

KUALITAS SPERMA SAPI ANGUS DALAM PENGECER CITRATE-KUNING TELUR YANG DITAMBAHKAN SARI BUAH TOMAT

(Sperm quality of angus bulls in citrate - egg yolk extender added tomato juice)

Valerianus Liviano Janggur¹, Thomas Mata Hine^{2*}, Petrus Kune²

¹Mahasiswa Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan,
Universitas Nusa Cendana

²Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana,
Jl. Adisucipto Penfui Kota Pos 104 Kupang 8500 Telp (038) 881580. Fax (0380) 881674

*Correspondent author, email: tomhin050566@gmail.com

ABSTRAK

Preservasi merupakan teknologi yang dikembangkan dalam upaya mempertahankan kualitas sperma dalam kurun waktu tertentu yang selanjutnya sperma tersebut digunakan untuk inseminasi buatan. Upaya yang dilakukan untuk mengurangi penurunan kualitas sperma selama preservasi adalah dengan mengencerkan sperma dengan bahan yang mengandung berbagai zat nutrisi yang dibutuhkan sperma untuk mempertahankan motilitas dan daya hidupnya selama penyimpanan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis dampak penambahan sari buah tomat (SBT) ke dalam pengencer citrate-kuning telur (CKT) terhadap kualitas sperma sapi angus. Satu ekor sapi angus jantan yang berumur tiga tahun ditampung spermanya dengan menggunakan vagina buatan, dan sperma yang berkualitas baik dipreservasi dalam pengencer CKT yang ditambahkan berbagai level SBT: 0, 1, 2, dan 3% untuk perlakuan P0, P1, P2 dan P3 secara berurutan. Pasca pengenceran, sperma disimpan di dalam kulkas dengan kisaran suhu 3-5°C. Kualitas sperma dievaluasi setiap 24 jam hingga motilitasnya menurun hingga 40%. Hasil penelitian hingga hari kelima penyimpanan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) pada variabel motilitas, viabilitas, dan daya tahan hidup sperma, namun tidak ada perbedaan yang signifikan pada variabel abnormalitas sperma ($P > 0,05$) antara perlakuan P2, P3 dengan kontrol. Perbandingan kualitas sperma pada perlakuan P3 vs. kontrol adalah sebagai berikut: motilitas (50,00 vs. 36,50 %), viabilitas (54,84 vs. 47,35%), abnormalitas (7,35 vs. 7,07%), dan daya tahan hidup (5,83 vs. 4,50 hari). Hasil penelitian menyimpulkan bahwa penambahan SBT sebanyak 2 - 3% dalam pengencer CKT mampu mempertahankan kualitas sperma sapi angus yang lebih baik dibandingkan perlakuan kontrol.

Kata-kata kunci: sari buah tomat, citrate, kuning telur, sperma, sapi angus

ABSTRACT

Preservation is a technology created to keep sperm quality over a specific time period, which is subsequently used for artificial insemination. Attempts have been made to reduce the loss of sperm quality during storage by diluting the sperm with materials containing various nutritional components required by sperm to preserve motility and vitality during storage. This study aimed to analyze the impact of adding tomato juice (TJ) to citrate-egg yolk (CEG) diluent on the sperm quality of Angus bulls. One three-year-old angus bull was collected using an artificial vagina, and good quality sperm was preserved in CEG diluent with various levels of TJ added: 0, 1, 2, and 3% for treatments P0, P1, P2, and P3 sequentially. After dilution, the sperm were stored in the refrigerator with a temperature range of 3-5°C. Sperm quality was evaluated every 24 hours until motility reaches 40%. The results of the study up to the fifth day of storage showed significant differences ($P < 0.05$) in the variables of sperm motility, viability, and survival, but there were no significant differences in the variable of sperm abnormalities ($P > 0.05$) between the P2 and P3 with control. The following sperm quality comparisons were made in the P3 vs. control treatment: motility (50.00 vs. 36.50%), viability (54.84 vs. 47.35%), abnormality (7.35 vs. 7.07%), and survival (5.83 vs. 4.50 days). The study concluded that adding 2-3% TJ in the CEG diluent could sustain the sperm quality of Angus bulls.

Keywords: tomato juice, citrate, egg yolk, sperm, angus bull

PENDAHULUAN

Preservasi sperma merupakan suatu metode yang dikembangkan untuk mempertahankan kualitas sperma dalam kurun waktu yang relatif panjang dengan cara memperlambat penurunan kualitasnya selama penyimpanan *in vitro*. Daya preservasi sperma sangat ditentukan oleh sejumlah faktor diantaranya adalah kualitas pengencer yang digunakan. Setiap pengencer sperma harus memenuhi syarat yakni mengandung zat-zat nutrisi yang dibutuhkan oleh sperma untuk mempertahankan daya hidup dan fertilitasnya, melindungi sperma terhadap kejutan dingin, mencegah pertumbuhan bakteri, menjaga kestabilan pH, serta mempertahankan tekanan osmotik yang sesuai dengan kebutuhan sperma (Hine *et al.*, 2014).

