59±3,34 ^c
5	33,76±8,28 ^c	35,15±1,48 ^c	41,50±3,44 ^b	54,05±2,42 ^a	36,12±3,38 ^c
6	24,71±2,39 ^c	27,07±1,51 ^c	33,23±2,78 ^b	47,35±1,55 ^a	26,16±2,28 ^c

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa. Karena struktur sel yang abnormal dapat meyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi (Afiati *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai abnormal selama penyimpanan terjadi peningkatan dari hari ke-0 sampai hari ke-6. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan SKT-SBS tidak memberikan peranan selama penyimpanan. Namun hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada penyimpanan H0, H1, H2 dan H5

memberikan pengaruh yang tidak nyata untuk semua perlakuan ($P > 0,05$) dan secara nyata ($P < 0,05$) pada penyimpanan H3, H4 dan H6. Perbedaan nilai abnormalitas ini mungkin dapat terjadi karena ketidak hati-hatian dalam pembuatan atau tekanan pada saat pembuatan preparat. Toelihere (1993) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa dapat terjadi karena tekanan yang keras, pemanasan yang berlebihan, pendinginan yang cepat dan kontaminasi dengan air, urin atau kuman dan bahan antiseptik. Kualitas spermatozoa masih dikatakan dalam kategori baik karena persentase abnormalitas dibawah 20%.

Tabel 5. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa sapi bali

Hari ke-	Perlakuan(%)				
	P0	P1	P2	P3	P4
0	2,89±0,36 ^a	2,72±0,61 ^a	2,65±0,42 ^a	2,72±0,49 ^a	2,86±0,55 ^a
1	3,25±0,44 ^a	2,98±0,56 ^a	3,03±0,46 ^a	3,09±0,33 ^a	3,24±0,47 ^a
2	3,41±0,45 ^a	3,35±0,49 ^a	3,28±0,47 ^a	3,24±0,32 ^a	3,48±0,42 ^a
3	3,68±0,33 ^{ab}	3,45±0,18 ^b	3,59±0,10 ^{ab}	3,46±0,25 ^b	3,85±0,20 ^a
4	3,91±0,41 ^{ab}	3,93±0,33 ^{ab}	3,85±0,23 ^{ab}	3,59±0,26 ^b	4,06±0,20 ^a
5	4,40±0,32 ^a	4,24±0,30 ^a	4,25±0,48 ^a	3,99±0,27 ^a	4,34±0,30 ^a
6	4,77±0,50 ^a	4,52±0,36 ^{ab}	4,49±0,39 ^{ab}	4,21±0,09 ^b	4,87±0,41 ^a

Superscript yang berbeda pada baris yang sama menunjukan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Antioksidan merupakan zat yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi. Antioksidan berperan dalam membantu melindungi struktur sel terutama membran sel dari kerusakan akibat adanya radikal bebas. Prinsip kerja dari antioksidan dapat dibagi menjadi tiga yaitu, 1) primer: mencegah

pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil, 2) sekunder: menangkap senyawa radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai, dan 3) tersier: memperbaiki kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh radikal bebas.

Proses oksidasi dapat dihambat/diperlambat oleh antioksidan. Proses oksidasi merupakan peristiwa alami yang terjadi di alam dan dapat terjadi dimana-mana tak terkecuali di dalam tubuh. Apabila terjadi reaksi oksidasi dimana menghasilkan radikal bebas (OH-) sebagai hasil sampingannya maka tanpa adanya antioksidan, radikal bebas ini akan menyerang molekul-molekul lain disekitarnya yang pada akhirnya akan membentuk reaksi berantai yang sangat membahayakan. Berbeda halnya apabila terdapat antioksidan, maka radikal bebas tersebut akan segera bereaksi dengan antioksidan membentuk molekul yang stabil dan tidak berbahaya sehingga reaksi pun berhenti sampai disini (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Baker (2016) menyatakan bahwa modifikasi protein dan karbohidrat berhubungan secara langsung maupun tidak langsung dengan motilitas dan fertilitas spermatozoa. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa motilitas dan viabilitas spermatozoa tertinggi dicapai pada P3. Selain sebagai sumber energi, karbohidrat terutama fruktosa memiliki peran ganda yaitu sebagai sumber energi dan berperan juga sebagai krioprotekan ekstraseluler bagi spermatozoa terhadap cold shock pada suhu 3-5°C (Arifiantini *et al.*, 2009; Yulnawati dan Herdis, 2009). Namun protein juga berperan sebagai komponen penyusun sel terutama membran plasma (Shen *et al.*, 2013).

