

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Evaluasi Semen Segar Ayam Arab

Semen ayam arab yang telah ditampung dievaluasi dengan melakukan uji makroskopis dan mikroskopis. Uji makroskopis semen meliputi volume, warna, konsistensi dan pH sedangkan untuk uji mikroskopis semen meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, konsentrasi dan abnormalitas. Kualitas semen segar ayam Arab dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rataan semen segar ayam Arab

Variabel	Rataan \pm SD
Makroskopis	
Volume (ml)	0.35 \pm 0.07
Warna	Putih susu
pH	7.3 \pm 0.48
Konsistensi	Kental
Mikroskopis	
Motilitas Massa	++ sampai +++
Motilitas Individu (%)	86.5 \pm 2.41
Konsentrasi (10 ⁷ spermatozoa/ml)	411.3 \pm 55.27
Viabilitas (%)	89.59 \pm 3.92
Abnormalitas (%)	3.27 \pm 0.75

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata volume semen segar ayam Arab adalah 0.35 ± 0.07 ml/ejakulasi. Berdasarkan pada data volume semen tersebut ternyata lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Iskandar dkk (2006) pada ayam Arab, yang hanya mencapai 0.30 ± 0.072 ml/ejakulasi. Nataamijaya dkk (2003) juga melaporkan bahwa volume semen ayam Arab yaitu 0.26 ± 0.01 ml/ejakulasi. Volume semen unggas relatif sedikit dengan jumlah berbeda-beda (Iswati, Isnaini dan Susilawati, 2017). Volume semen unggas yang rendah disebabkan karena unggas tidak mempunyai kelenjar aksesoris seperti pada mamalia, sehingga volume plasma semen rendah (Danang, Isnaini dan Trisunuwati, 2012). Perbedaan volume semen per ejakulat dipengaruhi oleh perbedaan bangsa, umur, ukuran tubuh, nutrisi pakan, frekuensi penampungan semen, teknik serta metode penampungan, lama periode siang hari dan suhu lingkungan. Akan tetapi tingkat fertilitas tidak dipengaruhi oleh tinggi atau rendahnya volume semen (Iskandar dkk, 2006).

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh konsistensi semen yaitu kental dan berwarna putih susu. Suyadi dkk (2012) menjelaskan bahwa warna, konsistensi dan konsentrasi spermatozoa mempunyai hubungan yang sangat erat satu dengan yang lain, artinya jika semen semakin encer maka konsentrasi spermatozoa semakin rendah dan warnanya semakin pucat.

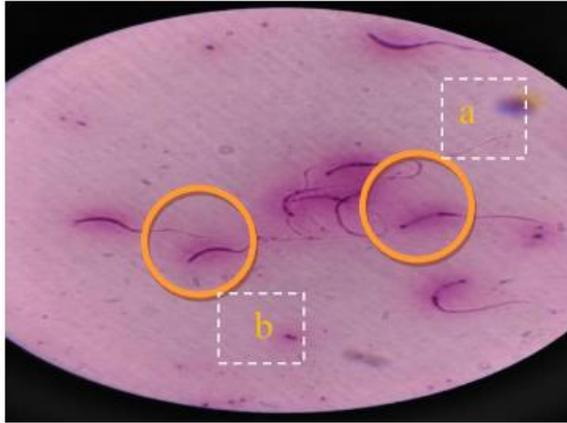
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi spermatozoa ayam arab yaitu 411.3 ± 55.27 (10^7 spermatozoa/ml) dengan konsistensi kental dan berwarna putih susu. Iskandar dkk (2006) melaporkan bahwa konsentrasi spermatozoa ayam Arab sebesar 2.2 ± 0.372

(milyar sel/ml). Nataamijaya, Setioko, Brahmantiyo dan Diwyanto (2003) menyatakan konsentrasi semen segar ayam Arab yaitu 3.92 ± 1.21 (milyar sel/ml). Asmarawati, Kustono, Widayati, Bintara, dan Ismaya (2013) menjelaskan bahwa konsistensi spermatozoa ini juga berkaitan dengan warna spermatozoa, dengan mengetahui warna spermatozoa (normal) dapat memprediksi konsentrasi spermatozoa yaitu ketika konsistensinya sedang hingga kental atau warna putih susu maka konsentrasi spermatozoa berkisar antara 3×10^9 sampai 8×10^9 /ml.

