

Hubungan Abnormalitas Semen Entog terhadap MDA (*Malondialdehyde*) pada Tingkat Pengencer dan Lama Simpan di Suhu Berbeda

Fitriani^{1*}, Irwan Zakir¹, Erna Yuniati²

¹Universitas Islam Kalimantan Muhamad Arsyad Albanjari Banjarmasin

²Universitas Nusantara PGRI Kediri.KH.Ahmad Dahlan No.76 Kediri

*Email Korespondensi: ipit.peternakan@gmail.com

Abstrak

Pada masa penyimpanan spermatozoa / semen entog, terjadi penurunan kualitas seiring bertambahnya lama penyimpanan terhadap semen. Antioksidan karotenoid dalam kuning telur pada semen menonaktifkan radikal oksigen, melindungi kerusakan dari radiasi dan kerusakan sinar ultraviolet. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kadar MDA semen entog dalam pengenceran dan penyimpanan berbeda di suhu beda. Parameter semen segar mentog, Motilitas, abnormalitas, Viabilitas, Integritas dan aktivitas MDA. Sebanyak 5 ekor entog dewasa berkisar umur 1,5-2 tahun, 3 ekor jantan dan 2 ekor betina, sehat dan mBahan 5 ekor entog dewasa berkisar umur 1,5-2 tahun, 3 ekor jantan dan 2 ekor betina, sehat dan mempunyai libido tinggi dan dikandangkan secara individual. Metode eksperimental dengan split plot (pola petak terbagi). Faktor pertama sebagai Petak Utama adalah tingkat pengenceran yaitu 0(A0); 60(A1); 120(A2) dan 180 menit (A3), faktor kedua sebagai Anak Petak adalah lama simpan 0(B0); 5(B1); 10(B2) dan 15(B3) yang disimpan pada suhu 4°C dan suhu 27 °C Empat kelompok (3 kali ulangan). Kesimpulan Motilitas, abnormalitas, Viabilitas, Integritas dan aktivitas MDA semen entog lebih baik di suhu 4°C

Kata Kunci: Semen Entog, Tingkat Pengencer dan Lama Simpan Beda, MDA

Abstract

During the storage period of Muscovy duck spermatozoa/ semen, there is a decrease in quality as the storage period increases. Carotenoid antioxidants in egg yolk in semen deactivate oxygen radicals, protecting damage from radiation and ultraviolet light damage. The study aims to determine the MDA levels of Muscovy duck semen in different dilutions and storage at different temperatures. Parameters of fresh Muscovy duck semen, Motility, abnormalities, Viability, Integrity and MDA activity. A total of 5 adult Muscovy ducks ranging in age from 1.5 to 2 years, 3 males and 2 females, healthy and mMaterials 5 adult Muscovy ducks ranging in age from 1.5 to 2 years, 3 males and 2 females, healthy and have high libido and are caged individually. The experimental method uses a split plot (divided plot pattern). The first factor as the Main Plot is the dilution level, namely 0 (A0); 60 (A1); 120 (A2) and 180 minutes (A3), the second factor as the Subplot is the storage period 0 (B0); 5(B1); 10(B2), and 15(B3) stored at 4°C and 27°C. Four groups (3 replicates). Conclusion: Motility, abnormalities, viability, integrity, and MDA activity of Muscovy duck semen were better at 4°C.

Keywords: Muscovy Duck Semen, Different Dilution Levels And Storage Times

PENDAHULUAN

Komoditas ternak unggas yang telah berkembang pesat bahkan telah memasuki area industri adalah ayam dan itik. Perhatian terhadap komoditas unggas lain masih kurang karena masih kurangnya informasi terhadap komoditas tersebut. Sebagai contoh komoditas unggas entog tidak banyak laporan yang merangsang para petani peternak. Padahal komoditas tersebut telah lama berkeliaran di lingkungan masyarakat dan juga telah banyak disukai dagingnya. Persilangan entog jantan dan itik betina dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi IB. Persilangan ini memiliki keuntungan di antaranya adalah entog memiliki tubuh yang besar sedangkan itik memiliki telur yang banyak. Proses perkawinan melalui IB fertilitas lebih tinggi yang dapat dicapai adalah 80%. Sedangkan melalui perkawinan alam hanya 20 - 30% (Simanjuntak, 2002).

Keberhasilan dari IB ini dipengaruhi beberapa factor di antaranya tingkat pengenceran dan waktu simpan, pengenceran dengan maksud supaya memperbanyak volume semen yang akan dipakai IB sehingga seekor pejantan dapat menggawani betina lebih banyak. Sedangkan bahan pengencer harus memenuhi syarat tidak beracun bagi semen, memenuhi kebutuhan semen, murah, mudah didapat, mempertahankan daya tahan hidup semen dan mempertahankan kemampuan membuahi setelah pengenceran (Toelihere, 1993).

