



PENGARUH PENAMBAHAN ANTIOKSIDAN TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR DOMBA LOKAL UMUR PUBERTAS

*THE EFFECT OF ANTIOXYDAN ADDITION ON THE QUALITY OF LIQUID SEMEN OF
PUBERTY LOCAL RAM*

Nurcholidah Solihati^{1a)}, Siti Darodjah Rasad¹, Tuti Kustini¹

¹Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Bandung,
Jl Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor 45363

^{a)}Korespondensi: nurcholidah@yahoo.com

Abstract

The aims of the research was to determine the effect of antioxidants addition on liquid semen quality of young ram and knowing which antioxidants have the most excellent effect. The research was conducted experimentally with completely randomized design (CRD). There were three treatments, that were P0 = semen added diluent without the addition of antioxidants as a control, P1 = semen added diluent have been added 9,3 mM glutathione, P2 = semen added diluent have been added 9,3 mM alpha tocopherol. Each treatment was repeated six times. The parameters consist of sperm motility and intact plasma membrane (IPM). The result showed that the addition of antioxidants can maintain liquid semen motility of young ram on day 6, 9, and 11, while addition of antioxidant has no significant effect on IPM. Result showed that glutathion is the best antioxidants that can maintain motility on day 6, 9 and 11 is glutathion with the average 72,28%, 62,47%, and 54,43%, nevertheless for alpha tocopherol with average 58,11%, 48,13%, and 41,95% gave result is not significant to P0 motility with average 62,29%, 53,08%, and 42,36%. It is concluded that addition of antioxidant can maintain liquid semen motility on day 6, 9, and 11 but can not give effect to the IPM, and the addition of antioxidant glutathion give the most excellent effect to liquid semen motility.

Keywords: *liquid semen, puberty, antioxidant, motility, intact plasma membrane.*

Pendahuluan

Program inseminasi buatan (IB) merupakan teknologi reproduksi yang sangat mendukung kemajuan peternakan di Indonesia. Semen yang digunakan untuk program IB masih terbatas pada semen yang berasal dari pejantan dewasa, sedangkan pemanfaatan pejantan muda masih sangat kurang (Toelihere, 1993). Hal tersebut disebabkan karena kualitas semen dari pejantan muda masih mengalami peningkatan seiring dengan pertumbuhan badan dan organ reproduksinya.

Penelitian mengenai penambahan antioksidan untuk meningkatkan kualitas semen cair maupun semen beku sudah banyak dilakukan, diantaranya adalah penambahan glutathion dan alfa tokoferol kedalam bahan pengencer. Glutathion adalah antioksidan primer yang berfungsi untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid (Rizal dan Herdis, 2010). Sebagian besar membran plasma spermatozoa terdiri dari lipid, sehingga sangat rentan terkena peroksidasi lipid yang merupakan reaksi antara radikal bebas dan lipid (Rizal dan Herdis, 2010;

Payaran *et al.*, 2014). Penelitian mengenai pengaruh penambahan glutathion terhadap daya hidup sperma domba lokal juga telah dilaporkan sebelumnya (Solihati *et al.*, 2015).

Secara alami metabolisme spermatozoa akan menghasilkan radikal bebas, jika spermatozoa tidak dapat mengatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas pada akhirnya akan mengalami kematian. Beberapa penelitian menyatakan bahwa penambahan glutathion kedalam bahan pengencer sebanyak 0,4 gram per 100 ml pengencer memberikan pengaruh optimal terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa setelah pengenceran, pendinginan 5°C dan *post thawing* (Fitrianti *et al.*, 2012).

Antioksidan lainnya yang dapat ditambahkan kedalam bahan pengencer adalah alfa tokoferol. Alfa tokoferol merupakan senyawa yang paling reaktif menangkap radikal bebas dengan memberikan atom hidrogennya pada radikal peroksil (Alawiyah dan Hartono, 2006). Alfa tokoferol berfungsi sebagai antioksidan pada lipid sel membran, sirkulasi LDL (*Low Density Lipoprotein*), paru-paru, hati, dan jaringan adrenal (Astuti, 1995). Peroksidasi lipid yang terjadi secara terus menerus dan berantai, akan menghasilkan peroksidasi lipida yang baru. Adanya alfa tokoferol dapat menghentikan reaksi rantai tersebut (Rizal dan Herdis, 2010). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa penambahan alfa tokoferol sebanyak 0,4 gram per 100 ml pengencer memberikan pengaruh yang nyata terhadap kualitas semen kambing Boer yang dibekukan (Alawiyah dan Hartono, 2006). Glutathion dan alfa tokoferol merupakan antioksidan yang berasal dari jenis yang berbeda dan memiliki mekanisme kerja yang berbeda pula, keduanya akan menghasilkan kualitas semen yang berbeda.

