

Kualitas Semen Cair Selama Proses Simpan Dingin Menggunakan Pengencer BTS, Tris Aminomethan dan Cep-3 Pada Babi Landrace

Wolfhardus Vinansius Feka^a, Trinil Susilawati^b, Nurul Isnain^b

^aFakultas Pertanian, Sains, dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu, TTU – NTT, Indonesia

^bFakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, Indonesia

*Correspondence Author: wolfhardusfeka@gmail.com

Article Info

Article history:
Received 12 Agustus 2023
Received in revised form 23 September 2023
Accepted 28 Oktober 2023

DOI:
<https://doi.org/10.32938/ja.v8i4.3901>

Keywords:
Semen Cair
Babi Landrace
BTS
CEP-3
Tris Aminomethane
Viabilitas

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas semen cair Babi Landrace menggunakan tiga jenis pengencer yang berbeda dan disimpan pada suhu 2-5°C. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian, Sains, dan Kesehatan, Universitas Timor, Kefamenanu dengan menggunakan bahan penelitian berupa tiga ekor pejantan Babi Landrace. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan tiga perlakuan, masing-masing dengan sepuluh ulangan. Perlakuan ini melibatkan pengencer P₀ (BTS), P₁ (CEP-3 + Kuning Telur 10%), dan P₂ (tris aminomethan + 20% kuning telur). Beberapa variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi viabilitas sperma dan abnormalitas sperma. Analisis data dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dan jika terdapat perbedaan nyata antara perlakuan, maka dilakukan uji jarak berganda (Duncan). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengencer P₀ (BTS) merupakan pengencer terbaik dibandingkan dengan pengencer P₁ (CEP-3 + Kuning Telur 10%) dan P₂ (tris aminomethan + 20% kuning telur). Pengencer P₀ (BTS) mampu mempertahankan kualitas semen cair Babi Landrace selama 48 jam dengan persentase di atas 40%, sementara P₁ dan P₂ hanya mampu mempertahankan kualitas semen hingga lama penyimpanan 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa pengencer BTS adalah pilihan terbaik untuk mempertahankan kualitas semen cair Babi Landrace dalam aplikasi Inseminasi Buatan (IB) pada kondisi penyimpanan suhu 2-5°C

1. Pendahuluan

Ternak babi merupakan salah satu komoditas peternakan yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan di daerah Timor. Hal ini disebabkan oleh karakteristik dan kemampuan unggul ternak babi, seperti pertumbuhan yang cepat, jumlah anak per kelahiran (litter size) yang tinggi, efisiensi ransum yang baik (75% - 80%), dan persentase karkas yang tinggi (65% - 80%) pada usia pemotongan 12 bulan (Aberle *et al.*, 2001).

Peningkatan produktivitas ternak di Indonesia dicapai melalui prinsip teknologi reproduksi ternak, terutama teknik Inseminasi Buatan (IB) untuk meningkatkan mutu genetika (Susilawati, 2013). Aplikasi IB memerlukan pengolahan air mani, baik dalam bentuk cair maupun beku (Rizal *et al.*, 2015). Penggunaan semen beku dalam teknologi IB sering menghadapi kendala, seperti keterbatasan nitrogen cair sebagai media penyimpanan. Selain itu, proses pembekuan air mani juga dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa dan perubahan seluler dalam sperma. Oleh karena itu, diperlukan zat dalam media pengencer yang dapat menjaga kualitas dan memberikan nutrisi bagi spermatozoa selama proses preservasi dan kriopreservasi (Devita *et al.*, 2014; Firdausi *et al.*, 2014).

Hafez (2008) menjelaskan bahwa pengencer air mani harus memenuhi kebutuhan vital spermatozoa seperti nutrisi, penyangga (buffer), krioprotektan, antibiotik, dan berbagai substrat lain dengan kadar yang tepat untuk mendukung kualitas spermatozoa. Nutrisi ini bisa berupa glukosa atau sukrosa, yang menyediakan sumber energi bagi spermatozoa. Pengencer yang baik harus mampu meminimalkan penurunan tingkat motilitas spermatozoa sehingga memperpanjang penyimpanan lama pasca pengenceran. Oleh karena itu, digunakan kombinasi pengencer seperti BTS, tris aminomethane, dan CEP-3 dengan penambahan kuning telur ayam.

Pengencer BTS banyak digunakan untuk semen babi karena harganya terjangkau dan memberikan hasil yang memuaskan. Penelitian sebelumnya (Roca *et al.*, 2006) menunjukkan bahwa pengencer BTS dengan penambahan kuning telur meningkatkan daya tahan spermatozoa babi selama penyimpanan. Penelitian Kadirvel *et al.* (2005) menunjukkan bahwa pengencer BTS dapat digunakan untuk semen babi dengan daya simpan hingga 4 hari pada suhu 17°C, dengan motilitas mencapai 64,43% pada hari ke-4. Penelitian lain oleh Kommissrud *et al.* (2002) menyatakan bahwa pengencer BTS dapat mempertahankan persentase motilitas spermatozoa hingga 79,8% selama 6 jam penyimpanan pada suhu 16 - 18°C.