Penerapan teknologi reproduksi dan biologi sel semen memerlukan ketersediaan semen yang berkualitas untuk diinseminasikan ke ternak betina, tetapi kendalanya untuk sampai ke petani peternak semen sudah mengalami penurunan kualitas semen akibat stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan keadaan dimana pertahanan antioksidan sel tidak betul-betul efektif, karena kerusakan jaringan yang disebabkan oleh pengaruh luar, sehingga menyebabkan meningkatnya pembentukan radikal bebas yang pada akhirnya mengakibatkan terjadinya penyerangan radikal bebas pada jaringan (Halliwell, 1999). Lamarande, *et al* (1997) oksidasi lipid (lipid peroksida) pada membrane semen menghasilkan senyawa malondialdehyde (MDA) yang bersifat toksik pada sel sehingga menyebabkan kerusakan membrane semen. Membran semen rusak menyebabkan penurunan integritas dan kualitas semen. Abnormalitas kepala semen disebabkan banyaknya senyawa oksigen reaktif (ROS) atau radikal bebas yang mempengaruhi semen karena sel – sel kuman pada waktu ejakulasi (Kruger, Acosta, Simmons, Matta and Veeck, 1987). Membran semen adalah target utama ROS dan lipid merupakan sasarannya. Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa memandang apakah

abnormalitas tersebut terjadi di dalam tubuli seminiferi, dalam epididimis atau oleh perlakuan yang tidak selektif terhadap ejakulat. Hasil akhir dari peroksidasi lipid akibat ROS yang berlebih adalah terbentuknya Malondialdehid (MDA) yang digunakan sebagai indikator keberadaan radikal bebas dalam tubuh dan indikator kerusakan oksidatif membran sel sehingga menurunnya viabilitas dan motilitas spermatozoa. Untuk menetralkan radikal bebas apabila jumlahnya tidak berlebih melalui mekanisme pertahanan antioksidan endogen, bila endogen tidak mencukupi maka dibutuhkan oksidan dari luar (eksogen) salah satu eksogen luar adalah kuning telur pada telur albumen dan kuning telur, sebagai pelarut lemak yaitu vitamin ADEK. Kuning telur kaya asam oleat dan digunakan sebagai pengangkut pelarut lemak, fosfolipid dan lechitin. Khasiat kuning telur terletak pada *lipoprotein* dan *lecithin* yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa (Blackshaw dan Salisbury 1957 dalam Toelihere, 1993).

Menurut Surai, (1999) menyatakan bahwa *karotenoid* kuning berfungsi sebagai antioksidan yang mencegah peroksidasi lipid jaringan. Fungsi antioksidan karotenoid dalam telur pada semen dengan cara menonaktifkan radikal oksigen, melindungi kerusakan dari radiasi dan kerusakan sinar ultraviolet. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kadar MDA semen entog dalam pengenceran dan penyimpanan berbeda di suhu beda (Penyimpanan Suhu Dingin) dan suhu kamar dan untuk mengetahui kualitas semen terbaik yang dihasilkan setelah penyimpanan serta lama simpannya.

METODE

Metode dan Materi

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan Mei di Laboratorium Lapang Jl. Simpang Candi Panggung Malang dan di Laboratorium FAAL Universitas Brawijaya Malang. Materi Penelitian Entog yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 ekor entog jantan berumur sekitar 1,5 – 2 tahun dengan berat badan 3 – 3,5 kg dan 2 ekor betina pemancing (teaser) berumur sekitar 1,5 – 2 tahun dengan berat badan 2 – 3 kg. Entog yang dipelihara dalam kandang individu yang terbuat dari kawat besi dengan ukuran panjang 60cm X lebar 60cm X tinggi 80 cm.

Ternak entog yang diadaptasikan dengan lingkungan selama $\pm$ 4 minggu. Pakan yang diberikan dibatasi sebanyak 150 g/ekor/hari yaitu campuran dedak dan konsentrat