Materi dan Metode

1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah enam ejakulat semen dari Domba Lokal (Domba Ekor Tipis) umur pubertas (10 bulan). Pengencer yang digunakan adalah tris-kuning telur dengan penambahan glutathion dan alfa tokoferol.

2. Metode Penelitian

Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan metode vagina buatan. Penampungan semen dilakukan di *Farm Breeding Station*, selanjutnya semen yang telah tertampung dibawa ke Laboratorium Reproduksi Ternak dan Inseminasi Buatan untuk dievaluasi. Evaluasi semen meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Penilaian kualitas semen secara makroskopis diantaranya volume, warna, konsistensi, pH, dan bau. Penilaian kualitas semen secara mikroskopis meliputi penilaian gerakan massa, konsentrasi sperma total, motilitas, persentase Membran Plasma Utuh (MPU), dan abnormalitas.

Setelah semen dievaluasi, semen dibagi menjadi tiga bagian untuk masing-masing perlakuan. P0 = semen + (pengencer tanpa penambahan antioksidan), P1 = semen + (pengencer yang ditambahkan 9,3 mM Glutathion), dan P2 = semen + (pengencer yang ditambahkan 9,3 mM alfa tokoferol). Penambahan alfa tokoferol berbeda dengan penambahan glutathion. Sebelum ditambahkan kedalam pengencer alfa tokoferol dilarutkan terlebih dahulu kedalam etanol sebanyak 0,05 ml. Setelah pengencer disiapkan, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam semen melalui dinding tabung. Semen yang telah diencerkan, kemudian disimpan pada suhu 5°C. Pemeriksaan motilitas dan MPU semen cair dilakukan per 24 jam.

3. Analisis Statistik

Data motilitas dan MPU hasil pemeriksaan per 24 jam diolah menggunakan analisis ragam dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Semen cair terbagi kedalam tiga perlakuan dan diulang sebanyak 6 kali. Hasil analisis ragam yang menunjukkan hasil berbeda nyata diuji lanjut dengan menggunakan uji lanjut Jarak Berganda Duncan.

Hasil dan Pembahasan

1. Kualitas Semen Segar Domba Lokal Umur Pubertas

Hasil pemeriksaan kualitas semen segar domba lokal umur pubertas dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil pemeriksaan kualitas semen segar domba lokal umur pubertas baik secara makroskopis maupun secara mikroskopis menunjukkan gambaran kualitas semen yang normal. Rataan volume per ejakulasi dari enam kali penampungan adalah 0,5 ml sesuai dengan pernyataan Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa volume semen yang dihasilkan oleh domba per ejakulatnya berkisar antara 0,5 – 2,5 ml. Hasil rata-rata konsentrasi sperma total yang dihasilkan oleh domba lokal umur pubertas adalah $218,5 \times 10^7$ sel spermatozoa per ml. Kisaran konsentrasi sperma total menurut Toelihere (1993) adalah $150 - 300 \times 10^7$ sel spermatozoa per ml.

Hasil penelitian Rizal *et al.*, (2002) menyatakan bahwa konsentrasi sperma domba adalah $249,06 \times 10^7$ sel spermatozoa per ml dengan kisaran $95 - 408 \times 10^7$ sel spermatozoa per ml. Motilitas spermatozoa yang diperoleh dari hasil penampungan memiliki rata-rata 78,09 %. Kisaran motilitas normal menurut Toelihere (1985) dalam Lestari dan Ismudiono (2014), yaitu 60 – 80 %, sedangkan hasil penelitian Rizal *et al.*,

(2002) motilitas sperma domba adalah 58,08%. Membran plasma utuh untuk semen segar domba adalah 70% dan 73% (Moses *et al.*, 1999 dan Varcancel *et al.*, 1997 dalam Rizal, 2003), sedangkan hasil penelitian menunjukkan bahwa MPU pada semen segar domba lokal umur pubertas lebih rendah dengan rata-rata 41,82%. Pendapat lain menyatakan bahwa MPU semen segar domba adalah 60% (Revell dan Mrode, 1994 dalam Rizal dan Herdis, 2005).