Tris aminomethane adalah salah satu bahan pengencer semen yang sering digunakan, terutama ketika dikombinasikan dengan kuning telur. Penelitian yang dilakukan oleh Wiratri *et al.* (2014) menunjukkan bahwa kombinasi tris aminomethane dan kuning telur dapat menjaga kualitas semen sapi, termasuk motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa, karena mengandung komposisi yang lengkap. Tambing *et al.* (2009) juga mengungkapkan bahwa campuran tris dan kuning telur sebanyak 20% meningkatkan kualitas semen beku Kambing Saanen termasuk motilitas, persentase hidup spermatozoa, membran plasma yang utuh, dan tudung akrosom yang utuh. Komponen-komponen dalam tris aminomethane meliputi tris, asam sitrat, laktosa, fruktosa, raffinosa, antibiotik, dan aquades. Setiap komponen memainkan peran penting, seperti gula (fruktosa, laktosa, rafinosa, trehalosa, sorbitol) sebagai sumber energi untuk spermatozoa, antibiotik untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri dalam pengencer, dan tris serta asam sitrat sebagai penyangga atau buffer.

Selain tris aminomethane, pengencer air mani lain yang semakin populer adalah Caudal Epididimis Plasma (CEP). Komposisi ion dan osmolaritas dalam CEP hampir mirip dengan cairan seminalis di cauda epididymis, sehingga mendukung kehidupan spermatozoa. Penelitian Ducha *et al.* (2012) menunjukkan bahwa pengencer CEP-2 dengan campuran kuning telur 10% dapat mempertahankan kualitas spermatozoa, mengurangi kerusakan membran sel, dan mempertahankan motilitas spermatozoa. CEP-3 adalah modifikasi dari CEP-2 yang mencakup penggunaan 0,4% albumin untuk menggantikan BSA dan penambahan kuning telur sebanyak 10%. Penggunaan 0,4% putih telur terbukti dapat menggantikan BSA dalam pengencer CEP-2 untuk menyimpan air mani cair pada suhu 3-5°C, dengan memperhatikan persentase motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa.

Namun, dalam konteks Babi Landrace di NTT, penggunaan pengencer BTS, tris aminomethane, dan CEP-3 dengan penambahan kuning telur belum umum dilakukan atau diketahui masyarakat. Oleh karena itu, penelitian kualitas semen cair selama penyimpanan dingin menggunakan pengencer yang berbeda pada Babi Landrace dianggap penting.

2. Metode

2.1 Lokasi

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Pertanian, Sains, dan Kesehatan, Universitas Timor, Kecamatan Kota Kefamenanu, Kabupaten Timor Tengah Utara, Provinsi Nusa Tenggara Timur.

2.2 Materi Penelitian

2.2.1 Ternak

Ternak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 3 ekor ternak pejantan Babi Landrace dengan umur 3 tahun (penghasil semen dengan motilitas >70%).

2.2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung penampung semen, kain kasa pemisah gelatin dengan fraksi spermatozoa, dummy, timbangan, aluminium foil, tabung erlenmeyer, tabung perlakuan, pipet, tabung ukur, kertas label, gelas piala, gelas ukur, pipet, kertas saring, kapas, mikroskop, obyek glass dan penutup, kertas pH, *hemacyometer*, hand counter, dan alat tulis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen Babi Landrace, BTS, kuning telur, CEP-3, tris aminomethan, aquades, eosin-negrosin, alkohol, dan antibiotic (*penisillin dan streptomisin*).

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Tahap Persiapan

Persiapan awal yang dilakukan adalah pemilihan ternak pejantan untuk diambil spermatozoa, alat, dan bahan dalam mempermudah proses penelitian.

2.3.2 Tahap Pelaksanaan

A. Proses Persiapan Pengencer

Langkah-langkah persiapan pengencer semen menggunakan BTS, CEP-3, sitrat kuning telur dengan penambahan kuning telur yaitu:

1. Penyediaan Kuning Telur

Telur yang digunakan adalah telur ayam kampung, kemudian telur dibersihkan dan dicuci dengan alkohol, dikupas sedikit kerabang bagian atas kemudian dibuang putihnya. Kuning telur diletakan diatas kertas saring untuk menghilangkan selaput putih sisa, setelah disaring kuning telur diaduk sampai rata kemudian diambil berdasarkan keperluan.

2. Penyediaan BTS

Bahan pengencer dasar yang digunakan adalah pengencer siap pakai BTS®. Pembuatan pengencer diawali dengan penimbangan 5 g serbuk BTS dan dimasukkan ke dalam gelas erlemeyer, tambahkan aquabides 100 ml kemudian homogenkan campuran tersebut selama 5 menit hingga homogen, dan disimpan pada waterbath suhu 37°C digunakan setelah semen ditampung.

3. Penyediaan Tris Aminomethane

Proses dimulai dengan mencampurkan tris aminomethane, asam sitrat, laktosa, dan fruktosa dalam sebuah tabung erlenmeyer kemudian ditambahkan 80 ml aquades ke dalam campuran ini, dan selanjutnya diaduk menggunakan pengaduk selama 15 menit hingga mencapai homogenitas. Campuran ini kemudian dipindahkan ke dalam panci dan dipanaskan hingga mendidih, lalu suhunya dikurangi hingga mencapai 37°C. Setelah mencapai suhu yang sesuai, antibiotik berupa penisilin dan streptomisin ditambahkan ke dalam campuran, lalu dihomogenkan selama 15 menit. Campuran ini kemudian ditempatkan dalam lemari pendingin hingga mencapai hari ketiga. Pada hari ke-3, campuran tersebut dipisahkan menjadi dua bagian, yaitu supernatan (bagian cair di atas) dan endapan (bagian padat di bawah). Hasil supernatan ini siap digunakan untuk langkah selanjutnya (Susilawati, 2011).