tepung itik petelur (144) pokphand yang terdiri : kadar air max 12.0%, protein max 37,0 – 39,0 %, lemak min 2,0%, dengan perbandingan (4:1) + sedikit air di aduk sampai merata dan pakan yang diberikan sehari sekali antara jam 07.00 - 09.00 dan tempat air minum, pakan dalam kandang. Air di berikan secara ad libitum. Penampungan Semen Penampungan semen dilakukan dengan vagina buatan. Dengan menggunakan betina pemancing (teaser) untuk merangsang libido entog jantan kawin dan penampungan dilakukan pada saat jantan menaiki betina dan mengeluarkan semen kemudian ditahan dengan tabung skala. Pengenceran semen entog dilakukan pagi hari antara jam 07.00 – 09.00 dengan frekuensi penampungan 2x/minggu, di encerkan dengan pengenceran larutan Ringer's dan kuning telur (4:1), dan pengamatan tingkat pengenceran 0 ; 5 ; 10 dan 15. Parameter : Motilitas Individu Dilakukan dengan cara meneteskan semen entog yang di encer kan dengan larutan Ringer's 10 kali dan lama simpan yang berbeda pada obyek glass kemudian ditutup dengan cover glass. Penilaian motilitas individu dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang gerakannya progresif maju kedepan dibandingkan dengan yang diam tidak bergerak sebanyak ± 100 spermatozoa dengan satuan persen (Bearden dan Fuquay, 1984 ; Partodihardjo, 1992) dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali. % Motilitas = $\frac{\text{Jumlah spermatozoa progresif}}{\text{Total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$ Abnormalitas Spermatozoa Pengamatan sama dengan pengamatan motilitas spermatozoa. Semen entog yang diencerkan dengan larutan Ringer's 20 kali lama simpan yang berbedapada suhu 4°C diteteskan pada obyect glaas kemudian diaduk dengan pewarna eosin. Dibuat preparat ulas setipis mungkin dengan cover glass. Spermatozoa abnormal dihitung persentase spermatozoa normal diantara ± 100 kali dengan pembesaran 400 kali pada spermatozoa yang di amati. (Partodihardjo, 1992) % Abnormal = $\frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$ 100 μl sampel semen perlakuan ditambahkan dengan 100 μl larutan MDA (aquades 0,55 μl , TCA 10% 100 μl , HCl 1 N 0,25 μl , Na-triobarbiturat 1% 100 μl) disentrifugasi 500 rpm selama 10 menit kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 100 °C, supernatan dipisahkan dan serapannya diamati dengan spektrometer dengan panjang gelombang 580 nm dan dilakukan pengukuran absorbansinya MDA (Oberley dan Spitz, 1985). Deteksi anion superoksida melalui sitokrom c menghasilkan suatu metode yang didasarkan pada perubahan warna menjadi merah Analisis Data Metode penelitian yang digunakan metode eksperimental dengan split plot (pola petak terbagi). Faktor pertama sebagai Petak Utama adalah tingkat pengenceran yaitu 0(A0); 5(A1);10(A2) dan 15 menit (A3), Faktor kedua

sebagai Anak Petak adalah Iama simpan 0(B0); 60(B1); 120(B2) dan 180(B3) yang disimpan pada suhu dingin dan kamar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Rataan Semen Segar Mentog

Makroskopis	Rataan $\pm$ SD
Volume (ml)	2.17 $\pm$ 0.29
Warna	Putih s/d Putih keruh
Bau	Khas
Konsistensi	Encer s/d kental
pH	7,5 $\pm$ 0
Mikroskopis	Rataan $\pm$ SD
Konsentrasi (10^7 /ml)	1.12 $\pm$ 0.25
Motilitas massa	++ s/d +++
Motilitas individu (%)	81.67 $\pm$ 2.89
Spermatozoa hidup (%)	87 $\pm$ 1

Rataan volume semen entog per-ejakulasi yang diperoleh selama penelitian sebesar 2.17 $\pm$ 0.29 ml. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa volume semen yang dihasilkan banyak disebabkan semen yang didapat lebih encer. Diduga dihasilkan saat ejakulasi semen yang ditampung bercampur dengan sekresi lipatan – lipatan limpa dan badan – badan vaskuler di dalam *cloaca* sehingga encer. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hafez (2000), bahwa semen dibagi menjadi dua bagian padat disebut spermatozoa yang dihasilkan oleh testes dan bagian yang cair disebut *seminal plasma* (cairan semen) yang dihasilkan oleh kelenjar asesoris jantan 9 *bulbo urethralis*, *prostata*, *vesicular seminalis*, *sekresi* tersebut berfungsi sebagai *buffer* dan medium bagi spermatozoa agar daya hidupnya dapat dipertahankan secara normal setelah ejakulasi.

Warna semen yang diperoleh selama penelitian adalah putih sampai putih keruh. Partodihardjo (1992) menyatakan bahwa warna semen unggas yang normal adalah putih susu, sedangkan derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi semen yang ada. Semakin keruh maka konsentrasinya semakin tinggi dan sebaliknya bila warna semen bening menunjukkan konsentrasi yang rendah. Pada perlakuan ini, semen yang berwarna putih keruh menunjukkan bahwa semen tersebut memiliki tingkat konsentrasi yang lebih tinggi dari pada semen yang berwarna putih.

