

**PENGARUH PENAMBAHAN AIR TEBU KEDALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR
AYAM TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR BABI PERSILANGAN LANDRACE DAN
DUROC**

*The Effect of Adding Sugarcane water to Tris Egg Yolk Diluent on the Quality of Liquid Semen in
Crossbred Landrace and Duroc Pigs*

Yohanes Nggadik Vernino, Agustinus Ridlof Riwu, Ni Made Paramita Setyani, Aloysius Marawali
Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jln. Adisucipto Penfui, Kupang 85001
Email: yohanesvernino@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan air tebu ke dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa pada babi persilangan Landrace dan Duroc. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar dari babi persilangan Landrace dan Duroc berusia 1,5 tahun, yang dalam kondisi sehat dan terlatih dalam penampungan semen. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 6 perlakuan dan 5 ulangan, yaitu: P0 = Tris kuning telur + 0% air tebu, P1 = Tris kuning telur + 5% air tebu, P2 = Tris kuning telur + 10% air tebu, P3 = Tris kuning telur + 15% air tebu, P4 = Tris kuning telur + 20% air tebu, dan P5 = Tris kuning telur + 25% air tebu. Variabel yang diamati meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa. Semen yang telah diencerkan disimpan dalam coolbox pada suhu 18-20°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P4 dengan penambahan 20% air tebu menghasilkan motilitas sebesar 57,00±2,74%, viabilitas 67,80±4,97%, abnormalitas 5,50±0,79%, dan daya tahan hidup spermatozoa mencapai 68,52 jam. Kesimpulannya, penambahan 20% air tebu dalam pengencer tris kuning telur memberikan pengaruh positif terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa hingga 68,52 jam.

Kata kunci: Air tebu, babi persilangan, kuning telur, tris.

Abstract

This study aims to evaluate the effect of adding sugarcane juice to egg yolk tris extender on the quality of spermatozoa in Landrace and Duroc crossbred pigs. The material used in this study was fresh semen from 1.5-year-old Landrace and Duroc crossbred pigs in healthy condition and trained in semen collection. The study used an experimental method with a completely randomized design consisting of 6 treatments and 5 replications: P0 = egg yolk tris + 0% sugarcane juice, P1 = egg yolk tris + 5% sugarcane juice, P2 = egg yolk tris + 10% sugarcane juice, P3 = egg yolk tris + 15% sugarcane juice, P4 = egg yolk tris + 20% sugarcane juice, and P5 = egg yolk tris + 25% sugarcane juice. The observed variables included motility, viability, abnormality, and spermatozoa survival time. The diluted semen was stored in a coolbox at 18-20°C. The results showed that the P4 treatment with 20% sugarcane juice resulted in a motility of 57.00±2.74%, viability of 67.80±4.97%, abnormality of 5.50±0.79%, and spermatozoa survival time of 68.52 hours. In conclusion, the addition of 20% sugarcane juice to egg yolk tris extender positively affected motility, viability, abnormality, and spermatozoa survival time up to 68.52 hours.

Keywords: Sugarcane water, crossbred pigs, egg yolk, tris.

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) adalah metode penyuntikan sperma yang telah diencerkan ke saluran reproduksi betina hewan ternak. Keberhasilannya sangat bergantung pada kualitas sperma yang berasal dari hewan jantan yang sehat (Setyani *et al.* 2017). Meningkatkan volume semen dengan menambahkan pengencer ke dalam semen juga dapat meningkatkan efektivitas inseminasi buatan. Selain meningkatkan volume semen, tujuan pengenceran adalah untuk melindungi sperma dari kejutan dingin, berfungsi sebagai sumber nutrisi dan energi bagi sperma, menjaga kestabilan pH, tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, serta menyediakan penyangga untuk mencegah pertumbuhan bakteri.

Triturated egg yolk (T-KT) biasanya digunakan sebagai pengencer semen karena sifat penyangganya membantu menstabilkan nilai pH, menjaga tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. T-KT hampir secara eksklusif terdiri dari Tris (*hidroksimetilaminometana*), asam sitrat dan fruktosa (Dongkot *et al.* 2022). Fruktosa adalah gula sederhana dengan berat molekul rendah, mirip dengan glukosa, dan umumnya digunakan sebagai sumber karbohidrat yang menyediakan sumber energi untuk fungsi fisiologis sel sperma selama kriopreservasi (Nabilla *et al.* 2018). Mereka merusak membran sel sperma, yang tersusun atas asam lemak atau lipid, dan menyebabkan peroksidasi lipid dan kuning telur hanya mengandung protein seperti glutathion peroksidase (GPX) dan superoksida dismutase (SOD), yang menangkal radikal bebas dan mencegah peroksidasi lipid (Rahmansyah dan Hariani, 2023). Kelemahan pengencer T-KT yaitu tidak mengandung antioksidan yang mencegah peroksidasi lipid. Solusi untuk masalah ini dengan menggunakan pengencer yang mengandung sumber energi tambahan dan antioksidan yang dapat memperpanjang masa simpan serta memberikan nutrisi dan perlindungan pada sperma selama penyimpanan.