4. Penyediaan CEP-3

Dilakukan pencampuran bahan-bahan sebagai berikut NaCl 0,887 g, KCl 0,522 g, CaCl₂(H₂O)₂ 0,441 g, MgCl₂(H₂O)₆ 0,813 g, NaHCO₃ 0,999 g, NaH₂PO₄ 1,104 g, KH₂PO₄ 2,722 g, Fruktosa 9,91 g, Sorbitol 1 g, Tris 16,196 g, gentamicin-S 0,05 g/L, lalu ditambahkan kuning telur 10%, albumin 0,4% dan, asam sitrat 8,198 g dan 1.000 ml aquabidest. Pengencer yang sudah jadi ditempatkan dalam tabung reaksi sampai mencapai pH 6,6.

B. Proses Penampungan dan Pemeriksaan Semen

1. Proses Penampungan

Proses penampungan semen babi dalam penelitian ini menggunakan dummy (induk buatan). Ternak pejantan yang digunakan sebagai penghasil spermatozoa merupakan ternak pejantan yang telah dilatih. Proses penampungan semen babi dilakukan sesuai dengan teknik yang benar, yaitu memegang penis dengan tiga jari tangan dengan kuat agar tidak terlepas.

Berikut adalah langkah-langkah penampungan semen babi:

1. Ternak jantan diarahkan dari kandang menuju ruang penampung semen.
2. Setelah ternak jantan berada di dalam ruang penampung semen, dia diarahkan menuju dummy (induk buatan), atau ternak jantan secara alami akan menaiki dummy tersebut.
3. Apabila pejantan menaiki dummy, maka dilakukan rangsangan pada tubuhnya, terutama pada daerah skrotum dan penis, dengan menggunakan teknik pijat hingga keluar penis.
4. Penis yang keluar dipegang dan ditarik secara perlahan-lahan.
5. Penis dipegang dengan kuat agar tidak terlepas, sementara itu dilakukan rangsangan pada ujung penis menggunakan jari kelingking.
6. Gelas tampung Ditempatkan dekat ujung penis saat terjadi ereksi, karena pada saat itu ternak akan tegang dan mengeluarkan spermatozoa.
7. Proses penampungan air mani berlangsung selama 7-10 menit, menghasilkan air mani sebanyak 200-300 cc dalam satu ejakulasi.
8. Setelah penampungan semen selesai, semen segera dibawa ke laboratorium untuk pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis, dan hasilnya dicatat dalam buku agenda.

2. Pemeriksaan Semen

Pemeriksaan semen tahap awal untuk melihat semen secara keseluruhan sebelum pengenceran yaitu evaluasi secara makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi, dan pH. Pemeriksaan secara mikroskopis meliputi motilitas, viabilitas, total spermatozoa motil, integritas membrane, abnormalitas (Susilawati, 2013).

Pemeriksaan secara makroskopis (Susilawati, 2013):

- a. Volume
Volume semen yng trtampung dapat dibaca langsung pada tabung penampung yang berskala.
- b. Warna
Warna semen dipriksa dengan pengamatan secara langsung sesaat setelah penampungan.
- c. Bau

Bau semen diperiksa dengan cara mencium bau khas semen pada tabung penampung setelah penampungan.

- d. Konsistensi
Konsistensi atau derajat kekentalan diperiksa dengan menggoyangkan tabung yang berisi semen secara perlahan-lahan dan hati-hati sehingga terlihat gerakan permukaan semen di dalam tabung. Pemeriksaan dilakukan segera setelah penampungan.
- e. pH
pengukuran pH semen dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus setelah penampungan dan dicocokkan dengan standar yang ada.

Pemeriksaan secara mikroskopis:

- a. Viabilitas
Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan teknik pembuatan preparat ulas eosin-negrosin. Prosedur ini melibatkan langkah-langkah berikut:
 1. Teteskan satu tetes semen di atas kaca objek.
 2. Tambahkan satu tetes pewarna eosin-negrosin ke tetes semen yang telah ditempatkan pada objek kaca.
 3. Dengan menggunakan objek kaca lain, tarikannya ke arah yang berlawanan, membentuk sudut sekitar 45 derajat.
 4. Siapkan ulas yang terbentuk kemudian dikeringkan.Setelah persiapan ulas dibuat, selanjutnya pengukuran dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Penghitungan viabilitas dilakukan dengan cara identifikasi spermatozoa yang hidup, yaitu spermatozoa yang tidak menyerap warna, dan spermatozoa yang mati, yaitu spermatozoa yang menyerap warna (Shukla, 2011; Susilawati, 2011).

$$Viabilitas = \frac{Jumlah\ Spermatozoa\ Hidup \times 100\%}{Total\ Spermatozoa}$$

