

Penambahan Vitamin C Pada Pengencer Spermatozoa Babi *Landrace* Yang Disimpan Pada Suhu 15°C

(*ADDITION OF VITAMIN C IN DILUENT OF LANDRACE SPERM STORED IN TEMPERATURE OF 15°C*)

Wayan Bebas¹, Made Kota Budiassa¹, Ika Yuni Astutik²

¹Laboratorium Reproduksi Veteriner Universitas Udayana

²Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: wayanbebas@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace pada pengencer BTS (*Beltsville Thawing Solution*) dengan penambahan vitamin C yang disimpan pada suhu 15°C. Selama proses penyimpanan aktivitas metabolisme spermatozoa menghasilkan radikal bebas yang dapat menurunkan daya hidup dan motilitas spermatozoa sehingga perlu ditamapkannya antioksidan. Vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang dapat digunakan untuk menangkal radikal bebas. Penelitian ini menggunakan vitamin C yang ditambahkan kedalam pengencer BTS dengan dosis yang bertingkat yaitu 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml dan dosis 0,3 mg/ml. Hasil penelitian menunjukkan dosis 0,1 mg/ml merupakan dosis terbaik untuk mempertahankan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi *Landrace* disimpan pada suhu 15°C.

Kata kunci: spermatozoa, babi, vitamin c, motilitas, daya hidup.

ABSTRACT

The aims of this study were to determine the viability and motility of Landrace pig's spermatozoa in the Beltsville Thawing Solution (BTS) diluent with addition vitamin C which were stored at a temperature of 15°C. During the storage process, metabolic activity of spermatozoa produce free radicals that can reduce the viability and motility of spermatozoa thus it needs the addition of antioxidants. Vitamin C is an antioxidant that can be used to scavengethe free radicals. This study used vitamin C added into the BTS diluent with scavenge dose is 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml and a dose of 0.3 mg/ml. The results showed that a dose of 0.1 mg/ml is the best dose to maintain the viability and motility of Landrace pigs spermatozoa were storage at a temperature of 15°C.

Keywords: sperm, pig, vitamin C, viability, motility

PENDAHULUAN

Babi merupakan salah satu komoditas ternak penghasil daging yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan. Ternak babi memiliki sifat dan kemampuan yang menguntungkan antara lain pertumbuhan yang cepat, jumlah anak per kelahiran (*litter size*) yang tinggi dan efisiensi ransum yang baik (75-80%) serta persentase karkas yang tinggi 65-80%.

Untuk lebih meningkatkan mutu dan produktifitas ternak babi secara intensif telah diupayakan perbaikan nilai gizi dari pakan itu sendiri. Dalam usaha peternakan merupakan salah satu faktor yang sangat penting untuk mendapat perhatian (Tumbeleka *et al.*, 2007). Hal ini disebabkan 55-88% dari seluruh biaya produksi adalah biaya pakan, sehingga perlu diupayakan untuk menekan biaya pakan dengan mencari bahan-bahan lokal yang lebih murah, namun masih

mengandung nilai gizi yang baik khususnya untuk ternak babi (Satriavi *et al.*, 2013).

Perkawinan secara alami dan Inseminasi Buatan (IB) pada babi diharapkan mempunyai angka kebuntingan yang tinggi. Angka kebuntingan diperoleh dengan cara meningkatkan keberhasilan kebuntingan pada babi betina yang dikawinkan. Usaha peternakan babi akan mengalami kerugian besar apabila angka kebuntingan babi rendah. Pencapaian tujuan program IB tergantung pada beberapa faktor yaitu kualitas semen, keterampilan inseminator, cara mempertahankan kualitas semen segar setelah ejakulasi, maupun selama preservasi semen (Tamoës *et al.*, 2014). Inseminasi buatan merupakan bioteknologi dibidang reproduksi yang bertujuan untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak secara kuantitatif dan kualitatif. Semen babi sangat peka terhadap perubahan temperatur, berbeda dengan semen ruminansia seperti sapi dan kambing. Lapisan lipid (asam lemak tak jenuh) pada membran spermatozoa babi sangat tipis sehingga semen babi tidak tahan di suhu rendah. Semen babi dapat bertahan pada suhu berkisar antara 15-20°C (Gilmore *et al.*, 1996). Salah satu bahan pengencer yang digunakan untuk pengenceran semen babi adalah *Beltsville Thawing Solution* (BTS). Daya hidup spermatozoa babi pada pengencer BTS (*Beltsville Thawing Solution*) yaitu 2-3 hari (Sumardani *et al.*, 2008).