Rataan derajat keasaman (pH) semen yang diperoleh selama penelitian adalah 7,5 $\pm$ 0 Hafez (1993) menyatakan bahwa, semen unggas yang normal memiliki pH dalam

kisaran 7,2 – 7,6. Toelihere (1993) menyatakan bahwa semen segar bersifat agak basa dengan rata-ran pH berkisar antara 7,0 – 7,6. Nilai pH yang tinggi selama penelitian disebabkan karena pengaruh cairan transparan atau seminal plasma dalam semen yang menyebabkan semen menjadi lebih basa.

Konsentrasi yang diperoleh selama penelitian semen entog adalah encer sampai kental. Konsistensi semen berhubungan dengan konsentrasi semen yang terkandung di dalamnya. Salisbury dan VanDemark (1978) menyatakan bahwa, kekentalan semen akan naik selaras dengan kandungan semennya. Konsistensi dan konsentrasi berhubungan juga dengan warna semen. Semakin tinggi kandungan semen dalam semen maka warna semen akan semakin keruh.

Rataan konsentrasi semen segar diperoleh selama perlakuan adalah 1.12 ± 0.25^7 /ml). Menurut Hafez (1993), konsentrasi semen unggas berkisar antara $3 - 7 \times 10^9$. Setyowati dan Budiarti (1992) menjelaskan bahwa, konsentrasi unggas dipengaruhi oleh pertumbuhannya. Faktor yang lain yang mempengaruhi konsentrasi semen antara lain umur, cahaya, nutrisi, genetik dan frekuensi penampungan.

Menurut Lake 1978 dalam Toelilehe (1993), konsentrasi semen yang rendah disebabkan adanya cairan transparan dalam semen. Semen yang berwarna krem keputihan dan keruh memiliki jumlah semen kurang 1 milyar/ml, tetapi jika warnanya lebih jernih dari air susu maka diperkirakan mengandung 500 juta semen/ml. Rataan konsentrasi semen segar hasil penelitian menunjukkan bahwa semen di atas termasuk kategori sedang karena memiliki jumlah semen yang lebih dari 1 milyar/ml.

Rataan motilitas massa yang diperoleh selama penelitian berkisar antara ++ s/d +++ ++. Toelihere (1993) menyatakan bahwa, kualitas semen tergolong bagus jika dibandingkan motilitas massa semen mempunyai (++) nilai baik dan (+) kurang baik. Partodihardjo (1993) menyatakan bahwa, gerakan massa diberi skor (+++) jika terlihat gelombang besar banyak, gelap, tebal dan aktif. Skor (++) diberikan jika terdapat gelombang kecil tipis, jarang, bergerak lambat dan kurang jelas. Skor (+) diberikan untuk semen yang tidak menunjukkan gerakan massa bergelombang dengan jelas dan hanya nampak gerakan – gerakan individu semen.

Rataan persentase motilitas individu semen segar yang diperoleh selama penelitian adalah $81.67 \pm 2.89\%$. Semen unggas yang normal menurut Hafez (1993) memiliki motilitas individu berkisar antara 60 – 80%.

Rataan persentase spermatozoa hidup dalam semen segar yang diperoleh selama penelitian adalah $87 \pm 1\%$. Spermatozoa unggas yang normal menurut Toelihere (1993) mempunyai persentase semen hidup segar kira – kira 80%. Hasil yang diperoleh selama penelitian menunjukkan bahwa semen entog yang ditampung memiliki kualitas yang baik dan dapat digunakan untuk kepentingan IB.

Tabel 2. Rataan Hasil Uji Semen Mentog dan Uji MDA pada Suhu Dingin

Semen Mentog SD	Rataan $\pm$
Motilitas (%)	
Tingkat pengenceran	60.28 ± 4.32
Lama simpan	60.62 ± 14.14
Abnormalitas (%)	
Tingkat pengenceran	7.08 ± 0.34
Lama simpan	6.88 ± 0.54
Viabilitas (%)	
Tingkat pengenceran	57.71 ± 5.09
Lama simpan	57.71 ± 11.18
Integritas (%)	
Tingkat pengenceran	65.42 ± 4.48
Lama simpan	65.42 ± 3.01
Aktivitas MDA (umol/dl)	
Tingkat pengenceran	1.24 ± 0.28
Lama simpan	1.24 ± 0.19