Motilitas massa semen segar ayam Arab pada saat penelitian diperoleh sebesar 2+ sampai 3+. Susilawati (2011) menyatakan bahwa penilaian semen sapi berdasarkan penilaian motilitas massa dikatakan baik (++) , bila terlihat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban, sedangkan motilitas massa dikatakan sangat baik (+++), apabila terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif seperti gumpalan awan hitam, sehingga semen yang digunakan dalam penelitian ini dikatakan layak untuk dilakukan proses lebih lanjut. Hasil dari pemeriksaan mikroskopis menunjukkan bahwa rata-rata persentase motilitas individu semen segar ayam Arab adalah 86.5 ± 2.41 %. Hasil ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Iskandar dkk (2006) yaitu 80%. Dumpala, Parker and McDaniel (2006) melaporkan bahwa dalam penelitiannya menggunakan semen segar ayam kampung jantan dengan motilitas $>70\%$. Tingkat motilitas 80%, masih dapat dinilai baik sebagaimana dilaporkan Garner dan Hafez (2000) yakni berkisar antara 60 – 80%. penelitian terhadap motilitas individu spermatozoa menggunakan mikroskop untuk melihat pergerakan progresif atau gerakan aktif maju kedepan merupakan gerakan terbaik.

Apabila terlihat gerakan melingkar atau gerakan mundur hal tersebut menandakan spermatozoa mengalami *cold shock* atau media yang kurang isotonik terhadap semen. Brito, Rodriques, Vieira, Deragon dan Kastelic (2002) menyatakan bahwa motilitas spermatozoa juga dipengaruhi oleh peningkatan umur ternak, bangsa, individu, jumlah ejakulat dan perubahan suhu lingkungan. Froman dan Kirby (2008) juga menjelaskan bahwa kualitas semen dipengaruhi oleh bangsa, individu, umur, ukuran badan, nutrisi pakan dan frekuensi penampungan semen.

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentu kualitas semen, karena berhubungan dengan daya hidup spermatozoa. Persentase viabilitas semen segar ayam Arab dari hasil penelitian sebesar 89.59 ± 3.92 %. Pada penelitian Iskandar dkk (2006) menjelaskan bahwa rata-rata viabilitas spermatozoa pada semen segar ayam Arab adalah $84 \pm 4,48$ %. Dasrul, Yaman, Wahyuni dan Mustafa (2017) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa rata-rata viabilitas semen ayam Arab adalah 86.83 ± 2.14 %, dari ke tiga data rata-rata viabilitas spermatozoa ayam Arab tersebut termasuk kategori sangat baik karena persentase viabilitas diatas 70% atau persentase viabilitas harus diatas persentase motilitas. Ihsan (2008) menjelaskan bahwa viabilitas semen termasuk kategori baik karena viabilitas diatas 70% dan masih dianggap baik jika memiliki kisaran nilai antara 50-69%. Spermatozoa yang hidup dan mati dapat dibedakan reaksinya terhadap warna tertentu, sel spermatozoa yang tidak motil dan dianggap mati akan menyerap warna dari eosin-negrosin dan sel spermatozoa yang motil dan yang hidup tidak menyerap warna (Susilawati, 2011). Perbedaan antara spermatozoa yang hidup dan yang mati dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Viabilitas spermatozoa ayam Arab diamati dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 100 kali lensa objektif dan 10 kali lensa okuler. Keterangan a=spermatozoa hidup (tidak menyerap warna eosin-negrosin), b=spermatozoa mati (menyerap warna eosin-negrosin).

Persentase abnormalitas spermatozoa semen segar ayam Arab pada saat pengamatan rata-rata sebesar 3.27 ± 0.75 %. Iskandar dkk (2006) melaporkan bahwa rata-rata nilai abnormalitas semen segar ayam Arab yaitu 14.75 ± 1.28 %. Angka ini dinilai cukup kritis karena semen segar unggas pada umumnya yang memenuhi syarat berada pada tingkat abnormalitas kurang dari 15%. Perbedaan antara spermatozoa normal dan spermatozoa abnormal dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Abnormalitas spermatozoa ayam Arab diamati dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 100 kali lensa objektif dan 10 kali lensa okuler. Keterangan gambar: a=spermatozoa abnormal ditandai dengan ekor yang melingkar, b= normal.