Metabolisme spermatozoa selama proses penyimpanan akan menghasilkan ROS (*Reactive Oksigen Spesies*) atau radikal bebas yang dampaknya merusak asam lemak tak jenuh pada membran spermatozoa sehingga berpengaruh terhadap motilitas dan kehidupan spermatozoa. Kelompok radikal bebas yang biasanya terbentuk antara lain *superoxide anion* (O_2^-), *hydroxyl radicals* (OH^\cdot), dan *peroxyl radicals* (RO_2^\cdot),

hydrogen peroxide (H_2O_2), dan *organicperoxides* ($ROOH$) (Rizal dan Herdis, 2010).

Antioksidan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid, dengan cara menunda atau mencegah terjadinya reaksi outoksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Shui *et al.*, 2004).

Vitamin C merupakan antioksidan *non-enzimatik* yang mudah larut dalam air, dan bekerja dalam cairan ekstrasvaskuler, Vitamin C mempunyai sifat polar yang tinggi karena banyak mengandung gugus *hidroksil* sehingga membuat vitamin ini mudah diubah oleh tubuh. Oleh sebab itu vitamin C dapat bereaksi dengan radikal bebas yang bersifat *aqueous* dan mampu menetralkan radikal bebas (Rizal dan Herdis, 2010; Reza *et al.*, 2011). Penambahan vitamin C pada pengencer dapat meningkatkan persentase hidup dan keutuhan membran plasma spermatozoa pada semen beku sapi (Beconi *et al.*, 1993).

Berdasarkan penelitian Ndun (2013) pemberian vitamin C dengan dosis 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml dan 0,3 mg/ml dalam pengencer fosfat kuning telur menunjukkan pengaruh baik terhadap kualitas semen selama penyimpanan. Sampai saat ini penambahan vitamin C pada pengenceran semen babi belum pernah dilakukan.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu ekor babi *Landrace* jantan dengan umur ± 2 tahun sebagai sumber semen. Bahan yang digunakan adalah *aquabidestilata*, Eosin negrosin sitrat, BTS (*Beltsville Thawing Solution*), alkohol 70% dan vitamin C generic (*Asam Askorbat*). Adapun alat yang digunakan adalah objek glass, *cover glass*, pipet *pasteur*, tabung reaksi beserta rak, beker glass, *spatula*, cawan petri,

kertas, mikroskop *binokuler*, tisu, timbangan *analitik*, *sputit*, gelas ukur, *Styrofoam* dan kulkas.

Metode Penelitian

Vitamin C generik 10 mg digerus menggunakan *spatula* sampai benar-benar halus, kemudian dilarutkan kedalam 100 ml *aquades*. T₁: 0.8 ml vitamin C dicampurkan dengan 80 ml semen yang telah dicampur dengan BTS, T₂: 1.6 ml vitamin C dicampurkan dengan 80 ml semen yang telah dicampur dengan BTS dan T₃: 2,4 ml vitamin C dicampurkan dengan 80 ml semen yang

telah dicampur dengan BTS. Semen babi ditampung dengan menggunakan metode *massage*.

