

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BAWANG MERAH (*Alium cepa*)
DI DALAM PENGENCER TRIS KUNING TELUR ITIK TERHADAP
KUALITAS SPERMATOZOAKERBAU LUMPUR
PADA PENYIMPANAN 5°C**

PUBLIKASI ILMIAH

Diserahkan Guna Memenuhi Syarat yang Diperlukan
Untuk Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan
Pada Program Studi Peternakan



Oleh

NURRANI
B1D 014 200

FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2018



**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BAWANG MERAH (*Alium cepa*)
DI DALAM PENGENCER TRIS KUNING TELUR ITIK TERHADAP
KUALITAS SPERMATOZOAKERBAU LUMPUR
PADA PENYIMPANAN 5°C**

PUBLIKASI ILMIAH

Oleh

NURRANI
B1D 014 200

Diserahkan Guna Memenuhi Syarat yang Diperlukan
Untuk Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan
Pada Program Studi Peternakan

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

Menyetujui:
Pembimbing Utama,



Prof. Ir. H. Chairussyuhur Arman, M.Sc., Ph.D
NIP. 19510608 197602 1002

FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2018

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK BAWANG MERAH (*Alium cepa*)
DI DALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR ITIK TERHADAP
KUALITAS SPERMATOZOA KERBAU LUMPUR
PADA PENYIMPANAN 5°C**

INTISARI

*Nurrani/ BID014200/ Fakultas Peternakan
Universitas Mataram*

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh dan konsentrasi terbaik penambahan EBM di dalam pengencer tris kuning telur itik (TKTI) terhadap kualitas spermatozoa kerbau lumpur pada penyimpanan 5°C serta interaksi antara lama penyimpanan dan penambahan EBM di dalam TKTI. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Mei sampai Juni 2018. Materi penelitian yang digunakan adalah semen segar dari 3 kerbau lumpur, penambahan EBM di dalam TKTI sebanyak 0, 1, 2, 3%. Variabel yang diamati yaitu progresif motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoa. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian's (ANOVA) berdasarkan Rancangan Acak Lengkap Faktorial 4x5 dengan 4 ulangan, hasil yang berbeda nyata diuji lanjut dengan uji Duncan dengan program SPSS 16. Hasil penelitian menunjukan bahwa Progresif motilitas Spermatozoa dengan penambahan EBM 2% lebih baik dari 1%, 3%, dan perlakuan kontrol, berturut-turut 40.75%, 40.00%, 25.00% dan 23,75%. Viabilitas spermatozoa terbaik yaitu pada konsentrasi EBM 2%, 3%, 1% dan perlakuan kontrol, berturut-turut 88.25%, 88.00%, 84.00% dan 82.25%. Peresentase abnormalitas paling rendah yaitu pada konsentrasi EBM 2%, 1%, 3% dan perlakuan kontrol yaitu berturut – turut 1.75%, 2.25%, 2.25%, dan 2.75%. Tidak terdapat interaksi antara lama penyimpanan dengan penambahan EBM di dalam pengencer TKTI terhadap progresif motiltas dan abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur pada penyimpanan 5°C. Namun demikian interaksi antara lama penyimpanan dengan penambahan EBM di dalam TKTI terhadap viabilitas spermatozoa kerbau lumpur didapati signifikan.

Kata kunci: kerbau lumpur, ekstra bawang merah, kuning telur itik, penyimpanan 5°C.

THE INFLUENCE OF ADDITION OF RED ONION (*Alium cepa*) EXTRACT
IN TRIS DUCK EGGS YOLK DIVENT ON THE QUALITY OF SWAMP
BUFFALO BULL SPERMATOZOA STORED AT 5°C

*Nurrani/B1D014200/Faculty of Animal Husbandry
University of Mataram*

The purpose of this research is to know the influence and the best concentration of EBM in tris duck egg yolk (TKTI) on the quality of swamp buffalo spermatozoa stored at 5°C and interaction between EBM concentration in TKTI and time of storage. The research was conducted in May and June at Teaching Farm of the Faculty of Animal Husbandry UNRAM, Lingsar, West Lombok and evaluated at the Center for Biosciences and Biotechnology Laboratory of Faculty of Mathematics and Natural Sciences UNRAM. The research material was fresh semen from 3 swamp buffalo bulls, red onion extract (EBM), duck egg yolk (KTI). The variables observed were progressive motility, viability and morphology of spermatozoa. The research method was a complete Random Design Factorial 4 x5 with 4 replications, the results are significantly different tested further with Duncan test with SPSS 16 program. The results showed that the progressive motility of spermatozoa with the addition of 2% EBM is better than 1%, 3%, and control treatment, 40.75%, 40.00%, 25.00% and 23.75% respectively. The best viability of spermatozoa was at EBM concentration of 2%, 3%, 1% and control treatment, 88.25%, 88.00%, 84.00% and 82.25%, respectively. The lowest percentage of abnormality was at EBM concentration 2%, 1%, 3% and control treatment, 1.75%, 2.25%, 2.25%, and 2.75%, respectively. No interaction between the addition of EBM concentration in the TKTI diluents and time of storage in Progressive motility and abnormality of buffalo spermatozoa stored at 5°C. However, interaction between the addition of EBM concentration in the TKTI diluents and time of storage was found to be significant in viability.

