

Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc

(Effect of addition of vitamin e in tris-egg yolk on sperm quality of duroc pig)

Dinti Epriana Amtiran, Thomas Mata Hine, Kirenius Uly

Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana,
Jl. Adisucipto, Penfui, Kupang, NTT
Email penulis: dhintyamtiran@gmail.com
thomasmatahine@staf.undana.ac.id
ulykirenius@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin E dalam pengencer Tris-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi duroc. Sumber semen diperoleh dari dua ekor babi jantan duroc berumur \pm tiga tahun yang dikoleksi dua kali seminggu. Semen yang diperoleh kemudian dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Semen yang mempunyai motilitas $>70\%$ diencerkan dengan Tris-kuning telur yang ditambahkan dengan vitamin E pada berbagai konsentrasi yaitu 0% (P0), 0,5% (P1), 1,0% (P2), 1,5% (P3), 2,0% (P4), dan 2,5% (P5). Semen yang telah diencerkan tersebut dipreservasi dalam *cool box* dengan suhu 18 – 20^o C, dan selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap kualitas sperma setiap 8 jam hingga motilitas spermatozoa babi duroc $\geq 40\%$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spermatozoa babi duroc yang dipreservasi selama 56 jam dalam pengencer Tris-kuning telur yang disuplementasikan vitamin E 2% (P4) mempunyai kualitas yang lebih tinggi ($P<0.5$) dibandingkan dengan kelima perlakuan lainnya, yaitu dengan motilitas mencapai (40,20 \pm 0,41%), viabilitas (45,45 \pm 0,96%), abnormalitas (5,90 \pm 0,60%), dan daya tahan hidup (56 \pm 0,00 jam). Disimpulkan bahwa penambahan vitamin E dalam pengencer Tris-kuning telur efektif untuk mempertahankan kualitas spermatozoa babi duroc, dengan konsentrasi vitamin E terbaik adalah 2%.

Kata kunci: *tris, kuning telur, vitamin E, spermatozoa, babi duroc*

ABSTRACT

This study aims to evaluate the effect of addition of vitamin E in Tris-yolk diluents on the quality of Duroc pig spermatozoa. Semen were collected from two of three-year-old boar duroc pigs collected twice a week. The semen were then evaluated macroscopically and microscopically. Semen motility $> 70\%$ were diluted with Tris-egg yolk and added with vitamin E at various following concentrations: 0% (P0), 0.5% (P1), 1.0% (P2), 1.5% (P3), 2.0% (P4), 2.5% (P5). The diluted semen were preserved in a cool box at temperature of 18 – 20^oC, and then sperm quality were evaluated every 8 hours until the sperm motility remain 40%. The results found that duroc pig spermatozoa preserved for 56 hours in Tris-egg yolk diluents supplemented with 2% vitamin E (P4) performed a higher quality ($P<0.5$) compared to the other five treatments, ie with motility (40.20 \pm 0.41%), viability (45.45 \pm 0.96%), abnormality (5.90 \pm 0.60%), and longevity (56 \pm 0.00 hrs.). The conclusion is that the addition of vitamin E in the Tris-egg yolk diluent is effective in maintaining the quality of duroc pig spermatozoa with the best concentration of vitamin E is 2%.

Keywords: *tris, egg yolk, vitamin e, spermatozoa, duroc pigs*

PENDAHULUAN

Pengolahan semen merupakan salah satu tahap kritis dalam pelaksanaan program inseminasi buatan (IB). Melalui program Inseminasi Buatan (IB), dengan mudah dapat didatangkan dan diinseminasikan semen dari pejantan yang unggul kualitas genetiknya. Lebih jelasnya direkomendasikan oleh Ardana dan Putra (2015), bahwa keuntungan yang diperoleh dalam penerapan inseminasi buatan (IB) jika dibandingkan dengan kawin alami yakni, kualitas genetik ternak yang dibudidayakan dapat

mempertahankan dan bahkan ditingkatkan secara lebih mudah dan murah. Namun demikian, proses inseminasi buatan (IB) seringkali mengalami kendala penurunan kualitas karena adanya radikal bebas yang mengakibatkan daya simpan semen rendah.