Pengamatan pH dalam penelitian ini diperoleh rata-rata $7.3 \pm 0.48\%$. Hal ini senada dengan penelitian Iskandar dkk (2006) yang menyebutkan bahwa rata-rata pH semen segar ayam Arab yaitu $7.09 \pm 0.23\%$. Derajat keasaman atau pH semen unggas adalah sedikit basa dengan kisaran 7.0 – 7.6. Nilai pH dapat menurun dengan peningkatan suhu dan penambahan waktu pada penyimpanan (Effendy, Wahyuningsih dan Ihsan, 2016). Aktivitas pH banyak dipengaruhi oleh aktivitas enzim spermatozoa. Apabila pH semen dipertahankan pada keadaan normal, maka laju metabolisme spermatozoa akan tinggi. Derajat keasaman atau pH semen yang mengarah ke basa atau asam akan menurunkan laju metabolisme spermatozoa. Semen yang terkontaminasi oleh kuman dan semen yang banyak mengandung spermatozoa mati akan meningkatkan pH semen karena terbentuk amoniak di dalam semen. Semen yang

mengalami penyimpanan dan peningkatan suhu akan mengalami penurunan pH. Hal ini disebabkan oleh peningkatan aktivitas spermatozoa yang menguraikan fruktosa pada kondisi anaerob. Penguraian fruktosa menyebabkan terbentuknya asam laktat pada semen (Salisbury dan Vandemark, 1985).

4.2 Persentase Motilitas Individu Spermatozoa Ayam Arab Pada Penyimpanan Suhu 3-5°C dengan Penambahan SBJB.

Salah satu faktor yang mempengaruhi fertilitas spermatozoa adalah motilitas individu spermatozoa karena motilitas merupakan salah satu indikator penting untuk penentuan kualitas semen secara umum. Berdasarkan hasil pengamatan rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa setelah pengenceran menggunakan Andromed dengan penambahan SBJB dapat dilihat pada nilai rata-rata (Tabel 9).

Tabel 9. Motilitas individu (%) spermatozoa ayam Arab terhadap perlakuan yang dicobakan.

Waktu simpan dingin (Jam)	P ₀ (0%)	P ₁ (2%)	P ₂ (4%)	P ₃ (6%)
0	79.92±0.96 ^a	81.10±0.89 ^b	82.01±0.95 ^c	83.04±0.85 ^d
2	68.96±5.71 ^a	71.43±5.39 ^b	73.24±4.47 ^c	77.22±3.24 ^d
4	57.89±4.78 ^a	62.20±5.17 ^b	65.89±2.91 ^c	68.66±2.99 ^d
8	46.39±9.34 ^a	51.96±5.84 ^b	56.87±4.59 ^b	63.66±3.56 ^c
24	17.27±4.64 ^a	25.74±2.94 ^b	30.45±3.29 ^c	36.01±3.57 ^d

Keterangan : notasi ^{a-d} yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan bahwa tingkat penambahan SBJB memberikan perbedaan sangat nyata (P<0.01)

terhadap motilitas individu spermatozoa ayam Arab.

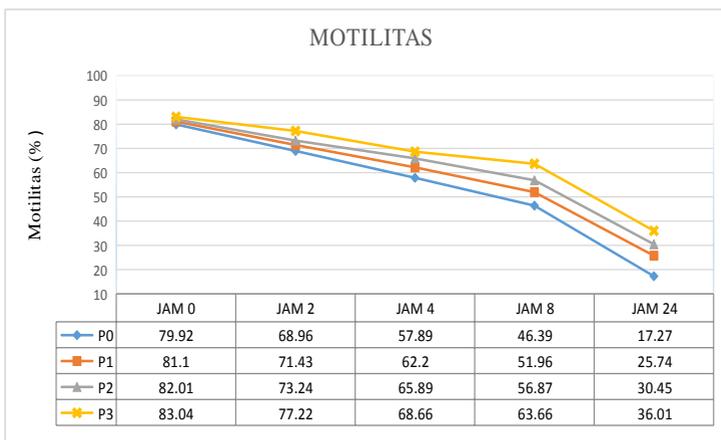
Hasil pengamatan pada Tabel 9. menunjukkan bahwa tingkat penambahan SBJB memberikan perbedaan sangat nyata ($P < 0.01$) dalam mempertahankan motilitas individu spermatozoa ayam Arab yang disimpan pada suhu $3-5^{\circ}\text{C}$ sampai jam ke-24. Penambahan level SBJB 6% memberikan hasil yang paling baik dibandingkan dengan P_0 , P_1 dan P_2 . Pada penyimpanan jam ke-24 dapat dilihat bahwa persentase motilitas pada perlakuan P_3 dengan konsentrasi SBJB 6% sebesar $36.01 \pm 3.57\%$, lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan penambahan konsentrasi SBJB 0%, 2% dan 4% , yaitu berturut-turut adalah SBJB 0% ($17.27 \pm 4.64\%$), SBJB 2% ($25.74 \pm 2.94\%$) dan SBJB 4% ($30.45 \pm 3.29\%$), akan tetapi yang layak dilanjutkan untuk proses Inseminasi Buatan adalah persentase motilitas spermatozoa pada jam ke 0, 2, 4 dan 8. Solihati dkk (2008) menyatakan bahwa, motilitas spermatozoa yang harus dimiliki sebelum IB adalah sebesar 40 %. Persentase terbaik motilitas individu spermatozoa ayam Arab terlihat pada P_3 jam ke-0 yaitu sebesar $83.04 \pm 0.85\%$.