Tebu adalah tanaman yang dapat digunakan sebagai pengencer. Tebu merupakan tanaman mirip rumput yang tumbuh di banyak komunitas dan sangat bergizi. Sari tebu murni mengandung 9,8% sukrosa dan fruktosa, yang berfungsi sebagai sumber energi dan makanan selama penyimpanan sperma, sementara tebu juga mengandung 0,7% gula investasi. Sukrosa yang terkandung dalam tebu dapat digunakan sebagai pengencer sperma.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Reproduksi Dan Kesehatan Ternak, Kupang, Nusa Tenggara Timur. Penelitian ini berlangsung selama enam minggu dan dibagi menjadi dua tahap, yaitu tahap persiapan dan tahap pengumpulan data.

Materi Penelitian

Semen segar yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari babi jantan dewasa ras Landrace dan Duroc berusia 1,5 tahun dalam kondisi sehat. Babi-babi tersebut dipelihara secara individu di kandang dengan pakan dan air yang cukup. Ekstrak air tebu, kuning telur ayam, dan asam triasetat digunakan sebagai bahan pengencer.

Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang melibatkan enam perlakuan dan lima ulangan.

P0 = Tris kuning telur

P1 = Tris Kuning Telur + Air tebu 5%

P2 = Tris Kuning Telur + Air tebu 10%

P3 = Tris Kuning Telur + Air tebu 15%

P4 = Tris Kuning Telur + Air tebu 20%

P5 = Tris Kuning Telur + Air tebu 25%.

Persiapan Pengencer

Langkah pertama adalah menyiapkan kuning telur. Pertama, telur dicuci di laboratorium dengan alkohol 70% dan dilap dengan tisu. Bagian kulit telur yang berbentuk kerucut kemudian dipatahkan sedikit dengan pinset. Buat lubang kecil dan keluarkan putih telurnya. Buat lubang sedikit lebih besar, lalu tuangkan kuning telur di atas kertas saring untuk menyerap sisa putih telur. Hati-hati tuangkan kuning telur melalui kertas saring ke dalam gelas ukur, pastikan kertas saring tidak ikut masuk.

Pada langkah kedua, larutan hidroksimetilaminometana disiapkan. Pertama, 3,03 g *hidroksimetilaminometana trihidrat*, 1,78 g asam sitrat monohidrat, dan 1,25 g *fruktosa* ditimbang. Komponen-komponen ini dilarutkan dalam 100 ml larutan Aquavidest dan ditambahkan 0,33 ml antibiotik *penisilin* dan 0,5 ml *streptomisin*. Campuran dihomogenkan dengan menggunakan pengaduk dan batang pemutar.

Kemudian dicampurkan larutan Tris 80% dengan kuning telur 20% dan homogenkan hingga semuanya tercampur rata. Tambahkan 3

ml larutan Tris-kuning telur ke dalam setiap tabung reaksi dengan menggunakan mikropipet dan *tutup* dengan *aluminium foil*.

Langkah selanjutnya adalah membuat jus tebu. Pertama, potong batang tebu menjadi potongan-potongan sepanjang 5-10 cm. Cuci bersih batangnya, kupas dan potong tipis-tipis. Haluskan hingga halus. Peras batang tebu yang sudah dihaluskan dan pisahkan menjadi sari dan ampasnya. Air perasan dapat disaring dan digunakan sesuai keinginan.

Penampungan Semen

Sebelum pengambilan sperma, area genital jantan, terutama kulup, dibersihkan dengan air. Pejantan kemudian ditempatkan di kandang khusus, dan pengambilan semen dilakukan secara manual (*menggunakan sarung tangan*) dengan cara memegang penis dengan telapak tangan yang sudah dibersihkan dan merangsang *ujung distal* penis dengan tarikan pelan, sehingga pejantan dengan cepat terangsang dan mengeluarkan air mani. Air mani kemudian ditampung dalam wadah yang dilapisi kain kasa dan fraksi sistein dipisahkan.

Evaluasi Semen

Penilaian air mani terdiri dari dua metode: makroskopis dan mikroskopis. Metode makroskopis melibatkan penilaian volume, warna, bau, konsistensi, dan pH semen, sedangkan metode mikroskopis mengevaluasi mobilitas, viabilitas, malformasi, dan daya tahan hidup semen.

Variabel Penelitian

Penelitian ini mengukur variabel-variabel yang mencakup:

❖ Motilitas

Kemampuan sperma untuk bergerak maju atau lambat dikenal sebagai motilitas sperma. Sperma yang tetap berada di tempatnya tanpa bergerak maju dikategorikan sebagai sperma mati, sedangkan sperma yang bergerak maju disebut sperma hidup. Motilitas sperma diuji dengan menempatkan setetes sperma di atas objek kaca, menutupnya, dan mengamatinya di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Sementara itu, viabilitas sperma dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Motilitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total Spermatozoa yang di hitung}} \times 100\%$$

❖ Viabilitas

Jika seras diwarnai secara mikro dengan pewarna eosin 2%, setetes sperma ditempatkan pada objek gelas dan setetes sperma ditempatkan pada objek gelas dengan setetes pewarna eosin, maka pengamatan viabilitas

dapat dinyatakan dalam bentuk persentase. Langkah selanjutnya adalah mencampur sperma dengan baik dan kemudian menempatkannya pada objek gelas lain untuk mengamati viabilitas sperma di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Viabilitas sperma dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total Spermatozoa yang di hitung}} \times 100\%$$