Keywords: swamp buffalo, red onion extra, duck egg yolk, storage 5°C.

PENDAHULUAN

Kerbau merupakan salah satu jenis ternak yang berkembang di Indonesia dan memiliki kelebihan yang istimewa karena merupakan jenis ternak yang erat kaitannya dengan beberapa kebudayaan, seperti upacara-upacara adat yang ada di Tanah Toraja, menggunakan kerbau dalam ritualnya. Kerbau menjadi sumber penghasilan asli daerah (PAD), mampu berproduksi dan bereproduksi dengan baik pada daerah kritis (Indonesia bagian Timur), dan mampu mengubah pakan yang berkualitas rendah (Shubdy, 2007).

Populasi kerbau di Nusa Tenggara Barat setiap tahun mengalami penurunan. Pada tahun 2012 populasi kerbau sebanyak 144.232 ekor dan pada tahun 2016 sebanyak 128.355 ekor (BPS, 2016). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mempercepat peningkatan populasi ternak kerbau adalah dengan penerapan teknologi reproduksi inseminasi buatan (IB). Melalui teknologi IB, potensi reproduksi jantan unggul dapat dioptimalkan, sehingga berperan penting dalam peningkatan kualitas genetik ternak secara umum (Harshan *et al.*, 2005). Salah satu teknologi yang terintegrasi dengan IB adalah teknologi pengolahan semen.

Indonesia sebagai negara tropis sebenarnya memiliki berbagai macam sumber daya alam yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan pengencer semen berbasis alami. Salah satu bahan pengencer alami yang dapat digunakan yaitu bawang merah. Bawang merah dapat digunakan sebagai salah satu pengencer karena mengandung antioksidan berupa *quercetin*. Khaki *et al.* (2010) menyatakan, bahwa *quercetin* yang terdapat dalam ekstrak bawang merah (EBM) dapat mengurangi stress oksidatif pada spermatozoa tikus jantan.

Kuning telur mengandung fosfolipid, kolesterol dan rendahnya kerapatan lipoprotein sehingga mampu melindungi cold shock. kuning telur itik memiliki komposisi kimia yang lebih lengkap dibandingkan kuning telur ayam yaitu mengandung protein, lemak, dan kolesterol yang lebih tinggi (Kulaksiz *et al.*, 2010). Komponen tersebut menguntungkan bagi spermatozoa selama proses kriopreservasi karena secara spesifik berfungsi sebagai komponen protektif (Gholami *et al.*, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh dan konsentrasi terbaik penambahan EBM di dalam pengencer tris kuning telur itik (TKTI) terhadap kualitas spermatozoa kerbau lumpur pada penyimpanan 5°C serta interaksi antara lama penyimpanan dan penambahan EBM di dalam TKTI.

MATERI METODE

Penelitian ini dilakukan selama 2 bulan yaitu dari Mei – Juni 2018. Penampungan semen dilakukan di Teaching Farm Fakultas Peternakan Universitas Mataram Lingsar Lombok Barat dan diperiksa di Laboratorium Pusat Unggulan Biosains Dan Bioteknologi Fakultas MIPA Universitas Mataram. Semen dikoleksi menggunakan vagina buatan sekali seminggu sebanyak empat kali ulangan. Melakukan evaluasi terhadap kualitas semen segar meliputi: volume, warna, bau, konsistensi, pH, motilitas massa, progresif motilitas individu, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa.

Perlakuan penambahan ekstrak bawang merah (EBM) ke dalam pengencer tris kuning telur itik (TKTI) adalah sebanyak 0%(P0), 1% (P1), 2% (P2), dan 3% (P3). Adapun rancangannya disusun sebagai berikut: P0 (1 ml KTI + 4 ml penyangga), P1 (1 ml KTI + 3,95 ml penyangga + 0,05 ml EBM), P2 (1 ml KTI + 3,90 ml penyangga + 0,10 ml EBM), P3 (1 ml KTI + 3,85 ml penyangga + 0,15 ml EBM). Komposisi pengencer tris terdiri atas tris (hydroxymethyl) aminomethan, asam sitrat monohidrat, fruktosa, penicillin, dan streptomycin. Proses penyiapan EBM sebagai bahan pengencer semen dengan mengupas dan mencuci bawang merah tua, kemudian menimbanginya sebanyak 100 gram. Selanjutnya diblender sampai halus, menyaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan cairan bawang merah. Selanjutnya cairan bawang merah disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm. Hasil sentrifus dipisahkan dari residunya dan selanjutnya diinaktifasi di dalam oven 56°C selama 30 menit kemudian setelah dibiarkan menjadi dingin disimpan di dalam kulkas. Setelah sehari dalam kulkas dilanjutkan dengan memisahkan supernatant dan pellet. Supernatant yang diperoleh inilah yang digunakan sebagai EBM. Semen segar kerbau lumpur yang telah dievaluasi selanjutnya dibagi ke dalam 4 tabung reaksi

