



## **Pengaruh Penambahan Ekstrak Biji Kelor Kering (*Moringa oleifera* Lam) dalam Pengencer Beltsville Thawing Solution terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace**

**Fransiska Onya Pandahuki<sup>1</sup>✉, W Marlene Nalley<sup>2</sup>, Kirenis Uly<sup>3</sup>, Thomas Mata Hine<sup>4</sup>**  
(<sup>1-4</sup>) Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana

**Corresponding author**  
([fransiskapandahuki@gmail.com](mailto:fransiskapandahuki@gmail.com))

Article info:

Received 9 May 2024 ; Accepted 16 June 2024; Published 20 June 2024

### **Abstract**

The aim of this research was to determine the effect of adding dry moringa seed extract (DMSE) added to the Beltsville thawing solution (BTS) diluent on the quality of landrace boar semen during storage. This research used experimental methods and a completely randomized design consisting of 5 treatments and 5 replications to form 25 experimental units. The treatment in question was : T0 = BTS EY + 0% DMSE, T1 = BTS EY + 1% DMSE, T2 = BTS EY + 2% DMSE, T3 = BTS EY + 3% DMSE, T4 = BTS EY + 4% DMSE. This diluted semen will be stored at a temperature of 18-20°C and evaluation of motility, viability, abnormalities and survival of spermatozoa was carried out every 8 hours of storage. Data was analysis of the average, standard deviation, variance and continued with the Duncan test. The results showed that T2 treatment with a 2% DMSE level at 32 hours of storage gave the best results ( $P < 0.05$ ) compared to other treatments, with motility values ( $51,80 \pm 4.71$ ), viability ( $65.54 \pm 5.00$ ), abnormality ( $5.81 \pm 0.81$ ) and survival value of ( $38.89 \pm 1.21$ ). It was concluded that the addition of EBKK at a level of 2% to the BTS diluent provided a good response in maintaining motility, viability and abnormalities.

**Keywords:** *beltsville thawing solution, landrace boar, dry moringa seed extract, semen*

### **Abstrak**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak biji kelor kering (EBKK) yang ditambahkan dalam pengencer beltsville thawing solution (BTS) dan kuning telur (KT) terhadap kualitas semen cair babi landrace selama penyimpanan. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 kali ulangan sehingga terbentuk 25 unit percobaan. Adapun perlakuan yang dimaksud adalah : P0 = BTS KT + 0% EBKK, P1 = BTS KT + 1% EBKK, P2 = BTS KT + 2% EBKK, P3 = BTS KT + 3% EBKK, P4 = BTS KT + 4% EBKK. Semen yang telah diencerkan disimpan pada suhu 18-20° C dan untuk evaluasi terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa dilakukan setiap 8 jam. Analisis data meliputi analisis rata-rata, standar deviasi dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P2 dengan level 2% EBKK pada penyimpanan jam ke 32 memberikan hasil terbaik ( $P < 0,05$ ) dibandingkan perlakuan lainnya, dengan nilai motilitas ( $51,80 \pm 4,71$ )%, viabilitas ( $65,54 \pm 5,00$ )%, abnormalitas ( $5,81 \pm 0,81$ )% dan nilai daya tahan hidup sebesar ( $38,89 \pm 1,21$ ) jam. Disimpulkan bahwa penambahan EBKK dengan level 2% ke dalam pengencer BTS memberikan respon yang baik dalam menjaga motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa babi landrace.

**Kata kunci:** *Babi landrace, beltsville thawing solution, ekstrak biji kelor kering, semen*

## PENDAHULUAN

Perkembangbiakkan ternak babi dapat dilakukan dengan menerapkan metode kawin alam dan kawin suntik atau yang biasa dikenal inseminasi buatan (IB). Proses IB memerlukan semen cair dimana kualitas semen cair ditentukan oleh bahan pengencer yang digunakan. Penggunaan semen cair untuk periode waktu yang lama memerlukan pengawetan yaitu dengan menambahkan bahan pengencer yang mengandung sumber nutrisi, buffer, bahan anti cekaman dingin (cold shock), dan antibiotik.

Bahan pengencer yang sering digunakan adalah beltsville thawing solution (BTS). Beltsville thawing solution merupakan salah satu pengencer yang sudah diperjualbelikan secara luas yang dapat mempertahankan motilitas spermatozoa selama proses penyimpanan pada suhu dingin sehingga aktivitas metabolisme selama penyimpanan dapat dihambat, dapat mengatasi kapasitas dini dengan mengikat kalsium yang merupakan mediator utama terjadinya proses kapasitas (Thomson, 2005).

Komposisi dari pengencer BTS yaitu ada Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) yang berperan dalam menjaga membran plasma dan glukosa yang menyediakan nutrisi bagi spermatozoa, terdapat pula natrium bikarbonat dan natrium sitrat yang berfungsi sebagai penyangga untuk menjaga agar pH tetap stabil demi keberlangsungan hidup spermatozoa. Ada juga antibiotik (Penisilin dan Streptomisin) yang berperan dalam menekan pertumbuhan bakteri (Dube et al., 2004). Dilihat dari komposisinya BTS belum memiliki kandungan bahan yang mampu memproteksi sel spermatozoa terhadap serangan radikal bebas atau yang biasa disebut Reactive Oxygen Species (ROS).