Penambahan SBJB sebesar 6% mampu mempertahankan secara konsisten motilitas individu spermatozoa ayam Arab setelah pengenceran pada jam ke-0 sampai jam ke-24. Hal ini karena Dalam proses penyimpanan semen, terjadi kontak antara semen dan oksigen. Rizal dan Herdis (2010) menyatakan bahwa oksigen merupakan suatu unsur yang esensial, tetapi ekseks atau kelebihan oksigen menyebabkan kerusakan peroksidatif. Peroksidasi lipida terjadi akibat adanya radikal bebas, yaitu senyawa kimia yang memiliki elektron tak berpasangan dan bersifat sangat reaktif. Radikal bebas antara lain berupa superoksida (O^{\square}), hidroksil (OH^{\square})

dan peroksil (ROO^\square). Di dalam tubuh, senyawa reaktif ini dapat berasal dari produk samping rantai pernafasan di dalam mitokondria. Oksigen yang masuk ke dalam tubuh sekitar 90% masuk ke mitokondria. Pada saat proses respirasi di mitokondria, oksigen terlibat dalam pembentukan ATP dengan mengikutsertakan enzim- enzim respirasi. Dalam proses respirasi, oksigen mengalami reduksi dalam rangkaian elektron transfer di dalam mitokondria. Proses reduksi oksigen tersebut dapat menghasilkan radikal bebas dan hidrogen peroksida sebagai senyawa antara. Selanjutnya dinyatakan bahwa radikal bebas bersifat sangat reaktif, jika bereaksi dengan asam lemak tak jenuh akan menghasilkan lipid peroksida. Reaksi ini terjadi secara berantai dan berlangsung terus menerus karena setiap reaksi menghasilkan radikal bebas baru yang mengakibatkan reaksi peroksidasi lipida yang baru, sehingga disebut sebagai reaksi berantai atau reaksi autokatalitik. Radikal bebas seperti hidrosil dan singlet oksigen dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting dalam mempertahankan integritas sel. Ketiga senyawa itu adalah asam lemak, khususnya asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen utama fosfolipida penyusun membran plasma. Asam askorbat (vitamin C) akan mencegah peroksidasi lipid melalui pemberian atom hidrogennya yang cepat kepada radikal peroksil. Asam askorbat (vitamin C) akan menetralkan kerja radikal bebas, sehingga tidak terbentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) yang diketahui merusak ikatan ganda asam lemak tak jenuh fosfolipid membran plasma sperma.

Prasetio (2015) melaporkan bahwa buah jambu biji memiliki kandungan vitamin C yang tinggi diantara berbagai jenis buah dan kandungan vitamin C buah jambu biji merah

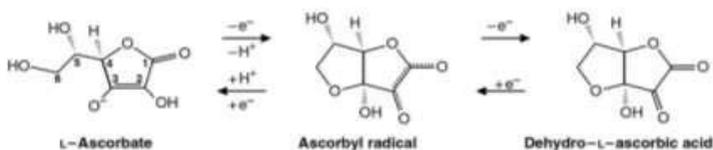
lebih tinggi dibandingkan dengan jambu biji putih dan jeruk. Kandungan vitamin C dalam buah jambu biji cukup besar yaitu 87mg/100gr bahan. Aslam, Dasrul dan Rosmaidar (2014) menyatakan bahwa vitamin C merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai antioksidan larut dalam lemak yang mampu menghambat aktivitas senyawa oksigen reaktif dan mencegah terjadinya reaksi berantai antara senyawa oksigen reaktif dengan asam lemak tak jenuh majemuk yang terdapat pada membran plasma spermatozoa. Vitamin C juga mampu bekerja di dalam dan di luar dinding sel sehingga dapat mengurangi atau mencegah peroksidasi lipid secara lebih luas dan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa walaupun diberi paparan suhu dingin. Maia, Bicudo, Azevedo, Sicherle, Sousa, and Rodello (2009) juga menyatakan bahwa Antioksidan memiliki mekanisme pertahanan dalam melawan lipid peroksidase dari semen dan memelihara motilitas dan viabilitas spermatozoa.