Kecepatan motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya umur dan obat atau bahan kimia. Semen yang dihasilkan oleh ternak yang sudah berumur tua akan mengalami banyak abnormalitas, sehingga akan mengurangi daya gerak atau motilitasnya (Lestari dan Ismudiono, 2014).

2. Pengaruh penambahan antioksidan terhadap kualitas semen cair domba lokal umur pubertas

Motilitas spermatozoa merupakan penilaian secara mikroskopis yang dijadikan ukuran paling sederhana dalam melakukan penilaian semen per ejakulat. Hasil analisis ragam motilitas semen cair dari beberapa titik pada pemeriksaan per 24 jam adalah sebagai berikut:

Proses pengolahan semen segar menjadi semen cair memungkinkan banyak terjadinya kontak antara semen dan udara luar yang mengandung banyak oksigen, sehingga akan terbentuk banyak radikal bebas. Terbentuknya radikal bebas akan mengakibatkan percepatan metabolisme dan terjadinya peroksidasi lipid (Suryohudoyo, 2000 dalam Fitrianti *et al.*, 2012) untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid, salah satunya dengan penambahan antioksidan.

Tabel 1. Kualitas Semen Segar Domba Lokal Umur Pubertas

Penilaian	Ulangan						Rataan
	1	2	3	4	5	6	
Makroskopis							
Volume (ml)	0,5	0,4	0,6	0,6	0,4	0,5	0,5
Warna	krem	Krem	krem	Krem	Krem	Krem	-
Konsistensi	Cair	Cair	Kental	Kental	Kental	Kental	-
pH	7	7	7	7	7	7	7
Bau	Anyir	Anyir	Anyir	Anyir	Anyir	Anyir	-
Mikroskopis							
Gerakan Masa	+++	+++	++	+++	+++	+++	(++) - (+++)
Konsentrasi Sperma Total (juta sel Sperma/ml)	1660	1900	2920	1930	2250	2450	2185
Motilias (%)	77	77	62,33	88,6	84	79,6	78,09
Abnormalitas (%)	2,74	4,9	3,38	3,6	4,76	2,73	3,69
MPU (%)	44,38	29,71	33,66	59,52	60,32	72,09	41,82

Penambahan antioksidan dalam bahan pengencer pada hari ke-0 dan ke-1 tidak memberikan pengaruh yang nyata, hal ini sejalan dengan penelitian Rizal (2003) yang menyatakan bahwa penambahan glutathion dalam pengencer tris tidak memberikan pengaruh nyata terhadap motilitas sperma pada jam ke-24 hingga jam ke-120 pada penyimpanan suhu 5°C. Demikian juga penambahan alfa tokoferol yang dinyatakan oleh Ikhsanudin (2002) dalam Rizal (2003), bahwa penambahan alfa tokoferol dalam bahan pengencer tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase motilitas sperma Domba Garut pada jam ke-96 pada penyimpanan suhu 5°C. Perbedaan yang nyata pada motilitas semen cair domba lokal umur pubertas hari ke-6, ke-9, dan ke-11 ini sejalan dengan penelitian Triwulanning-sih *et al.*, (2003) mengenai pengaruh penambahan glutathion terhadap kualitas semen cair (*chilled semen*) yang menyatakan bahwa berbagai konsentrasi penambahan glutathion (0,5 - 1,5 mM) bila dibandingkan dengan semen cair yang tidak diberi tambahan glutathion cukup efektif untuk mempertahankan persentase motilitas spermatozoa yang disimpan pada suhu 5°C.

Glutathion sebagai antioksidan primer yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas, akan meminimalisir terjadinya percepatan metabolisme dan produksi radikal bebas. Selain berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas, glutathion dapat memproteksi mitokondria dari kerusakan akibat radikal bebas dan dapat mengontrol homeostatik baik didalam maupun diluar sel (Fitrianti *et al.*, 2012), sehingga dengan penambahan glutathion sebanyak 9,3 mM dapat mempertahankan motilitas spermatozoa dengan lebih baik dibandingkan dengan alfa tokoferol.