Kerusakan pada membran plasma spermatozoa disebabkan oleh terbentuknya radikal bebas yang merupakan salah satu faktor metabolisme itu sendiri. Reaksi antara radikal bebas dengan lipida terutama asam lemak tak jenuh

yang banyak menyusun membran plasma sel sperma akan menyebabkan terjadi peroksidasi lipida. Apabila reaksi awal ini tidak dikendalikan, maka akan terjadi reaksi yang terus menerus (otokatalitik) (suryohudoyo, 2000), yang pada akhirnya akan merusak sebagian besar atau seluruh membran plasma sel sperma yang dapat menyebabkan proses biokimia didalam sel terganggu dan bermuara pada kematian sel spermatozoa.

Upaya untuk meminimalkan kerusakan spermatozoa akibat radikal bebas adalah dengan menambahkan antioksidan ke dalam pengencer, yang dalam penelitian ini vitamin E digunakan sebagai antioksidan untuk suplementasi dalam pengencer Tris-kuning telur. Vitamin E adalah antioksidan yang larut dalam lemak yang dapat menghentikan peroksidasi lipid pada membran plasma spermatozoa selama proses preservasi (Breinger *et al.*, 2005 ; Bebas, dkk. 2016). Lebih

lanjut Bebas, dkk (2016), menjelaskan bahwa vitamin E mempunyai kemampuan memutus rantai reaksi peroksidasi atau menangkap rantai radikal bebas dengan cara bereaksi secara langsung dengan berbagai peroksi organik sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai dan dapat menekan terjadinya kerusakan peroksidatif yang berpengaruh terhadap kualitas sperma.

Tris berperan sebagai penyangga untuk mempertahankan pH yang optimal bagi spermatozoa serta memiliki toksisitas yang rendah (Negoro,2011). Kuning telur biasanya ditambahkan dalam bahan pengencer yang berfungsi melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (cold shock). Selama penyimpanan (Tsutsui *et al.*, 2003). Tujuan penelitian adalah mengkaji pengaruh penambahan vitamin E dalam pengencer Tris-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi duroc.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Bahan Pengencer

Larutan Tris dipersiapkan dengan komposisi Tris (hydroxy methyl) 3,87 g, asam sitrat 2,17 g, fruktosa 1,56 g, dan aquadest 100 ml. Kuning telur diambil dari telur ayam yang masih segar melalui beberapa langkah yaitu membersihkan cangkang telur dengan alkohol 70%, cangkang telur tersebut dipecahkan dengan menggunakan pinset steril, kuning telur dan putih telur dipisahkan lalu letakkan kuning telur pada lembaran kertas saring, gulingkan kuning telur tersebut agar albumen yang masih menempel pada kuning telur terserap oleh kertas saring, sayat membran vitelin kuning telur dengan menggunakan scalpel steril, dan tuangkan kuning telur ke dalam gelas ukur.

Pengencer Tris-kuning telur dibuat dengan komposisi larutan Tris 80% dan kuning telur 20%. Ke dalam setiap mL pengencer Tris-kuning telur ditambahkan penisilin 1000 IU dan streptomisin 1.000 µg. Setelah dicampur secara merata, ditambahkan vitamin E dengan konsentrasi 0% (P0), 0,5% (P1), 1,0% (P2), 1,5% (P3), 2,0% (P4), dan 2,5% (P5).

Penampungan semen

Sumber semen diperoleh dari dua ekor babi jantan berumur ± tiga tahun yang dikoleksi dua kali seminggu. Sebelum dilakukan penampungan semen, alat yang akan digunakan terlebih dahulu disterilkan. Demikian juga bulu-bulu disekitar preputium dicukur agar tidak terpegang/ketarik sewaktu menangkap ujung penis. Pejantan yang telah dilatih akan menaiki induk buatan (dummy),urut preputium dan scrotum untuk merangsang pejantan agar mengeluarkan penisnya. Segera

pegang ujung penis yang berbentuk bulir (derat) waktu dikeluarkan. Usahkan jari tengah dan jari manis berada diantara lekukan bulir-bulir tersebut serta lubang saluran penis berada diluar genggam.

Lakukan pijatan lembut berirama pada bagian penis yang terpegang untuk merangsang pengeluaran semen. Sesekali lakukan sentuhan lembut pada ujung penis atau batang penis dengan ibu jari. Cairan bening yang pertama kali dikeluarkan dari penis tidak perlu ditampung karena selain tidak mengandung spermatozoa juga kemungkinan mengandung bibit penyakit. Penampungan semen baru dilakukan ketika penis mengeluarkan cairan berwarna putih. Penampungan dilakukan sampai babi pejantan tidak mengeluarkan semen lagi, penis melemah, pejantan menarik penis ke dalam preputiumnya dan turun dari induk buatan. Proses penampungan dapat berlangsung antara 10-15 menit dengan volume semen berkisar antara 100-250 ml atau lebih.

Evaluasi semen

Evaluasi semen dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis meliputi: pengukuran volume, diukur dengan melihat skala pada gelas ukur, volume normal semen segar 100-250 ml atau lebih. Warna semen segar dilihat secara visual , warna normal semen segar putih susu. Pengukuran derajat keasaman (pH) dapat diukur dengan menggunakan pH meter, untuk memperoleh data yang akurat, melakukan kalibrasi sebelum alat tersebut digunakan. pH normal semen segar babi 6,8-7,6. Kosistensi atau derajat kekentalan, cara menilai

kosistensi adalah dengan memiringkan tabung yang berisi semen dan mengembalikan pada posisi semula. Kosistensi normal semen segar babi adalah encer.

Evaluasi secara mikroskopis meliputi: motilitas yang diamati menggunakan mikroskopis cahaya dengan pembesaran 10x40. Penilaian dengan cara melihat persentase spermatozoa yang motil dan tidak motil secara subjektif dan dinyatakan dalam persentase (%).

Pengamatan viabilitas spermatozoa menggunakan zat warna eosin dan dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 10x40. Spermatozoa dengan bagian kepala yang tidak berwarna adalah spermatozoa hidup sedangkan kepala yang berwarna merah muda merupakan spermatozoa mati. Pemeriksaan dilakukan pada 5 lapang pandang yang berbeda sampai memperoleh jumlah total 100 spermatozoa, kemudian baru dihitung persentase hidup spermatozoa.

Abnormalitas merupakan penyimpangan pada morfologi spermatozoa yang dapat menurunkan daya fertilisasi spermatozoa. Abnormalitas yang dihitung adalah abnormalitas kepala besar, kepala terlalu kecil, kepala ganda, ekor melingkar, ekor ganda.

Pengenceran, Penyimpanan Dan Evaluasi Kualitas Semen Cair

Semen babi yang berkualitas baik dan memenuhi syarat diencerkan dengan Tris-kuning telur yang ditambahkan vitamin E dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0% (P0), 0,5% (P1), 1,0% (P2), 1,5% (P3), 2,0% (P4), dan 2,5% (P5). Masing-masing perlakuan diulang empat kali sehingga terbentuk 24 unit percobaan. Materi penelitian diacak ke dalam perlakuan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL).

Semen yang telah diencerkan diisi ke dalam tabung dan diberi label: perlakuan, tanggal penampungan, dan nama pejantan, dan selanjutnya dimasukkan

ke dalam bejana berisi air dan disimpan dalam *cool box* dengan suhu 18-20°C. Pengamatan kualitas semen cair dilakukan pasca pengenceran, dan pengamatan selanjutnya dilakukan setiap 8 jam hingga motilitas menjadi minimal 40%.

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup

Motilitas adalah gerakan progresif spermatozoa yang maju kedepan. Motilitas yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Penilaian dilakukan dengan cara melihat persentase spermatozoa yang motil dan tidak motil secara subjektif dan nilai dinyatakan dalam persentase (%).

Pengamatan viabilitas spermatozoa menggunakan zat warna eosin negrosin. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan mikroskop pembesaran 10x40. Spermatozoa dengan bagian kepala tidak berwarna adalah spermatozoa hidup sedangkan bagian kepala yang berwarna merah muda merupakan spermatozoa yang mati. Pemeriksaan dilakukan pada 5 lapangan pandang yang berbeda sampai memperoleh jumlah total 100 spermatozoa, kemudian baru dihitung persentase hidup spermatozoa.

Penyimpangan pada bentuk morfologi spermatozoa yang dapat menurunkan daya fertilitas spermatozoa. Abnormalitas yang dihitung adalah abnormalitas kepala terlalu besar, kepala terlalu kecil, kepala ganda (*duplicate head*), ekor melingkar dan ekor ganda.

Pengamatan terhadap spermatozoa yang bertahan hidup dalam jangka waktu tertentu selama motilitasnya layak untuk inseminasi buatan.

Analisis Data

Data yang diperoleh dihitung rata-rata dan standard deviasi dan dianalisis dengan *analysis of variance* dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan bantuan *software SPSS 17.0 for window*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa sesudah pengenceran selalu digunakan sebagai acuan dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan karena motilitas mempunyai peran penting untuk keberhasilan fertilisasi (Hafez dan Hafez, 2000).