Gambar 6. Grafik penurunan motilitas spermatozoa selama penyimpanan suhu 3-5°C setelah pengenceran dengan menggunakan pengencer Andromed

yang disuplementasi SBJB sesuai perlakuan yang dicobakan.

Berdasarkan Gambar 6. penambahan SBJB 6% memberikan perlindungan terbaik terhadap motilitas individu spermatozoa setelah diencerkan dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Hal ini karena Vitamin C sebagai agen pereduksi dapat bereaksi dengan radikal bebas dengan mendonorkan elektron sehingga membentuk radikal askorbil yang merupakan radikal tidak reaktif. Selanjutnya, radikal askorbil berubah menjadi asam dehidroaskorbat (Rahmah, 2014).



Gambar 7. Reaksi reduksi oksidasi vitamin C.

Sumber : Colleen M. Smith, Allan D. Marks, and Michael A. Lieberman, 2005 dalam Rahmah, 2014.

Vitamin C yang merupakan antioksidan non enzimatis berperan dalam mendonorkan elektronnya sehingga menurunkan radikal bebas dan efektif dalam melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat stres oksidatif (Rahmah, 2014). Gambar 5. menunjukkan bahwa selama proses penyimpanan suhu 3-5°C, motilitas spermatozoa ayam Arab mengalami penurunan kualitas pada semua perlakuan yang dicobakan. Hal ini terjadi karena selama penyimpanan suhu 3-5°C menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa akibat dari ROS sehingga spermatozoa mengalami *cold shock* atau kejutan dingin. *Cold shock* selama penyimpanan semen

memicu terjadinya stress pada membran sel spermatozoa melalui radikal bebas sehingga menyebabkan kerusakan spermatozoa (Sanocka and Kupisz, 2004; Thuwanut *et al.*, 2011). Hal ini didukung oleh pernyataan dari Koestaman dan Utama (2004) bahwa keberadaan ROS selama penyimpanan juga dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa, karena ROS menyebabkan oksidasi baik lipid maupun protein membran sehingga dapat menurunkan motilitas. Soler, Guzman, dan Garde (2003) menambahkan bahwa keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena metabolisme sel akan berlangsung baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh, sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas masuk dan keluar dari sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme.

Rizal, Surachman dan Herdis (2006) menyatakan bahwa kandungan zat yang bersifat toksik yang berasal dari spermatozoa yang mati ataupun berasal dari zat yang terkandung dalam pengencer yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat mengakibatkan tingginya kadar radikal bebas sehingga dapat merusak keutuhan membran plasma spermatozoa. Membran plasma yang mengalami kerusakan akan mengakibatkan metabolisme spermatozoa terganggu dan mulai kehilangan motilitasnya sehingga mengakibatkan kematian spermatozoa. Yu and Leibo (2002) juga menyatakan bahwa penurunan kualitas yang sejalan dengan lama penyimpanan, karena terjadi perubahan integrasi membran sel berupa pembengkakan pada daerah akrosom dari spermatozoa. Keutuhan membran plasma sangat berkorelasi dengan motilitas spermatozoa. Apabila membran plasma spermatozoa sudah mengalami kerusakan, maka metabolisme

spermatozoa akan terganggu sehingga spermatozoa akan kehilangan motilitasnya dan mengakibatkan kematian.

4.3 Persentase Viabilitas Spermatozoa Ayam Arab Pada Penyimpanan Suhu 3-5°C dengan Penambahan SBJB

Berdasarkan hasil pengamatan viabilitas spermatozoa ayam Arab pada suhu 3-5°C dalam pengencer Andromed dengan penambahan SBJB dengan berbagai perlakuan yang dicobakan yaitu 0%, 2%, 4% dan 6% dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Viabilitas (%) spermatozoa ayam arab terhadap perlakuan yang dicobakan