Tabel 3. Rataan Hasil Uji Semen Mentog dan Uji MDA pada Suhu Kamar

Semen Mentog	Rataan $\pm$ SD
Motilitas (%)	
Tingkat pengenceran	43.2 ± 7.99
Lama simpan	43.26 ± 25.22
Abnormalitas (%)	
Tingkat pengenceran	7.36 ± 0.37
Lama simpan	7.42 ± 0.69
Viabilitas (%)	
Tingkat pengenceran	42.29 ± 7.48
Lama simpan	43.75 ± 17.87
Integritas (%)	
Tingkat pengenceran	33.48 ± 2.74
Lama simpan	33.48 ± 10.63
Aktivitas MDA (umol/dl)	
Tingkat pengenceran	1.25 ± 0.29
Lama simpan	1.25 ± 0.15

Motilitas semen merupakan salah satu yang dapat mempengaruhi fertilitas semen. Motilitas atau daya gerak semen digunakan sebagai ukuran kesanggupan semen untuk membuahi sel telur. Toelihere (1993) menyatakan bahwa ciri utama semen adalah motilitas atau daya gerak yang dijadikan potensi atau cara yang paling sederhana untuk penilaian semen. Rataan motilitas dengan tingkat pengenceran dan lama simpan pada suhu dingin lebih tinggi (60.28 ± 4.32 dan 60.62 ± 14.14) dibandingkan di suhu kamar (43.26 ± 7.99 dan 43.26 ± 25.22). penurunan akibat penyimpanan, sehingga spermatozoa terjadi penurunan dibandingkan sebelum penyimpanan. Penurunan tersebut menandakan adanya kerusakan membran spermatozoa karena proses penyimpanan, namun demikian kualitasnya masih bisa digunakan untuk IB. Persentase motilitas lebih tinggi suhu dingin dibandingkan pada penyimpanan di suhu kamar diduga pemberian pengenceran lebih pada semen entog akan terjadi penumpukan (kejenuhan) antioksidan, tetapi sel yang lebih matang masih ditemukan karena penambahan kuning telur bersifat *lipofilik* (larut dalam lemak) yang mengandung vitamin E sebagai pemutus rantai eksogen untuk mencegah peroksidasi lipid, dan transfer atom hidrogen. Fitriani, dkk (2009), vitamin E berfungsi sebagai antioksidan dan juga sebagai pro-oksidan (kurang reaktif) dimana motilitas kemungkinan disebabkan oleh proses metabolisme, sehingga banyaknya energi yang digunakan untuk bergerak menyebabkan motilitas selama penyimpanan mengalami penurunan, dan diduga juga terjadi perubahan sifat – sifat fisiologis semen dalam medium. Motilitas semen hasil perlakuan mengalami penurunan secara terus menerus seiring bertambahnya lama penyimpanan, karena selama proses penyimpanan semen secara cepat kehilangan daya motilitasnya dan terjadi penghambatan terhadap aktivitas metabolisme baik secara fisik atau kimia dengan ditandai penurunan motilitas. Penurunan kualitas semen entog selama penyimpanan terjadi akibat dari radikal bebas serta keterbatasan antioksidan untuk menekannya. Peningkatan motilitasi dengan penambahan suhu ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan terjadinya penurunan pH dengan penambahan suhu. Pada penyimpanan suhu dingin lebih tinggi daripada penyimpanan pada suhu kamar yang disebabkan suhu lebih dingin lebih bisa menghambat O_2 dalam pengenceran pada perlakuan. Sedangkan pada suhu kamar terjadi oksidatif karena pakan bagi semen dalam pengenceran terurai dari hidroperoksida menjadi *aldehid* dan keton. Mempertahankan motilitas dalam pengenceran semen entog agar tetap selama penyimpanan menandakan bahwa peranan pengenceran mampu mempertahankan motilitas

semen cukup baik sehingga kebutuhannya membran untuk lama penyimpanan sudah tercukupi.

Penurunan persentase motilitas dalam pengenceran semen dan lama penyimpanan, dimana semen bercampur dengan *eksudat cloaca* atau cairan transparan yang berasal dari lipatan – lipatan *lymphe* dari *proctodacum* dan berbagai daerah vascular dekat pangkal *vasa deferentia* yang tidak bisa dihindarkan. Kerusakan membran semen yang disebabkan oleh tekanan *osmotic sel*, sebagai akibat dari perlakuan pada semen entog yang ditambahkan kuning telur dalam pengenceran semen. Kerusakan membran semen mengakibatkan terganggunya proses metabolisme intraseluler, sehingga semen akan lemah dan bahkan bisa mengakibatkan kematian semen. Peningkatan motilitas terjadi pada penambahan pada suhu dingin dibandingkan di suhu kamar dimana pengenceran semen entog bisa bertahan dalam pengenceran untuk menghentikan motilitas semen dari rusaknya/ bocornya pembungkus semen terhadap lingkungan. Meningkatnya motilitas dengan penambahan suhu ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) dimana terjadinya penurunan pH dengan peninggian suhu, pada penyimpanan suhu dingin dengan kondisi suhu lebih dingin dapat menghambat O_2 dalam pengenceran pada perlakuan. proses peroksidasi lipida dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi membran sel sehingga mempengaruhi kehidupan semen.