dengan volume yang sama dan menambahkan pengencer TKTI sesuai perlakuan berdasarkan hasil perhitungan konsentrasi spermatozoa.

Langkah selanjutnya menutup rapat sampel semen cair yang telah dibuat kemudian memasukkannya ke dalam beaker glass ukuran 100 ml berisi air bersih sebanyak 60 ml dan akhirnya menyimpan sampel semen cair bersama beaker glass di dalam kulkas hingga mencapai 5°C. Sampel cair dari masing-masing perlakuan dievaluasi setiap hari dari hari ke-0 sampai hari ke-4 untuk memperoleh data progresif motilitas, viabilitas dan morfologi spermatozoanya. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian's (ANOVA) berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial. Selanjutnya hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) diuji lanjut dengan uji Duncan's dengan Program SPSS 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar Kerbau Lumpur

Karakteristik makroskopis dan mikroskopis semen segar yang ditampung dari 3 ekor kerbau jantan ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Semen Segar Kerbau Lumpur (Rata-rata \pm SD, n = 4)

Parameter	Rata – Rata	Kisaran
Volume (ml)	1.68 \pm 0.84	0,8 – 2,8
Warna	Putih Susu	Putih Susu
Bau	Khas semen	Khas semen
Konsistensi	Kental	Kental
pH	6.50 \pm 0.58	6 – 7
Motilitas Massa	+++	+++
Motilitas Individu (%)	84.75 \pm 3.30	80 – 87
Konsentrasi (x 10 ⁷ /ml semen)	256.75 \pm 41.40	218 – 295
Viabilitas %	96,67 \pm 2,74	90 – 100
Abnormalitas %	5,75 \pm 6,22	0 – 18

Sumber: Data primer diolah tahun 2018

Volume semen kerbau lumpur diperoleh rataannya sebanyak 1.68 \pm 0.84 ml. Hasil ini sama dengan volume kerbau yang dinyatakan oleh Herdis *at al* (1999) yaitu 1,88 \pm 0,33 ml, dan berada di antara kisaran volume semen yang dilaporkan oleh Toelihere (1985) yaitu antara 0,55 sampai 2,5 ml.

Warna semen kerbau lumpur yang diperoleh dari penelitian adalah putih susu. Hasil ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Toelihere (1981) bahwa semen kerbau lumpur berwarna krem, krem keputihan atau putih susu.

Semen kerbau lumpur yang ditampung memiliki bau khas semen. Kartasudjana (2001) menyatakan bahwa bau khas semen yang timbul dari bau hewan itu sendiri menandakan semen yang normal.

Semen kerbau hasil penampungan menunjukkan konsistensi kental. Dengan melihat konsistensi maka jumlah spermatozoa yang terdapat dalam semen dapat diperkirakan (Toelihere, 1997).

Derajat keasaman (pH) semen mencatat rata-rata $6,5 \pm 0,85$. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Indriani *et al* (2013), derajat keasaman normal semen berkisar antara 6,4 – 7,8. Variasi nilai pH ini dipengaruhi oleh beberapa faktor di antaranya adanya aktivitas spermatozoa dalam menguraikan fruktosa sehingga pH menjadi turun, kontaminasi dengan kuman sehingga pH menjadi naik dan adanya perbedaan cara mengoleksi semen (Salisbury dan Vandemark, 1985).

Semen kerbau lumpur memperlihatkan motilitas massa yang sangat baik yaitu positif 3 (+++). Feradis (2010) menyatakan bahwa sperma mempunyai kecenderungan dalam pergerakannya, sperma akan bergerak bersama – sama ke satu arah menyerupai gelombang yang tebal maupun tipis, bergerak cepat maupun lambat tergantung dari spermatozoa hidup di dalamnya.

Progresif motilitas individu spermatozoa didapati sekitar $84,75 \pm 3,30\%$. Gerakan individu ini termasuk baik, dan menurut Dradjat (2002), semen yang baik mempunyai motilitas individu antara 70 – 85%.