- b. Abnormalitas Spermatozoa
Pengamatan abnormalitas dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin-negrosin dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan abnormalitas dilihat dari spermatozoa yang mempunyai bentuk abnormal seperti ekor putus, tidak ada kepala spermatozoa, ekor menggulung dan adanya bentuk kepala yang tidak normal. Penghitungan dilakukan dengan cara mengamati jumlah spermatozoa yang abnormal dari total jumlah spermatozoa yang diamati (Shukla, 2011; Susilawati, 2011).

$$Abnormalitas = \frac{Jumlah\ Spermatozoa\ Abnormal \times 100\%}{Total\ Spermatozoa}$$

- c. Proses Pengenceran
Proses pengenceran semen dilakukan setelah memenuhi persyaratan layak diproses lebih lanjut dengan kriteria gerakan massa: (++) dan (+++), gerakan individual : $\geq 70\%$, konsentrasi : $\geq 1,5 \times 10^6/ml$ spermatozoa, spermatozoa hidup : $\geq 70\%$, dan spermatozoa abnormal $\leq 20\%$ (Susilawati, 2011). Setelah pemeriksaan semen yang layak digunakan dalam penelitian, kemudian diberikan perlakuan pengencer yaitu BTS (kontrol), CEP-3, dan tris animomethane ditambah dengan kuning telur. Masing-masing bahan pengencer diisi dalam tabung yang sudah diberi label, dituangkan kedalam tabung yang terisi semen secara perlahan-lahan lewat dinding tabung setelah pencampuran homogen semen segera disimpan pada refrigerator pada suhu 2-5°C.
- d. Evaluasi Semen Setelah Penyimpanan Dingin
Evaluasi semen setelah perlakuan pengenceran yaitu melihat semen secara mikroskopis. Pengamatan spermatozoa menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10 x 40. Semen akan dievaluasi setiap 6 jam per sampel setelah penyimpanan selama 24 jam.
Parameter yang diamati yaitu:
 1. Motilitas (Individu)
 2. Viabilitas
 3. Abnormalitas

2.4 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan dan 10 ulangan sehingga terdapat 30-unit percobaan. Perlakuan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. BTS (Kontrol)
2. Tris Aminomethan + Kuning Telur 20%
3. CEP-3 + Kuning Telur 10%

2.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti dalam penelitian ini adalah kualitas spermatozoa. Parameter yang diukur untuk kualitas spermatozoa adalah presentasi motilitas individu, viabilitas, dan abnormalitas.

2.6 Analisis Data

Semua data dianalisa menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) apabila terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan uji Duncan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Kualitas Semen Segar Babi Landrace

Untuk penelitian ini, kualitas semen segar harus memenuhi persyaratan tertentu. Semen babi yang digunakan diambil dari tiga ekor Babi Landrace yang berumur 3 tahun. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis untuk memeriksa kualitas semen.

Pemeriksaan makroskopis mencakup evaluasi terhadap volume semen, warna, pH, dan konsistensi. Hasil yang memenuhi syarat adalah semen yang memiliki ciri-ciri sebagai berikut:

- Warna berupa putih hitam (awan gelap).
- pH semen sekitar 7,0.

- Konsistensi semen yang sesuai.

Pemeriksaan mikroskopis mencakup evaluasi terhadap motilitas massa (gerakan kolektif sperma), motilitas individu (gerakan sperma perseorangan), abnormalitas sperma, dan konsentrasi spermatozoa. Kualitas semen yang dapat digunakan untuk penelitian adalah yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

- Motilitas massa yang baik (ditandai dengan ++).
- Motilitas individu setidaknya sebanyak 74% atau lebih.
- Kurangnya kelainan sperma yang signifikan.
- Konsentrasi spermatozoa yang memadai.

Hasil evaluasi semen segar yang memenuhi kriteria tersebut dapat dilihat pada [Tabel 1](#).

Tabel 1. Karakteristik Semen Segar Babi Landrace

Warna	Putih kekuningan
Bau	Khas
Konsistensi	Cair
pH	7.0 ± 0.0
Volume (ml)	221 ± 25.14
Konsentrasi (10 ⁶ /ml)	188 ± 53.01
Motilitas massa	++
Motilitas Individu (%)	74 ± 2.10

Pemeriksaan kualitas semen segar yang dilakukan segera setelah penampungan adalah tahap penting dalam penelitian. [Tabel 1](#) menunjukkan hasil pemeriksaan makroskopis semen segar dari Babi Landrace dalam penelitian ini. Rata-rata volume semen segar yang dihasilkan adalah 221 ± 25,14 ml per ejakulat, dengan rentang antara 190 hingga 260 ml. Hasil ini berada dalam kisaran normal, sejalan dengan temuan [Sumardani *et al.*, \(2008\)](#) yang menyatakan bahwa volume air mani segar babi berkisar antara 150-250 ml per ejakulasi. Pengukuran volume air mani segar dilakukan dengan melihat skala pada tabung yang digunakan.

Pengamatan terhadap warna dan bau semen segar babi dilakukan saat penampungan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semen segar Babi Landrace memiliki warna putih kegelapan (krem) dan memiliki bau yang khas. Warna dan bau semen segar ini menunjukkan bahwa kondisinya baik, tanpa kontaminasi oleh darah, nanah, urin atau zat kontaminan lainnya. Derajat keasaman atau pH semen Babi Landrace selama penelitian adalah rata-rata 7.0 ± 0,0, dengan konsistensi cair. Semen segar dengan pH sekitar 7 dapat dianggap normal, sesuai dengan yang disebutkan oleh [Garner dan Hafez \(2008\)](#), bahwa rata-rata pH air mani yang normal berada dalam rentang 6,8-7,8.