Waktu simpan dingin (Jam)	P ₀ (0%)	P ₁ (2%)	P ₂ (4%)	P ₃ (6%)
0	81.56±1.27 ^a	83.29±1.13 ^b	85.05±1.05 ^c	86.04±0.85 ^c
2	71.53± 6.01 ^a	74.11±5.13 ^b	76.49±4.41 ^c	80.65±2.45 ^d
4	60.53±4.30 ^a	64.94±4.38 ^b	67.91±2.82 ^c	72.27±3.10 ^d
8	48.98±8.95 ^a	54.03±6.05 ^a	59.60±4.34 ^a	66.69±2.82 ^b
24	19.43±5.24 ^a	27.74±3.28 ^b	33.07±3.32 ^c	38.56±4.47 ^d

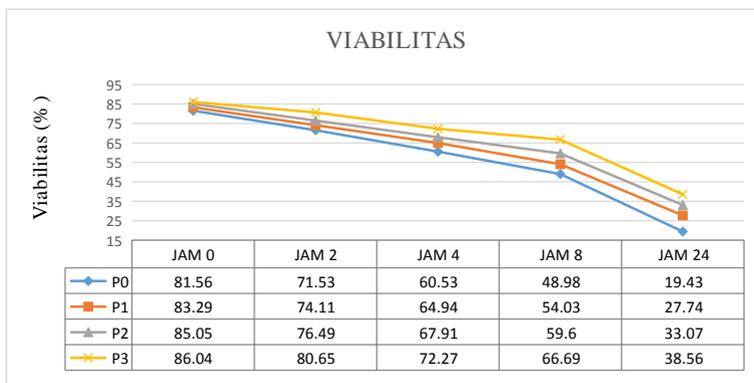
Keterangan : notasi ^{a-d} yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan bahwa tingkat penambahan SBJB memberikan perbedaan sangat nyata (P<0.01) terhadap viabilitas spermatozoa ayam Arab.

Hasil analisis statistik pada Tabel 10. menunjukkan nilai viabilitas yang berpengaruh sangat nyata (P<0.01) mulai dari jam ke-0 hingga jam ke-24. Penambahan SBJB sebanyak 6% memberikan perbedaan viabilitas yang lebih tinggi daripada perlakuan lain yang dicobakan. Persentase viabilitas spermatozoa P₃ pada jam ke-0 sampai jam ke-24 berturut-turut sebesar 86.04±0.85; 80.65±2.45; 72.27±3.10; 66.69±2.82;

38.56±4.47. persentase viabilitas spermatozoa pada jam ke-0 pada P₃ merupakan persentase viabilitas terbaik yang digunakan untuk IB. Hal ini karena pemberian antioksidan yang tepat memberikan hasil yang maksimal untuk mencegah peroksidasi lipid pada membran sel spermatozoa dengan cara memutus atau mencegah reaksi rantai peroksidasi lipid pada membran plasma sel, sehingga mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma selama proses pengenceran dan penyimpanan semen pada suhu dingin. Rizal (2005) menyatakan bahwa membran plasma yang utuh akan menghasilkan proses metabolisme berjalan dengan baik, sehingga produksi energi berupa ATP tidak terganggu yang berakibat dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Data analisis statistik diatas menunjukkan bahwa level penambahan SBBB 6% merupakan level terbaik untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa ayam Arab karena antioksidan vitamin C pada level tersebut berkerja optimal untuk melindungi membran sel spermatozoa.

Semakin lama penyimpanan pada suhu 3-5°C maka viabilitas spermatozoa akan menurun karena spermatozoa mengalami kerusakan membran plasma dan membran akrosom selama penyimpanan suhu rendah (3-5°C). Indriani dkk (2013) menyatakan bahwa viabilitas menurun akibat suhu dingin, ketersediaan energi dalam pengencer semakin berkurang. Hal senada juga dilaporkan White (1993) bahwa pengaruh utama dari kejutan dingin terhadap sel spermatozoa ialah penurunan motilitas dan daya hidup, perubahan permeabilitas dan perubahan komponen lipid pada membran. Nugroho, Susilawati dan Wahjuningsih (2015) menyatakan bahwa viabilitas spermatozoa tergantung pada keutuhan membran spermatozoa. Lopes (2002) melaporkan bahwa

kategori viabilitas semen dikatakan baik apabila $\geq 70\%$. Kerusakan membran spermatozoa akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme intraseluler sehingga spermatozoa akan melemah dan akan mengakibatkan kematian (Ihsan,2008).



Gambar 8. Grafik penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan suhu 3-5°C setelah pengenceran dengan menggunakan pengencer Andromed yang disuplementasi SBJB sesuai perlakuan yang dicobakan.