Konsentrasi spermatozoa kerbau lumpur didapati sebanyak $256,75 \pm 41,40 \times 10^7$ /ml semen, dan hasil ini termasuk normal sebagaimana dinyatakan oleh Toelihere (1981), bahwa konsentrasi normal semen berkisar antara 200 sampai 1.000 juta per ml.

Presentase viabilitas spermatozoa kerbau lumpur didapati sebanyak $96,67 \pm 2,74\%$. Viabilitas spermatozoa ini lebih tinggi dari presentase viabilitas spermatozoa yang dilaporkan oleh Herdis *et al* (1999) pada semen segar kerbau lumpur yaitu $78,67 \pm 6,06\%$.

Presentase abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur mencatat rata-rata sebanyak $5,75 \pm 6,22\%$. Abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini lebih rendah dari presentase abnormalitas spermatozoa yang dilaporkan oleh Herdis *et al* (1999) yaitu $10,00 \pm 2,19\%$.

Berdasarkan hasil evaluasi karakteristik makroskopis dan mikroskopis semen segar kerbau lumpur maka semen yang diteliti ini dikategorikan normal sehingga dapat diolah lebih lanjut menjadi semen cair dingin (*chilled semen*).

Karakteristik Semen Kerbau Lumpur Setelah Pengenceran Dan Penyimpanan Pada 5°C

Progresif Motilitas Spermatozoa

Progresif motilitas individu spermatozoa kerbau lumpur yang telah diencerkan dengan pengencer tris kuning telur itik (TKTI) pada berbagai level ekstrak bawang merah (EBM) disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Progresif motilitas spermatozoa kerbau lumpur di dalam pengencer TKTI pada level EBM yang berbeda pada penyimpanan 5°C (Rata-rata±SD, n=4).

Hari	Konsentrasi EBM di dalam TKTI (%)				Total Rataan
	0	1	2	3	
0	84.75 ± 3.30 ^{ag}	86.00 ± 1.15 ^{al}	86.00 ± 1.15 ^{al}	84.25 ± 2.99 ^{ag}	85.19 ± 2.15
1	73.75 ± 2.50 ^{bg}	79.50 ± 1.00 ^{bf}	77.50 ± 2.89 ^{bf}	75.00 ± 4.08 ^{bg}	76.44 ± 2.62
2	61.50 ± 7.51 ^{cg}	68.75 ± 4.79 ^{cf}	70.75 ± 2.99 ^{cf}	59.50 ± 6.14 ^{cg}	65.13 ± 5.36
3	42.50 ± 6.45 ^{dg}	56.25 ± 11.09 ^{df}	58.25 ± 7.68 ^{df}	45.00 ± 8.16 ^{dg}	50.5 ± 8.35
4	23.75 ± 4.79 ^{eg}	40.00 ± 14.72 ^{ef}	40.75 ± 12.20 ^{ef}	25.00 ± 8.16 ^{eg}	32.38 ± 9.97

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Dalam penelitian ini tidak didapati interaksi (P>0,05) antara level EBM yang berbeda di dalam pengencer TKTI dengan lama penyimpanan pada 5°C terhadap progresif motilitas (PM) spermatozoa kerbau. Akan tetapi, pengaruh penambahan berbagai level EBM dalam pengencer TKTI dan juga lama penyimpanan terhadap PM spermatozoa didapati sangat nyata (P<0,01).

Tampak pada tabel 3 bahwa presentase PM spermatozoa di dalam pengencer TKTI kontrol maupun perlakuan mengalami penurunan secara gradual dari penyimpanan hari ke-0 sampai hari ke-2. Pada hari ke-0, PM spermatozoa berkisar antara 84 – 86%, namun pada hari ke-2 penambahan 2% EBM ke dalam pengencer TKTI menghasilkan presentase PM spermatozoa tertinggi yaitu sebesar 70%, setelah itu diikuti penambahan 1% EBM (68%), TKTI perlakuan kontrol (61%) dan terendah TKTI penambahan 3% EBM (59%). Pada penyimpanan hari ke-3, PM spermatozoa di dalam pengencer TKTI kontrol maupun perlakuan masih memenuhi syarat IB yang berkisar antara 42–58%. Pada hari ke-4, PM

spermatozoa tertinggi didapati pada pengencer TKTI dengan penambahan 2% dan 1% EBM, diikuti penambahan 3% EBM dan perlakuan kontrol terendah.