Proses metabolisme spermatozoa selama waktu penyimpanan akan menghasilkan ROS dapat merusak asam lemak tak jenuh pada membran spermatozoa yang dapat berpengaruh terhadap motilitas dan keadaan spermatozoa (Bean, 2023).

Untuk itu dalam pengencer ditambahkan bahan-bahan yang dapat melindungi spermatozoa selama penyimpanan seperti senyawa antioksidan.

Kelor sendiri merupakan sumber antioksidan alami yang baik karena mengandung berbagai senyawa antioksidan seperti vitamin C, flavonoid, phenolic dan karotenoid. Menurut Bukar et al. (2010) dan Naiwu et al. (2012), biji kelor mempunyai anti mikroba yang mampu menghambat bakteri Salmonella dan Shigella sp. Seperti yang dijelaskan oleh Fitriyah. (2012) bahwa ekstrak biji kelor merupakan bahan pangan yang mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin dan kalkon.

Maka pemanfaatan biji kelor sebagai bahan pengencer spermatozoa perlu diteliti sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Pengaruh penambahan ekstrak biji kelor kering (*Moringa oleifer Lam*) dalam pengencer beltsville thawing solution terhadap kualitas semen cair babi landrace".

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium William dan Laura, di Tilong Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) selama 6 minggu yang dibagi dalam periode persiapan dan periode pengumpulan data.

### Materi Penelitian

1. Penelitian ini menggunakan semen segar ternak babi jantan yang telah mencapai dewasa kelamin dengan kisaran umur ternak babi adalah 1-2 tahun dan dalam keadaan sehat. Babi tersebut dipelihara pada kandang individu yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum. Jenis pengencer yang digunakan adalah ekstrak biji kelor kering, kuning telur dan BTS Bahan pewarnaan spermatozoa yaitu eosin-negrosin, aquades dan alkohol 70%.

2. Penelitian ini menggunakan peralatan diantaranya yaitu alat penampungan semen yang terdiri atas tabung penampung semen, kain kasa beberapa lapis yang berfungsi untuk memisahkan gelatin dan semen dan dummy. Satu set alat timbangan yang terdiri atas timbangan, spatula, aluminium foil, tabung erlenmeyer, tabung perlakuan, pipet, tabung ukur dan kertas label. Satu set alat pengencer semen yang terdiri atas gelas piala, gila ukur, pipet, kertas saring, pinset, baskom stainless, stirrer dan spin bar. Satu set alat evaluasi semen yang terdiri atas mikroskop, obyek glass dan cover glass, heating table, kertas pH, hemacyometer, pipet, open doff, tabung berskala, ulekan, saringan, tabung reaksi dan centrifuge dan styrofoam.

### **Metode Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan metode penelitian rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 kali ulangan. Adapun rancangannya disusun sebagai berikut (P0) = BTS KT + 0% EBKK, (P1) = BTS KT + 1% EBKK, (P2) = BTS KT + 2% EBKK, (P3) = BTS KT + 3% EBKK DAN (P4) = BTS KT + 4% EBKK.

### **Tahap Persiapan Pengencer**

#### **Pembuatan Ekstrak Biji Kelor**

Langkah awal yang dilakukan adalah pembuatan ekstrak biji kelor dilakukan dengan cara biji kelor tua yang sudah kering diambil lalu dijemur selama 3-5 hari untuk memastikan kelor benar-benar kering, kemudian dipisahkan biji dengan cangkang dan kulit arinya. Setelah itu biji kelor ditimbang sebanyak 10 gram lalu di ulek menggunakan desikator dan kemudian dicampur dengan aquades sebanyak 10 mL. Setelah itu larutan biji kelor dimasukkan ke dalam tabung untuk disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm, dengan tujuan untuk memisahkan filtrat dan residu,

filtrat yang dihasilkan akan digunakan sebagai EBKK.

### **Penyiapan Kuning Telur**

Kuning telur yang digunakan adalah telur ayam ras. Telur dibersihkan dan dicuci dengan alkohol 70%. Kuning telur diletakan diatas kertas saring untuk menghilangkan selaput putih telurnya. Kuning telur dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditutup kertas aluminium foil, kuning telur siap digunakan.

### **Penyiapan Pengencer BTS**

Pembuatan pengencer BTS, terlebih dahulu BTS ditimbang. Banyaknya BTS yang ditimbang adalah 50 gram, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan tambahkan 1000 mL aquades lalu, homogenkan menggunakan stirrer dan spin bad. Setelah dihomogenkan BTS akan disimpan sebagai stok.

### **Penyiapan BTS Kuning Telur**

Penyiapan pengencer BTS-KT dilakukan dengan cara mencampurkan 80 mL larutan BTS dan tambahkan 20 mL KT kemudian dihomogenkan menggunakan stirrer dan spin bad. Setelah dihomogenkan larutan BTS-KT siap digunakan.