SIMPULAN

Substitusi sari buah semangka ke dalam pengencer sitrat-kuning telur (SKT) dapat mempertahankan motilitas, viabilitas dan

menurunkan tingkat abnormalitas spermatozoa sapi bali. Level substitusi sari buah semangka terbaik adalah 75%.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati F, Yulnawati, Riyadi M, Arifiantini RI. 2015. Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi penampungan berbeda. *Prosiding. Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 1(4): 930-934.
- Andrianto F. 2016. Pengaruh sari kulit dan buah semangka merah (*Citrullus lanatus*) sebagai bahan pengencer terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa domba. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Anwar P, Ondho YS, Samsudewa D. 2014. Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi bali. *Jurnal Peternakan* 11(2): 48-58.
- Arifiantini RI, Wresdiyati T, Retnani EF. 2006. Pengujian morfologi spermatozoa sapi bali (*Bos sondaicus*) Menggunakan Pewarnaan "Williams". *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 31(2): 105-110.
- Arifiantini RI, Purwantara B, Yusuf TL, Sajuthi D. 2009. Peranan fruktosa, rafinosa, dan trehalosa pada kriopreservasi semen kuda. *Media Peternakan* 32(3): 171-178.
- Baker MA. 2016. Proteomics of post-translational modifications of mammalian spermatozoa. *Cell Tissue Res.* 363(1): 279-287.
- Bintara S. 2011. Rasio X:Y dan kualitas sperma pada kambing kacang dan peranakan ettawa. *Sains Peternakan* 9(2): 65-71.
- Butar-Butar E. 2009. Efektifitas frekuensi exercise terhadap peningkatan kualitas semen sapi simmental. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/1/09E00898.pdf>. Diakses pada tanggal 3 september 2020.
- Coles KE. 2007. Investigation into the antioxidant capacity of L-arginine and L-citrulline in relation to their vascular protective properties. Dissertation. Cardiff University, United Kingdom
- Fadilah ZN, Isnaini N, Ihsan MN. 2016. Kualitas semen cair sapi bali selama penyimpanan suhu ruang menggunakan pengencer skim milk dengan penambahan filtrat kecambah kacang hijau. *Jurnal Ternak Tropika* 17(1): 22-30.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Fuerst-Waltl B, Schwarzenbacher H, Solkner J, Perner C. 2006. Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bull. *Animal Reproduction Science* 95(1-2): 27-37.
- Garner DL, Hafez ESE. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: E. S. E. Hafez. (Ed),