Pengenceran TKTI dengan konsentrasi 1% dan 2% EBM merupakan penambahan EBM yang ideal, namun penambahan 2% EBM lebih baik dari 1%. Pengenceran TKTI tanpa perlakuan EBM dan perlakuan 3% EBM pada penyimpanan hari ke-2 lebih tinggi pada yang tanpa perlakuan (kontrol). Kemungkinan pada perlakuan kontrol kemampuan spermatozoa kerbau menggunakan lipoprotein dan lecithin yang terdapat dalam KTI untuk melindungi pengaruh *cold shock* secara maksimal sampai pada hari ke-2. Hasil penelitian ini didukung oleh laporan penelitiannya Ihsan (2011) yang mendapatkan PM semen kambing boer yang diencerkan dengan pengencer KTI sebesar 63%. Meskipun PM spermatozoa dari penelitian tersebut lebih tinggi dari penelitian ini namun perbedaannya tidak signifikan. Penambahan EBM di dalam TKTI lebih dari 2% menyebabkan efek toksik bagi spermatozoa kerbau lumpur.

Menurunnya persentase PM spermatozoa pada penyimpanan hari ke-4 kemungkinan disebabkan telah berkurangnya zat – zat nutrisi di dalam pengencer semen. Rizal *et al* (2006) menyatakan bahwa penurunan motilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan banyak spermatozoa yang mati dan akumulasinya berdampak toksik terhadap spermatozoa yang masih hidup.

Rendahnya persentase PM spermatozoa kerbau lumpur pada perlakuan kontrol pada penyimpan hari ke-4 kemungkinan karena tidak adanya antioksidan sebagai pelindung spermatozoa dari pengaruh radikal bebas. Toelihere (1981) menyatakan bahwa penurunan motilitas disebabkan kurangnya sumber energi dan kurangnya suplai antioksidan yang menyebabkan penimbunan zat sisa metabolisme yang bersifat racun. Rendahnya PM spermatozoa kerbau lumpur pada perlakuan 3% EBM mengindikasikan tidak mampu mempertahankan kualitas spermatozoa kerbau lumpur. Sades *et al* (2016) meneliti pengawetan semen sapi simental pada penyimpanan 3-5°C melaporkan, bahwa rendahnya motilitas spermatozoa adalah dikarenakan semen tersebut mengalami proses peroksidasi lipid sehingga penggunaan filtrat kecambah kacang hijau sebagai sumber antioksidan (*α tokoferol*) tidak mampu menghentikan proses peroksidasi lipid.

Tingginya motilitas spermatozoa kerbau lumpur di dalam pengencer TKTI yang disuplementasi dengan EBM 2% dan 1% menunjukkan bahwa kedua level EBM tersebut adalah level yang maksimal dalam mempertahankan spermatozoa kerbau lumpur selama penyimpanan 5°C. Hasil ini sesuai dengan pendapat Arash (2010) yang menyatakan bahwa efek dari *quercetin* yang terdapat dalam EBM mampu mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa tikus jantan. Penelitian yang dilakukan oleh Jamshids (2012) juga memperkuat hasil penelitian pada semen kerbau lumpur dimana penambahan EBM di dalam pengencer semen pada spermatozoa tikus jantan mempengaruhi yang signifikan ($P < 0,05$).

Di bawah kondisi penelitian ini, semen yang layak digunakan untuk IB adalah semen cair dingin pada penyimpanan hari ke-4 di dalam pengencer TKTI pada konsentrasi 2% dan 1% EBM. Menurut Toelihere (1981), progresif motilitas di atas atau sama dengan 40% menandakan bahwa spermatozoa tersebut kualitasnya masih baik.

Viabilitas Spermatozoa

Presentase rata-rata viabilitas spermatozoa kerbau lumpur di dalam pengencer TKTI dengan level EBM yang berbeda disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Viabilitas spermatozoa kerbau lumpur di dalam pengencer TKTI pada level EBM yang berbeda pada penyimpanan 5°C (Rata-rata ± SD, n= 4)

Hari	Konsentrasi EBM di dalam TKTI (%)				Total Rataan
	0	1	2	3	
0	95.00 ± 0.82 ^{af}	94.50 ± 0.58 ^{ag}	96.75 ± 0.50 ^{ah}	97.00 ± 0.82 ^{ah}	95.81 ± 1.28
1	91.25 ± 1.50 ^{bf}	92.25 ± 0.50 ^{bg}	95.00 ± 0.82 ^{bh}	95.00 ± 0.82 ^{bh}	93.38 ± 1.93
2	88.50 ± 1.29 ^{cf}	89.25 ± 0.96 ^{cg}	92.50 ± 0.58 ^{ch}	93.00 ± 0.82 ^{ch}	90.81 ± 2.20
3	84.50 ± 2.08 ^{df}	87.00 ± 1.41 ^{dg}	90.00 ± 0.82 ^{dh}	90.50 ± 1.00 ^{dh}	88.00 ± 2.80
4	82.50 ± 2.08 ^{ef}	84.00 ± 0.82 ^{eg}	88.25 ± 0.96 ^{eh}	88.00 ± 1.41 ^{eh}	85.69 ± 2.87

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Penambahan EBM yang berbeda di dalam pengenceran TKTI menghasilkan interaksi yang signifikan ($P < 0,05$) dengan waktu penyimpanan pada 5°C terhadap jumlah spermatozoa hidup. Demikian pula pengaruh perbedaan konsentrasi EBM di dalam pengenceran TKTI (perlakuan) maupun TKTI tanpa perlakuan (kontrol) dan pengaruh lama penyimpanan terhadap kualitas spermatozoa menunjukkan hasil yang sangat signifikan ($P < 0,01$).