Semen yang ditampung dimasukkan ke dalam gelas ukur untuk mengetahui volumenya. Setelah diketahui volume semen, dilakukan penghitungan untuk pembuatan pengencer. Pembuatan pengencer BTS yaitu dengan cara melarutkan 50 gram BTS kedalam 1.000 ml *aquabidestilata* pada suhu 30°C, kemudian diaduk agar homogen. Adapun rumus untuk menghitung jumlah pengencer yang diperlukan untuk semen cair babi, yaitu:

$$\text{Total Volume} = \frac{\text{Vol. semen} \times \text{Konsentrasi} \times \text{Motilitas} \times \text{Vol. dosis}}{\text{Konsentrasi Dosis}}$$

$$\text{Jumlah Pengencer} = \text{Total Volume} - \text{Tota volume Semen}$$

Semen dievaluasi untuk mengetahui kualitasnya dilakukan melalui pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan semen secara makroskopik meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH. Sedangkan pemeriksaan semen secara mikroskopik meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas dan presentase hidup atau mati (Gadea, 2003). Setelah dilakukan evaluasi pada semen kemudian dilakukan pengenceran semen, dengan memasukkan semen kedalam bahan pengencer BTS. Semen langsung disimpan pada suhu 15°C selama 96 jam. Dilakukan pengamatan terhadap daya hidup dan motilitas setiap 24 jam dan juga dilakukan pengamatan pengaruh lama waktu penyimpanan terhadap motilitas dan daya hidup.

Pengamatan motilitas dan daya hidup dilakukan mulai dari awal penyimpanan sampai 96 jam dengan interval waktu 24 jam. Pengamatan terhadap motilitas dilakukan dengan cara menghomogenkan semen terlebih dahulu lalu ditetaskan 0,05 ml di atas *objek glass* dan ditutup dengan *cover glass*,

selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop, untuk melihat jumlah spermatozoa yang bergerak progresif. Penilaian presentase motilitas didasarkan pada presentase spermatozoa yang bergerak progresif pada beberapa lapang pandang. Ditentukan secara subjektif di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Angka yang diberikan antara 0-100%, sedangkan pengamatan terhadap daya hidup dilakukan dengan pewarnaan eosin negrosin sitrat dengan cara semen diambil sebanyak 0,05 ml diletakkan pada *object glass* kemudian ditetaskan pewarna eosin negrosin sitrat pada semen dan aduk perlahan sampai homogen, selanjutnya dibuat preparat hapusan dan dianginkan sampai kering. Preparat diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1.000x untuk menghitung jumlah spermatozoa yang tidak menyerap warna (transparan) sebagai tanda spermatozoa masih hidup.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analysis of*

Variance (ANOVA) selanjutnya dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *General Linear Model (Multivariate)*. Untuk pengujian normalitas menggunakan *Kolmogorove-Smirnov Z*, sedangkan untuk pengujian homogenitas menggunakan *levene's test*. Apabila terjadi perbedaan yang nyata pada perlakuan maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji *Duncan*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian homogenitas dan normalitas menunjukkan hasil sebaran normal dan homogen. Hasil penelitian daya hidup spermatozoa babi pada pengencer BTS (*Beltsville Thowing Solution*) dengan penambahan vitamin C yang disimpan pada suhu 15°C dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Rata-rata presentase daya hidup spermatozoa babi *landrace* pada pengencer BTS (*Beltsville Thowing Solution*) dengan penambahan Vitamin C yang disimpan pada suhu 15°C setiap 24 jam selama 96 jam.

| Perlakuan | Pengamatan Daya Hidup Spermatozoa | | | | |
|-----------|-----------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 0 jam | 24 jam | 48 jam | 72 jam | 96 jam |
| Kontrol | 96 ± 0 | 95,83 ± 0,408 | 93,33 ± 1,751 | 87,33 ± 1,506 | 76,17 ± 0,983 |
| 0,1 mg/ml | 96 ± 0 | 95,67 ± 0,516 | 95,67 ± 0,516 | 94,33 ± 1,033 | 88,00 ± 1,414 |
| 0,2 mg/ml | 96 ± 0 | 95,67 ± 0,516 | 95,50 ± 0,458 | 94,00 ± 0,894 | 88,83 ± 1,941 |
| 0,3 mg/ml | 96 ± 0 | 95,67 ± 0,516 | 94,60 ± 0,548 | 91,50 ± 1,049 | 79,33 ± 1,033 |

Pengujian statistik dilakukan dengan menggunakan uji *General Linear Model (Multivariate)*, hasil pengujian menunjukkan pemberian vitamin C memberikan perbedaan yang nyata terhadap daya hidup spermatozoa.