- Reproduction in Farm Animals, Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, pp. 165-187.
- Handiwirawan E, Subandriyo. 2004. Potensi dan keragaman sumberdaya genetik sapi bali. *Wartazoa* 14(3): 107-114.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 2007. Free Radicals in Biology and Medicine, 4th ed. Clarendon, Oxford. 76-77.
- Ishak ABL. Identifikasi keragaman gen fsh sub-unit beta gen fsh reseptor dan gen gh pada sapi bali jantan sebagai penanda kualitas sperma. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
- Johnson JT, Lennox JA, Ujong UP, Odey MO, Fila WO, Edem PN, Dasofunjo K. 2013. Comparative vitamins content of pulp, seed and rind of fresh and dried watermelon (*Citrullus lanatus*). *International Journal of Science and Technology* 2(1): 99-103.
- Johnson, LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WMC. 2000. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science* 62(2000): 143-172.
- Marawali A, Muhammad MS, Jalaludin. 2019. Efektivitas suplementasi filtrat jambu biji dalam pengencer air kelapa- kuning telur terhadap kualitas semen cair sapi bali. *Jurnal Veteriner* 20(1): 20-29.
- Mu'nisa A. 2012. Analisis kadar likopen dan uji aktivitas antioksidan pada tomat asal Sulawesi Selatan. *Jurnal Bionature* 13(1): 62-66.
- Nursyam. 2007. Perkembangan iptek bidang reproduksi ternak untuk meningkatkan produktivitas ternak. http://www.unlam.ac.id/journal/pdf_file. Diakses tanggal 19 Oktober 2019.
- Nabilla A, Arifiantini RI, Purwantara B. 2018. Kualitas semen segar sapi bali umur produktif dan non-produktif serta penentuan konsentrasi krioprotektan dalam pengencer Tris kuning telur. *Jurnal Veteriner* 19(2): 242-250.
- Nabilla A . 2017. Kualitas semen sapi bali dan kriopreservasinya dalam pengencer Tris dan sitrat kuning telur. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor
- Parera F, Prihatiny Z, Souhoka DF, Rizal M. 2009. Pemanfaatan sari wortel sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi bali. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 34 (1): 50-56.
- Prastowo S, Dharmawan P, Nugroho T, Bachtiar A, Lutojo, Pramono A. 2018. Kualitas semen segar sapi bali (*Bos javanicus*) pada kelompok umur yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak* 18(1): 1-7.
- Pubiandara S, Suharyati S, Hartono M. 2016. Pengaruh penambahan dosis rafinosa dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa sapi ongle. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 4(4): 292-299.
- Rizal M. 2009. Daya hidup spermatozoa epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3-50C dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. *JITV* 14(2): 142-149.
- Rizal M, Herdis. 2008. Inseminasi Buatan pada Domba. PT. Rineka Cipta. Jakarta
- Rizal M. 2005. Efektifitas berbagai konsentrasi β -Karoten terhadap kualitas semen beku domba garut. *Animal Production* 7(1): 6-13.
- Sabile S, Toleng AL , Yusuf M, Firmiaty S, Idrus M, Zulkharnaim, Nasriyanto. 2016. Pengaruh penambahan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) dalam pengencer terhadap motilitas spermatozoa pada semen cair sapi bali. *Jurnal Aves* 10(2): 10-15.
- Sanocka D, Kurpisz M. Reactive oxygen species and sperm cells. 2004. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2{ 1-7
- Savitri FK, Suharyati S, Siswanto. 2014. Kualitas semen beku sapi bali dengan penambahan berbagai dosis vitamin C pada bahan pengencer skim kuning telur. *J. Ilmiah Peternakan Terpadu* 2(3): 30-36.
- Shen H-H, Lithgow T, Martin LL. 2013. Reconstitution of membran proteins into model membranes: seeking better ways to retain protein activities. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 1589-1607.
- Siregar TN, Hamdan. 2004. Evaluasi daya tahan hidup spermatozoa kambing peranakan etawah dalam beberapa pengencer sederhana. *Jurnal Sain Veteriner* 22(2): 60-64.
- Siahaan EA, Laksmi DNDI, Bebas W. 2012. Efektivitas penambahan berbagai konsentrasi β karoten terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa sapi bali post thawing. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(2): 239-251.

- Steel RGD, Torrie JH. 1990. Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik. Alih Bahasa Bambang Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sunarti, Saili T, Nafiu LO. 2016. Karakteristik spermatozoa sapi balisetelah sexing menggunakan metode kolom albumin dengan lama waktu sexing yang berbeda. *JITRO* 3(1): 65-76.
- Suyadi, Rachmawati A, Iswanto N. 2012. Pengaruh α -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethane kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 5oC. *Jurnal Ilmiah Ilmu Peternakan* 22(3): 1-8.
- Syahputra TMR, Ichwan M, Sufitni. 2019. Efek jus semangka terhadap jumlah dan motilitas Spermatozoa tikus wistar yang dipapari MSG. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara, Indonesia. *Healthcare: Jurnal Kesehatan* 8 (2): 43-50.
- Toelihere MR. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Cetakan 3. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Trias PAH. 2001. Kualitas sperma dan pengaruh bahan pengencer terhadap daya hidup spermatozoa domba lokal. *Buletin Pertanian dan Peternakan* 2(3):14-20.