### **Pengenceran Semen**

Pada tahap ini proses awal yang dilakukan adalah mengambil masing-masing 3 mL dari larutan BTS-KT lalu kemudian dimasukan kedalam 5 tabung dari perlakuan P0, P1, P2, P3 dan P4 selanjutnya tambahkan EBKK sesuai dengan masing-masing perlakuan. Setelah semen dievaluasi pasca pengenceran terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas maka selanjutnya akan dipacking ke dalam open doff. Simpan di dalam plastik lalu letakkan ke dalam styrofoam dengan suhu 18-20°C yang dikontrol dengan termometer. Evaluasi semen akan dilakukan setiap 8 jam sekali hingga nilai motilitas 40%.

### Tahap Evaluasi

Semen yang diperoleh dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis adalah evaluasi yang dilakukan terhadap volume semen, warna semen, bau semen, konsistensi semen, dan pH semen. Sedangkan secara mikroskopis adalah evaluasi yang dilakukan terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas.

### Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini variabel yang digunakan adalah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa.

### Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah nilai spermatozoa yang bergerak secara progresif pada suatu lapang pandang yang dapat diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10x40. Nilai yang dapat diberikan berkisar antara 0-100% (Arifiantini, 2012). Spermatozoa yang tidak bergerak dan diam di tempat maka akan dikategorikan sebagai spermatozoa yang sudah mati, sedangkan yang bergerak progresif dikategorikan sebagai spermatozoa yang hidup. Penilaian dapat dilihat dengan 3 lapang pandang.

### Viabilitas

Viabilitas spermatozoa adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa (Sukmawati et al., 2014). Untuk pengamatan viabilitas dapat dinyatakan dalam persentase dengan pewarnaan diferensial serat menggunakan zat pewarna eosin dengan cara teteskan semen di atas gelas objek, lalu satu tetes semen ditambahkan lagi pada gelas objek yang sudah ditetesi dengan pewarna eosin. Langkah selanjutnya campurkan secara merata lalu diulasi menggunakan objek gelas lainnya kemudian amati viabilitas spermatozoa di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40. Sperma yang hidup biasanya ditandai dengan kepala sperma tidak berwarna, karena sperma yang hidup tidak menyerap

warna sperma mati dapat dilihat pada kepala sperma berwarna merah dikarenakan sperma mati mampu menyerap warna.

Untuk rumus perhitungan viabilitas spermatozoa yaitu :

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa hidup}}{\text{Total Spermatozoa yang terhitung}} \times 100\%$$

### Abnormalitas

Pada pengamatan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara menggunakan pewarna differensi eosin-negrosin, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10 x 40. Abnormalitas spermatozoa dapat dibedakan menjadi abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Penentuan abnormalitas spermatozoa adalah perbandingan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa normal (Fitrik dan Supartini, 2012). Abnormalitas primer biasanya terjadi pada bagian kepala yang sifatnya genetic sedangkan untuk abnormalitas sekunder terjadi pada bagian ekor dan mudah dilihat pada saat pengujian motilitas dan pemeriksaan viabilitas (Arifiantini, 2010).

Untuk menghitung jumlah spermatozoa yang abnormal dapat digunakan rumus :

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa yang terhitung}} \times 100\%$$

### Analisis Data

Analisis data diawali dengan menghitung rata-rata standar deviasi kemudian dilanjutkan dengan analysis of variance (Anova) serta dilanjutkan dengan uji Duncan. Data dianalisis menggunakan software SPSS 26

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas adalah gerakan maju kedepan dari spermatozoa secara progresif, tujuan akhir dari pengenceran ini adalah untuk kegiatan inseminasi buatan maka daya gerak spermatozoa secara progresif menjadi

patokan yang harus diperhitungkan. Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan setiap delapan jam hingga kualitas spermatozoa minimal 40% (BSN, 2017). Nilai motilitas dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa

Jam ke-	Perlakuan %					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	1,000
8	71,40±4,97 <sup>ab</sup>	71,60±4,77 <sup>ab</sup>	73,40±3,20 <sup>a</sup>	66,00±4,18 <sup>b</sup>	66,00±4,18 <sup>b</sup>	0,035
16	64,00±6,51 <sup>a</sup>	64,00±6,51 <sup>a</sup>	68,00±2,73 <sup>a</sup>	58,00±5,70 <sup>ab</sup>	52,00±11,51 <sup>b</sup>	0,019
24	54,00±6,51 <sup>ab</sup>	55,00±6,12 <sup>ab</sup>	61,00±5,47 <sup>a</sup>	49,00±8,21 <sup>b</sup>	40,00±7,07 <sup>c</sup>	0,001
32	40,00±5,00 <sup>b</sup>	41,00±4,18 <sup>b</sup>	51,80±4,71 <sup>a</sup>	36,00±4,18 <sup>b</sup>	28,00±4,47 <sup>c</sup>	0,000
40	32,00±4,47 <sup>b</sup>	33,60±3,50 <sup>b</sup>	38,20±2,04 <sup>a</sup>	24,00±2,23 <sup>c</sup>	13,00±2,73 <sup>d</sup>	0,000