Motilitas spermatozoa masing-masing spesies berbeda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungan. Rataan persentase motilitas spermatozoa babi Duroc setelah penyimpanan dalam pengencer tris-kuning telur dengan berbagai konsentrasi vitamin E ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pesentase motilitas spermatozoa babi Duroc dalam pengencer tris-kuning telur dengan level vitamin E yang berbeda

amatan	Perlakuan					
	P0(0)	P1(0,5)	P2(1)	P3(1,5)	P4(2)	P5(2,5)
0	76,25±2,50 ^a	76,25±2,50 ^a	76,25±2,50 ^a	76,25±2,50 ^a	76,25±2,50 ^a	76,25±2,50 ^a
8	60,21±0,20 ^c	60,10±0,21 ^c	61,37±2,42 ^c	66,25±2,50 ^b	71,58±2,30 ^a	61,55±2,31 ^c
16	51,25±2,50 ^d	52,58±2,79 ^{cd}	55,20±0,24 ^c	60,20±0,41 ^b	66,29±2,47 ^a	50,00±0,00 ^d
24	42,62±2,75 ^d	45,87±1,14 ^d	50,29±0,39 ^c	55,14±0,18 ^b	61,53±2,54 ^a	43,12±3,75 ^d
32	34,25±2,98 ^e	42,25±2,50 ^d	45,51±0,36 ^c	50,00±0,00 ^b	55,20±0,40 ^a	34,50±5,33 ^e
40	27,84±2,4 ^e	31,90±2,44 ^e	40,15±0,30 ^c	45,13±0,16 ^b	50,12±0,25 ^a	37,07±2,21 ^e
48	18,87±2,59 ^e	24,04±2,26 ^d	31,01±1,32 ^c	40,00±0,00 ^b	45,00±0,00 ^a	20,10±0,20 ^e
56	12,50±5,00 ^d	16,25±2,50 ^d	23,39±4,03 ^c	32,39±2,44 ^b	40,20±0,41 ^a	13,00±2,44 ^d
64	6,25±2,50 ^d	6,25±2,50 ^d	15,75±4,34 ^c	22,50±2,88 ^b	33,75±2,50 ^a	6,25±2,50 ^d

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,5$)

Hasil analisis menunjukkan bahwa jam ke – 0, tidak berbeda secara nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase motilitas spermatozoa. Namun setelah disimpan selama 8 hingga 64 jam spermatozoa menunjukan motilitas yang berbeda secara signifikan ($P < 0,05$) antara perlakuan. Suplementasi vitamin E 2% dalam pengencer tris kuning telur menghasilkan persentase spermatozoa yang lebih tinggi daripada perlakuan lainnya terutama pada penyimpanan 56 jam ($P < 0,05$), dengan persentase motilitas masih di atas 40%, sedangkan lima perlakuan lainnya motilitas sperma sudah berada di bawah 40%. Hal ini membuktikan bahwa kandungan nutrisi terutama antioksidan di dalam vitamin E memberikan efek positif terhadap pergerakan spermatozoa.

Penurunan persentase motilitas spermatozoa dimungkinkan karena terjadinya peroksidasi lipid sehingga merusak membrane spermatozoa. Keadaan ini terjadi karena membrane spermatozoa banyak mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap kerusakan peroksidasi (Maxwell dan Waston, 1996). Selanjutnya White (1993), Sikka (2004), dan Maldjian *et al.*, (2005), menyatakan bahwa spermatozoa mamalia kaya akan asam lemak tidak jenuh dan sangat mudah terkena *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa serta meningkatkan kerusakan morfologi yang mempengaruhi terhadap kapasitas spermatozoa dan reaksi akrosom sehingga menyebabkan fungsi membrane selnya menurun akibat fosfolipid pada membrane sel direduksi, sehingga sel mengalami kerusakan permanen.

Peroksida lemak pada membrane plasma merupakan mekanisme kunci dari ROS yang mengakibatkan kerusakan spermatozoa dan infertilitas. Penurunan motilitas spermatozoa selama penyimpan juga mungkin disebabkan oleh semakin berkurangnya zat-zat makanan dalam pengencer, disamping itu juga spermatozoa

mengalami cekaman dingin dan terjadi perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat di dalam pengencer.

Menurut Hartono. (2008), prinsip kerja dari antioksidan dalam menghambat otoksida pada lemak dapat dilihat sebagai berikut: oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh, kemudian radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen sehingga menghasilkan perioksida aktif. Apabila dalam suatu asam lemak yang terdapat di dalamnya tidak mengandung antioksidan maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap asam lemak. Apabila ditambah suatu antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan antioksidan tersebut. Sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan dengan penambahan suatu antioksidan.

Hasil penelitian yang diperoleh adalah 40,20±0,41% pada jam pengamatan yang ke 56. Hasil yang diperoleh ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Tamoës *et al.*, (2014) yang melaporkan bahwa persentase motilitas adalah 43,50±4,18% yang bertahan selama 42 jam. Penelitian ini membuktikan bahwa dengan adanya penambahan vitamin E sebagai antioksidan di dalam pengencer dapat menekan kerusakan spermatozoa selama penyimpanan. Penurunan persentase motilitas spermatozoa terjadi karena kerusakan membran spermatozoa yang disebabkan oleh tekanan *osmotic* sel. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2011), menyatakan bahwa fungsi membran adalah pelindung sel. Kerusakan membran mengakibatkan terganggunya proses metabolisme intraseluler, sehingga spermatozoa akan lemah dan bahkan mengakibatkan kematian spermatozoa.

Pengaruh perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Secara umum, viabilitas spermatozoa dalam pengencer tris-kuning telur baik tanpa maupun dengan penambahan vitamin E mengalami penurunan sering dengan lama waktu (jam)

penyimpanan. Makin lama waktu penyimpanan makin rendah nilai viabilitas spermatozoa yang

diperoleh, dengan tingkat penurunan viabilitas yang berbeda antar perlakuan (Tabel 2).

Tabel 2. Pesentase viabilitas spermatozoa

amatan jam ke	Perlakuan					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
0	81,16±2,60 ^a	81,43±2,89 ^a	81,70±2,84 ^a	81,48±2,50 ^a	82,01±2,15 ^a	81,52±2,89 ^a
8	64,35±0,99 ^c	65,49±0,55 ^c	67,03±2,15 ^c	71,49±2,67 ^b	77,59±2,20 ^a	66,25±2,99 ^c
16	55,84±3,18 ^d	56,67±2,92 ^d	59,99±1,45 ^c	64,45±0,38 ^b	72,07±2,49 ^a	54,15±0,54 ^d
24	46,81±2,78 ^e	50,63±2,03 ^d	55,46±1,25 ^c	59,72±0,52 ^b	67,98±2,71 ^a	47,46±3,12 ^{de}
32	38,82±3,32 ^c	45,77±2,45 ^b	49,10±0,53 ^b	57,56±5,51 ^a	60,62±1,13 ^a	40,09±4,80 ^c
40	31,91±3,72 ^e	36,17±2,26 ^d	45,03±0,20 ^c	50,04±1,03 ^b	56,45±0,81 ^a	30,95±3,60 ^e
48	24,93±4,39 ^d	28,11±2,48 ^d	35,75±1,08 ^c	45,36±0,90 ^b	50,01±0,46 ^a	24,89±1,01 ^d
56	16,87±5,48 ^d	19,27±3,53 ^d	27,97±4,60 ^c	37,12±1,46 ^b	45,45±0,96 ^a	17,35±2,65 ^d
64	10,53±2,45 ^d	12,58±2,36 ^d	19,83±6,75 ^c	26,29±2,95 ^b	39,20±1,86 ^a	10,73±1,77 ^d

Superskrip berbeda pada baris yang sama menyatakan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Pada pengamatan jam ke-0, rataan viabilitas spermatozoa tertinggi dihasilkan oleh perlakuan P4 (82,01) dan terendah pada perlakuan P0 (81,16), namun tidak terdapat perbedaan viabilitas yang signifikan antara perlakuan ($P > 0,05$). Namun sejak pengamatan jam ke-8 hingga ke-64, penambahan vitamin E sebanyak 2% dalam pengencer tris-kuning telur (P4) secara nyata menghasilkan viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada lima perlakuan lainnya.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa dengan penambahan vitamin E pada tingkat konsentrasi 2% dalam pengencer tris kuning telur dapat mempertahankan komposisi pengencer, sehingga spermatozoa dapat dipertahankan hidup lebih lama. Keadaan ini terjadi karena dalam vitamin E yang bersifat antioksidan. Adanya kandungan vitamin E yang mempunyai kemampuan memutus rantai reaksi peroksidasi atau menangkap rantai radikal bebas dengan cara bereaksi secara langsung dengan berbagai peroksi organik sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai dan dapat menekan terjadinya kerusakan peroksidatif yang berpengaruh terhadap kualitas sperma (Bebas *et al.*, 2016).

Penurunan viabilitas spermatozoa juga dapat disebabkan stress oksidatif yang dialami spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin. Hal ini sesuai pendapat Susilawati (2011), menyatakan bahwa proses pendinginan mengakibatkan stress fisik dan kimia pada membrane sel yang dapat menurunkan viabilitas spermatozoa.

Penambahan antioksidan dalam pengencer memberikan efek yang positif terhadap viabilitas spermatozoa babi dengan cara menghambat kerusakan membran spermatozoa. menurut Bebas *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa penambahan antioksidan berupa vitamin E dalam pengencer BTS mampu mempertahankan daya hidup

spermatozoa babi landrace yang disimpan pada suhu 15⁰ selama 96 jam.

Dibandingkan dengan jenis ternak lain, membrane sel spermatozoa babi memiliki kandungan asam lemak tidak jenuh yang tinggi sehingga mudah rusak oleh ROS melalui proses peroksidasi lipid. Peroksidasi akan menyebabkan peningkatan rigiditas dari membrane sel, menurunkan kemampuan membrane mengikat enzim (termasuk mengganggu pompa ion), mengganggu aktivitas reseptor pada membran serta mengganggu permeabilitas membrane (Sanocka dan Kurpisz, 2004; Best, 2006; Liu *et al.*, 2008).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan vitamin E sebanyak 2% mampu mempertahankan viabilitas spermatozoa, tetapi tidak menutup kemungkinan bahwa ada spermatozoa yang tertutup oleh lemak kuning telur sehingga spermatozoa tersebut tidak terlihat jelas saat pengamatan setelah pewarnaan eosin negrosin. Menurut Fitriani (2009), menyatakan bahwa spermatozoa yang terlihat kurang jelas saat pengamatan setelah pewarnaan eosin negrosin mengakibatkan adanya butiran lemak dari kuning telur sehingga spermatozoa yang tidak menyerap warna eosin negrosin kurang terlihat jelas di bawah mikroskop.

Pengaruh perlakuan dengan abnormalitas

Abnormalitas spermatozoa merupakan penyimpangan morfologis yang dapat menurunkan daya fertilitas spermatozoa. McPeake dan Pennington (2009), mengelompokkan abnormalitas dalam 2 kategori, yaitu abnormalitas primer (abnormalitas kepala, *midpiece*, dan *tightly coiled tails*), dan abnormalitas sekunder (kepala tanpa ekor, cytoplasmic droplet, dan ekor membengkok). Abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa babi

amatan jam	Perlakuan					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
0	4,11±0,67 ^a	4,08±0,54 ^a	4,10±0,59 ^a	4,07±0,50 ^a	4,17±0,37 ^a	4,03±0,62 ^a
8	4,28±0,61 ^a	4,25±0,69 ^a	4,14±0,73 ^a	4,28±0,59 ^a	4,26±0,45 ^a	4,32±0,78 ^a
16	4,41±0,63 ^a	4,53±0,62 ^a	4,17±0,32 ^a	4,49±0,65 ^a	4,43±0,50 ^a	4,47±0,71 ^a
24	4,89±0,55 ^a	4,84±0,52 ^a	4,84±0,75 ^a	4,69±0,60 ^a	4,76±0,34 ^a	4,61±0,68 ^a
32	5,20±1,20 ^a	5,12±0,43 ^a	5,00±0,71 ^a	4,92±0,74 ^a	4,79±0,48 ^a	5,01±0,62 ^a
40	5,68±0,91 ^a	5,39±0,50 ^a	5,39±0,59 ^a	5,15±0,77 ^a	4,93±0,40 ^a	5,20±0,57 ^a
48	6,11±1,14 ^a	5,86±0,89 ^a	6,02±0,83 ^a	5,58±0,48 ^a	5,41±0,44 ^a	5,79±0,99 ^a
56	6,59±0,67 ^a	6,26±0,87 ^a	6,15±0,65 ^a	6,28±0,47 ^a	5,90±0,60 ^a	6,27±0,64 ^a
64	6,89±0,65 ^a	6,61±0,78 ^a	6,49±0,71 ^a	6,63±0,52 ^a	6,26±0,86 ^a	6,88±0,77 ^a

Superskrip berbeda pada baris yang sama menyatakan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan tabel 3 terlihat bahwa abnormalitas spermatozoa terlihat tidak berbeda antara perlakuan ($P > 0,05$), namun, mengalami peningkatan pada akhir penyimpanan untuk semua perlakuan. Jumlah spermatozoa abnormalitas semakin meningkat, hal ini akan menyebabkan rendah kesuburan semen ternak tersebut. Peningkatan angka abnormalitas tidak hanya disebabkan pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan namun juga disebabkan oleh adanya peroksida lipid (Suyadi *et al.*, 2012). Sesuai dengan pernyataan Rizal dan Herdis (2006) bahwa abnormalitas lebih banyak berupa terpisahnya ekor dengan kepala terputus saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan.

Menurut Alawiyah dan Hartono (2006), berpendapat bahwa peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan struktur dan metabolisme spermatozoa yang berakibat meningkatnya abnormalitas spermatozoa. peningkatan abnormalitas spermatozoa juga diduga disebabkan pH pengencer semakin turun karena semakin tinggi konsentrasi vitamin E pada pengencer sehingga spermatozoa mengalami kerusakan morfologi dan diduga disebabkan oleh perubahan suhu selama prosesing. Menurut Saenz (2007), selama prosesing semen, jumlah spermatozoa yang mempunyai ekor bengkok dan patah akan meningkat. Avida (2009), menyatakan bahwa perubahan suhu selama prosesing semen dapat menyebabkan perubahan permeabilitas sel membran sel dinding spermatozoa, keadaan

tersebut dapat menyebabkan meningkatnya abnormalitas spermatozoa.

Berdasarkan hasil pengamatan konsentrasi vitamin E 2% yang paling mampu mempertahankan peningkatan abnormalitas dengan persentase sebesar 5,90±0,60% (56 jam). Hal ini diduga disebabkan oleh penambahan konsentrasi 2% dalam pengencer mampu mencegah terjadinya peroksida lipid dan melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (*cold shock*) pada penyimpanan. Penambahan vitamin E 2,5% menyebabkan meningkatnya abnormalitas spermatozoa dengan persentase sebesar 6,88±0,77% (56 jam) diduga disebabkan oleh penambahan vitamin E 2,5% dapat bersifat racun. Abnormalitas spermatozoa pada penelitian ini berada dalam kisaran normal yaitu kurang dari 20%. Hal ini sesuai dengan pendapat Hafez (2000), yang menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa yang tidak lebih dari 20% masih dapat digunakan untuk pembuahan.

Pengaruh perlakuan terhadap daya tahan hidup spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap bergerak dalam kurun waktu tertentu setelah penyimpanan in vitro (Hine *et al.*, 2014). Hasil pengamatan daya tahan hidup spermatozoa untuk masing-masing perlakuan selama penyimpanan terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pesentase daya tahan hidup spermatozoa

Perlakuan	Daya tahan hidup (jam)
P0	24,00±0,00 ^e
P1	32,00±0,00 ^d
P2	40,00±0,00 ^c
P3	48,00±0,00 ^b
P4	56,00±0,00 ^a
P5	24,00±0,00 ^e

Superskrip berbeda pada baris yang sama menyatakan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Daya tahan hidup spermatozoa dalam pengencer tris kuning telur yang di suplementasi vitamin E memiliki daya tahan hidup yang lebih lama ($P < 0,05$) dari pada kontrol (tanpa penambahan vitamin E).

Dalam proses inseminasi buatan diperlukan pengolahan semen agar dapat disimpan dan digunakan dalam waktu yang cukup lama. Selama proses pengenceran dan penyimpanan masalah yang paling sering timbul adalah rusaknya membrane plasma spermatozoa akibat terbentuknya peroksida lipid. Keadaan ini terjadi karena membrane spermatozoa banyak mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap kerusakan peroksida (Maxwell dan Waston, 1996).

Menurut Hsieh *at al.*, (2006), bahwa fertilitas optimal dari spermatozoa dapat dipertahankan beberapa lama sesudah penampungan dengan cara menambahkan bahan pengencer yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa. Serta pemberian antioksidan yang tepat memberikan hasil yang maksimal untuk mencegah peroksida lipid pada membrane plasma spermatozoa dengan cara mencegah atau memutuskan reaksi rantai peroksida lipid pada membran plasma spermatozoa, sehingga mampu mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma spermatozoa. membran yang utuh akan menyebabkan proses metabolisme dapat berjalan dengan baik, sehingga energi yang dihasilkan maksimal.