Menurut Hartono (2008) penambahan alfa tokoferol yang berlebihan dapat mengakibatkan larutan pengencer semakin pekat dan mediumnya menjadi hipertonic. Larutan yang hipertonic dapat merusak membran plasma dan menghambat metabolisme spermatozoa, sehingga produksi energi untuk pergerakan spermatozoa terhambat dan motilitas P2 mengalami penurunan lebih tinggi dibandingkan dengan motilitas P1. Sejalan dengan penelitian Fitriani (2009) yang menyatakan bahwa penambahan 0,2; 0,4; dan 0,6 gram per 100 ml pengencer alfa tokoferol tidak cukup efektif dalam meningkatkan kualitas semen cair selama proses penyimpanan.

Tabel 2. Motilitas Sperma sampai dengan Hari ke-11

Perlakuan	Motilitas (Hari Ke-)				
	0	1	6	9	11
 %				
P0	88,01	85,42	62,29 (a)	53,08 (a)	42,36 (a)
P1	89,51	86,13	72,28 (b)	62,47 (b)	54,43 (b)
P2	87,6	82,28	58,11 (a)	48,13 (a)	41,95 (a)

Keterangan : P0 = semen + pengencer tanpa penambahan antioksidan

P1 = semen + pengencer yang ditambahkan glutathion 9,3 mM

P2 = semen + pengencer yang ditambahkan alfa tokoferol 9,3 mM.

3. Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan penambahan antioksidan tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap nilai MPU. Hasil analisis yang tidak berbeda nyata pada semua pengamatan MPU semen cair domba lokal umur pubertas ini sejalan dengan penelitian Fitrianti *et al.*, (2012) yang menyatakan bahwa penambahan glutathion sebanyak 0,2; 0,4; dan 0,6 gram per 100 ml pengencer belum mampu mempertahankan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen cair yang disimpan pada suhu 5°C. Jika dilihat berdasarkan rataan, rataan persentase MPU pada setiap pengamatan menunjukkan hasil yang paling tinggi diantara perlakuan lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan besarnya selisih rataan MPU antara P1 dengan perlakuan lainnya.

Pengamatan hari ke-0 selisih rataan MPU P1 dengan P0 dan P2 berturut-turut sebesar 8,89% dan 7,42%, sedangkan selisih rataan MPU P0 dan P1 sebesar 1,47%. Besarnya selisih rataan MPU P1 dengan perlakuan lainnya menunjukkan adanya pengaruh dari penambahan antioksidan glutathion dalam semen cair terhadap MPU spermatozoa. Demikian pula pada pengamatan hari ke-1, hari ke-6, hari ke-9, dan hari ke-11 selisih rataan MPU P1 dengan perlakuan lainnya selalu lebih tinggi diban-

dingkan dengan selisih rataan MPU antara P0 dan P2.

Membran plasma spermatozoa terdiri dari 60% protein dan 40% lipid. 40% lipid pada membran plasma terdiri dari 65% fosfolipid, 25% kolesterol, dan 10% lipid lainnya. Membran plasma yang terdiri dari lipid sangat rentan terkena peroksidasi lipid (Rokhana, 2008 dalam Romadhoni *et al.*, 2014). Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara lipid dan radikal bebas. Radikal bebas adalah hasil samping dari metabolisme spermatozoa. Radikal bebas aktif menyerang lipid terutama dalam kondisi terjadinya peningkatan suhu dan kontak dengan udara luar yang mengandung oksigen dalam konsentrasi cukup tinggi (Rizal, 2003).

Glutathion adalah antioksidan primer yang berfungsi untuk mencegah terjadinya pembentukan radikal bebas dan mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi senyawa yang kurang mempunyai dampak negatif (Kusumaningrum *et al.*, 2007). Hasil penelitian ini menunjukkan dengan adanya penambahan antioksidan glutathion dapat mempertahankan MPU spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin lebih baik dibandingkan dengan alfa tokoferol.