Peresentase spermatozoa hidup baik di dalam pengencer TKTI tanpa penambahan EBM (kontrol) maupun pengencer TKTI yang disuplementasi dengan berbagai level EBM (perlakuan) pada penyimpanan dingin hari ke-0 lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan hari ke- 1 sampai ke-4. Meskipun demikian, peresentase spermatozoa hidup di dalam ke empat macam perlakuan pengencer semen masih tinggi yaitu berkisar antara 85 sampai 95% sampai dengan penyimpanan hari ke-4 pada 5°C (tabel 4). Hal ini menunjukkan efektifitas semua pengenceran semen dalam menjaga daya hidup spermatozoa kerbau lumpur pada kondisi dingin.

Viabilitas spermatozoa (daya hidup) kerbau lumpur ini lebih tinggi dibandingkan viabilitas semen kerbau lumpur yang disuplementasi dengan antioksidan glutathione selama penyimpanan 5°C yaitu sebesar 79,6% (Kusumaningrum *et al.*,2007). Namun demikian, viabilitas spermatozoa kerbau lumpur ini masih dalam kisaran viabilitas semen kerbau lumpur di dalam pengencer yang mengandung nira aren sebagai antioksidannya yaitu viabilitasnya sebesar 87,43% (Rizal dan Riyadhi, 2016).

Menurut Yulnawati *et al* (2008), kerusakan membran pelindung kepala spermatozoa akan mengganggu proses metabolismenya sehingga menurunkan daya motilitas spermatozoa dan akhirnya mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa. Nilai rata-ran persentase viabilitas spermatozoa kerbau lumpur ini didapati masih lebih tinggi dari nilai rata-ran persentase progresif motilitasnya. Hal ini terjadi karena spermatozoa yang tidak progresif kemudian masih dalam keadaan hidup sehingga tidak dapat ditembus oleh larutan pewarnaan eosin 2% yang digunakan dalam pembuatan preparat apus (*smear*).

Persentase viabilitas spermatozoa dalam pengencer TKTI pada semua perlakuan dengan EBM dan tanpa EBM (kontrol) menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari 85% sampai hari ke-4. Ax *et al*(2008) menyatakan bahwa standar minimal persentase viabilitas untuk IB sapi adalah 60-75%.Lopes (2002) yang disitasi oleh Efendi *et al* (2015) menjelaskan bahwa viabilitas semen masih dianggap baik jika memiliki kisaran nilai antara 50-69%. Dengan demikian, semen kerbau lumpur hasil penelitian ini memenuhi syarat untuk IB.

Abnormalitas Spermatozoa

Peresentase abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur di dalam semen yang diencerkan dengan pengencer TKTI kontrol (tanpa EBM) dan TKTI (dengan EBM) perlakuan disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Abnormalitasspermatozoa kerbau lumpur di dalam pengencer TKTI dalam level EBM yang berbeda selama penyimpanan 5°C (Rata-rata± SD, n=4).

Hari	Konsentrasi EBM di dalam TKTI (%)				Total
	0	1	2	3	
0	2.00 ± .45 ^{ad}	1.00± 0.82 ^{ae}	0.75± 0.50 ^{ae}	1.25± 0.50 ^{ae}	1.25± 1.07
1	1.75± 2.36 ^{bd}	1.50± 1.29 ^{ae}	1.00± 0.00 ^{ae}	1.50± 0.58 ^{be}	1.44± 1.06
2	3.00± 2.94 ^{cd}	1.50± 1.00 ^{ae}	1.25± 0.96 ^{ae}	1.75± 0.96 ^{be}	1.88± 1.47
3	3.50± 1.89 ^{cd}	1.75± 1.50 ^{ae}	1.50± 1.00 ^{ae}	2.00± 0.82 ^{ce}	2.19± 1.30
4	2.75 ± .29 ^{cd}	2.25± 1.26 ^{be}	1.75± 1.50 ^{be}	2.25± 1.50 ^{ce}	2.25± 1.39

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Interaksi antara berbagai kadar EBM dengan lama penyimpanan spermatozoa dalam pengencer TKTI kontrol maupun TKTI perlakuan pada 5°C terhadap abnormalitas spermatozoa didapati tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Demikian pula pengaruh lama penyimpanan spermatozoa di dalam ke empat pengenceran semen perlakuan TKTI yang diuji terhadap abnormalitas spermatozoa juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Akan tetapi, penambahan berbagai kadar EBM dalam pengencer TKTI (perlakuan dan kontrol) terhadap abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan dingin didapati berbeda nyata ($P < 0,05$).