Salah satu bahan pengencer yang biasa digunakan adalah citrate-kuning telur (CKT). Natrium citrate merupakan penyangga yang mampu mempertahankan kestabilan pH pengencer, sedangkan kuning telur bermanfaat sebagai sumber energi dan lipoprotein yang dapat memberikan perlindungan terhadap sperma selama proses preservasi (Nalley dan Arifiantini, 2011; Berek *et al.*, 2020; Pubiandara *et al.*, 2016). Walaupun demikian, dalam kenyataannya, penggunaan citrate-kuning telur seringkali tidak dapat mempertahankan kualitas

sperma secara signifikan. Hal ini diduga sebagai akibat kurangnya unsur pelindung terhadap sperma berupa antioksidan yang berperan untuk menetralkan radikal bebas yang diproduksi secara berlebihan selama preservasi.

Dalam penelitian ini, sari buah tomat (SBT) ditambahkan ke dalam pengencer CKT. Kandungan nutrisi yang terdapat dalam buah tomat (*Solanum lycopersicum*) diantaranya vitamin C, lycopene, karbohidrat, protein, dan vitamin A. Buah tomat juga mengandung gula-gula pereduksi terutama glukosa dan fruktosa, mineral, vitamin dan lipid (Maulida dan Naufal, 2014). Lycopene, vitamin A dan C berperan berfungsi sebagai antioksidan, glukosa dan fruktosa berperan sebagai sumber energi, sedangkan protein dan lipid bermanfaat sebagai pelindung membran sperma (Varela *et al.*, 2019, Pytlik *et al.*, 2023). Kemampuan likopen pada tomat mampu menghambat radikal bebas 100 kali lebih efisien daripada vitamin E atau 12.500 kali dari pada glutathion. Ketersediaan buah tomat yang mudah di diperoleh menjadi salah satu keunggulan yang dimiliki oleh buah tomat untuk digunakan sebagai bahan pengencer. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan SBT ke dalam pengencer CKT terhadap kualitas sperma sapi angsu.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah semen yang dikoleksi dari satu ekor sapi angsu jantan dengan umur 3 tahun yang berada dalam kondisi sehat, dan sudah terlatih untuk penampungan semen.

Metode Penelitian

Penelitian dirancang dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan lima ulangan. Adapun perlakuan tersebut adalah level SBT di dalam pengencer CKT: 0, 1, 2, dan 3%.

Penyiapan Sari Buah Tomat

Buah tomat segar yang sudah matang dicuci dengan air kran, selanjutnya buah tomat tersebut dipotong menjadi potongan-potongan kecil dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Hasil blender tersebut di saring dengan menggunakan kain kasa, selanjutnya dimasukan

ke dalam tabung erlenmeyer 250ml dan biarkan mengendap. Cairan yang berada di bagian atas tabung (supernatan) dimasukkan ke dalam tabung baru dan siap digunakan untuk dicampur dengan bahan pengencer.

Penyiapan Larutan Citrate

Larutan citrate dibuat dari natrium citrate 2,9 g yang dicampurkan dengan aquadest 100 mL. Larutan tersebut dihomogenkan dengan cara menempatkan wadah yang berisi larutan di atas stirrer dan dilakukan pemutaran selama tiga menit. Setelah homogen larutan disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 3–8°C.

Penyiapan Kuning Telur

Telur ayam ras yang masih segar disterilkan dengan alkohol 70%, lalu bagian ujung telur yang lancip dipecahkan dengan menggunakan pinset steril, putih telur dikeluarkan, dan kuning telur yang masih

terbungkus dengan membrane vitelin ditempatkan di atas kertas saring untuk menyerap sisa putih telur. Membran vitelin selanjutnya disayat dengan menggunakan pisau steril dan kuning telur dialirkan ke dalam tabung ukur. Kuning telur telah siap untuk digunakan.

Pembuatan Pengencer CKT-SBT

Pengencer CKT dibuat dengan komposisi empat bagian larutan citrate dan satu bagian kuning telur. Ke dalam pengencer tersebut ditambahkan SBT sesuai perlakuan, dan selanjutnya dicampur hingga homogen dengan menggunakan batang gelas pengaduk. Ke dalam setiap mL pengencer tersebut ditambahkan penicillin 1.000 IU dan streptomycin 1.000 µg.

Penampungan dan Evaluasi Semen

Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan vagina buatan. Semen yang telah tertampung di dalam tabung sperma dinilai secara mikroskopis maupun makroskopis. Penilaian secara makroskopis meliputi: volume, warna, konsistensi, dan pH semen; sedangkan secara mikroskopis meliputi motilitas sperma baik secara individu maupun secara bersama-sama (gerakan massa), viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi sperma. Semen yang layak untuk dipreservasi adalah yang memiliki motilitas sperma paling sedikit 70 persen, abnormalitas sperma di bawah 20 persen, dan konsentrasi sperma di atas 500x10⁶ sel/mL.