Hasil analisis ragam MPU semen cair dari beberapa titik pada pemeriksaan per 24 jam ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Membran Plasma Utuh (MPU) sampai dengan Hari ke-11

Perlakuan	MPU (Hari Ke-)				
	0	1	6	9	11
 %				
P0	61,62	58,37	48,95	44,96	40,06
P1	70,51	64,19	54,4	50,47	46,96
P2	63,09	58,6	48,35	43,75	40,01

Keterangan : P0 = semen + pengencer tanpa penambahan antioksidan

P1 = semen + pengencer yang ditambahkan glutathion 9,3 mM

P2 = semen + pengencer yang ditambahkan alfa tokoferol 9,3 mM.

Kesimpulan

Penambahan antioksidan dapat mem-pertahankan motilitas pada hari ke-6, ke-9, dan ke-11 tetapi tidak dapat memberikan pengaruh pada MPU, dan penambahan glutathion memberikan pengaruh terbaik terhadap motilitas semen cair.

Daftar Pustaka

Alawiyah, D & M. Hartono. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Boer. *Universitas Lampung*. Bandar Lampung.

Astuti Lamid. 1995. Vitamin E sebagai Antioksidan. *Media Litbangkes*. 5(1): 15.

Fitriani. 2009. Pengaruh Penambahan Alpha Tocopherol terhadap Kualitas Semen Entog yang Disimpan pada Suhu Dingin. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*. Universitas Nusantara PGRI. Kediri. 36 – 37.

Fitrianti, I.N., A. Rachmawati & Suyadi. 2012. Pengaruh Glutathion dalam Pengencer Tris Aminomethane Kuning Telur-Gliserol terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Setelah Pembekuan Cepat. *Universitas Brawijaya*. Malang.

Hartono, M. 2008. Optimalisasi Penambahan Vitamin E dalam Peng-

encer Sitrat Kuning Telur untuk Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Boer. *Universitas Lampung*. Bandar Lampung.

Romadhoni, I., A. Rachmawati & Suyadi. 2014. Kualitas Semen Sapi Madura setelah Pengenceran dengan Tris Aminomethane Kuning Telur yang di Suplementasi α -Tokoferol pada Penyimpanan Suhu Ruang. *Universitas Brawijaya*. Malang. 39 – 44.

Kusumaningrum, D.A, P. Situmorang, E. Triwulanningsih, R.G. Siantury. 2007. Penambahan Plasma Semen Sapi dan Antioksidan Glutathione untuk Meningkatkan Kualitas Semen Beku Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalis*). *Balai Penelitian Ternak*. Bogor.

Payaran Oktaviani Kory, Wantouw Benny, Tendean Lydia. 2014. Pengaruh Pemberian Zink Terhadap Kualitas Spermatozoa pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal e-Biomedik* (eBM). 2(2).

Rizal, M. 2003. *Pengaruh Penambahan Glutathion ke dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut*. Buletin Peternakan. 27(2): 63 – 72.

Rizal, M. & Herdis. 2005. *Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Domba Garut yang Dikriopresevasi Meng-*

- gunakan Modifikasi Pengencer*
Tris. Hayati. 12(2): 61 – 66.
- Rizal, M. & Herdis. 2010. *Peranan Antioksidan dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku*. Wartazoa, 20(3): 139-145.
- Rizal M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara d& P. Situmorang. 2002. *Kualitas Semen Beku Domba Garut dalam Berbeagai Konsentrasi Gliserol*. JITV, 7(3): 194 – 199.
- Solihati, N., S.D. Rasad, R. Setiawan & Kustini, T. 2015. Pengaruh Penambahan Glutation dan Alfa Tokoferol terhadap Daya Hidup Sperma Domba Lokal Umur Pubertas. Prosiding Seminar nasional Peternakan Berkelanjutan Ke-7. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Bandung. 72-77.
- Lestari, D.L. & Ismodiono. 2014. *Ilmu Reproduksi Ternak*. Air Langga University Press. Surabaya. 11, 28 – 29.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Triwulanningsih E., P. Situmorang, T. Sugiarti, R.G. Siantury & D.A. Kusumaningrum. 2003. *Pengaruh Penambahan Glutation pada Medium Pengencer Sperma terhadap Kualitas Semen Cair (Chilled Semen)*. Balai Penelitian Ternak. Bogor.