❖ Abnormalitas

Abnormalitas sperma divisualisasikan dengan menggunakan pewarna diferensiasi eosin, diikuti dengan pemeriksaan mikroskopis pada pembesaran 400x. Sperma yang abnormal dapat dikenali dari bentuk morfologi kepala, leher, dan ekornya. Malformasi sperma dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Ab (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang abnormal}}{\text{Jumlah Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab: Abnormalitas

❖ Daya Tahan Hidup

Viabilitas ditandai dengan motilitas dan aktivitas, yang merupakan kriteria atau cara sederhana dan mudah untuk mengevaluasi IB semen, dengan motilitas terinduksi terbaik adalah motilitas maju dan persentase motilitas semen babi kurang dari 40% yang mengindikasikan nilai semen yang rendah, yang biasanya dikaitkan dengan infertilitas. Sebuah formula dapat digunakan untuk menghitung viabilitas (Nuba, 2024).

$$\text{DTH} = \text{JPT} \frac{[\text{MAS} - \text{MS}]}{[\text{MAS} - \text{MBS}]} \times \text{RWE}$$

Keterangan :

DTH: Daya Tahan Hidup

JPT: Jam pengamatan terakhir (dengan motilitas sperma masih memenuhi standar IB)

MAS: Motilitas sperma yg berada persis di atas standar IB

MS: Motilitas sperma standar

MBS: Motilitas sperma yang berada di bawah standar

RWE: Rentang waktu evaluasi.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) dengan uji Tukey. Data dianalisis *menggunakan perangkat lunak Minitab16*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas sperma merupakan salah satu parameter yang paling penting untuk menilai kualitas air mani. Wahyuningsih (2013) menjelaskan bahwa motilitas sperma adalah

kemampuan sperma untuk membuahi sel telur. Apabila motilitasnya baik, maka sperma akan mencapai sel telur di tuba falopi dalam waktu yang relatif singkat, sehingga terjadi pembuahan sempurna. Rata-rata tingkat motilitas sperma untuk setiap perlakuan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa

| Jam ke | Persentase motilitas (%) | | | | | | Nilai P value |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------|
| | P0 | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | |
| 0 | 81,00±4,18 ^a | 81,00±4,18 ^a | 81,00±4,18 ^a | 81,00±4,18 ^a | 81,00±4,18 ^a | 81,00±4,18 ^a | 1,000 |
| 12 | 60,00±3,54 ^e | 63,00±2,74 ^{de} | 65,00±3,54 ^{cd} | 69,00±2,24 ^c | 79,00±4,18 ^a | 74,00±4,18 ^b | 0,000 |
| 24 | 53,00±2,74 ^d | 57,00±4,47 ^{cd} | 62,00±6,70 ^{bc} | 64,00±4,18 ^b | 73,00±4,47 ^a | 67,00±4,47 ^{ab} | 0,000 |
| 36 | 47,00±2,74 ^e | 53,00±2,74 ^d | 57,00±2,74 ^c | 58,00±2,74 ^c | 69,00±2,24 ^a | 63,00±2,74 ^b | 0,000 |
| 48 | 42,00±2,74 ^d | 48,00±2,74 ^c | 50,00±3,54 ^{bc} | 54,00±2,24 ^b | 63,00±4,47 ^a | 60,00±3,54 ^a | 0,000 |
| 60 | 29,00±4,18 ^e | 42,00±2,74 ^d | 44,00±2,24 ^{cd} | 47,00±2,74 ^c | 57,00±2,74 ^a | 52,00±2,74 ^b | 0,000 |
| 72 | 11,00±4,18 | 16,00±4,18 | 20,00±5,00 | 25,00±3,54 | 33,00±2,74 | 28,00±2,74 | |

Ket : ^{a,b,c,d,e}. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). T-KT= Tris Kuning Telur, AT=Air Tebu, P0= T-KT ,P1= T-KT+5% AT, P2= TK-T+10% AT ,P3= T-KT+15% AT, P4=TK-T+20% AT,P5= T-KT + 25% AT.

Analisis menunjukkan perbedaan motilitas antara P1 dan kelompok lainnya, yang disebabkan oleh pengaruh sukrosa dalam air tebu sebagai sumber energi dan makanan bagi spermatozoa. (Tanii *et al.* 2022). Namun, dari jam ke-12 hingga jam ke-60 penyimpanan, sumber energi dalam air tebu menurun seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan, dan motilitas sperma menurun pada semua perlakuan.

Tabel 1 menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan ($P > 0,05$) pada kelangsungan hidup setelah jam ke-0, menunjukkan kualitas semen tetap baik setelah pengenceran. Namun, pada jam ke-12 hingga ke-60, perlakuan P0 memiliki daya tahan hidup lebih pendek, sementara Knigg ice riacetate mempertahankan kualitas sperma hingga jam ke-48. Sebaliknya, perlakuan P1-P5 dapat bertahan hidup hingga 60 jam, dengan perlakuan P4 memiliki viabilitas sperma tertinggi. Namun demikian, viabilitas sperma masih berada di atas nilai standar yaitu 40% (layak untuk inseminasi/IB) untuk semua perlakuan.