Tampak pada tabel 5, peresentase abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur di dalam pengencer yang diencerkan dengan pengencer TKTI tanpa EBM lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan pengencer TKTI dengan EBM selama penyimpanan 4 hari. Hasil penelitian ini menunjukkan semakin lama penyimpanan semakin tinggi peresentase abnormalitas spermatozoa kerbau. Pada penyimpanan hari ke-0 persentase abnormalitas sebesar 1.25% namun, pada hari ke-4 persentasenya meningkat sebesar 2.25% ($p < 0,05$). Meskipun demikian, secara keseluruhan tingkat abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur di dalam ke empat macam pengencer persentase semennya kurang dari 4%. Jumlah ini mengindikasikan jika kualitas semen kerbau lumpur masih sangat baik.

Dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Muhammad *et al* (2016) yang mencatat abnormalitas spermatozoa sapi FH pada penyimpanan 4-5°C yaitu sebesar 9%, maka abnormalitas yang diperoleh dalam penelitian ini lebih rendah. Lebih rendahnya abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur ini menunjukkan bahwa penambahan berbagai level EBM dalam pengencer TKTI pada penyimpanan 5°C mampu mempertahankan kualitas spermatozoa kerbau lumpur yang relative lebih baik daripada tanpa perlakuan EBM. Pareira *et al*(2009) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa dengan nilai 8-10% tidak memberikan pengaruh yang cukup berarti terhadap fertilitas, namun apabila melebihi dari 25% maka penurunan fertilitas tidak dapat diantisipasi.

Dari segi praktis, persentase abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur yang diawetkan selama 4 hari tampaknya memenuhi syarat untuk IB. Alawiyah dan Hartono (2006) menyatakan bahwa spermatozoa yang memiliki persentase abnormalitas di bawah 20% masih bisa digunakan untuk IB. Menurut Hidayati *et al* (2015), banyaknya spermatozoa yang tidak normal sangat penting diketahui karena apabila abnormalitas spermatozoa dalam semen jumlahnya melebihi 20%, maka dapat mengganggu fertilitas pejantan secara umum.

KESIMPULAN

1. Ekstrak bawang merah dapat digunakan sebagai bahan pengencer di dalam tris kuning telur itik karena mampu mempertahankan kualitas spermatozoa kerbau lumpur pada penyimpanan 5°C.
2. Konsentrasi ekstrak bawang merah yang terbaik di dalam pengencer tris kuning telur itik adalah 2% selama penyimpanan 4 hari pada 5°C.
3. Terdapat interaksi yang signifikan ($P < 0,05$) antara lama penyimpanan dengan konsentrasi EBM di dalam pengencer TKTI terhadap viabilitas spermatozoa kerbau lumpur, sedangkan pada progresif motilitas dan abnormalitas spermatozoa, interaksi ke dua faktor tersebut tidak signifikan ($P > 0,05$).

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, D. dan Hartono, M. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Boer. *Jurnal Indonesia Tropis Animal Agriculture* 31(1): 8-14.
- Arash.K, F. Fathiazad, M. Nouri, A. A. Khaki, Navid, and A. Maleki.2010. Beneficial Effects Of Quercetin On Sperm Parameters In Streptozotocin Induced Diabetic Male Rats. Article first published. 24 (9): 1285– 1291
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez, *J. Ternak Tropika Vol. 17, No.1: 66-76, 2016* 75 and M.E. Bellin. 2008. Semen Evaluation. In *Reproduction in Farm Animal*. E.S.E. Hafez (editor) 7th Edition. Lea and Febiger: 82-370.
- BPS. 2016. Populasi Kerbau Menurut Provinsi 2009 - 2016. Retrieved april 3, 2018, from badan pusat statistik : <http://www.bps.go.id>
- Dradjat, A. S. 2002. *Teknologi Reproduksi Ternak*. Mataram University Press. Mataram.
- Efendi, F. I., S. Wahjuningsih dan M. N. Ihsan. 2015. Pengaruh Pengencer Tris Aminomethane Kuning Telur Yang Disuplementasi Sari Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana*) Terhadap Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Penyimpanan Suhu Dingin 5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 25 (3): 69 - 79
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak*. Bandung: Alfabeta; p.59–60.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Gholami, M., Z. Faraji and M. J. Zamiri. 2012. Effect of egg yolk of four avian species on the cryopreserved ram spermatozoa. *J. Vet. Res.* 13: 23-27.
- Harsan, H. M., L. P. Singh, A. Arangsamy, M. R. Ansari dan S. Kumar. 2005. Effect Of Buffalo Seminal Plasma Heparin Binding Protein (HBP) On Freezability And In Vitrofertility Of Buffalo Cauda Spermatozoa . *anim repord scl* 93 , 124.
- Herdis, B. Purwantara, I. Supriatna dan I. G. Putu. 1999. Integritas Spermatozoa Kerbau Lumpur (*Bubalus Bubalis*) Pada Berbagai Metode Pembekuan Semen. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner Vol.4 , 7*.