Keterangan : <sup>a,b,c,d</sup>Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa persentase motilitas spermatozoa babi landrace setelah pengenceran jam ke-0 pada setiap perlakuan berbeda tidak nyata (P>0,05). Namun nilai persentase mulai pengamatan jam ke 8 sampai dengan pengamatan jam ke 40 teramati adanya perbedaan yang nyata (P<0,05). Mulai terjadi penurunan motilitas pada jam ke 8 sampai pada jam ke 40 pada semua perlakuan dan menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05). Ini menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka akan berpengaruh terhadap nilai motilitas. Penurunan motilitas yang lebih cepat terjadi pada perlakuan P3 dan P4 dan berbeda nyata (P<0,05) dengan P0, P1 dan P2 pada jam pengamatan ke 8 sampai pada jam pengamatan ke 40 yang kemungkinan disebabkan karena mulai berkurangnya sumber energi yang ada di dalam pengencer yang mengakibatkan jumlah spermatozoa yang bergerak progresif semakin berkurang. Penurunan persentase motilitas semen babi landrace yang diencerkan dengan BTS yang ditambahkan dengan EBKK pada perlakuan P3 dan P4 diduga disebabkan karena terjadinya peroksidasi lipid sehingga merusak membran spermatozoa. Bentuk dan ciri spermatozoa yang rusak akibat peroksidasi lipid adalah menurunnya motilitas spermatozoa (Guthrie dan Welch., 2012), hal ini sesuai dengan penurunan motilitas mulai dari penyimpanan jam ke-8 hingga jam ke-40. Jika semen disimpan dalam jangka waktu yang cukup

lama dapat meningkatkan kadar ROS. Jika kadar ROS meningkat maka akan mengakibatkan munculnya stress oksidatif yang dapat mempengaruhi metabolisme energi karena dapat merusak membran plasma spermatozoa yang bisa mengakibatkan rusaknya organel dalam sel spermatozoa, salah satu dari organel yaitu mitokondria yang berfungsi memproduksi Adenosin Triphosphate (ATP) pada saat proses respirasi sel (Priharyanthi et al., 2021).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada jam ke 32 pada perlakuan P0, P1 dan P2 dapat mempertahankan motilitas spermatozoa yang layak IB karena motilitasnya lebih dari 40% dengan rata-rata P0 40,00±5,00, P1 41,00±4,18 dan P2 51,80±4,71 sedangkan untuk P3 dan P4 pada jam ke 32 menunjukkan nilai motilitas spermatozoa sudah dibawah 40% yaitu P3 36,00±4,18 dan P4 28,00±4,47. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan P2 yaitu pengencer BTS dengan penambahan ekstrak biji kelor kering sebesar 2% menghasilkan motilitas spermatozoa yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini berbeda dengan yang dilakukan oleh Fafu et al., (2016) dimana nilai motilitas yang dihasilkan sebesar 42,00±7,58% yang disimpan selama 24 jam dengan menggunakan sitrat kuning telur dan ekstrak daun kelor 5%. Adanya perbedaan progresif motilitas ini disebabkan adanya perbedaan jenis antioksidan yang digunakan, jenis ternak dan jenis kuning telur dan pengenceran semen. Antioksidan sebagai senyawa yang dapat memperlambat dan mencegah terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Shui et al., 2004).

Penambahan ekstrak biji kelor kering 2% pada perlakuan P2 menunjukkan motilitas tertinggi sebesar 51,80±4,71 hingga penyimpanan pada jam 32, dari hasil penelitian motilitas spermatozoa menunjukkan bahwa secara teknis layak digunakan untuk IB babi landrace karena

memiliki persentase motilitas progresif di atas 40% (Sumardani et al., 2008).

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa

Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan secara obyektif menggunakan pewarnaan diferensial. Presentase pengamatan viabilitas diketahui dengan cara pengamatan mikroskopik. Pengamatan viabilitas dilakukan secara mikroskopis menggunakan mikroskop dengan pembesaran  $10 \times 40$ . Persentase hidup spermatozoa dapat diukur dengan melihat perbedaan penyerapan zat warna antara spermatozoa yang mati dan hidup, disajikan pada tabel 2. Dapat dilihat spermatozoa yang mati tampak berwarna merah sedangkan untuk spermatozoa yang hidup terlihat bening transparan atau tak berwarna (Feradis, 2010).

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa

Jam ke-	Perlakuan %					Nilai
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	88,59±3,16 <sup>a</sup>	88,63±3,34 <sup>a</sup>	88,62±3,09 <sup>a</sup>	88,79±2,94 <sup>a</sup>	88,87±3,09 <sup>a</sup>	1,000
8	80,56±4,54 <sup>ab</sup>	82,56±4,53 <sup>a</sup>	86,45±3,10 <sup>a</sup>	76,46±4,62 <sup>b</sup>	74,66±4,86 <sup>b</sup>	0,003
16	74,16±7,61 <sup>bc</sup>	76,16±6,75 <sup>ab</sup>	82,69±4,54 <sup>a</sup>	67,64±5,62 <sup>cd</sup>	65,20±5,25 <sup>d</sup>	0,002
24	65,64±8,00 <sup>bc</sup>	67,78±7,85 <sup>ab</sup>	74,31±5,65 <sup>a</sup>	58,60±6,97 <sup>cd</sup>	51,85±7,42 <sup>d</sup>	0,001
32	48,87±5,17 <sup>bc</sup>	52,19±3,26 <sup>b</sup>	65,54±5,00 <sup>a</sup>	45,45±4,60 <sup>d</sup>	37,85±4,23 <sup>d</sup>	0,000
40	42,51±4,34 <sup>c</sup>	47,59±2,36 <sup>b</sup>	55,79±1,79 <sup>a</sup>	32,09±1,34 <sup>d</sup>	29,72±0,71 <sup>d</sup>	0,000