Tabel 2. Uji Duncan Pengaruh Penambahan vitamin C terhadap daya hidup spermatozoa babi

| Konsentrasi Vitamin C | Daya Hidup |
|-----------------------|--------------------|
| Kontrol | 89,73 ^a |
| 0,1 mg/ml | 91,40 ^b |
| 0,2 mg/ml | 93,93 ^c |
| 0,3 mg/ml | 94,00 ^c |

Ket: Huruf yang berbeda kearah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hasil Uji *Duncan* menunjukkan bahwa daya hidup spermatozoa dengan perlakuan penambahan vitamin C dosis 0.1 mg/ml dan 0,2 mg/ml menghasilkan daya hidup yang lebih baik dari dosis 0,3 mg/ml dan kontrol.

Tabel 3. Uji Duncan pengaruh penyimpanan terhadap daya hidup spermatozoa babi

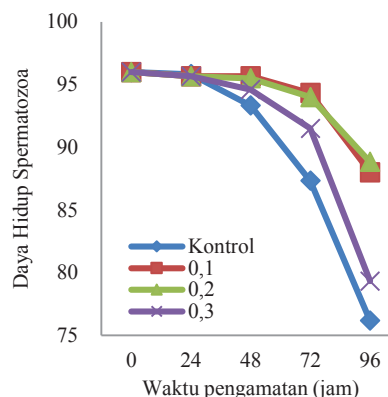
| Waktu Pemeriksaan | Daya Hidup |
|-------------------|--------------------|
| 96 jam | 83,03 ^a |
| 72 jam | 91,79 ^b |
| 48 jam | 94,75 ^c |
| 24 jam | 95,71 ^d |
| 0 jam | 96,00 ^d |

Ket: Huruf yang berbeda kearah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata lama penyimpanan ($P < 0,05$)

Hasil dari pengujian *Duncan* menunjukkan bahwa waktu pengamatan berpengaruh terhadap penurunan daya hidup spermatozoa babi. Waktu pengamatan 0 jam dan 24 jam belum menunjukkan penurunan yang signifikan, namun pada waktu 48 jam, 72 jam dan 96 jam terlihat penurunan daya hidup spermatozoa babi yang nyata ($P < 0,05$). Grafik daya hidup spermatozoa babi pada pengencer BTS dengan penambahan

vitamin C dan lama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 1.

Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test* dan uji homogenitas menggunakan *Levene's Test*, menunjukkan hasil sebaran normal dan homogeny terhadap motilitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil uji *Duncan* motilitas spermatozoa babi pada pengencer BTS dengan penambahan vitamin C yang disimpan pada suhu 15°C dapat dilihat pada Tabel 5. Sedangkan uji *Duncan* terhadap motilitas akibat pengaruh lama waktu penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 6.



Gambar 1. Grafik presentase daya hidup spermatozoa akibat pengaruh vitamin C dan lama waktu penyimpanan.

Tabel 4. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa babi *Landrace* pada pengencer BTS dengan penambahan vitamin C yang disimpan pada suhu 15°C setiap 24 jam selama 96 jam.

| Perlakuan | Pengamatan Motilitas Spermatozoa | | | | |
|-----------|----------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 0 jam | 24 jam | 48 jam | 72 jam | 96 jam |
| Kontrol | 80± 0 | 78,50 ± 1,975 | 70,17 ± 3,189 | 52,17 ± 1,472 | 34,00 ± 2,449 |
| 0,1 mg/ml | 80± 0 | 79,50 ± 0,837 | 77,00 ± 1,549 | 60,33 ± 1,211 | 50,33 ± 1,751 |
| 0,2 mg/ml | 80 ± 0 | 79,67 ± 0,516 | 76,83 ± 1,602 | 60,00 ± 1,789 | 51,00 ± 2,366 |
| 0,3 mg/ml | 80 ± 0 | 79,33 ± 1,033 | 73,50 ± 1,049 | 53,00 ± 1,673 | 40,67 ± 1,033 |

Lamanya waktu penyimpanan spermatozoa juga berpengaruh terhadap daya hidup dan motilitas. Semakin lama waktu penyimpanan daya hidup dan motilitasnya semakin menurun. Hal ini disebabkan karena selama proses penyimpanan spermatozoa tetap melakukan metabolisme, sehingga reaksi oksidasi juga akan tetap berlangsung.

Tabel 5. Uji *Duncan* perlakuan penambahan vitamin C terhadap motilitas spermatozoa babi

| Konsentrasi Vitamin C | Motilitas |
|-----------------------|--------------------|
| Kontrol | 62,29 ^a |
| 0,3 mg/ml | 65,30 ^b |
| 0,1 mg/ml | 69,43 ^c |
| 0,2 mg/ml | 69,50 ^d |

Ket: Huruf yang berbeda ke arah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Lama waktu penyimpanan pada dosis vitamin C 0,1 mg/ml dan 0,2 mg/ml menunjukkan daya hidup dan motilitas yang hampir sama, sehingga dosis 0,1 mg/ml dianggap sebagai dosis terbaik karena lebih efisien. Pada dosis 0,3 menunjukkan adanya penurunan, hal ini disebabkan oleh efek pemberian vitamin C yang kurang tepat. Penambahan vitamin C pada pengencer semen dapat menyebabkan perubahan pH karena vitamin C bersifat asam. Spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH medium dari keadaan netral, terutama terhadap pH rendah. Penambahan yang berlebih malah menurunkan kualitas semen (Rizal dan Herdis, 2010).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama penyimpanan berpengaruh terhadap penurunan motilitas spermatozoa babi.

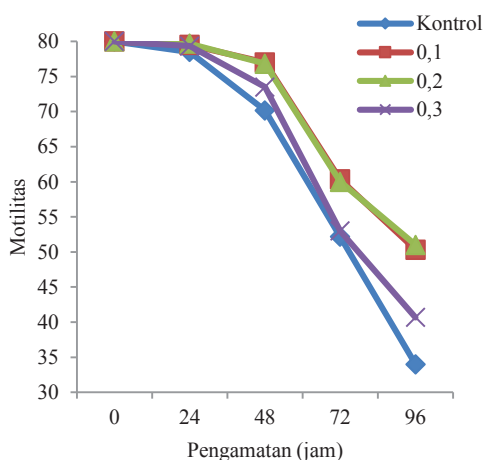
Tabel 6. Uji *Duncan* pengaruh lama penyimpanan motilitas spermatozoa babi

| Waktu Pemeriksaan | Motilitas |
|-------------------|--------------------|
| 96 jam | 44,00 ^a |
| 72 jam | 56,38 ^b |
| 48 jam | 74,38 ^c |
| 24 jam | 79,25 ^d |

Ket: Huruf yang berbeda kearah kolom menunjukkan perbedaan yang nyata lama penyimpanan ($P < 0,05$)

Waktu pengamatan 0 jam dan 24 jam belum menunjukkan penurunan yang signifikan, namun pada waktu 48 jam, 72 jam dan 96 jam terlihat penurunan motilitas spermatozoa babi yang nyata ($P < 0,05$). Grafik motilitas spermatozoa babi *Landrace* akibat penambahan vitamin C dan lama waktu penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 2.

Usaha yang dapat dilakukan untuk menghambat peroksidasi lipid pada membran plasma yaitu dengan penambahan senyawa antioksidan kedalam pengencer BTS yang dapat menangkal radikal bebas. Penambahan vitamin C kedalam pengencer BTS dapat mempertahankan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi *Landrace*.