Daya tahan yang rendah pada P0 (tanpa air tebu) disebabkan oleh kurangnya nutrisi dalam trigliserida kuning telur, yang tidak menyediakan energi yang dibutuhkan sperma untuk penyimpanan jangka panjang, yang mengakibatkan berkurangnya motilitas sperma. Sebaliknya, perlakuan (AT) P1-P5 dengan penambahan air tebu menyebabkan motilitas yang lebih baik karena meningkatnya kebutuhan nutrisi sperma; analisis hingga 60 jam

pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan P4 memiliki motilitas tertinggi ($57,00 \pm 2,74\%$) dan pengaruhnya signifikan ($P < 0,05$). Diikuti oleh P5 ($52,00 \pm 2,74\%$), P3 ($47,00 \pm 2,74\%$), P2 ($44,00 \pm 2,24\%$) dan P1 ($42,00 \pm 2,74\%$). (2013). 2021)Perlakuan optimum P4 dengan 20% air tebu menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan P0 sebagai kontrol, yang merupakan kombinasi perlakuan yang sesuai untuk mempertahankan kualitas sperma dalam pengencer tris kuning telur. Kulaksiz *et al.* (2013) menemukan bahwa terlalu banyak zat terlarut dapat meningkatkan tekanan osmotik medium, yang dapat mempengaruhi kelangsungan hidup sperma secara negatif.. Mereka menunjukkan. Rizal *et al.* (2007) Tingkat motilitas yang lebih tinggi dari P4 dibandingkan dengan semua perlakuan lainnya dapat disebabkan oleh hidrolisis sukrosa dalam air tebu menjadi glukosa dan fruktosa, yang digunakan oleh sperma sebagai energi (Banamtuan *et al.* 2021). Sukrosa adalah krioprotektan ekstraseluler, yang melindungi sperma selama penyimpanan dan mendukung umurnya yang panjang, menurut para penulis. Selain itu, Selain itu, Aisen *et al.* (2002) menunjukkan bahwa pengencer yang mengandung gula yang terdegradasi dapat meningkatkan metabolisme sperma. Menurut Anwar *dkk.*, air tebu mengandung 20-25% bahan kering dan kaya akan sukrosa, glukosa, dan fruktosa, yang merupakan sumber energi penting untuk motilitas sperma. Dalimartha dan Adrian (2011) menyebutkan bahwa air tebu tidak hanya sebagai sumber energi, tetapi juga

kaya akan senyawa antioksidan, seperti senyawa fenolik berupa flavonoid yang melindungi sperma dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan yang terkandung dalam air tebu menjaga integritas membran sperma, mengurangi stres oksidatif, dan meningkatkan kualitas sperma selama penyimpanan.

Selama penyimpanan, suplai nutrisi untuk sperma menurun, yang menyebabkan penurunan motilitas secara bertahap. Menurut Rizal (2010), motilitas sperma sangat dipengaruhi oleh energi dalam bentuk adenosin trifosfat (ATP) yang dihasilkan melalui metabolisme sel. Penurunan motilitas juga bisa disebabkan oleh efek kejutan dingin dan peningkatan konsentrasi laktat akibat metabolisme anaerobik. Tamoos *et al.* (2014), akumulasi laktat dapat mempercepat penurunan kualitas sperma, karena peningkatan keasaman mengganggu aktivitas enzim yang penting untuk metabolisme energi sperma.

Penelitian ini menemukan bahwa penambahan 20% air tebu pada pengencer Tris untuk kuning telur dapat mempertahankan kualitas sperma hingga 60 jam dengan motilitas $57,00 \pm 2,74\%$. Temuan ini sejalan dengan hasil

Farman *et al.* (2024), yang melaporkan motilitas semen babi landrace sebesar $55,00 \pm 0,00\%$ setelah 60 jam penyimpanan dengan sukrosa. Namun, hasil ini berbeda dengan penelitian Banamtuan *et al.* (2021) bahwa, penggunaan semen babi Dulock cair yang dicampur dengan pengencer Dulcolax, air kelapa sawit, dan nira tebu menghasilkan motilitas sperma sebesar $40,75 \pm 1,70\%$ setelah 56 jam..

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas didefinisikan sebagai persentase sperma yang hidup. Penilaian viabilitas ditentukan oleh tes awal dengan pewarnaan eosin 2%. Eosin membedakan antara sperma yang hidup dan yang mati (Malinda *et al.*, 2021). Ketika cairan eosin disentuhkan langsung ke sperma hidup, cairan tersebut tidak dapat menembus sel sperma karena membran sperma tidak dapat menahan zat warna eosin, sedangkan pada sperma mati, eosin dengan mudah menembus sel sperma karena membran sperma telah rusak. Tingkat kelangsungan hidup rata-rata dari hasil pengujian ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa

| Jam ke | Persentase viabilitas (%) | | | | | | Nilai P value |
|--------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------|
| | P0 | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | |
| 0 | 92,10±4,39 ^a | 92,10±4,39 ^a | 92,10±4,39 ^a | 92,10±4,39 ^a | 92,10±4,39 ^a | 92,10±4,39 ^a | 1,000 |
| 12 | 70,80±3,87 ^b | 74,80±3,07 ^b | 76,20±5,37 ^b | 82,80±4,35 ^a | 87,20±4,89 ^a | 85,10±3,98 ^a | 0,000 |
| 24 | 62,40±3,25 ^e | 69,10±4,14 ^d | 71,60±4,55 ^{cd} | 75,50±5,15 ^{bc} | 82,80±4,89 ^a | 79,80±4,47 ^{ab} | 0,000 |
| 36 | 56,90±4,78 ^e | 63,30±3,25 ^d | 66,90±4,46 ^{cd} | 71,20±5,24 ^{bc} | 78,80±3,99 ^a | 74,00±4,30 ^{ab} | 0,000 |
| 48 | 53,60±4,42 ^e | 57,60±5,39 ^d | 60,60±3,19 ^{cd} | 64,50±2,57 ^{bc} | 72,10±5,23 ^a | 69,70±3,90 ^{ab} | 0,000 |
| 60 | 40,30±6,87 ^e | 51,62±4,37 ^d | 54,10±2,48 ^{cd} | 57,90±2,88 ^{bc} | 67,80±4,97 ^a | 63,30±4,13 ^{ab} | 0,000 |
| 72 | 2,90±4,27 | 26,30±5,93 | 29,60±6,11 | 36,20±5,36 | 44,30±2,86 | 40,40±5,66 | |

Ket : ^{a,b,c,d,e}. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). T-KT= Tris Kuning Telur, AT=Air Tebu, P0= T-KT, P1= T-KT+5% AT, P2= TK-T+10% AT, P3= T-KT+15% AT, P4=TK-T+20% AT, P5= T-KT + 25% AT.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa viabilitas sperma meningkat dengan bertambahnya waktu penyimpanan pada perlakuan P1-P5. Hal ini dapat disebabkan karena energi yang tersedia cukup untuk menjaga sperma tetap hidup. Penurunan kualitas sperma dengan bertambahnya waktu penyimpanan menunjukkan bahwa penurunan viabilitas sperma dapat disebabkan oleh kerusakan membran sperma yang disebabkan oleh pembentukan lipid peroksida.

Tabel 2 menunjukkan efek dari perlakuan terhadap penurunan viabilitas sperma. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya sumber nutrisi yang diperlukan untuk

metabolisme, yang mempengaruhi viabilitas sperma. Nilai rata-rata viabilitas tertinggi adalah P4 ($67,80 \pm 4,97\%$), diikuti oleh P5 ($63,30 \pm 4,13\%$), P3 ($57,90 \pm 2,88\%$), P2 ($54,10 \pm 2,48\%$) dan P1 ($51,62 \pm 4,37\%$), sedangkan nilai terendah adalah P0 ($40,30 \pm 6,87\%$).

Tabel 2 menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan ($P > 0,05$) pada pengamatan 0 jam, namun terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,05$) pada pengamatan 12 hingga 60 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan air tebu pada pengencer dapat menjaga kualitas sperma selama penyimpanan dingin. Antioksidan berperan melindungi sperma dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas selama

penyimpanan. Air tebu mengandung beberapa antioksidan dalam bentuk senyawa fenolik seperti flavonoid dan asam sinamat, yang mengurangi stres oksidatif dan menjaga integritas membran sperma. Air tebu meminimalkan kerusakan pada plasma dan membran akrosom yang disebabkan oleh kejutan dingin dan dengan demikian meningkatkan kelangsungan hidup sperma.

Pengujian lebih lanjut sebelum pengamatan 60 jam menunjukkan bahwa tingkat kelangsungan hidup P4 dengan 20% air tebu lebih tinggi daripada P0, P1, P2, P3 dan P5 dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan keempat perlakuan P0, P1, P2 dan P3, tetapi tidak berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal ini sesuai pendapat Banamtuan *et al.* (2021), bahwa larutan yang diencerkan tetap mengandung energi cukup untuk mendukung motilitas sperma, dengan sperma menggunakan glukosa dan fruktosa sebagai sumber energi baik dalam kondisi anaerob maupun aerob. Pada perlakuan P0 tanpa air tebu, kelangsungan hidup sperma menurun lebih cepat karena kekurangan sumber energi tersebut. Perlakuan P5 menunjukkan tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan P4, meskipun perbedaannya tidak signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh ketidakseimbangan tekanan osmotik yang merusak membran sperma dan mengurangi viabilitasnya, serta kelebihan gula yang memengaruhi metabolisme sperma.

Penelitian ini menunjukkan bahwa P4 dan P5 memiliki viabilitas sperma tertinggi dan bertahan selama 72 jam. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa penambahan 20% air efektif dalam mempertahankan viabilitas sperma. Penelitian ini lebih baik dibandingkan dengan penelitian Feka *et al.* (2023) yang mencapai viabilitas sperma $48,17 \pm 2,84\%$ dengan menambahkan trigliserida kuning telur ke dalam semen cair babi Landrace, sehingga dapat bertahan hidup selama 48 jam, sedangkan penambahan air buah kelapa sawit dan nira tebu ke dalam semen cair babi Duroc memberikan nilai $45,50 \pm 1$. Hal ini sedikit berbeda dengan penelitian Banamtuan *et al.* (2021) dengan nilai $94 \pm 1,94\%$ yang mampu bertahan hidup hingga 64 jam.