- Hidayati N, Arifiantini Rl, Sajuthi D. 2015. Preservasi Semen Kambing Peranakan Etawa Dalam Pengencer Tris Dan Sitrat Kuning Telur Dengan Penambahan Sodium Dodecyl Sulphate. *Jurnal Veteriner*. 16(3):334–342
- Ihsan, M. N. 2011. Penggunaan Telur Itik Sebagai Pengencer Semen Kambing. *J. Ternak Tropika Vol. 12, No.1: 10-14, Hal 12-13*
- Indriani, T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. *Jurnal Veteriner* , 380-381.
- Jamshid, G.G. 2012. Androgenic Effect of Onion (*Allium Cepa*. Linn) Aqueous Extract on Sperms Quantity and Viability Compared with Zn Sulfate Supplementation in the Rats. *Asian J.Exp.Biol.Sci* 3(3) 2012: 506-509.
- Kartasudjana, R. 2001. Tehnik Inseminasi Buatan. Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Khaki, F., M. Naori, A. Khaki, Navid dan A. Maleki. 2010. Beneficial Effects Of Quercetin On Sperm Parameters In Streptozotocin- Induced Diabetic Male Rats. *Article First Published Online 24 (9)* , 1285.
- Kulaksiz, R., C. Cebi, E. Akcay dan A. Daskin. 2010. The protective effect of egg yolk different avian species during the cryopreservation of karayaka ram semen. *Small Rumin. Res.* 88: 12-15.
- Kusumaningrum, D. A., P. Situmorang, E. Triwulanningsih dan R. Sianturi. 2007. Penambahan Plasma Semen Sapi Dan Anti Oksidangluthatione Untuk Meningkatkan Kualitassemen Beku Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalis*). *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner* , 191 - 192.
- Lopes, F.P. 2002. Semen collection and evaluation in ram. ANS 33161. University of Florida.
- Muhammad, D., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh Penggunaan Cep-2 Dengan Suplementasi Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Fh (*Frisian Holstein*) Kualitas Rendah Selama Penyimpanan Suhu 4-5°C. *J. Ternak Tropika Vol. 17, No.1: 66-76*.
- Rizal M., R. K. Achjadi, Herdis, M. Surachman dan Yulnawati. 2006. Kriopreservasi Semen Domba Garut Menggunakan Pengencer Air Kelapa Muda. Prosiding Seminar Nasional Peranan Bioteknologi Reproduksi Dalam Pembangunan Peternakan dan Perikanan di Indonesia. Fakultas Kedokteran Hewan dan Program Studi Biologi Reproduksi, Institut Pertanian Bogor. Bogor, 8 April 2006. Hlm 69-72.

- Rizal, M. dan M. Riyadhi. 2016. Fertilitas Semen Kerbau Rawa (*Bubalus bubalis carabanensis*) yang Diencerkan dengan Pengencer Nira Aren. *jurnal veteriner* , 458.
- Sades, A. M., N. Isnaini dan S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh Suplementasi Filtrat Kecambah Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus L.*) Terhadap Kualitas Semen Sapi Simmental Dalam Pengencer *Skim Milk* Pada Suhu Dingin. *J. Ternak Tropika* Vol. 17, No.1: 01-10.
- Salisbury, G. W. dan Vandemark, N. L. 1985. Fisiologi Reproduksi Dan Inseminasi Buatan pada sapi. Djanur, R. (terjemahan). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Siswanto., Suyadi., dan T.E. Susilorini. 2015. Pengaruh Penambahan Ekstrak Bawang Merah (*Allium Cepa*) dalam Pengencer Terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Etawah (PE) Selama Penyimpanan Suhu Ruang. *Skripsi Fakultas Peternakan Universtas Brawijaya*, Malang. Hal: 3.
- Suhubdy. 2007. Strategi Penyediaan Pakan Untuk Pengembangan Usaha Ternak Kerbau. *Wratazoa 17 (1)* , 1-11.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatologi*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Toelihere, M. R. 1979. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- . 1981. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- . 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Yulnawati, M. A. Setiadi dan Herdis. 2005. Pemanfaatan Sari Buah Melon Dan Sari Wortel Sebagai Media Pengencer Alternatif Semen Cair Domba Garut. *Protein 12*: 51-160.