Abnormalitas semen entog di tingkat pengencer dan lama simpan penyimpanan suhu kamar lebih tinggi (7.36 ± 0.37 dan 7.42 ± 0.69) dibandingkan suhu dingin (7.08 ± 0.34 6.88 ± 0.54) kemungkinan pengaruh pro-oksidan (metabolism terurai) akibat banyaknya O_2 yang ikut menguraikannya sehingga kemampuan mempertahankan kualitas dari kerusakan semen tidak dapat dihindarkan. Penurunan abnormalitas pada perlakuan terhadap lama penyimpanan karena spermatozoa mengalami kerusakan akibat metabolisme tidak berjalan dengan baik sehingga berakhir dengan kematian spermatozoa, sedang adanya kuning telur dalam pengenceran bisa meningkatkan persentase hidup dan dapat dipertahankan karena angka persentase abnormalitas masih dibawah 10%. Ini sesuai pendapat Toelihere (1993), persentase abnormalitas spermatozoa berkisar antara 5 sampai 20%. Diduga antioksidan endogen dalam spermatozoa tidak mencukupi sebagai makanannya mengakibatkan spermatozoa untuk melawan radikal bebas tidak dapat bergerak, sedangkan media suhu kamar lebih cepat adanya oksigen yang reaktif (tanpa adanya hambatan). Ini dapat perwarnaan eosin negrosin dimana antara ekor dan kepala

tidak terlihat begitu jelas hanya bagian kepala kelihatan lebih tebal (hitam) dan spermatozoa mati ditandai penyerapan warna eosin negrosin.

Tingkat kerusakan terinduksi *stress oksidatif* bukan saja bergantung pada momen dan lamanya paparan ROS dan bergantung pula pada faktor – faktor seperti temperatur, tensi/ tekanan oksigen dan komposisi lingkungan sekitarnya (ion–ion, protein dan ROS *scavengers*). Sedangkan pada suhu terhambatnya gerakan disebabkan banyaknya pasokan media pengenceran tinggi yang menyebabkan keseimbangan semen dalam media terhambat gerakannya sendiri mengakibatkan semen lebih cepat mati karena adanya tekanan penambahan kuning telur dalam pengenceran.

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan. Selain pengelompokan abnormalitas primer dan sekunder, saat ini pengelompokan abnormalitas dilihat berdasarkan akibat yang ditimbulkannya yaitu abnormalitas mayor dan abnormalitas minor (Afati, dkk . 2015)

Viabilitas pada tingkat pengencer dan lama simpan Suhu dingin lebih tinggi (57.71 ± 5.09 dan 57.71 ± 11.18) dibandingkan di suhu kamar (42.29 ± 7.48 dan 43.75 ± 17.87) karena dalam pengenceran semen entog bisa mencukupi energi semen yang mengalami *stress oksidatif* dari perlakuan penampungan, transport dan pelaksanaan perlakuan semen. Hal ini karena adanya radikal bebas yang mempengaruhi pengaturan metabolisme semen entog dan tidak diimbangi dengan sistem pertahanan antioksidan dalam semen sehingga kemampuan radikal bebas dalam menginduksi kerusakan semen menurun. Ini sesuai dengan pendapat (Fitriani, dkk 2009) *Stress oksidatif* terjadi bila keseimbangan sistem pertahanan semen dalam pengenceran tidak mampu menangkal radikal pada lama penyimpanan akibat hidrosil radikal yang berasal dari perioksidasi lipid dari oksigen berlebih sehingga menimbulkan kerusakan terhadap semen. Peningkatan angka persentase viabilitas pada perlakuan karena persentase hidup dari kerusakan akibat metabolisme tidak berjalan dengan baik akibat radikal yang merusak metabolisme semen dengan lama penyimpanan yang berakhir dengan kematian semen.

Semen unggas memiliki bentuk morfologi yang berbeda dengan semen hewan mamalia, karena bentuk kepalanya yang memanjang dan sedikit bengkok, seperti bentuk sabit. Karena bentuknya, menyebabkan semen unggas sulit untuk disimpan. Seminal plasma terdiri atas senyawa organik dan anorganik yakni ion metal, asam organik,

glukosa, lipid dan asam amino, Ini sesuai pendapat (Prasetyo. Dan Mulyadi. 2016). minimal 60 % harus merupakan semen yang sehat serta mampu bergerak (*motil*) dan 15 % bergerak lurus dan cepat.

Integritas membran semen diamati dengan melihat respons semen pada kondisi *hipoosmotik*. Keutuhan membran semen, bila membran normal akan mengalami pembengkakan sedang bila membrannya rusak atau integritasnya rendah tidak bengkak. Persentase integritas semakin lama disimpan mengakibatkan integritasnya menurun, diduga dengan ditambahkan pengenceran semen entog masih dapat berfungsi aktif dimana larutan osmotik menyebabkan terjadinya transpor air masuk kedalam membran semen mengalami kesulitan karena pengenceran dan spermatozoa banyak mengandung lipid, sedangkan spermatozoa yang tidak dapat menyesuaikan juga tidak bisa membengkak. Masuknya cairan mengakibatkan membran bisa membengkak pada integritas spermatozoa utuh dan tidak membengkak disebabkan spermatozoa tidak menyerap larutan *hipoosmotik*.

Integritas pada tingkat pengencer dan lama simpan Suhu dingin lebih tinggi (65.42 ± 4.48 dan 65.42 ± 3.01) dibandingkan di suhu kamar (33.48 ± 2.7 dan 33.48 ± 10.63) Pengenceran semen sebagai antioksidan bersifat menahan atau menetralkan radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif, dengan demikian antioksidan bersifat menghambat *apoptosis* (kematian terprogram), dapat memperlambat atau menghambat *apoptosis* dibandingkan perlakuan control (tanpa penambahan pengenceran, ditunjukkan peningkatan *apoptosis* dimana semen tersusun dari lipid terurai secara alamiah akibat lama penyimpanan menyebabkan radikal bebas menyerang lemak tidak jenuh ganda dengan kehadiran oksigen, peroksida lemak akan terbentuk dalam rantai yang makin panjang, serangan radikal bebas mengakibatkan kerusakan semen secara langsung, gangguan membran, metabolisme dan fungsi sel). Membran semen berfungsi untuk pemeliharaan integritas membran dan membentuk permukaan yang dinamis antar sel serta sebagai perlindungan terhadap lingkungan (Estevest, dkk 2002).

Spermatozoa dari kepala sampai ekor di selaputi oleh membran dengan struktur yang sangat kompleks dalam susunan mosaik yang teratur dan memiliki peran biologik spesifik pada permukaannya, membran bagian kepala memenggang peranan pada saat kapasitas, reaksi akrosom dan penetrasi sedangkan membran bagian ekor berfungsi mendapatkan substrat untuk energi yang digunakan untuk pergerakannya (Dorota, dkk. 2004). Sedangkan di suhu kamar mengalami integritas puncak peningkatan disebabkan

semen di suhu kamar tidak dapat melawan radikal *superoksida* yang merusak semen, kemungkinan peluang oksigen yang reaktif (O^*) lebih besar atau kemungkinan pada saat penelitian spermatozoanya lebih toleran pada kondisi suhu dingin, juga keseimbangan antioksidan endogen dalam spermatozoa dan antioksidan eksogen akibatnya mengalami pro-oksidan dalam pengenceran semen entog.

MDA adalah Akhir perioksida lipid dalam semen terputusnya rantai asam lemak tidak jenuh dan menghasilkan MDA yang bersifat toksis terhadap sel. Kadar MDA di suhu dingin (1.24 ± 0.28 dan 1.24 ± 0.19) lebih rendah dibandingkan di suhu kamar (1.25 ± 0.29 dan 1.25 ± 0.15) kemungkinan diduga pada suhu dingin tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid yang juga menunjukkan jumlah radikal bebas. Penambahan tingkat pengencer berlebih mengakibatkan banyaknya kerusakan lipid, diduga kerusakan antara antioksidan dalam spermatozoa tidak dapat menerima antioksidan dari luar akhirnya terjadi pro-oksidan. Juga adanya radikal bebas dari oksigen berlebih bersifat reaktif mengakibatkan kerusakan lipid juga tidak dapat dihindari (alami). Menurunnya motilitas diikuti abnormalitas diduga disebabkan proses metabolisme, sehingga banyaknya energi yang digunakan untuk bergerak menyebabkan selama penyimpanan mengalami penurunan serta kemungkinan terjadi perubahan sifat – sifat fisiologis semen dalam medium. Keutuhan integritas membran plasma semen akan dilindungi, enzim – enzim dalam kantong akrosomnya terjaga untuk proses fertilisasi. ROS di dalam seminal plasma terlalu banyak, artinya tidak seimbang dengan zat pencegah kerusakan yang diperlukan, namun demikian penambahan tingkat pengencer mampu menurunkan jumlah radikal bebas. Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa memandang apakah abnormalitas tersebut terjadi di dalam tubuli seminiferi, dalam epididimis atau oleh perlakuan yang tidak legeartis terhadap ejakulat. Selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Toelihere, 1993). Ini sesuai dengan pendapat (Desminarti,dkk . 2012) *malondialdehyde* merupakan produk akhir dari oksidasi lipid, tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid yang juga menunjukkan jumlah radikal. Penambahan kadar tingkat pengencer dan lama simpan yang berbeda pada suhu $4^{\circ}C$ semen entog memberikan rata-rata terhadap persentase abnormalitas individu semen. Penambahan larutan *hiposmotik* terhadap perlakuan akan memberikan reaksi untuk menyerap larutan tersebut dimana semen akan menggembung jika pengerakan semennya aktif.