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Kelainan morfologi pada sperma mempengaruhi kemampuan sperma untuk mencapai dan menembus sel telur. Sperma yang normal memiliki kepala yang lonjong dan ekor yang panjang. Sebaliknya, sperma yang tidak normal memiliki kepala dan ekor yang cacat, di mana kepalanya terlalu besar atau cacat dan ekornya melengkung atau ganda. Struktur sel yang tidak normal dapat menyebabkan gangguan pembuahan (Partodihardjo, 1992). Sperma yang abnormal diperiksa dengan pewarnaan diferensial dengan larutan eosin dan dilihat di bawah mikroskop.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa.

| Jam ke | Persentase abnormalitas (%) | | | | | | Nilai P value |
|--------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|---------------|
| | P0 | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | |
| 0 | 3,20±0,84 ^a | 3,20±0,84 ^a | 3,20±0,84 ^a | 3,20±0,84 ^a | 3,20±0,84 ^a | 3,20±0,84 ^a | 1,000 |
| 12 | 4,90±0,96 ^b | 4,70±0,90 ^b | 4,20±1,03 ^{ab} | 4,00±0,94 ^{ab} | 3,40±0,82 ^a | 4,00±0,50 ^{ab} | 0,133 |
| 24 | 5,50±0,61 ^c | 5,00±0,79 ^{bc} | 4,70±0,57 ^{abc} | 4,40±0,65 ^{ab} | 4,00±0,61 ^a | 4,50±0,61 ^{ab} | 0,023 |
| 36 | 5,60±0,42 ^{bc} | 5,20±0,65 ^{abc} | 5,10±0,57 ^{abc} | 4,60±0,74 ^a | 4,00±0,65 ^a | 5,00±0,35 ^{ab} | 0,026 |
| 48 | 6,90±0,89 ^b | 6,50±1,00 ^b | 6,20±1,20 ^{ab} | 5,60±0,82 ^{ab} | 5,00±0,79 ^a | 6,10±0,65 ^{ab} | 0,044 |
| 60 | 7,70±1,30 ^b | 7,10±1,39 ^{ab} | 6,60±1,43 ^{ab} | 6,30±1,04 ^{ab} | 5,50±0,79 ^a | 6,70±0,64 ^{ab} | 0,122 |
| 72 | 8,10±1,29 | 7,70±1,26 | 7,20±1,26 | 6,90±1,19 | 6,20±0,67 | 7,30±1,48 | |

Ket : ^{a,b,c}. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). T-KT= Tris Kuning Telur, AT=Air Tebu, P0= T-KT, P1= T-KT+5% AT, P2= TK-T+10% AT, P3= T-KT+15% AT, P4=TK-T+20% AT, P5= T-KT + 25% AT.

Tabel 3 menunjukkan bahwa malformasi sperma meningkat seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan. Peningkatan ini disebabkan oleh fakta bahwa lipid peroksida merusak membran sel di bagian tengah sperma, mencegah pembentukan energi nutrisi dan pada akhirnya membunuh sperma. Namun, dari jam ke-12

pengamatan hingga jam ke-60 penyimpanan, kandungan nutrisi dalam bentuk sukrosa dan fruktosa dalam air tebu menurun, yang secara efektif mengurangi malformasi sperma. Kelainan utama yang ditemukan dalam penelitian ini adalah *sperma acrocephalic*, dengan kelainan kedua adalah ekor yang tidak normal (*cacat dag*).

Ekor sperma bengkok, membulat atau patah sebagian.

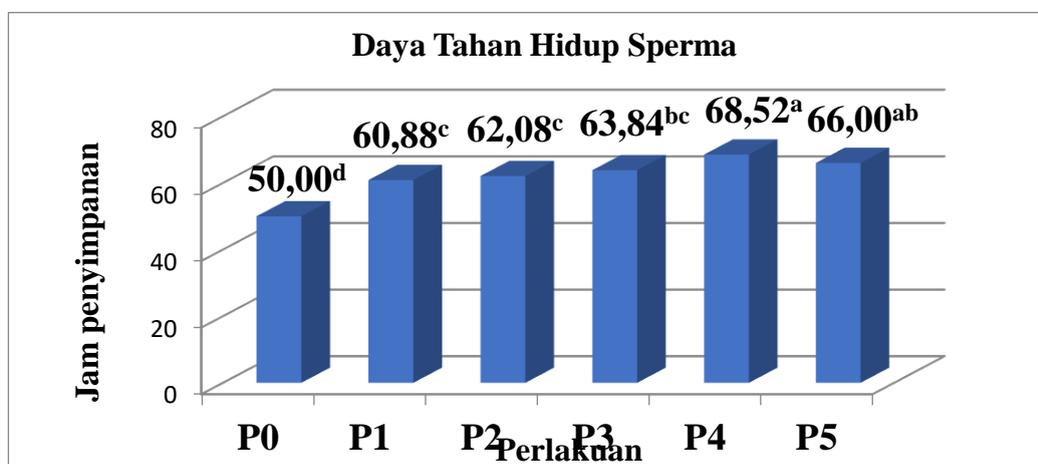
Analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan pada jam ke-0 ($P > 0,05$), dengan kualitas sperma yang serupa antara perlakuan. Namun, mulai dari jam ke-12 hingga ke-60 penyimpanan, terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,05$) antar perlakuan. Malformasi sperma meningkat seiring waktu penyimpanan, dengan perlakuan P4 menunjukkan tingkat malformasi terendah ($5,50 \pm 0,79\%$) setelah 60 jam, sementara perlakuan P0 memiliki tingkat malformasi tertinggi ($7,70 \pm 1,30\%$). Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan AT pada pengencer T-KT berpengaruh signifikan terhadap malformasi sperma.

Peningkatan malformasi sperma dikaitkan dengan waktu penyimpanan yang lebih lama. Peningkatan ini disebabkan oleh kerusakan pada membran plasma sperma akibat proses peroksidasi lipid. Radikal bebas yang dihasilkan selama penyimpanan juga menyebabkan perubahan tekanan osmotik dan produksi asam laktat, yang pada akhirnya menyebabkan peningkatan abnormalitas sperma (Suyadi dan Susilorini, 2015). Penambahan air tebu pada pengenceran tiga kali lipat kuning telur dapat mencegah malformasi sperma. Air tebu mengandung glukosa dan fruktosa sebagai

sumber energi yang dimanfaatkan dengan baik oleh sperma, serta antioksidan yang melindungi sperma dari radikal bebas. Perlakuan P4 dan P5 dengan kadar air tebu yang lebih tinggi menunjukkan tingkat malformasi yang lebih rendah dibandingkan dengan P0 dan P1. Meningkatnya angka malformasi pada P0 disebabkan oleh kurangnya antioksidan dan unsur pelindung pada media pengencer. Angka malformasi ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Tanii *et al.* (2022) ($6,375 \pm 0,94\%$) yang menggunakan ekstrak air tebu untuk pengenceran lemon yellow. (Sekosi *et al.* 2016) menyatakan bahwa persentase sperma cacat pada semen yang digunakan untuk inseminasi buatan harus kurang dari 20%.

Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup

Viabilitas sperma merujuk pada kemampuan sperma untuk bertahan hidup selama penyimpanan, yang diukur melalui motilitasnya. Dalam penelitian ini, viabilitas sperma ditentukan oleh kemampuan sperma bertahan hingga mencapai motilitas 40%. Sperma dengan motilitas di bawah 40% tidak dihitung. Rata-rata tingkat kelangsungan hidup ditampilkan pada Gambar 1 berikut.



Ket : ^{a,b,c,d}. Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). T- KT= Tris Kuning Telur, AT=Air Tebu, P0= T-KT ,P1= T-KT+5% AT, P2= TK-T+10% AT ,P3= T-KT+15% AT, P4=TK-T+20% AT, P5= T-KT + 25% AT.

Gambar 1. Grafik daya tahan hidup sperma

Uji statistik menunjukkan bahwa penambahan air tebu (AT) pada tiga jenis pengenceran kuning telur (TKT) mempengaruhi daya tahan hidup sperma secara signifikan

($P < 0,05$). Penambahan air tebu 20% (P4) terbukti paling efektif, dengan daya tahan sperma mencapai 68,52 jam, yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya (P0, P1, P2, P3,

dan P5). Penambahan air tebu 20% pada perlakuan P4 juga meningkatkan motilitas sperma, kemungkinan karena kandungan glukosa dan fruktosa dalam air tebu yang menghasilkan energi melalui metabolisme, meningkatkan aktivitas sperma selama penyimpanan.

Rendahnya tingkat kelangsungan hidup sperma pada perlakuan P0 disebabkan oleh kurangnya energi yang tersimpan di dalam pengencer, yang akan memperpanjang kelangsungan hidup sperma. Sebaliknya, perlakuan P1, P2 dan P3 menunjukkan bahwa penambahan 5%, 10% dan 15% air tebu tidak banyak berpengaruh terhadap kelangsungan hidup sperma karena komposisi nutrisi yang berbeda pada masing-masing perlakuan. Tingkat kelangsungan hidup sperma sedikit meningkat, tetapi penambahan air tebu tidak cukup untuk memasok energi secara optimal bagi sperma. Hal ini berbeda dengan perlakuan P4, di mana air tebu dikonsentrasikan hingga 20%, yang memberikan keseimbangan energi yang tepat yang dibutuhkan selama pengawetan sperma dan memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih tinggi daripada semua perlakuan. Namun, pada perlakuan P5 dengan konsentrasi air tebu 25%, waktu bertahan hidup sperma berkurang menjadi 66,00 jam, tetapi tidak berbeda secara statistik ($P < 0,05$) dengan perlakuan P4. Hal ini dapat disebabkan oleh meningkatnya tekanan osmotik yang disebabkan oleh tingginya konsentrasi zat terlarut dalam air tebu. Tekanan osmotik yang berlebihan menciptakan keadaan hipertonik dan mengganggu kestabilan membran sperma. Konsentrasi air tebu yang tinggi menciptakan tekanan osmotik dan mengganggu kelangsungan hidup sperma.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan 20% dan 25% air tebu ke dalam pengencer Tris untuk kuning telur paling efektif dalam meningkatkan proporsi sperma hidup dan menjaga kestabilan sperma selama penyimpanan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa penambahan 20% air tebu (AT) pada pengencer triple kuning telur (t-kt) memberikan hasil yang sangat baik dalam hal daya tahan hidup, viabilitas, malformasi dan tingkat kelangsungan hidup spermatozoa babi Duroc Landrace. Waktu kelangsungan hidup adalah 68,52 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisen, E. G., Medina, V. H., dan Venturino, A. (2002). Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology*, 57(7), 1801–1808.
- Anwar, P., Ondho, Y., dan Samsudewa, D. (2014). Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali. *Jurnal Peternakan*, 11(2), 48–58.
- Banamtuan, A. N., Nalley, W. M., dan Hine, T. M. (2021). Kualitas semen cair babi duroc dalam pengencer duraspermi yang disuplementasi air buah lontar dan sari tebu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(1), 41–48.
- Feka, W. V. (2023). Kualitas Semen Cair Selama Proses Simpan Dingin Menggunakan Pengencer BTS, Tris Aminomethan dan CEP-3 pada Babi Landrace. *JAS*, 8(4), 110–116.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *JITV*, 9(2), 98–107.
- Kulaksiz, R., Ari, U. C., Daşkin, A., dan Üner, A. G. (2013). The effect of different glycerol concentrations on freezability of semen from Angora, Kilis and Saanen goats. *Slovak Journal of Animal Science*, 46(2), 39–44.
- Laraswati, R., Kulsum, U., dan Ramdan, E. P. 2021. Efikasi Ekstrak Sirih, Rimpang Lengkuas dan Kunyit terhadap Penekanan Pertumbuhan *Xanthomonas oryzae*: Effication of Better, Galangal Rhizom and Turmeric Extract on the Growth Pressure of *Xanthomonas oryzae*. *Daun: Jurnal Ilmiah Pertanian Dan Kehutanan*, 8(1), 53–65.
<https://doi.org/10.33084/daun.v8i1.2245>.
- Malinda, D., Santoso, H., & Latuconsina, H. (2021). Analisis viabilitas spermatozoa sapi friesian holstein (*Bos taurus*) post thawing semen beku dengan pengaruh suhu dan lama waktu thawing berbeda. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 6(2), 46–51.
- Mato, S. I., Nalley, W. M., Hine, T. M., dan

- Marawali, A. 2024. Perbandingan Kualitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Dasar Natrium Chloride Fisiologis dengan Level Kuning Telur yang Berbeda. *Comserva: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 4(1), 32–44.
<https://doi.org/10.59141/comserva.v4i1.1292>.
- Naing, S. W., Wahid, H., Azam, K. M., Rosnina, Y., Zuki, A. B., Kazhal, S., Bukar, M. M., Thein, M., Kyaw, T., dan San, M. M. 2010. Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 122 (1–2), 23–28. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.06.006.
- Nuba, Nalley, Ni Made Paramita Setyani, Dan Hine 2024. Penggunaan Level Gliserol Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Guna Mempertahankan Kualitas Spermatozoa Babi Landrace Pada Suhu Penyimpanan 18-20oc *Jurnal Wahana Peternakan* 321-331.
<https://doi.org/10.37090/jwputb.v8i3.1811>
- Partodiharjo, S. 1992..Buku Fisiologi Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya.IPB. Bogor.
- Rizal, M., Herdis, Y., dan Maheshwari, H. (2010). Peningkatan kualitas spermatozoa epididimis kerbau belang yang dikriopreservasi dengan beberapa konsentrasi sukrosa. *Jurnal Veteriner*, 8(4), 188–193.
- Sekosi, P. P. P., Kusumawati, E. D., dan Krisnaningsih, A. T. N. (2016). Motilitas dan viabilitas semen segar kambing peranakan etawa (PE) dengan menggunakan pengencer cauda epididymal plasma (CEP-2) pada lama dan suhu simpan yang berbeda. *Jurnal Sains Peternakan*, 4(1), 34–49
- Setyani, N. M. P., Sarini, N. P., Oka, I. G. L. (2017). Heterogenitas Kuantitas dan Kualitas Semen Sapi Bali Pejantan Di Unit Pelaksana Tekis Balai Inseminasi Buatan Daerah Baturiti, Tabanan. *Jurnal Peternakan Tropika*, 5(1).
- Suyadi, T. E., Susilorini, A. L. (2015). Kualitas semen kambing peranakan etawah dalam pengencer tris terhadap kualitas semen kambing peranakan etawah. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*, 3(4), 22–24.
- Tamoes, J. A., Nalley, W. M., dan Hine, T. M. 2014. Fertilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 12(1), 20–30.
<https://doi.org/10.20961/sainspet.v12i1.4772>.
- Tanii, R. Y., Dethan, A. A., dan Purwantiningsih, T. I. (2022). Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dalam sitrat-kuning telur terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, serta pH semen sapi Bali. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1), 56–65.
- Toelihere, M. R. (1993). Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.(2006). Pokok-pokok pikiran tentang perkembangan (bio) teknologi reproduksi di masa lalu, masa kini, dan masa yang akan datang dalam menunjang pembangunan peternakan di Indonesia. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. membran.es. *Theriogenology*, 38, 209–222.
- Wahyuningsih, A. (2013). Pengaruh Umur Pejantan dan Frekuensi Penampungan terhadap Volume dan Motilitas Sapi Simental di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1(3), 947–953.