Keterangan : <sup>a,b,c,d</sup>Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Nilai viabilitas spermatozoa mengikuti nilai motilitas tertinggi yang diperoleh, pada perlakuan P2 memiliki nilai viabilitas sebesar  $55,79 \pm 1,79$  dan diikuti P1, P0, P3 dan P4 dengan viabilitas masing-masing sebesar  $47,59 \pm 2,36$ ,  $42,51 \pm 4,34$ ,  $32,09 \pm 1,34$  dan  $29,72 \pm 0,71$  pada 40 jam penyimpanan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada penyimpanan dari jam ke 8 sampai jam ke 40 mulai terjadi penurunan viabilitas spermatozoa, sehingga penambahan ekstrak biji kelor kering secara umum memberikan pengaruh berbeda nyata (P<0,05). Pada pengamatan jam ke-8, perlakuan P2 berbeda nyata (P<0,05) P3 dan P4. Hasil penelitian ini lebih rendah dari laporan Priharyanthi (2021), pada penambahan ekstrak daun kelor 5% ke dalam pengencer air kelapa kuning telur viabilitas rata-rata  $56,58 \pm 0,40\%$ , dengan lama penyimpanan 20 jam. Rendahnya nilai viabilitas pada perlakuan P3

dan P4 juga diduga karena dosis penambahan EBKK yang sangat tinggi sehingga menyebabkan toksik dan akhirnya menimbulkan tingkat kematian yang paling tinggi pada spermatozoa.

Penurunan nilai viabilitas spermatozoa waktu penyimpanan disebabkan karena meningkatnya jumlah spermatozoa yang rusak akibat kekurangan energi (Solihati et al, 2008). Rizal et al, (2013) menyatakan bahwa adanya kontak antara semen dan oksigen selama prosesing semen mengakibatkan meningkatnya aktivitas metabolisme oksidatif yang akan menghasilkan peningkatan jumlah radikal bebas, sehingga akan terjadi reaksi peroksidasi lipid pada membran plasma sel spermatozoa yang dapat berpengaruh pada kualitas semen. Selama proses penyimpanan metabolisme spermatozoa akan menghasilkan reaksi antara oksigen dengan spermatozoa sehingga akan terbentuknya radikal bebas. Upaya perlu dilakukan untuk mempertahankan kualitas viabilitas spermatozoa dengan cara memperkecil dampak dari serangan radikal bebas selama pengenceran dan penyimpanan dengan menambahkan zat antioksidan. Feradis, (2010) menyatakan bahwa penambahan antioksidan dalam pengenceran semen bisa mempertahankan spermatozoa agar tetap hidup dan terhindar dari kerusakan akibat peroksidasi lipid. Senyawa antioksidan dapat mencegah terjadinya kerusakan karena radikal bebas karena akan memutus rantai reaksi oksidasi yang ditimbulkan oleh radikal bebas, sehingga bahan alami seperti EBKK ditambahkan sebagai bentuk pertahanan bagi spermatozoa. Biji kelor memiliki kandungan flavonoid yang baik digunakan sebagai penangkal radikal bebas. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kadar antioksidan dalam pengencer dapat mempengaruhi viabilitas spermatozoa dibandingkan dengan kontrol yang tanpa penambahan antioksidan.

Penambahan EBKK pada penelitian ini mengandung antioksidan alami yang baik seperti vitamin C, flavonoid, phenolic dan

karotenoid yang mampu menstabilkan radikal bebas. Namun penambahan EBKK harus sesuai dengan dosis yang tepat. Sehingga dosis yang dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa hingga pada jam penyimpanan ke 40 adalah penambahan 2% EBKK dengan rerata  $55,79 \pm 1,79\%$ .

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan fisik dari spermatozoa yang terjadi akibat proses pembentukan spermatozoa dalam tubulus seminiferus, saat perjalanan spermatozoa melewati saluran organ kelamin jantan, saat penampungan semen, penyiapan pengenceran dan penyimpanan semen.

Proses pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan diferensial eosin negrosin dan diamati dibawah mikroskop. Hasil analisis nilai abnormalitas spermatozoa disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa

Jam ke-	Perlakuan %					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	3,52±1,03 <sup>a</sup>	3,56±0,81 <sup>a</sup>	3,48±0,81 <sup>a</sup>	3,49±0,83 <sup>a</sup>	3,65±0,78 <sup>a</sup>	0,998
8	3,83±0,84 <sup>a</sup>	3,70±0,72 <sup>a</sup>	3,65±0,85 <sup>a</sup>	3,83±0,78 <sup>a</sup>	3,93±0,76 <sup>a</sup>	0,979
16	4,24±0,87 <sup>a</sup>	4,09±0,69 <sup>a</sup>	4,02±0,68 <sup>a</sup>	4,22±0,67 <sup>a</sup>	4,37±0,67 <sup>a</sup>	0,946
24	4,47±0,82 <sup>a</sup>	4,33±0,73 <sup>a</sup>	4,24±0,62 <sup>a</sup>	4,41±0,83 <sup>a</sup>	4,79±0,71 <sup>a</sup>	0,816
32	5,69±1,00 <sup>a</sup>	5,98±1,06 <sup>a</sup>	5,81±0,81 <sup>a</sup>	6,02±0,94 <sup>a</sup>	6,03±0,89 <sup>a</sup>	0,973
40	5,69±1,00 <sup>a</sup>	5,98±1,06 <sup>a</sup>	5,81±0,81 <sup>a</sup>	6,02±0,94 <sup>a</sup>	6,03±0,89 <sup>a</sup>	0,973

Keterangan : <sup>a</sup> menunjukkan pengaruh perlakuan berbeda tidak nyata (P>0,05)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada pengamatan jam ke 0, sampai jam ke 40, pada semua perlakuan terdapat perbedaan yang tidak nyata (P>0,05). Hal ini menunjukkan bahwa pada semua perlakuan, mampu memberikan perlindungan yang baik terhadap abnormalitas spermatozoa babi landrace sampai pada jam ke 40.

Persentase rerata abnormalitas spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini paling rendah terdapat pada perlakuan P0 yaitu sebesar  $5,69 \pm 1,00\%$ , diikuti P2 sebesar  $5,81 \pm 0,81\%$ , P1 sebesar  $5,98 \pm 1,06\%$ , P3 sebesar  $6,02 \pm 0,94\%$  dan P4 sebesar  $6,03 \pm 0,89\%$ . Hasil penelitian ini lebih rendah angka abnormalitasnya dari penelitian yang dilakukan Fafu et al., (2016) dengan persentase rerata abnormalitas  $9,50 \pm 2,72\%$

dengan lama penyimpanan 24 jam. Hasil penelitian ini masih dikatakan baik dan layak karena, menurut Foeh (2015) persentase abnormalitas spermatozoa babi hanya boleh mencapai 11,1%, dan dari penelitian yang dilakukan oleh Nahak et al., (2022) persentase abnormalitas spermatozoa babi mencapai 10,5% sedangkan untuk presentasi normal abnormalitas spermatozoa babi per ejakulat tidak boleh lebih dari 20% (Johnson et al., 2000).

Berdasarkan uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada awal pengamatan jam ke-0 hingga akhir pengamatan jam ke-40 berpengaruh tidak nyata (P>0,05) antara semua perlakuan. Hal ini disebabkan karena pemberian EBKK pada level optimal mampu mengurangi kenaikan nilai abnormalitas yang terjadi akibat peroksida lipid secara bersamaan.

Menurut Suryadi dan Iswanto (2012) peningkatan angka abnormalitas disebabkan tidak hanya pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan namun juga disebabkan oleh adanya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan kerusakan membran yang terjadi akibat adanya reaksi antara asam lemak tak jenuh dan juga radikal bebas. Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan pada membran plasma bagian tengah spermatozoa dimana pada bagian ini terdapat mitokondria yang terlibat dalam pembentukan energi, oksidasi asam lemak dan siklus krebs (Wilandri, 2013). Antioksidan perlu ditambahkan dengan tujuan untuk menghambat serta mencegah pembentukan radikal bebas. Biji kelor merupakan antioksidan alami yang dapat menangkal radikal bebas karena memiliki kandungan flavonoid yang tinggi yang dapat membantu mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang dapat merusak membran spermatozoa akibat penyimpanan (Seran et al., 2023). Kerusakan membran plasma dapat terjadi karena protein dari plasma sendiri, dimana protein plasma beraksi dengan lipid penyusun membran plasma sehingga dapat

merusak membran plasma spermatozoa (Bebas dan Gorda, 2016).

Abnormalitas spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini merupakan abnormalitas sekunder, seperti ekor patah atau putus. Abnormalitas sekunder kemungkinan disebabkan karena kesalahan dalam preparasi atau ejakulasi (Arifiantini et al, 2006). Dari hasil diatas maka bisa dikatakan bahwa penambahan EBKK yang berbeda pada tiap perlakuan mampu memberikan perlindungan yang baik terhadap abnormalitas spermatozoa sehingga masih layak digunakan untuk inseminasi buatan.

### Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup adalah kemampuan spermatozoa untuk selalu bergerak dalam media penyimpanan sampai pada jangka waktu tertentu yang dapat diukur berdasarkan motilitas. Daya tahan hidup spermatozoa dari hasil penelitian dapat dilihat pada Diagram 1. Pengamatan daya tahan hidup dalam penelitian ini adalah dengan melihat nilai motilitas, dihitung selama nilai motilitas spermatozoa diatas 40%. Karena sesuai standar motilitas spermatozoa layak untuk inseminasi buatan adalah 40%. Daya tahan hidup spermatozoa diamati dengan tujuan untuk mengetahui persentase spermatozoa yang hidup dalam media pengencer BTS-KT yang ditambahkan dengan EBKK.