KESIMPULAN

Penambahan vitamin E ke dalam pengencer Tris-kuning telur efektif untuk mempertahankan kualitas spermatozoa babi duroc, dengan level vitamin E terbaik adalah 2,0%.

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, D dan Hartono, M. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan pengencer sitrat Kuning Telur terhadap Kualitas semen beku Kambing Boer. *J.Indon.Trop.Anim.Agric.* 31 [1]: 8-14.
- Ardana, B. dan putra, H. 2008. Manajemen *Reproduksi, Produksi Dan Penyakit Ternak Babi*. Udayana University Press. Bali
- Avida, N. A. 2009. *Pengaruh Tingkat Konsentrasi Kuning Telur pada Pengencer Tris Aminomethane Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing PE Setelah Proses Pembekuan*. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Bebas, W., Buyona G.L dan Budiasa M.K. 2016. Penambahan Vitamin E Pada Pengencer BTS Terhadap Daya Hidup dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace Pada Penyimpanan 15°C. *Buletin Veteriner Udayana. Universitas Udayana. Denpasar.* Vol 8 (1) : 1 – 7
- Breining E., Beorlegui N.B and laherty C.M. 2005. Alphas-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. *Theriogenology*, 63: 2126- 2135.
- Fitriani. 2009. *Kajian Penambahan α -tocopherol dengan Lama Penyimpanan dan Suhu Berbeda terhadap Kualitas Semen Entog*: Program Studi Doktor Ilmu Pertanian Minat Ilmu Ternak. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya. Malang.
- Hafez E.S.E., Hafez B. 2000. *Reproduction in farm animal*. 7th ed. Lippincott Wiliam and Wilkins. South Carolina.
- Hartono M. 2008. Optimalisasi penambahan vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen kambing boer. *J Indonesian Trop Anim Agric*, 33: 1-9.
- Hsieh Y. Y., Chang C.C and Lin C.S. 2006. seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *Int J Boil Sci*, 2:23-29.
- Liu, C. Wang, X. Ma, H. Zhang, Z. Gao, W and Xiao, L. 2008. Functional properties of protein isolates from soybeans stored under various conditions. *J Food Chem* 111:29-37.
- Maldjian, A. Pizzi, F., Gliozzi, T., Cerolini, S., Penny, P and Noble, R. 2005. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Theriogenology* 63: 411-421.
- Mata Hine T, Burhanuddin, Marawali A. 2014. Efektivitas air buah lontar dalam Mempertahankan motilitas, viabilitas dan

- daya tahan hidup spermatozoa sapi babi. *Jurnal veteriner* 15 (2) : 263-273.
- Maxwell, W.M.C and Watson, P.F. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *Animal Reproduction Science* 43: 55-65.
- McPeake S.R., Pennington J.A. 2009. Breeding soundness evaluation for beef and dairy bulss
- Negoro F.P. 2011. *Pengaruh bahan pengencer tris kuning telur, tris susu skim dan tris susu sapi segar terhadap kualitas semen sapi pesisir dan sapi peranakan ongle (PO)*. Skripsi. Padang (ID): Universitas Andalas.
- Saenz, J. R. 2007. *Criopreservation of While-Tail Deer Epididymal Sperm for Artificial Insemination*. Thesis. New Mexico State University.
- Sanocka, D and Kurpisz, M. 2004. *Reactive Oxygene Spesies and Sperm Cells*. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2(12):1-7.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. UB Press. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suyadi, A., Rachmawati., dan Iswanto, N. 2012. Pengaruh α -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethan-kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 5⁰C. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan* 22 (1) : 1-8.
- Sikka, S. C. 2004. Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *Journal Androl.* 25:5-18.
- Suryohudoyo P. 2000. *Oksidan, antioksidan, dan radikal bebas Dalam Kipata Selektia Ilmu Kedokteran Molekuler*. P Suryohudoyo (ed) CV Sagung Seto, Jakarta. Hal 31-47.
- Tamoes, J.A, Nalley W.M, dan Hine T. M. 2014. Fertilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai. *J sains peternakan*, 12(1): 20-30.
- Tzutsui, T., Tesuka, T., Mikasa, Y., Sugisawa, H., Kirihana, N., Hori, T., Kawakami, E. 2003. Artificial insemination with canine semen stored at a low temperature. *Journal Veteriner Medicine Science.* 65(3):307-312.
- White, I.G. 1993. *Lipid and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation* A review. *Reprod Fertil Dev* 5: 639-658.