Malondialdehyde (MDA) merupakan hasil senyawa akhir dari oksidasi lipid. senyawa MDA menyebabkan kerusakan membran semen dan penurunan integritas membran semen sehingga terjadi penurunan kualitas semen. Penambahan tingkat pengencer dan lama penyimpanan pada suhu dingin lebih tinggi penambahan kuning telur dalam pengencer sebagai antioksidan dapat menangkal kerusakan peroksidasi lipid yang bereaksi dengan lemak tak jenuh dalam pengenceran semen entog segar, sehingga mengalami dengan uji MDA terjadinya penurunan kerusakan adanya endapan perubahan warna merah muda.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan Semen mentog lebih baik pada tingkat dan lama simpan beda pada penyimpanan suhu dingin. Saran untuk penelitian lanjutan dilakukan dilevel tingkat pengenceran dan lama simpan dengan jarak yang lebih jauh.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F., Yulnawati, Riyadi, M., & Raden, I. A. (2015). Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1(4). ISSN 2407-8050.
- Bebas, W. (2002). *Pengaruh lama penyimpanan semen ayam hutan hijau (Gallus varius) pada suhu 4°C terhadap daya hidup spermatozoa dan fertilitas telur ayam kampung (Gallus domesticus)*. <http://www1.veterinary.journal/lab/reprod/veteriner/html>
- Desminarti, S., Rimbawan, Anwar, F., & Winarto, A. (2012). Efek bubuk tempe instan terhadap malondialdehid (MDA) serum tikus hiperglikemik. *Jurnal Kedokteran Hewan*. ISSN 1978-225X.
- Esteves, S., Sharma, R., & Thomas, A. (2002). Effect of swim-up sperm washing and subsequent capacitation on acrosome status and functional membrane integrity of normal sperm. Department of Urology, Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, Ohio.
- Fitriani, Suyadi, Nuryadi, & Sasmito, M. D. (2009). Kadar MDA dan integritas membran semen entog selama penyimpanan dingin dengan penambahan tokoferol berbeda dalam pengencer. *Jurnal Fakultas Peternakan*. Universitas Brawijaya.
- Fitriani, Suyadi, Nuryadi, & Sasmito, M. D. (2011). Tingkat pengenceran dan dosis semen entog terhadap fertilitas telur hasil persilangan entog dengan itik melalui teknologi IB. *Veterinaria Medika*, 4(3).
- Fitriani, Suyadi, Nuryadi, & Sasmito, M. D. (2013). Pengaruh penambahan alpha tocopherol terhadap kualitas semen entog yang disimpan pada suhu dingin. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 23(2), 36–41.
- Garner, D. L., & Hafez, E. S. E. (2000). Spermatozoa and seminal plasma. In E. S. E. Hafez (Ed.), *Reproduction in farm animals* (7th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

- Kurpisz, M., & Dorota, S. (2004). Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2, 1–7.
- Murtina, T. L. (2011). Motilitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer air kelapa, NaCl fisiologis dan air kelapa–NaCl fisiologis pada 25–29°C. *Agripet*, 11(2).
- Prasetyo, A. N., & Mulyadi, D. S. (2016). Motilitas dan abnormalitas spermatozoa dengan pengencer Ringer laktat–putih telur dan lama simpan pada suhu 5°C selama 48 jam. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 4(1), 35–41.
- Salamah, N. (2014). *Motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Bali pada pengencer Andromed dan tris kuning telur* (Skripsi). Universitas Hasanuddin.
- Susanto, A., Wahyuningsih, R., & Pramono, E. (2002). Pengaruh aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran semen terhadap kecepatan gerak dan abnormalitas spermatozoa ayam Kedu. *Animal Production*, 4(2), 60–70.
- Toelihere, M. R. (1993). *Inseminasi buatan pada ternak*. Angkasa.
- Yuliani, S., Wasito, & Wuryastuti, H. (2002). Pengaruh pemberian vitamin E terhadap kadar malondialdehid plasma pada tikus yang diberi pakan lemak tinggi. *Jurnal Sain Veteriner*, 20(1).