Pengenceran dan Preservasi Sperma

Semen yang memenuhi syarat diencerkan dengan pengencer perlakuan: CKT (P0), CKT+SBT 1% (P1), CKT+SBT 2% (P2), CKT+SBT 3% (P3). Kadar pengenceran sperma adalah 10x10⁶ sperma/mL pengencer. Sperma yang telah diencerkan dibagi ke dalam beberapa tabung kecil dan disimpan di dalam lemari pendingin pada suhu 3-8oC. Evaluasi kualitas sperma dilakukan setiap 24 jam hingga persentase motilitasnya menurun hingga 40%.

Pengukuran Motilitas Sperma

Teteskan satu drop semen di atas object glass dan selanjutnya ditutup dengan cover

glass. Amati di bawah mikroskop pada delapan lapang pandang pada pembesaran 10x40. Pengukuran motilitas sperma dilakukan secara subyektif dengan membandingkan jumlah sperma yang bergerak progresif dengan total sperma (%).

Pengukuran Viabilitas Sperma

Teteskan satu tetes pewarna eosin-nigrosin di atas object glass, kemudian tambahkan satu tetes semen pada pewarna tersebut; campur pewarna dengan semen hingga homogen. Buat preparat ulas dengan menempelkan campuran tersebut pada ujung object glass yang baru, dan selanjutnya ujung object glass tersebut diulas pada permukaan object glass lain secara merata. Object glass ulasan tersebut dipanaskan di atas nyala api bunsen hingga kering. Lakukan pengamatan di bawah mikroskop pada pembesaran 10x40. Kepala sperma yang berwarna merah jingga adalah sperma mati, sedangkan kepala sperma yang tidak terwarnai adalah sperma hidup. Lakukan penghitungan hingga 200 sel sperma. Viabilitas sperma (%): membandingkan jumlah sperma yang hidup dengan total sperma.

Pengukuran Abnormalitas Sperma

Teknik pengukuran abnormalitas sperma sama dengan viabilitas sperma. Namun yang diamati pada pengukuran abnormalitas sperma adalah bentuk kelainan yang terdapat pada sperma baik pada bagian kepala maupun ekor. Abnormalitas sperma (%): perbandingan jumlah sperma yang abnormal dengan total sperma.

Pengukuran Daya Tahan Hidup Sperma

Daya tahan hidup sperma (hari): diukur berdasarkan lama sperma bertahan hidup di dalam penyimpanan, hingga persentase motilitasnya menurun hingga 40%.

Analisis Data

Analisis data penelitian dilakukan dengan menggunakan Anova dan dilanjutkan dengan Uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Sperma

Motilitas sangat penting untuk sperma karena hanya sperma yang memiliki motilitas progresif yang dapat membuahi sel telur

(Dongkot *et al.*, 2022). Rataan motilitas sperma sapi angus pada keempat perlakuan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Motilitas sperma (%) di dalam pengencer CKT yang ditambahkan berbagai level SBT

Hari ke-	P0	P1	P2	P3	P-value
0	78,50 ± 2,23 ^a	78,50 ± 2,23 ^a	78,50 ± 2,23 ^a	78,50 ± 2,23 ^a	1,000
1	73,00 ± 2,73 ^a	73,00 ± 2,73 ^a	74,00 ± 2,23 ^a	73,00 ± 2,73 ^a	0,907
2	64,00 ± 4,18 ^a	64,50 ± 4,47 ^a	68,00 ± 2,73 ^a	68,00 ± 2,73 ^a	0,187
3	54,00 ± 4,18 ^a	58,00 ± 4,47 ^{ab}	61,50 ± 4,18 ^b	60,50 ± 5,12 ^b	0,077
4	43,50 ± 4,18 ^a	50,00 ± 4,67 ^b	54,50 ± 3,70 ^b	54,00 ± 4,54 ^b	0,003
5	36,50 ± 4,18 ^a	42,00 ± 3,70 ^b	47,50 ± 2,50 ^c	50,00 ± 5,30 ^c	0,000
6	30,00 ± 3,06 ^a	33,50 ± 5,47 ^{ab}	39,50 ± 2,73 ^c	38,00 ± 1,11 ^{bc}	0,002

Superskrip dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh tidak signifikan ($P > 0,05$). CKT= citrate-kuning telur, SBT= sari buah tomat, P0= CKT, P1= CKT+SBT 1%, P2= CKT+SBT 2%, P3= CKT+SBT 3%.

Pengamatan hari ke-0 penyimpanan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan motilitas sperma yang signifikan ($P > 0,05$) karena persentase motilitas sperma masih sama dengan yang diamati pada semen segar (sebelum pengenceran). Hal ini dapat dimengerti mengingat pengamatan dilakukan segera setelah pengenceran sehingga efek akibat penambahan SBT belum dapat terlihat. Seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan, terlihat bahwa kecepatan penurunan motilitas sperma pada keempat perlakuan mulai terlihat perbedaannya. Sejak hari ketiga hingga hari kelima penyimpanan, perlakuan P2 dan P3 mengalami penurunan motilitas sperma yang lebih sedikit sehingga pada hari kelima penyimpanan kedua perlakuan tersebut memiliki motilitas sperma tertinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan P0 dan P1. Hal ini memberikan petunjuk bahwa dengan penambahan SBT sebesar 2-3% ke dalam pengencer SBT menghasilkan motilitas sperma yang lebih tinggi dibandingkan dengan level SBT 0-1%.

Lebih tingginya motilitas sperma pada perlakuan P2 dan P3 diduga disebabkan oleh adanya zat nutrisi dan antioksidan yang terkandung di dalam SBT. Sejumlah nutrisi yang terkandung di dalam buah tomat adalah vitamin C, lycopene, karbohidrat, protein, dan vitamin A. Buah tomat juga mengandung gula-gula pereduksi terutama glukosa dan fruktosa, mineral, vitamin dan lipid (Maulida dan Naufal, 2014). Lycopene, vitamin A dan C berperan berfungsi sebagai antioksidan, glukosa dan fruktosa berperan sebagai sumber energi, sedangkan protein dan lipid bermanfaat sebagai pelindung membran sperma (Varela *et al.*, 2019; Blaner *et al.*, 2021).

Keberadaan lycopene, vitamin A dan C di dalam SBT sangat bermanfaat sebagai antioksidan yang berperan dalam mengurangi efek negatif dari radikal bebas yang diproduksi

secara berlebihan selama penyimpanan sperma. Lycopene memiliki daya hambat radikal bebas yang jauh lebih tinggi daripada vitamin E dan glutathion. Keberadaan radikal bebas yang berlebihan dapat merusak struktur membran dan DNA sperma (Umar *et al.*, 2015; Shahverdi *et al.*, 2021), yang selanjutnya berakibat pada penurunan motilitas dan kelangsungan hidup sperma (Astuti, 2018).

Sari buah tomat juga mengandung karbohidrat yang dapat dijadikan sebagai sumber energi bagi sperma (Peris-Frau *et al.*, 2020; Sengupta *et al.*, 2020). Kandungan protein di dalam SBT berperan dalam melindungi sperma terhadap efek dingin yang terjadi selama penyimpanan (Varela *et al.*, 2019; Pytlik *et al.*, 2023).

Di sisi lain, hal yang teramati pada sperma selama penyimpanan adalah terjadinya penurunan motilitas secara gradual, dan ini terjadi pada semua perlakuan. Perbedaannya adalah terletak pada kecepatan penurunan motilitas di antara perlakuan tersebut. Beberapa penyebab terjadinya penurunan motilitas sperma selama penyimpanan adalah umur sperma yang semakin tua, kandungan nutrisi yang semakin menipis dan akumulasi asam laktat yang semakin tinggi.

Pada umumnya, sperma yang tertampung dalam satu ejakulasi memiliki umur yang berbeda-beda. Ketika terjadi ejakulasi atau penyemprotan sperma dari penis ke dalam vagina buatan pada saat penampungan, maka sperma-sperma yang berada di bagian cauda epididymis, vas deferens dan uretra penis akan terdorong masuk ke dalam tabung penampung sperma. Sperma yang berasal dari cauda epididymis berumur lebih muda daripada sperma yang berasal dari vas deferens dan uretra penis. Dengan demikian, sperma-sperma tua akan lebih cepat mengalami kematian dibandingkan dengan sperma-sperma muda. Kandungan nutrisi juga akan mempengaruhi

motilitas sperma. Seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan, ketersediaan nutrisi di dalam pengencer akan semakin menipis. Hal ini disebabkan karena selama penyimpanan, nutrisi yang tersedia di dalam pengencer digunakan oleh sperma untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya.

Keberadaan asam laktat yang semakin tinggi di dalam pengencer (Rosmaidar *et al.*, 2013) juga akan berdampak negatif terhadap motilitas sperma. Asam laktat diproduksi sebagai produk sampingan metabolisme sperma yang terjadi di dalam keadaan anaerob. Penyimpanan sperma di dalam tabung tertutup tanpa oksigen menyebabkan sperma melangsungkan metabolismenya secara anaerob yang umumnya terjadi di dalam sitoplasma sel. Dampak langsung dari metabolisme anaerob adalah menumpuknya asam laktat yang bersifat racun bagi sperma (Blegur *et al.* (2020) sebagai hasil sampingan metabolisme dan produksi energi yang jauh lebih rendah yakni hanya 2 ATP yang terbentuk dari 1 molekul glukosa. Kedua hal inilah yang turut berkontribusi negatif terhadap motilitas sperma.

Penurunan kualitas sperma selama preservasi juga disebabkan oleh banyaknya jumlah sperma yang mengalami kematian, dan sperma-sperma yang mati tersebut dapat meracuni sperma hidup dan motil. Terjadinya penurunan suhu penyimpanan juga turut mempengaruhi motilitas sperma. Penurunan suhu penyimpanan menyebabkan lemahnya

ikatan kovalen protein pada membran plasma, membran mitokondria dan sitoskeleton (Cordova-Izquierdo *et al.*, 2006).

Persentase motilitas terbaik hasil penelitian ini terdapat pada perlakuan P2 dan P3 dengan motilitas masing-masing 47,5 dan 50,0% pada hari ke lima penyimpanan. Hasil penelitian ini sedikit lebih rendah dari penelitian Meo *et al.* (2022), yang memperoleh motilitas 58% dengan penambahan SBT 7% ke dalam pengencer SKT. Walaupun demikian, kedua penelitian mengindikasikan bahwa penambahan SBT ke dalam pengencer SKT berdampak positif terhadap motilitas sperma sapi.

Viabilitas Sperma

Viabilitas adalah indikator lain dari kualitas sperma dan berhubungan erat dengan motilitas sperma. Umumnya viabilitas sperma selalu lebih tinggi daripada motilitas sperma. Hal ini disebabkan karena variabel viabilitas sperma menghitung semua sperma yang hidup yang terdiri atas sperma yang bergerak progresif, berberak sirkuler, dan bergerak di tempat, sedangkan yang tergolong variabel motilitas hanya sperma yang bergerak progresif. Dengan demikian, perhitungan variabel viabilitas dimaksudkan untuk mengontrol kesalahan yang mungkin terjadi pada saat evaluasi motilitas yang dilakukan secara subyektif. Viabilitas sperma ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Viabilitas sperma (%) di dalam pengencer CKT yang ditambahkan berbagai level SBT

Hari ke-	P0	P1	P2	P3	P-value
0	85,46 ± 2,36 ^a	85,70 ± 1,88 ^a	84,83 ± 1,53 ^a	84,46 ± 2,50 ^a	0,782
1	78,36 ± 2,29 ^a	78,76 ± 1,51 ^a	80,82 ± 1,06 ^a	79,28 ± 2,69 ^a	0,263
2	69,04 ± 3,14 ^a	72,47 ± 2,31 ^b	76,00 ± 2,04 ^c	75,43 ± 2,08 ^{bc}	0,001
3	59,92 ± 3,08 ^a	65,03 ± 3,53 ^b	69,22 ± 1,08 ^b	67,20 ± 4,45 ^b	0,002
4	53,50 ± 3,37 ^a	59,66 ± 2,64 ^b	63,00 ± 3,89 ^b	61,86 ± 4,82 ^b	0,005
5	47,35 ± 1,13 ^a	51,08 ± 3,15 ^{ab}	56,84 ± 2,41 ^c	54,84 ± 3,93 ^{bc}	0,00
6	38,48 ± 3,5 ^a	43,23 ± 3,70 ^b	50,41 ± 1,99 ^c	46,59 ± 1,48 ^b	0,00

Superskrip dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh tidak signifikan (P>0,05). CKT= citrate-kuning telur, SBT= sari buah tomat, P0= CKT, P1= CKT+SBT 1%, P2= CKT+SBT 2%, P3= CKT+SBT 3%.

Penambahan SBT ke dalam pengencer CKT tidak dapat meningkatkan viabilitas sperma (P>0,05) yang diamati pada hari ke-0 dan ke-1 penyimpanan. Namun sejak hari ke-2 penyimpanan terlihat perbedaan yang signifikan (P<0,05), dengan viabilitas tertinggi dihasilkan oleh perlakuan P2 dan P3 dibandingkan dengan perlakuan P0 dan P1 (P<0,05) yang teramati pada hari kelima penyimpanan (Tabel 2). Hal

ini semakin memperkuat kesimpulan tentang efek positif penambahan SBT ke dalam pengencer SKT. Data pada Tabel 2 juga menunjukkan bahwa kandungan nutrisi yang terkandung di dalam SBT selain mendukung motilitas sperma jg berperan dalam meningkatkan kelangsungan hidup sperma.

Menurut Rosmaidar *et al.* (2013), kandungan vitamin A dan C, serta lycopene

yang terdapat di dalam SBT berperan untuk meningkatkan laju metabolisme fruktosa untuk menghasilkan energi bagi sperma selama penyimpanan. Peningkatan laju metabolisme berkorelasi positif terhadap ketersediaan energi untuk kebutuhan sperma baik untuk mempertahankan daya hidup maupun motilitasnya. Selain itu, keberadaan ketiga senyawa tersebut di dalam SBT sangat bermanfaat untuk menetralkan radikal bebas yang diproduksi dari hasil sisa metabolisme sperma. Radikal bebas dapat merusak lipid pada membran plasma sperma, dimana kerusakan membran tersebut dapat mengganggu proses transportasi air, ion dan berbagai senyawa yang dibutuhkan oleh sperma untuk kelangsungan hidupnya.

Abnormalitas Sperma

Penilaian abnormalitas pada sel sperma sangat penting untuk menentukan apakah sperma yang dipreservasi masih layak digunakan untuk inseminasi buatan. Hal ini disebabkan sperma yang abnormal tidak mampu membuahi sel telur (Afiati *et al.*, 2015). Abnormalitas dapat terjadi di bagian kepala ataupun ekor sperma, dimana bentuk abnormalitas tersebut dapat terjadi sejak pembentukan sperma di dalam tubuli seminiferi testes, selama perjalanan ke epididimis, selama pematangan di epididimis, selama ejakulasi, ataupun terjadi pada saat perlakuan sperma pasca penampungan. Abnormalitas sperma ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Abnormalitas sperma (%) di dalam pengencer CKT yang ditambahkan berbagai level SBT

Hari ke-	P0	P1	P2	P3	P-value
0	5,83 ± 0,99 ^a	5,70 ± 1,03 ^a	5,82 ± 1,75 ^a	5,67 ± 1,06 ^a	0,996
1	6,23 ± 0,87 ^a	6,00 ± 0,99 ^a	5,88 ± 1,62 ^a	5,76 ± 1,07 ^a	0,931
2	6,27 ± 0,75 ^a	5,79 ± 0,61 ^a	5,81 ± 0,63 ^a	5,72 ± 1,09 ^a	0,694
3	6,61 ± 0,82 ^a	6,25 ± 0,47 ^a	6,41 ± 0,74 ^a	5,88 ± 1,15 ^a	0,576
4	6,80 ± 0,71 ^a	6,82 ± 0,67 ^a	6,66 ± 0,53 ^a	6,77 ± 0,81 ^a	0,985
5	7,07 ± 0,84 ^a	6,81 ± 0,71 ^a	7,03 ± 0,61 ^a	7,35 ± 0,93 ^a	0,748
6	6,92 ± 0,81 ^a	7,08 ± 0,49 ^a	7,22 ± 0,35 ^a	7,51 ± 0,93 ^a	0,592

Superskrip dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh tidak signifikan ($P > 0,05$). CKT= citrate-kuning telur, SBT= sari buah tomat, P0= CKT, P1= CKT+SBT 1%, P2= CKT+SBT 2%, P3= CKT+SBT 3%.

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa penambahan SBT ke dalam pengencer CKT berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas sperma yang diamati sejak hari ke-0 hingga kelima penyimpanan. Abnormalitas pada keempat perlakuan tergolong rendah yakni berkisar antara 6,81 hingga 7,35% pada hari kelima penyimpanan. Hal ini mengindikasikan bahwa semua perlakuan yang dirancang baik pada perlakuan CKT secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan SBT dapat mempertahankan tingkat abnormalitas yang rendah (berada di bawah 20%) dan memenuhi syarat digunakan untuk keperluan inseminasi buatan (Krisnaningsih (2017).

Nilai abnormalitas sperma pada semen segar sebelum pengenceran berada di bawah 6,00 %, namun setelah penyimpanan selama lima hari bertambah menjadi 7,35% pada perlakuan P3; sehingga mengalami pertambahan tingkat abnormalitas sekitar 1,50%. Adanya peningkatan abnormalitas sperma tersebut lebih banyak terjadi pada saat pembuatan preparat ulas untuk evaluasi viabilitas dan abnormalitas sperma. Pembuatan preparat

ulas melibatkan gesekan dua permukaan object glass sehingga dapat berakibat putus ekor sperma atau pemisahan antara kepala dan ekor sperma.

Peningkatan abnormal sperma juga dapat disebabkan oleh adanya kejutan dingin dan perubahan pH pengencer yang terjadi selama penyimpanan (Afiati *et al.*, 2015). Penurunan temperatur dari suhu kamar ke suhu 5oC dapat menyebabkan kerusakan pada struktur membran sel baik pada bagian kepala, leher, tengah maupun ekor sperma. Kerusakan membran sel pada bagian tengah sperma dapat menyebabkan terpisahnya ekor dari kepala sperma, sedangkan jika kerusakan tersebut terjadi bagian tengah ataupun ekor sperma menyebabkan ekor putus. Hal yang demikian juga terjadi ketika terjadi penurunan pH akibat penumpukan asam laktat. Faktor lainnya yang ikut berperan adalah umur sperma yang semakin tua menyebabkan peningkatan abnormalitas (Solihati, 2008).

Secara umum, bentuk abnormalitas sperma yang teramati adalah ekor putus, kepala tanpa ekor, adanya cytoplasmic droplet pada bagian leher, tengah atau ekor sperma. Ketiga

bentuk abnormalitas tersebut digolongkan sebagai abnormalitas sekunder yang terjadi setelah sperma meninggalkan tubuli seminiferi testes, sedangkan bentuk abnormalitas primer seperti kepala terlalu kecil atau terlalu besar, kepala ganda, dan ekor ganda tidak ditemukan baik pada semen segar maupun setelah penyimpanan *in vitro*.

Daya Tahan Hidup Sperma

Daya tahan hidup (DTH) menjadi salah satu variabel penting dalam evaluasi kualitas sperma. Semakin tinggi DTH semakin tinggi pula dayaguna sperma yang dipreservasi. Pengukuran DTH dilakukan dalam satuan hari berdasarkan lama sperma bertahan hidup hingga persentase motilitasnya menurun hingga 40% (Hine *et al.*, 2014). Daya tahan hidup sperma hasil penelitian di tampilan pada Gambar 1.

Gambar 1. Viabilitas sperma (%) di dalam pengencer CKT yang ditambahkan berbagai level SBT

Superskrip dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh tidak signifikan ($P > 0,05$). CKT= citrate-kuning telur, SBT= sari buah tomat, P0= CKT, P1= CKT+SBT 1%, P2= CKT+SBT 2%, P3= CKT+SBT 3%.

Daya tahan hidup sperma secara signifikan lebih tinggi pada perlakuan P2 dan P3 daripada P0 dan P1 ($P < 0,05$). Besaran peningkatan DTH pada perlakuan P2 dan P3 mencapai 1,33-1,44 hari dibandingkan perlakuan kontrol. Hal yang demikian juga terjadi pada perlakuan P1 dengan peningkatan DTH sebesar 0,74 hari. Tingginya DTH pada perlakuan P2 dan P3 berkaitan erat dengan persentase motilitas sperma yang lebih tinggi pada kedua perlakuan tersebut dibandingkan dengan P0 dan P1. Penyebab hal tersebut diduga disebabkan oleh adanya tambahan nutrisi dan antioksidan yang terkandung di dalam SBT seperti vitamin A, vitamin C, lycopene, karbohidrat dan protein. Senyawa-senyawa tersebut bermanfaat sebagai antioksidan, sumber energi dan perlindungan sperma terhadap kejutan dingin yang dialami sperma selama penyimpanan (Rosmaidar *et al.*, 2013).

Keberadaan karbohidrat seperti glukosa dan fruktosa berberan penting sebagai substrat untuk memproduksi energi dalam bentuk

adenosin trifosfat (ATP). Metabolisme satu molekul glukosa (Barbonetti *et al.*, 2010) dapat menghasilkan 2 molekul ATP dalam kondisi tanpa oksigen, atau 38 ATP dalam keadaan cukup oksigen. Penguraian ATP menjadi adenosin difosfat (ADP) dan adenosin monofosfat (AMP) akan terjadi ketika sel sperma membutuhkan energi untuk mempertahankan kelangsungan hidup dan motilitasnya. Dengan demikian bahan pengencer yang mengandung substrat energi yang lebih tinggi akan menghasilkan jumlah ATP yang lebih banyak pula.

Selain itu, keberadaan berbagai antioksidan seperti vitamin A, vitamin C, dan lycopene di dalam SBT turut memberikan kontribusi terhadap peningkatan DTH sperma melalui peranannya dalam menetralkan radikal bebas yang berpotensi merusak membran dan DNA sperma. Demikian pula dengan kandungan protein yang terdapat di dalam SBT sangat bermanfaat sebagai pelindung sperma selama penyimpanan pada suhu dingin.

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa penambahan sari buah tomat ke dalam pengencer citrate-kuning telur dapat menekan laju penurunan kualitas sperma selama penyimpanan *in vitro*. Perlakuan yang mendapat

penambahan sari buah tomat menghasilkan kualitas sperma yang lebih tinggi daripada perlakuan kontrol (tanpa penambahan sari buah tomat), dengan level sari buah tomat terbaik adalah 2-3%.

SIMPULAN

Penambahan sari buah tomat sebanyak 2 - 3% ke dalam pengencer citrate-kuning telur mampu mempertahankan kualitas sperma sapi

angus yang lebih baik dibandingkan perlakuan kontrol.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian maka disarankan dalam menggunakan pengencer citrate-kuning

telur untuk preservasi sperma sapi, perlu ditambahkan sari buah tomat sebanyak 2-3%.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati F, Yulnawati MR, Arifiantini RI. 2015. Abnormalitas sperma domba dengan frekuensi penampungan berbeda. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.* 1(4): 930–934. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010449>.
- Astuti ME. 2018. Pengaruh Penambahan Sari Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*) Sebagai Pengencer Alami Terhadap Kualitas Penyimpanan Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*). *Bionature* 18(2): 129–139. <https://doi.org/10.35580/bionature.v18i2.6144>.
- Barbonetti A, Vassallo MRC, Fortunato D, Francavilla S, Maccarrone M, Francavilla F. 2010. Energetic metabolism and human sperm motility: impact of CB1 receptor activation. *Endocrinology* 151(12): 5882–5892. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0484>.
- Barek ME, Hine TM, Nalley WM, Belli H. 2020. Pengaruh penambahan sari wortel dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas spermatozoa kambing bligon. *Jurnal Nukleus Peternakan* 7(2): 109–117. <http://ejurnal.undana.ac.id/nukleus/article/view/3152>.
- Blaner WS, Shmarakov IO, Traber MG. 2021. Vitamin A and Vitamin E: Will the real Antioxidant Please Stand Up? *Annual Review of Nutrition* 41:105-131.
- Blegur J, Nalley WM, Hine TM. 2020. Pengaruh penambahan virgin coconut oil dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali selama preservasi. *Jurnal Nukleus Peternakan* 7(2): 130–138.
- Cordova-Izquierdo A, Oliva JH, Lleo B, Garc'ia-Artiga C, Corcuera BD, Perez-Guti' errez JF. 2006. Effect of different thawing temperatures on the viability, *in vitro* fertilizing capacity and chromatin condensation of frozen boar semen packaged in 5 ml straws. *Animal Reproduction Science* 92: 145–154.
- Dongkot S, Marawali A, Hine TM, Nalley WM. 2022. Kualitas semen beku babi duroc dalam pengencer tris modifikasi dengan waktu ekuilibrasi yang berbeda. *Jurnal Nukleus Peternakan* 9(1): 73–84.
- Krisnaningsih ATN, Ama KT, Kusumawati ED. 2017. Kualitas spermatozoa semen sexingkambing peranakan etawa (pe) dengan metode sedimentasi putih telur menggunakan pengencer yang berbeda. *Jurnal Sains Peternakan* 5(1): 39–49. <https://doi.org/10.21067/jsp.v5i1.3136>.
- Hine TM, Burhanudin, Marawali A. 2014. Efektivitas air buah lontar dalam mempertahankan motilitas, viabilitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi bali. *Jurnal Veteriner* 15(2): 263-273.
- Maulida D, Naufal LC. 2014. Ekstraksi antioksidan (likopen) dari buah tomat dengan menggunakan solven campuran, n-heksana, aseton, dan etanol. *Skripsi, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro*, pp: 1-32.
- Meo MY, Telnoni SP, Dilak HI. 2022. Kualitas spermatozoa sapi angus (*Bos taurus*) dalam pengencer tris kuning telur dengan

- substitusi ekstrak sari buah tomat. *Flobamora Biological Journal* 1(1): 10–16.
<https://ejurnal.unisap.ac.id/index.php/biologicalJournal/article/view/167> .
- Nalley WMM, Arifiantini RI. 2011. The viability of local ram semen in tris buffer with three different egg yolks. *Animal Production* 13(1): 39–44.
- Peris-Frau P, Soler AJ, Iniesta-Cuerda M, Martín-Maestro A, Sánchez-Ajofrín I, Medina-Chávez DA, Fernández-Santos MR, García-Álvarez O, Maroto-Morales A, Montoro V, Garde JJ. 2020. Sperm Cryodamage in Ruminants: Understanding the Molecular Changes Induced by the Cryopreservation Process to Optimize Sperm Quality. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 2781; <https://doi.org/10.3390/ijms21082781> .
- Pubiandara S, Suharyati S, Hartono M. 2016. Pengaruh penambahan dosis rafinosa dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa sapi ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 4(4): 292-299.
<https://doi.org/10.23960/jipt.v4i4.139> .
- Pylik J, Codl R, Duchacek J, Savvulidi FG, Vrhel M, Stadnik L. 2023. Low density lipoprotein supplementation improves the quality of Holstein bulls insemination doses. *Czech Journal of Animal Science* 68 (2): 64-71.
<https://doi.org/10.17221/223/202-CJAS>.
- Rosmaidar, Dasrul, Lubis TM. 2013. Pengaruh penambahan sari buah tomat dalam media pengencer terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing boer yang disimpan pada suhu 3–5°C. *Jurnal Ilmiah Peternakan* 1(1): 7-17.
<http://jurnal.umuslim.ac.id/index.php/JIP/article/view/208/132>.
- Sengupta P, Durairajanayagam D, Agarwal A. 2020. Fuel/Energy Sources of Spermatozoa. In: S. J. Parekattil *et al.* (eds.), *Male Infertility*. Springer Nature Switzerland AG, <https://doi.org/10.1007/978-3-030-32300-426>
- Shahverdi A, Drevet JR, Alizadeh A, Ghaleño LR, Valojerdi MR. 2021. Oxidation of Sperm DNA and Male Infertility. *Antioxidants* 10, 97.
- Solihati N. 2008. Studi terhadap kualitas dan daya tahan hidup spermatozoa cauda epididimidis domba garut menggunakan berbagai jenis pengencer. *Proc. Seminar Nasional Teknologi Peternakan DanVeteriner, Puslitbang Peternakan, Bandung*. Pp: 401–408.
- Umar SH, Queljoe ED, Tendean L. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis (*garcinia mangostana* l.) terhadap kualitas spermatozoa wistar jantan (*rattus norvegicus*) yang diberi paparan suhu panas. *Jurnal E-Biomedik* 3(2): 670-675.
<https://doi.org/10.35790/ebm.3.2.2015.9415>.
- Varela E, Rojas M, Restrepo G. 2019. Membrane stability and mitochondrial activity of bovine sperm frozen with low-density lipoproteins and trehalose. *Reproduction in Domestic Animals* 55(2): 146-153.
<https://doi.org/10.1111/rda.13599>