Dari Gambar 8. dapat dilihat bahwa persentase viabilitas spermatozoa ayam Arab dengan penambahan sari buah jambu biji (SBJB) mengalami penurunan seiring dengan lama penyimpanan pada suhu 3-5°C. Menurunnya persentase spermatozoa hidup pada semua kelompok perlakuan yang dicobakan setelah pendinginan disebabkan semakin berkurangnya ketersediaan energi dalam bahan pengencer dan semakin meningkatnya konsentrasi asam laktat dalam media pengencer. Hal ini sebanding dengan pernyataan Sankai, Tsuchiya and Ogonuki (2001) bahwa semakin bertambahnya

jumlah spermatozoa yang rusak dan mati akibat suhu dingin, ketersediaan energi dalam bahan pengencer semakin berkurang, dan meningkatnya tingkat keasamaan (pH) semen. Penurunan persentase membran plasma utuh terjadi akibat kerusakan membran plasma spermatozoa yang diakibatkan karena pengerasan lapisan phospholipid akibat suhu yang rendah. Rosmaidar dkk (2013) melaporkan bahwa penyimpanan dingin dalam jangka waktu lama menyebabkan peningkatan akumulasi asam laktat sisa metabolisme sel, sehingga menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam. Kondisi ini dapat bersifat racun bagi spermatozoa yang akhirnya menyebabkan kematian spermatozoa.

4.4 Persentase Abnormalitas Spermatozoa Ayam Arab Pada Penyimpanan Suhu 3-5⁰C dengan Penambahan SBJB

Spermatozoa abnormal meningkat selama proses pendinginan dan pembekuan disebabkan oleh cekaman dingin/*cold shock*, ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolisme yang terus berlangsung selama penyimpanan suhu 3-5⁰C (Solihati dkk., 2008). Selain itu pembuatan preparat ulas yang kurang tepat juga menyebabkan kerusakan pada spermatozoa seperti ekor dan kepala putus. Morfologi abnormalitas pada spermatozoa berhubungan dengan fertilitas. Dengan demikian bahwa pengaruh tingginya abnormalitas berasal dari proses penyimpanan dan kondisi fisiologis dari pengencer tersebut, selain itu juga dipengaruhi oleh spermatogenesis dari ternak dan penanganan semen setelah ejakulasi. (Susilawati, 2013). Berdasarkan hasil pengamatan rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa

setelah pengenceran menggunakan Andromed dengan penambahan SBJB dapat dilihat pada nilai rata-rata Tabel 11.

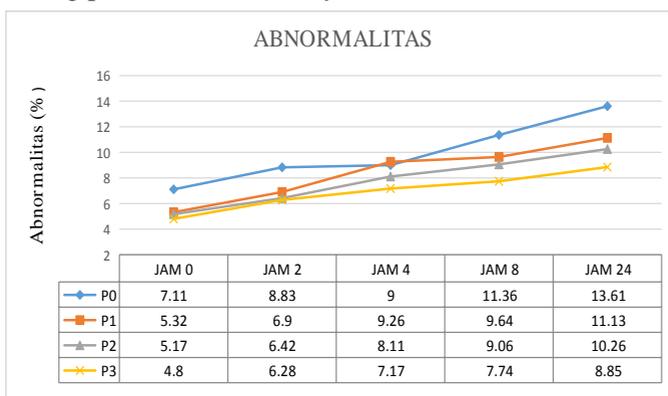
Tabel 11. Abnormalitas spermatozoa (%) ayam arab terhadap perlakuan yang dicobakan.

Waktu simpan dingin (Jam)	P ₀ (0%)	P ₁ (2%)	P ₂ (4%)	P ₃ (6%)
0	7.11±1.86 ^a	5.32±1.15 ^b	5.17±1.39 ^c	4.80±1.30 ^d
2	8.83±1.96 ^a	6.9±1.33 ^b	6.42±1.38 ^c	6.28±1.21 ^d
4	9±3.17	9.26±2.23	8.11±1.85	7.17±1.84
8	11.36±0.84 ^a	9.64±1.48 ^b	9.06±1.66 ^c	7.74±1.75 ^d
24	13.61±1.78 ^a	11.13±1.70 ^b	10.26±1.92 ^c	8.85±1.19 ^d

Keterangan : notasi ^{a-d} yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan bahwa tingkat penambahan SBJB memberikan perbedaan sangat nyata (P<0.01) terhadap Abnormalitas spermatozoa ayam Arab.