Gambar 2. Grafik presentase motilitas spermatozoa pada penambahan vitamin C dan lama waktu penyimpanan.

Pada dosis 0,1 mg/ml dan 0.2 mg/ml menunjukkan daya hidup dan motilitas sama baiknya, sehingga dosis 0,1 mg/ml dianggap sebagai dosis terbaik karena lebih efisien. Sedangkan pada penelitian sebelumnya penambahan vitamin C pada spermatozoa kalkun mendapatkan hasil bahwa penambahan dosis 0,3 mg/ml memberikan hasil yang terbaik terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun (Ndun, 2013).

Pemberian antioksidan yang tepat memberikan hasil yang maksimal untuk mencegah peroksidasi lipid pada membran plasma spermatozoa dengan cara mencegah atau memutus reaksi rantai peroksidasi lipid pada membran plasma spermatozoa, sehingga mampu mengurangi kerusakan yang terjadi pada membrane plasma spermatozoa.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Penambahan vitamin C dan lama waktu penyimpanan berpengaruh terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi selama penyimpanan. Dosis vitamin C 0,1 mg/ml dalam pengencer BTS merupakan dosis terbaik untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui fertilitas semen yang diencerkan menggunakan BTS dengan penambahan vitamin C.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan beserta Kepala Laboratorium Reproduksi Veteriner atas diijinkan dan bantuan fasilitas laboratorium selama penelitian serta semua pihak yang telah bersedia membantu dalam proses penelitian dan penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

- Beconi MT, Fancia CR, Mora NG, Affranchino MA. 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology*, 40: 841-851.
- Gadea J. 2003. Semen extender used in the artificial insemination of swine a review. *Spains J Agric Res*, 1(2): 17-27.
- Gilmore JA, Junying D, Jun T, Peter AT, Crister JK. 1996. Osmotic properties of boar spermatozoa and their relevance to cryopreservation. *J Reprod Fertil*, 107: 87-95.
- Ndun RN. 2013. Penambahan vitamin C pada pengencer fosfat kuning telur terhadap kualitas semen kalkun yang disimpan pada suhu 5°C. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Reza A, Rezi J, Nasrabadi HT. 2011. Influence of added vitamin C and vitamin E on frozen-thawed bovine sperm cryopreserved in citrate and tris-based extenders. *Vet ResForum*, 1: 37-44.
- Rizal M, Herdis. 2010. Peran antioksidan dalam meningkatkan kualitas semen beku. *Wartazoa*, 20(3): 139-145.
- Satriavi K, Wulandari Y, Subagyo YBP, Indreswari R, Sunarto, Prastowo S, Widyas N. 2013. Estimasi parameter genetik induk babi landrace berdasarkan sifat litter size dan bobot lahir keturunannya. *J Trop Anim Husbandry*, 2(1): 28-33.
- Shui G, Wong SP, Leong L P. 2004. Characterization of antioxidants and change of antioxidant levels during storage of Manilkara zapota L. *Agric Food Chemi*, 52: 7834-7841.
- Sumardani NLG, Tuty LY, Pollung HS. 2008. Viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer beltsville thawing solution (bts) pada tiga tempat penyimpanan berbeda. *J Media Peternakan*, 31(2): 81-86.
- Syarifuddin A, Laksmi DNDI, Bebas W. 2012. Efektivitas penambahan berbagai konsentrasi glutathione terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa sapi bali post thawing. *J Indonesia Med Vet*, 1(2): 173-185.
- Tamoes JA, Nalley WM, Hine TM. 2014. Fertilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai. *J Sains Peternakan*, 12(1): 20-30.
- Tumbelaka LITA, Siagian PH. 2007. Pengaruh sistem pengawinan dan paritas terhadap penampilan reproduksi ternak babi di pt adhi farm, Solo, Jawa Tengah. *J Ilmu Ternak*, 7(2): 145-148.