Hasil pengamatan pada motilitas massa (pergerakan kolektif sperma) menunjukkan tingkat ++. Motilitas massa sperma dibagi menjadi tiga golongan, yaitu pergerakan massa seperti awan tebal dan bergerak cepat (+++), pergerakan massa seperti awan tebal dan bergerak agak lambat (++), dan pergerakan sperma seperti awan tipis dan bergerak lambat (+). Hasil rata-rata motilitas massa dari penelitian menunjukkan tingkat pergerakan spermatozoa yang sedang.

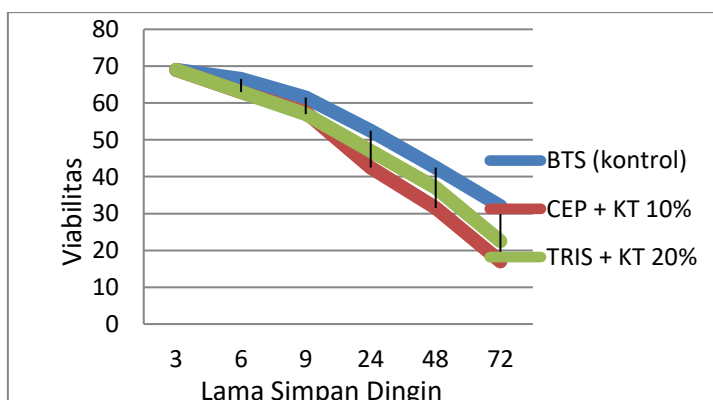
Dalam uji mikroskopis, kualitas semen cair Babi Landrace menghasilkan rata-rata motilitas individu sebesar 74 ± 2,10%. Persentase motilitas individu ini termasuk dalam kategori normal (50-80%) menurut [Garner dan Hafez \(2000\)](#). Motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti usia, genetika, jenis hewan, lingkungan, dan pakan. Tingkat motilitas yang tinggi pada penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan daya tahan spermatozoa selama proses penyimpanan. Rataan konsentrasi spermatozoa segar yang diperoleh adalah 188±53.01 (10⁶/ml), yang sesuai dengan temuan sebelumnya seperti [Sumardani \(2008\)](#), [Johnson *et al.* \(2000\)](#), [Gadea \(2003\)](#), dan [Robert \(2006\)](#) yang menghasilkan konsentrasi yang serupa.

3.2 Kualitas Spermatozoa Setelah Penyimpanan Dingin Menggunakan Pengencer BTS (Kontrol), Tris Aminomethane, dan CEP-3 Dengan Penambahan Kuning Telur Pada Suhu 2-5°C

3.2.1 Persentase Viabilitas Spermatozoa

Persentase spermatozoa hidup (viabilitas) diuji dengan pewarnaan eosin negrosin. Spermatozoa yang mati ditandai dengan kepala spermatozoa yang menyerap warna sedangkan spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepala spermatozoa transparan yang berarti spermatozoa tidak menyerap warna.

Persentase viabilitas akan mengalami penurunan selama penyimpanan. Pola penurunan persentase viabilitas semen cair Babi Landrace menggunakan pengencer BTS, Tris Aminomethane + KT 20%, dan CEP +KT 10% selama penyimpanan pada suhu 2-5°C dapat dilihat pada [Gambar 1](#).



Gambar 1. Rataan Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Dingin Menggunakan Pengencer yang Berbeda

Gambar di atas memperlihatkan bahwa pengaruh lama simpan terhadap viabilitas spermatozoa pada pengencer BTS (kontrol), Tris Aminomethane ditambah kuning telur 20%, dan CEP-3 ditambah kuning telur 10% akan mengalami penurunan setelah penyimpanan. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada [Tabel 2](#).

Tabel 2. Rataan Persentase Viabilitas (%) Spermatozoa Setelah Penyimpanan Dingin Menggunakan Pengencer yang Berbeda Pada Suhu 2-5°C

Jam	Perlakuan	Viabilitas Spermatozoa (%)
3	P ₀	84.65 ± 2.38 ^b
	P ₁	83.61 ± 1.8 ^a
	P ₂	83.59 ± 2.05 ^a
6	P ₀	78.52 ± 3.24 ^b
	P ₁	76.03 ± 2.07 ^a
	P ₂	76.74 ± 2.06 ^a
9	P ₀	74.3 ± 3.77 ^b
	P ₁	66.66 ± 2.32 ^a
	P ₂	68.45 ± 1.5 ^a
24	P ₀	65.28 ± 2.18 ^c
	P ₁	54.06 ± 2.45 ^a
	P ₂	58.95 ± 2.72 ^b
48	P ₀	53.91 ± 2.97 ^c
	P ₁	40.97 ± 2.07 ^a
	P ₂	48.17 ± 2.84 ^b
72	P ₀	42.95 ± 2.53 ^c
	P ₁	29.63 ± 1.7 ^a
	P ₂	34.87 ± 2.83 ^b

Keterangan:

1. P₀: BTS (Kontrol), P₁: (CEP-3 + KT 10%), P₂: (Tris Aminomethan + KT 20%)
2. Notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Dari Tabel 2, menunjukkan bahwa jenis pengencer berpengaruh nyata terhadap viabilitas spermatozoa Babi Landrace, baik pada lama simpan dingin jam ke 3, 6, 9, 24, 48 maupun jam ke 72. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa rata-rata nilai viabilitas spermatozoa pada lama penyimpanan jam ke 3, jam ke 6 dan jam ke 9 perlakuan P₀ (kontrol) masing-masing dengan nilai 84,65%, 78,52%, 74,3% memberikan pengaruh nyata (P<0,05) terhadap P₁ masing-masing dengan nilai 83,61%, 76,03%, 66,66%, dan P₂ masing-masing sebesar 83,59%, 76,74%, 68,45%. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi pengencer P₁ dan P₂ memiliki kemampuan yang sama dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa.

Hasil Uji Duncan menunjukkan bahwa persentase nilai viabilitas pada lama simpan jam ke 24, jam ke 48, dan ke 72 pada perlakuan P₀ (kontrol) masing-masing sebesar 65,28%, 53,91%, dan 42,95% berbeda nyata (P<0,05) terhadap P₁ masing-masing dengan nilai 54,06%, 40,97%, 29,63%, dan P₂ dengan nilai 58,95%, 48,17%, 34,87%. Namun, pada perlakuan P₁ dan P₂ menunjukkan bahwa perlakuan P₂ (Tris Aminomethane + KT 20%) menghasilkan nilai persentase lebih tinggi dibandingkan perlakuan P₁ (CEP-3 + KT 10%).

Penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan oleh meningkatnya jumlah spermatozoa rusak dan mati akibat kekurangan energi (Solihati *et al.*, 2008). Viabilitas akan menurun akibat suhu dingin selama penyimpanan, ketersediaan energi dalam pengencer semakin berkurang, dan menurunnya pH karena terjadi peningkatan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa dan adanya kerusakan membran plasma. Penggunaan kuning telur dalam pengencer Tris Aminomethane dan CEP-3 mampu melindungi spermatozoa dari *cold shock* akibat penyimpanan dingin, sehingga pengencer Tris Aminomethane + KT 20% dan CEP-3 + KT 10% mempunyai kemampuan yang tidak jauh berbeda untuk mempertahankan viabilitas dalam penyimpanan refrigerator. Sedangkan pada lama waktu penyimpanan menunjukkan bahwa semakin lama semen disimpan maka terjadi penurunan viabilitas spermatozoa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama semen cair disimpan pada suhu 2-5°C, maka akan terjadi penurunan motilitas spermatozoa secara proporsional. Temuan ini sejalan dengan penelitian Solihati *et al.* (2008), yang menyatakan bahwa persentase viabilitas spermatozoa akan menurun akibat suhu dingin. Semakin lama penyimpanan berlangsung, maka asam laktat hasil metabolisme spermatozoa akan meningkat, yang dapat menyebabkan penurunan pH air mani. Selain itu, kerusakan membran plasma dan akrosom juga dapat terjadi, dan ketersediaan energi dalam pengencer akan semakin berkurang.

Penelitian Rizal (2009) juga mendukung temuan ini, yang menyatakan bahwa semakin lama semen disimpan, maka ketersediaan nutrisi dalam medium semen akan semakin berkurang, sehingga viabilitas spermatozoa akan menurun. Viabilitas spermatozoa tergantung pada keutuhan membran spermatozoa. Metabolisme sperma berjalan dengan baik jika membran plasma sel tetap utuh. Penurunan viabilitas selama penyimpanan hingga 72 jam dapat disebabkan oleh berkurangnya energi yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidup dan motilitas sperma. Selain itu, Sumardani *et al.*, (2008) menyatakan bahwa penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk motilitas dan konsentrasi spermatozoa serta derajat keasaman (pH). Proses pembekuan semen juga dapat menyebabkan stres fisik dan kimia pada membran sel, yang pada akhirnya dapat mengakibatkan penurunan viabilitas spermatozoa (Susilawati, 2011).

3.2.2 Persentase Abnormalitas Spermatozoa

Spermatozoa yang memiliki morfologi yang normal merupakan syarat bagi terjadinya fertilisasi. Menurut Rizal dan Herdis (2008), abnormalitas digolongkan menjadi dua yaitu abnormalitas primer sebagai ketidaknormalan bentuk karena proses spermatogenesis dan abnormalitas sekunder sebagai ketidaknormalan atau kerusakan yang disebabkan saat penampungan atau pemeriksaan semen. Abnormalitas primer biasanya dijumpai bentuk spermatozoa dengan kepala kecil atau besar, kepala lebih dari satu atau ekor lebih dari satu sementara abnormalitas sekunder umumnya dijumpai bentuk spermatozoa tanpa kepala atau ekor. Pola persentase abnormalitas spermatozoa semen cair pada pengencer yang berbeda yaitu BTS, Tris Aminomethane + KT 20%, dan CEP-3 + KT 10% selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 2.

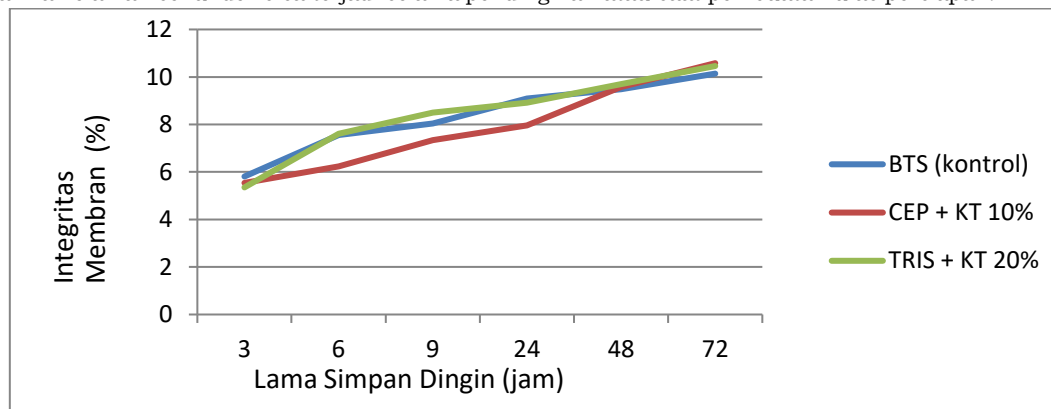
Rataan persentase abnormalitas spermatozoa semen cair Babi Landrace yang diencerkan menggunakan pengencer BTS, Tris Aminomethane + KT 20%, dan CEP-3 + KT 10% yang disimpan pada suhu 2-5°C dapat dilihat pada Tabel 3.

Berdasarkan hasil Uji Duncan, ditemukan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa pada Babi Landrace pada lama penyimpanan jam ke 3, 48, dan 72 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan P₀ (kontrol), P₁, dan P₂. Namun pada jam ke 6, 9, dan 24, perlakuan P₀ (kontrol) menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan perlakuan P₁, sedangkan perlakuan P₂ tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan P₀. Hal ini menunjukkan bahwa kehadiran albumin putih telur yang

menggantikan BSA pada pengencer CEP-3 + KT 10% dan penghilangan raffinosa pada pengencer tris aminomethane + KT 20% tampaknya dapat melindungi sperma normal hingga 72 jam penyimpanan.

Pada lama penyimpanan 72 jam, persentase abnormal pada pengencer P₀ (kontrol), P₁, dan P₂ masing-masing adalah 10,14%, 10,46%, dan 10,58%. Persentase abnormalitas tersebut masih dapat dianggap baik, sejalan dengan pendapat Ax *et al.*, (2008) yang menyatakan bahwa semen dengan kelainan lebih dari 20% tidak dapat digunakan untuk Inseminasi Buatan (IB). Morfologi spermatozoa memiliki korelasi positif dengan fertilitas, sehingga air mani dengan abnormalitas sperma sekitar 20% atau lebih biasanya memiliki kualitas yang diragukan (Susilawati, 2011).

Penurunan persentase abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan yang semakin lama sejalan dengan temuan Devita *et al.* (2014), yang menyatakan bahwa lamanya penyimpanan juga berpengaruh pada jumlah spermatozoa yang mengalami kelainan. Penurunan abnormalitas dapat disebabkan oleh proses pendinginan semen, seperti yang dijelaskan oleh Susilawati *et al.* (2016), yang menyebutkan bahwa kelainan sekunder bisa terjadi selama pendinginan atau saat pembuatan ulas persiapan.



Gambar 2. Rataan Persentase Abnormalitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Dingin Pada Suhu 2-5°C Menggunakan Pengencer yang Berbeda

Tabel 3. Rataan Persentase Abnormalitas Spermatozoa Babi Landrace Menggunakan Pengencer yang Berbeda pada Suhu 2-5°C

Jam	Perlakuan	Abnormalitas Spermatozoa (%)
3	P ₀	5.81 ± 0.5
	P ₁	5.54 ± 0.51
	P ₂	5.35 ± 0.7
6	P ₀	7.56 ± 0.59 ^b
	P ₁	6.24 ± 0.25 ^a
	P ₂	7.61 ± 0.56 ^b
9	P ₀	8.04 ± 1.03 ^b
	P ₁	7.34 ± 0.33 ^a
	P ₂	8.5 ± 0.38 ^b
24	P ₀	9.09 ± 0.49 ^b
	P ₁	7.96 ± 0.46 ^a
	P ₂	8.92 ± 0.55 ^b
48	P ₀	9.48 ± 0.63
	P ₁	9.58 ± 0.57
	P ₂	9.7 ± 0.66
72	P ₀	10.14 ± 0.75
	P ₁	10.58 ± 0.55
	P ₂	10.46 ± 0.58

Keterangan:

1. P₀: BTS (Kontrol), P₁: CEP-3 + KT 10%, P₂: Tris Aminomethan + KT 20%
2. Notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa: Pengencer terbaik dalam mempertahankan kualitas semen cair Babi Landrace pada suhu 2-5°C adalah pengencer BTS (kontrol) yang memiliki persentase motilitas tertinggi dibandingkan pengencer Tris Aminomethan + 20% kuning telur dan CEP-3 + 10% kuning telur. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pengencer BTS dapat disimpan selama 48 jam sedangkan pengencer Tris Aminomethane + KT 20% dan pengencer CEP-3 + KT 10% dapat disimpan selama 24 jam dengan persentase motilitas spermatozoa minimal 40% sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang penggunaan semen cair Babi Landrace.

Pustaka

- Aberle, E.D., Forrest, J.C., Gerrard, D.E., and Mills, E.W. 2001. Principles of Meat Science. Iowa (USA): Kendall/Hunt Publishing Company.
- Ax, R.L.M., Dally, B.A., Didion, R.W., Lenz, C.C. Loce, D.D. Varner, B. Hafez, and M.E. Bellin, 2008. Semen Evaluation in farm Animal Reproduction ed By Hafez ESE. 7th. Lea Febiger: 365-375.
- Devita, V.B., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin pada Pengencer yang Berbeda Selama Pendinginan. *J. Ternak Tropika*. 15(1): 13-20.
- Ducha, N., T. Susilawati, and S. Wahyuningsih. 2012. Ultrastructure and Fertilizing Ability of Limousin Bull Sperm after Storage in CEP-2 Extender with and Without Egg Yolk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 15: 979-985.
- Firdausi, P.A., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer CEP-2 Dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Santan. *J. Ternak Tropika*. 15(1): 21-30.

- Gadea, J. 2003. Semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Spanish J. Of Agric. Research*. 1:17-27.
- Garner, D.L., and E.S.E. Hafez, 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma, in Reproduction in Farm Animal. 7th eds. Edited by Hafez E.S.E and B Hafez. 2008. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland. USA: 96-109.
- Hafez, E.S.E. 2008. Preservation and Cryoprsevation of Gamets and Embryos In B. Hafez and E.S.E Hafez (ed). Reproduction in Farm Animals. 7th edition. Lippincott Wiliams. Philadelphia. ISBN 0-683-30577-8 : 431-442.
- Indriani, T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. *Jurnal Veteriner*. 14(3): 379-386.
- Johnson, L.A., K.F. Weitze, P. Fiser, and W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. *J Anim Sci*. 62: 143-172.
- Kadirvel, G., Nasker, S., Das, A., and Hasin, D. 2005. Effect of different extenders on preservation of boar semen at 17°C [abstrack]. In: Gadella B.M & Colenbrander B, editor. Proceedings of the V International Conference on Boar Semen Preservation; 2003 Agt 24-27; Doorwerth, The Netherlands. *Theriogenology*. 63: 685-692.
- Kommisrud, E., Paulenz, H., Sehested, E., and Grevle, I.S. 2002. Influence of boar and semen parameter on motility and acrosome integrity in liquid boar semen stored for five days. *Acta Vet. Scand*. 43(1): 49-55.
- Rizal, M., dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan Pada Domba. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. ISBN: 978-979-518-952-7.
- Robert, V.K. 2006. Semen processing. Extending & Storage for Artificial Insemination in Swine. Dept. of Animal Science University of Illinois.
- Roca, J., M. Hernandez, G. Carvajal, J.M. Vazquez, and E.A. Martinez. Factors influencing boar sperm cryosurvival. *J. Anim. Sci*. 84: 2692-2694.
- Sholikah, N., N. Isnaini, A.P.A. Yekti, dan T. Susilawati. 2016. Pengaruh Penggantian Bovine Serum Albumin (BSA) Dengan Putih Telur Pada CEP-2 Terhadap Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole Pada Suhu Penyimpanan 3-5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 26(1): 7-15.
- Shukla, M.K. 2011. Applied Veterinary Andrology and Frozen Semen Technology. New India Publishing Agency. India. ISBN: 978-93-80235-64-6.
- Solihati, N., R. Idi, S.D. Rasad, M. Rizal, dan M. Fitriati. 2008. Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongole (PO) Dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-50°C. *Animal Reproduction*. 10(1): 22-29.
- Sumardani, N.L.G., L.Y. Tuty, dan P.H. Siagian. 2008. Viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) yang dimodifikasi pada penyimpanan berbeda. *Media Petern*. 31: 81-86.
- Susilawati, T. 2000. Breeding Soundness Evaluation (andrological examination). Evaluation Method of Males for Fertility. Asia Link Training Course. Faculty of Veterinary Medicine. Bogor Agriculture University. Bpor. Indonesia.
- _____. 2002. Sexing Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah Menggunakan Gradien Putih Telur. *Widya Agrika*. 10(2): 97-105.
- _____. 2011. Spermatozoatolology. Universitas Brawijaya Pres. Malang. ISBN: 978-602-8960-04-05.
- _____. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak. Universitas Brawijaya Press. Malang. ISBN: 978-602-203-458-2.
- Susilawati, T., F.E. Wahyudi, I. Anggraini, N. Isnaini, dan M.N. Ihsan. 2016. Penggantian Bovine Serum Albumin Pada Pengencer CEP-2 Dengan Serum Darah Sapi dan Putih Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Limousin Selama Pendinginan. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10(2): 98-102.
- Tambing, S.N., I.K. Utama, dan M. Sariubang. 2009. Efektivitas konsentrasi kuning telur di dalam pengencer tris dengan dan tanpa plasma semen terhadap kualitas semen beku kambing Saanen. *JITV*. 13(4): 315-322.
- Wiratri, V.D.B., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Pada Pengencer yang Berbeda Selama Pendinginan. *J. Ternak Tropika*. 15(1): 13-20.