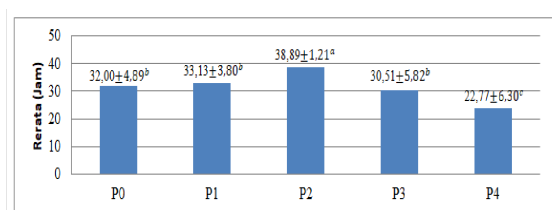


Diagram 1. Presentase daya tahan hidup spermatozoa babi landrace

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan P2 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ), dengan P0, P1, P3 dan P4; perlakuan P0, P1 dan P3 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan P4.

Berdasarkan hasil analisis statistik penambahan ekstrak biji kelor kering dalam pengencer beltsville thawing solution dengan level 2% EBKK pada perlakuan P2 memiliki kemampuan mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa babi landrace yang lebih lama yaitu 38,89 jam sedangkan perlakuan P4 memiliki persentase daya tahan hidup yang paling rendah yaitu hanya mampu bertahan hingga masa penyimpanan 23,77 jam. Namun hasil yang diperoleh lebih rendah dari penelitian yang dilakukan oleh Bean, (2023) pada penambahan ekstraksi etanol daun kelor 2% dalam pengencer semen life nilai daya tahan hidupnya  $45,35 \pm 1,74$ . Semen yang baik memiliki memiliki nilai motilitas diatas 40% dan nilai viabilitas diatas 50% (Baku et al., 2022). Daya tahan hidup P2 lebih tinggi dengan perbedaan yang tidak nyata ( $P > 0,05$ ) jika dibandingkan dengan P0 yang tidak ditambahkan EBKK. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antioksidan yaitu senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin dan kalkon didalam EBKK (Fitriyah et al., 2012) dapat memberikan perlindungan kepada spermatozoa dari radikal bebas. Namun seiring lamanya waktu penyimpanan nilai motilitas mengalami penurunan hal ini juga akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Selama penyimpanan spermatozoa yang mati akan bersifat toksik bagi spermatozoa yang masih hidup (Soler et al., 2003). Toksisitas ini dapat terjadi karena adanya aktivitas enzim amino acid oxidase yang hanya aktif ketika spermatozoa mati. Semakin lama penyimpanan maka jumlah nutrisi semakin bertambah, penurunan daya tahan hidup mungkin disebabkan karena menurunnya ketersediaan nutrisi untuk metabolisme yang akan diubah menjadi energi sehingga dapat menurunkan nilai viabilitas spermatozoa (Rizal et al., 2003). Kandungan vitamin C yang digunakan sebanyak 0,2 mg/mL pada penelitian Bebas et al., (2015) menunjukkan daya tahan hidup dan motilitas yang baik dimana nilai motilitas tertinggi terdapat pada jam ke-96 dengan nilai

51,00±2,36%. Penurunan motilitas spermatozoa pada penambahan ekstrak biji kelor kering 3% dan 4% kemungkinan disebabkan karena adanya kandungan vitamin C dalam ekstrak biji kelor terlalu tinggi. Kandungan vitamin C dalam pengencer semen harus memperhatikan perubahan pH, karena vitamin C bersifat asam. Menurut Sumarsono (1998) Spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH terutama pH rendah. Hal ini juga akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Terbukti bahwa daya tahan hidup hanya mencapai 38,89 jam.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa, penambahan ekstrak biji kelor kering (EBKK) dengan level 2% dalam pengencer beltsville thawing solution (BTS), memberikan respon yang baik dalam mempertahankan motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa babi landrace.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait efektivitas dalam inseminasi buatan menggunakan BTS-KT yang ditambahkan EBKK dengan level yang terbaik.

### DAFTAR PUSTAKA

Arifiantini Raden Iis., Yusuf Tuty Laswardi. 2006. Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi Frisien Holstein. *Majalah Ilmiah Peternakan* 9(3): 164-180.

Arifiantini RI dan B Purwantara. 2010. Motility and viability of friesian holstein spermatozoa in three different extender stored at 5°C. *Journal of the Indonesia Tropical Animal*. 35(4): 222-226.

Arifiantini RI. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen*. IPB Press, Bogor.

Baku Albertus, Detan Agustinus A, Tahuk Paulus K. 2022. Kualitas Semen Babi Landrace Dalam Pengencer Semen Sitrat-Kuning Telur Yang Ditambah

Glukosa Dengan Konsentrasi Berbeda. *Journal of Tropical Animal Science and Technology* 4(1): 42-55.

- Bean A. Peni. 2023. Pengaruh Penambahan Ekstraksi Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Dalam Pengencer Semen Life Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. In *Prosiding Joint Seminar Nasional*. Undana Press.
- Bebas W, Pemayun TGO Damriyasa IM, Mantik-Astawa IN. 2015. Lactose-astaxanthin Increases Green Jungle Fowl's Sperm Motility and Reduces Sperm DNA Fragmentation during 5°C Celcius Storage. *Bali Medical Journal* 4(1): 152-156.
- Bebas W, Gorda W. 2016 Penambahan Astaxanthin pada Pengencer Kuning Telur Berbagai Jenis Unggas Dapat Memproteksi Semen Babi Selama Penyimpanan. *Jurnal Veteriner* 17(4): 484-491.
- Bukar A.,A. Uba, dan T.I. Oyeyi.2010. Antimicrobial profile of moringa oleifera lam. Extracts Against Some FoodBorne Microorganisms. *Bayero Journal of Pure and Applied sciences*. 3(1): 43-48.
- Badan Standardisasi Nasional. 2017. *Semen beku-Bagian 1: Sapi*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta. ID
- Dube., Williamson., Thompson., Feliti and Anda. 2004. The case for prospective longitudinal studies in child maltreatment research: Commentary on Dube,Williamson, Thompson, Feliti and Anda. *Child abuse and neglect* 28(7):715-722.
- Fafo Melianus., Thomas Mata Hine., Wilmientje Marlene Nalley. 2016. Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 3(2) : 184-185.
- Fitrik, F., dan Supartini, N. 2012. Pengaruh Suhu dan Lama Thawing Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa. *12(1): 81-86*.

- Fitriyah Ulfatul. 2012. Variasi Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Aktivitas Antioksidan. Portal Artikel Tugas akhir. Universitas Trunojoyo Madura.
- Feradis A. 2010. Teknologi Reproduksi Ternak. *Indian Journal of Animal Science*. 75(8):922-24.
- Foeh, Narci. Federika. Katerina. Diana. 2015. Kualitas semen Beku Babi Dalam Pengencer Bts dan Miii Menggunakan Krioprotektan Dimethylacetamide Dan Gliserol Dengan Sodium Dedocyl Sulphate. Thesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Guthrie, H. D., dan Wlch G. R. 2012. Effects of reactive oxygen species on sperm function. *Theriogenology*, 78(8): 1700-1708.
- Johnson L. A, K. F Weitze, P Fiser, and W.M. C Maxwell. 2000. Storage of boat semen. *Journal Animal Science* 62(1-3): 143-172.
- . Effect of Male Mating Time on Landrace Pig Reproduction. *Agriwar Journal*. 2(2): 44-48.
- Naiwu, N.E., W.I. Ibrahim, and I.A. Raufa. 2012. Antiseptic and coagulation properties of crude extracts of *Moringa Oleifera* from North of Nigeria. *Journal of Applied Hytotechnology in Environmental Sanitation*. 1(2): 51-59.
- Priharyanthi, L. K. A. P., Bebas, W., Trilaksana, I. G. N. B. 2021. Ekstrak daun kelor dapat mempertahankan motilitas progresif dan viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer air kelapa kuning telur. *Indonesia Media Veterinus* 10(3): 389-398.
- Rizal M, Toelihere MR, Yusuf TL, Purwantara B, dan Situmorang P. 2003. Kriopreservasi Semen Domba Garut Dalam Pengencer Tris Dengan Konsentrasi Laktosa Yang Berbeda. *Media kedokteran hewan*. 19(2): 79-83.
- Rizal, M dan Herdis, I. S. 2013. Fetal bovine serum dalam pengencer tris mempertahankan kehidupan dan keutuhan membran plasma spermatozoa semen beku domba Garut. *Jurnal Veteriner Desember*. 14(4): 437-443.
- Shui, G., Wong, S. P., Leong, L. P. 2004. Characterization of antioxidants dan change of antioxidant levels during storage of manikara zapota L. *Journal Agric. Food Chem* 52(26): 7834-7841.
- Soler AJ. Gusman MDP dan Garda JJ. 2003. Penyimpanan epididimis Rusa Merah selama empat hari. *Jurnal Hewan Pertanian*. 3(1): 1-9.
- Solihati, N., R. Idi, S. D. Rasad, M. Rizal, M. Fitriati. 2008. Kualitas Spermatozoa Caude epididimis Sapi Peranakan Ongol (PO) dalam Pengencer susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-5°C. *Journal Anim Prod*. 10(1): 22-29.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa Terhadap Proses Pembekuan Pada Berbagai Jenis Pejantan Unggul. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. *JITV*, 19(3):168-175.
- Sumardani, N. 2007. Viabilitas dan Fertilitas Spermatozoa dalam Modifikasi BTS dan Zorlesco dengan Penyimpanan Berbeda dalam Rangkaian Inseminasi buatan pada Babi. Bogor: Tesis Program Studi Biologi Reproduksi. Institut Pertanian Bogor.
- Sumarsono, T. 1998. Peningkatan kualitas spermatozoa kerbau lumpur dengan penambahan asam askorbat dalam pengencer semen beku. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Suryadi, A., Racmahwati dan Iswanto, N. 2012. Pengaruh Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang di Simpan Pada Suhu 5°C. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 22(3): 1-8.
- Thompson LH. 2005. Managing swine reproduction. Univ. of Illiois. Urban.
- Wilandri, T. D, A. Abdul dan M. Ibrahim. 2013.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Sarang Semut (*Mymecodia pendens* Merr dan Perry) Terhadap Morfologi Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) yang Dipapar Asap Rokok. Universitas Negeri Gorontalo.