Hasil analisis statistik pada Tabel 11. menunjukkan rata-rata persentase abnormalitas semen ayam Arab pada penyimpanan suhu 3-5°C selama jam ke-24 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dari ke empat perlakuan yang dicobakan (P₀, P₁, P₂ dan P₃) pada pengamatan jam ke-4 (P>0.05), akan tetapi pada penyimpanan jam ke- 0, 2, 8 dan jam ke-24 persentase abnormalitas spermatozoa ayam Arab mengalami perbedaan yang sangat nyata (P<0.01). Rataan dan SD abnormalitas menunjukkan bahwa perlakuan P₃ (94% Andromed +6% SBJB) memberikan hasil terbaik mulai jam ke 0 hingga jam ke 24 masing-masing (4.80±1.30%; 6.28±1.21%;

7.17±1.84%; 8.85±1.19%). persentase abnormalitas spermatozoa ayam Arab terbaik pada level penambahan SBJB 6% pada jam ke-0 yaitu sebesar 4.80±1.30, dan persentase abnormalitas spermatozoa tertinggi pada P₀ pada jam ke-24 yaitu sebesar 13.61±1.78. Rataan tersebut masih berada dalam kisaran normal. Diperkuat oleh (Campbell *et al.*, 2003 dalam Arifiantini dkk., 2005) semen yang berkualitas baik memiliki 5-15% spermatozoa abnormal, tetapi Iskandar dkk (2006) melaporkan bahwa abnormalitas spermatozoa semen ayam Arab sebesar 14.75 %. Hal ini menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini relatif rendah dibanding penelitian sebelumnya.



Gambar 9. Grafik kenaikan abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan suhu 3-5°C setelah pengenceran dengan menggunakan pengencer Andromed yang di suplementasi SBJB sesuai perlakuan yang dicobakan.

Berdasarkan Gambar 9. Abnormalitas setelah penyimpanan pada suhu 3-5°C selama penyimpanan sampai jam ke-24 masih menunjukkan angka di bawah 20% pada semua

perlakuan, sehingga masih layak digunakan untuk inseminasi buatan. Parera, dkk (2009) menyebutkan bahwa angka morfologi abnormal 8-10% tidak memberikan pengaruh yang cukup berarti bagi fertilitas, tetapi jika abnormalitas lebih dari 25% per ejakulat maka penurunan fertilitas tidak dapat diantisipasi. Susilawati (2010) menjelaskan bahwa pendinginan menyebabkan peningkatan abnormalitas dan kerusakan sel namun masih dapat teratasi dengan pengencer Andromed yang mengandung lesitin. Zat tersebut berfungsi mempertahankan integritas selubung lipoprotein dari sel dan mencegah cekaman dingin selain itu, Andromed juga mengandung gliserol dimana zat tersebut dapat berdifusi ke dalam sel-sel spermatozoa dan dapat dimetabolisir dalam proses-proses yang menghasilkan energi dan membentuk fruktosa. Jadi dalam keadaan aerob, gliserol berfungsi sebagai penghasil fruktosa dan lebih sedikit asam laktat yang terbentuk sehingga menunjukkan aktivitas spermatozoa yang optimum.

Pada lama penyimpanan jam ke-24, didapatkan persentase abnormalitas spermatozoa paling rendah diperoleh pada level SBJB 6 %, yakni sebesar 8.85 % atau masih dalam kategori normal. Hal ini karena kadar antioksidan dalam SBJB pada perlakuan ke tiga diduga memiliki kadar vitamin C paling baik yang digunakan sebagai antioksidan didalam media penyimpanan semen. Trilaksana, Ndun dan Bebas (2015) menyatakan bahwa vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang memainkan peran penting mengurangi radikal bebas serta berperan penting sebagai antioksidan yang secara terus menerus akan bertindak sebagai *scavenger* (penyapu/penyangkal) terhadap radikal bebas yang terbentuk sehingga memungkinkan tidak terjadi gangguan terhadap fungsi sel. Vitamin C mempunyai sifat polaritas sehingga

dapat bereaksi dengan radikal bebas Sebagai zat anti radikal bebas. Vitamin C mampu menetralsir dan bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, singlet oksigen dan lipid peroksida serta mencegah aglutinasi spermatozoa. Suyadi dkk (2012) menambahkan bahwa terbentuknya radikal peroksida lipid pada membran kepala spermatozoa dapat dicegah dengan antioksidan yang mempunyai kemampuan memutus reaksi berantai dengan menyumbangkan satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas.