

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia*) DALAM LARUTAN NATRIUM KLORIDA FISILOGIS SEBAGAI BAHAN PENGECER SEMEN TERHADAP PENINGKATAN KUALITAS SPERMATOZOA AYAM BURAS PADA SUHU RUANG

Effect of Noni Extract Fruit (Morinda citrifolia) in Physiological Saline Solution as Diluent on the Native Chicken Spermatozoa Quality at Room Temperature

Murcahyana^{1*}, Trinil Susilawati², dan Nurul Isnaini²

¹Program Studi Ilmu Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

²Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

*Corresponding author: cahyameessiah@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah menguji kualitas dan daya simpan semen ayam buras pada suhu ruang setelah diencerkan dengan media dasar natrium klorida (NaCl) fisiologis yang ditambahkan dengan ekstrak buah mengkudu. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan menggunakan rancangan acak tersarang dengan pola faktorial. Variabel yang diamati meliputi kualitas spermatozoa ayam buras secara makroskopis dan mikroskopis yang diberi ekstrak buah mengkudu dengan dosis 0 (P0), 10 (P1), 20 (P2), dan 30% (P3). Motilitas spermatozoa pada P0 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); P1 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); P2 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); dan P3 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3) masing-masing adalah (83,70±4,74; 63,30±9,63; 32,90±8,52; dan 15,00±6,20); (85,30±5,44; 72,70±10,06; 51,90±11,75; dan 28,50±5,68); (84,60±6,40; 78,50±8,59; 57,90±10,73; dan 33,70±9,06); dan (81,80±7,30; 64,20±7,93; 40,30±11,66; dan 19,80±7,47). Viabilitas spermatozoa pada P0 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); P1 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); P2 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); dan P3 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3) masing-masing adalah (85,30±9,09; 65,10±6,15; 32,10±11,86; dan 10,30±9,09); (87,40±6,22; 72,70±5,33; 50,80±13,59; dan 26,50±10,99); (68,58±5,30; 77,70±4,79; 56,30±13,76; dan 32,70±13,79); dan (81,20±8,04; 68,70±10,40; 36,20±16,61; dan 16,90±11,93). Abnormalitas spermatozoa pada P0 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); P1 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); P2 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3); dan P3 (jam ke-0; ke-1; ke-2; dan ke-3) masing-masing adalah (8,70±3,40; 12,20±4,42; 17,80±5,67; dan 20,30±6,38); (7,80±2,04; 9,80±2,69; 13,60±4,45; dan 16,50±5,19); (8,40±4,33; 10,00±2,45; 12,50±5,21; dan 15,80±3,71); dan (9,60±3,41), (10,90±2,64), (17,10±5,61), (21,20±8,16). Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu dengan dosis 10 dan 20% di dalam larutan NaCl fisiologis mampu mempertahankan kualitas spermatozoa ayam buras hingga waktu simpan dua jam pada suhu ruang.

Kata kunci: ayam buras, ekstrak buah mengkudu, kualitas spermatozoa

ABSTRACT

The purpose of this research was to analyse the quality and storability of native chicken semen at room temperature after diluted with physiological saline solution (NaCl) supplemented with noni fruit extract. Research methodology used was nested randomized design which variables observed covering the quality of chicken spermatozoa macroscopically and microscopically with the doses of noni fruit extract of 0 % (P0), 10 % (P1), 20 % (P2), and 30 % (P3). Rate of spermatozoa motility at 0, 1, 2, and 3 hours on P0 were 83.70±4.74, 63.30±9.63, 32.90±8.52, and 15.00±6.20; P1 were 85.30±5.44, 72.70±10.06, 51.90±11.75, and 28.50±5.68; P2 were 84.60±6.40, 78.50±8.59, 57.90±10.73, and 33.70±9.06; and P3 were 81.80±7.30, 64.20±7.93, 40.30±11.66, and 19.80±7.47, respectively. Rate of spermatozoa viability at 0, 1, 2, and 3 hours on P0 were 85.30±9.09, 65.10±6.15, 32.10±11.86, and 10.30±9.09; P1 were 87.40±6.22, 72.70±5.33, 50.80±13.59, and 26.50±10.99; P2 were 68.58±5.30, 77.70±4.79, 56.30±13.76, and 32.70±13.79; P3 were 81.20±8.04, 68.70±10.40, 36.20±16.61, and 16.90±11.93, respectively. Rate of spermatozoa abnormality at 0, 1, 2, and 3 hours on P0 were 8.70±3.40, 12.20±4.42, 17.80±5.67, and 20.30±6.38; P1 were 7.80±2.04, 9.80±2.69, 13.60±4.45, and 16.50±5.19; P2 were 8.40±4.33, 10.00±2.45, 12.50±5.21, and 15.80±3.71; and P3 were 9.60±3.41, 10.90±2.64, 17.10±5.61, and 21.20±8.16, respectively. It can be concluded that the addition of noni fruit extract at the dose of 10 % and 20 % in physiological saline solution maintain the native chicken spermatozoa quality up to 2 hours post storage at room temperature.

Key words: native chicken, noni fruit extract, sperm quality

PENDAHULUAN

Penerapan teknologi inseminasi buatan (IB) dalam reproduksi merupakan upaya yang dilakukan untuk meningkatkan produktivitas ternak. Salah satu faktor yang mendukung keberhasilan IB adalah kualitas dari semen cair yang digunakan. Baik tidaknya kualitas dari semen cair tersebut tidak terlepas dari bahan pengencer yang digunakan. Oleh sebab itu, pemakaian bahan pengencer semen hendaknya selalu memperhatikan syarat penting yang harus dimiliki oleh tiap pengencer semen.

Menurut Surai *et al.* (1998) semen pada unggas memiliki komposisi asam lemak tak jenuh ganda yang

tinggi yang membuat kualitas semen rentan terhadap peroksidasi lemak dan menyebabkan kerusakan spermatozoa. Upaya yang dibutuhkan untuk dapat mencegah proses peroksidasi lemak adalah dengan cara menyeimbangkan antara produksi radikal bebas dengan produksi anti-oksidan untuk mempertahankan kualitas spermatozoa (Feradis, 2009).

Tanaman mengkudu merupakan salah satu tanaman obat tropika yang cukup banyak ditemukan di berbagai tempat. Menurut data statistik pada tahun 2003, Indonesia memiliki produksi mengkudu sebesar 1.910 ton pada lahan yang tersebar di berbagai provinsi dengan total luas 23 ha dan terus meningkat menjadi

3.509 ton pada tahun 2004. Perkembangan tersebut tidak terlepas dari beberapa penelitian yang telah mengungkapkan mengenai potensi dari buah mengkudu yang dapat diterima oleh masyarakat. Salah satu contoh potensinya adalah sebagai sumber anti-oksidan yang bermanfaat bagi tubuh (Zin *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2011). Buah mengkudu memiliki kandungan asam askorbat yang cukup tinggi yakni sebesar 29,29 mg/ml (Nandashri *et al.*, 2005) serta memiliki kapasitas sebagai anti-oksidan yang lebih baik dari buah jeruk yang baik untuk menunjang kualitas spermatozoa pada unggas (Yang *et al.*, 2011; Qureshi *et al.*, 2012).

Berdasarkan uraian di atas, buah mengkudu diduga memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan tambahan pengencer semen ayam. Hal tersebut perlu dilakukan dalam upaya meningkatkan ketahanan spermatozoa ayam setelah penampungan sehingga perlunya dilakukan penelitian untuk menguji efektivitas buah mengkudu di dalam larutan NaCl fisiologis dalam memengaruhi kualitas spermatozoa ayam buras pada suhu ruang pada waktu yang berbeda.

MATERI DAN METODE

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan rancangan acak tersarang (*nested design*) dengan pola faktorial yakni waktu simpan dan dosis ekstrak buah mengkudu. Larutan natrium klorida (NaCl) fisiologis sebagai kontrol (P0), serta NaCl fisiologis sebagai larutan dasar dengan penambahan ekstrak buah mengkudu sebesar 10% (P1), 20% (P2), dan 30% (P3). Masing-masing perlakuan diulang sepuluh kali.

Proses pelaksanaan penelitian diawali dengan pemeliharaan empat ekor ayam buras jantan dengan umur 30-40 minggu dengan berat berkisar antara 2-2,5 kg. Pakan diberikan pakan jadi jenis BR-1 (PT. Panca Patriot Prima, Sidoarjo) pada pagi dan sore hari serta air minum diberikan secara *ad libitum*.

Penampungan Semen

Proses penampungan semen ayam kampung dilakukan pada pagi hari pukul 08.00 WIB. Koleksi semen dilakukan satu kali dalam satu minggu menggunakan metode masase. Sebelum pengambilan semen terlebih dahulu kloaka dibersihkan dengan larutan alkohol 70% agar semen bebas dari kotoran. Semen segar yang diperoleh lalu segera diamati secara makroskopis dengan mengukur volume, pH, melihat warna, dan konsistensi. Pengamatan mikroskopis semen segar dilakukan untuk mengetahui konsentrasi, motilitas massa, dan motilitas individu.

Pembuatan Larutan Pengencer Semen

Larutan pengencer semen dibuat dengan jumlah 1 ml dalam tiap tabung eppendorf berukuran 1,5 ml sesuai dengan dosis yang diujicobakan. Ekstrak buah mengkudu dan larutan NaCl fisiologis yang telah dipersiapkan, dihomogenkan dalam tabung eppendorf yang telah diberi label sesuai dengan perlakuan menggunakan ose.

Pencampuran Larutan Pengencer dengan Semen Segar

Proses selanjutnya adalah pencampuran antara larutan pengencer semen yang telah dipersiapkan dengan semen segar dengan perbandingan antara semen dan bahan pengencer sebesar 1:5. Pada tiap interval 1 jam, semen cair diuji kualitasnya secara mikroskopis meliputi motilitas individu, viabilitas spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa.

Evaluasi Semen secara Makroskopis

Evaluasi semen secara makroskopis meliputi volume, pH, warna, konsistensi, bau, dan gerakan massa. Volume semen dapat langsung dibaca pada tabung yang berskala. pH semen diukur dengan indikator pH. Warna semen dapat langsung dilihat atau memperhatikan warna semen yang telah ditampung. Konsistensi atau derajat kekentalan semen dilakukan pada tempat yang terang, dengan cara tabung dimiringkan dan beberapa saat kemudian ditegakkan kembali. Jika semen yang menempel pada bagian tabung turun perlahan-lahan setelah tabung ditegakkan kembali menandakan bahwa semen tersebut mempunyai konsistensi yang kental. Bau semen dapat diketahui dengan cara mencium pada permukaan tabung. Gerakan massa semen dikategorikan sangat baik (+++) jika merupakan gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak dan bergerak cepat, baik (++) jika merupakan gelombang kecil tipis, jarang dan bergerak lamban, sedang (+) jika tidak terlihat gelombang melainkan hanya individual gerakan spermatozoa aktif progresif, buruk (O) atau *necrospermia* (N) jika hanya sedikit atau tidak ada sama sekali gerakan individu (Toelihere, 1985).

Evaluasi Semen secara Mikroskopis

Semen ditetaskan pada obyek gelas kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40. Motilitas spermatozoa diperiksa secara berurutan lima lapang pandang dengan menggeser bidang pandang dari kiri ke kanan untuk memperoleh 200 spermatozoa, kemudian diperhatikan gerakannya. Nilai P adalah gerakan progresif, yaitu gerakan maju ke depan, C adalah gerakan *circular* yaitu gerakan melingkar, N (*necrospermia*), yaitu tidak ada gerakan, dan R adalah gerakan *reverse* yaitu gerakan mundur. Viabilitas spermatozoa dimulai dengan pembuatan ulasan semen pada obyek gelas dengan menggunakan larutan eosin negrosin, yang selanjutnya pada pengamatan di mikroskop menunjukkan spermatozoa hidup akan tampak bening sedangkan spermatozoa yang mati tampak berwarna gelap. Pengamatan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan pengamatan pada bentuk-bentuk morfologi dari spermatozoa.

Analisis Data

Data motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa yang diperoleh dalam penelitian ini ditransformasikan dengan menggunakan tabel *arc sinus* kemudian dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance* (Anova) dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum kualitas semen segar pada ayam dapat dipengaruhi oleh bangsa, iklim, kondisi kesehatan, dan temperatur lingkungan (Mosenene, 2009). Agar diperoleh ejakulat yang diharapkan, maka terlebih dahulu dilakukan pemilihan terhadap ayam jantan yang digunakan secara cermat, penyediaan kandang yang nyaman, dan aman serta pengawasan terhadap kesehatan. Rerata karakteristik semen segar ayam buras disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen segar ayam kampung

Parameter	Rataan
Volume (ml)	0,19
Warna	Putih
Konsistensi	Kental
Motilitas (%)	83,70±4,74
Gerakan massa	(++/+++)
Viabilitas spermatozoa (%)	85,30±9,09
pH	7
Konsentrasi (10 ⁷ /ml)	246
Abnormalitas (%)	8,70±3,40

Volume semen per ejakulasi yang diperoleh dalam penelitian ini bervariasi antara 0,18-0,24 ml/ejakulasi dengan rata-rata sebesar 0,19 ml. Hasil ini lebih rendah dibandingkan laporan Sopiya *et al.* (2006) yakni sebesar 0,28 ml, Danang *et al.* (2012) sebesar 0,31 ml, serta Malik *et al.* (2013) sebesar 0,29 ml, namun masih lebih tinggi dibandingkan laporan Ifeanychukwu (2011) yakni sebesar 0,05 ml dan Etchu *et al.* (2013) sebesar 0,16 ml. Jumlah volume semen per ejakulat yang bervariasi ini antara lain dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti umur (Elagib *et al.*, 2012), iklim lingkungan (Peters *et al.*, 2008), dan frekuensi penampungan semen (Noirault dan Brillard, 1999).

Motilitas massa dapat menunjukkan gerakan individu dari tiap spermatozoa. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa yang bergerak akan tampak terlihat seperti gumpalan awan yang bergerak bergelombang dan semakin cepat maka semen memiliki kualitas yang semakin baik. Pada penelitian ini diperoleh kualitas motilitas massa spermatozoa dengan pergerakan massa (++) sampai (+++). Kondisi ini hampir sama seperti yang dilaporkan oleh Sopiya *et al.* (2006) dan Iskandar *et al.* (2005). Menurut Toelihere (1985), bahwa pergerakan massa berkisar antara baik (+++) dan sangat baik (++++) adalah ketika pergerakan spermatozoa progresif dan membentuk gelombang massa yang tebal dan bergerak cepat. Derajat keasaman yang diperoleh dalam penelitian ini sebesar 7,0. Hasil ini masih sesuai dengan kriteria semen segar yang baik menurut Danang *et al.* (2012) dan Wiyanti *et al.* (2013). Menurut Garner dan Hafez (1993) motilitas spermatozoa pada unggas secara umum berkisar antara 60-80%.

Konsentrasi spermatozoa yang diperoleh dalam penelitian ini sebesar 246x10⁷/ml. Hasil ini masih lebih rendah dari yang diperoleh Danang *et al.* (2012) sebesar 313±29,30 x 10⁷ dan Malik *et al.* (2013)

sebesar 444 x 10⁷/ml, namun masih mendekati dengan hasil yang diperoleh Etchu *et al.* (2013) sebesar 268 x 10⁷/ml dan Iskandar *et al.* (2005) sebesar 220 x 10⁷/ml. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti *strain* ayam yang digunakan (Ajayi *et al.*, 2011) dan bobot badan (Makhalofa *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini diperoleh persentase motilitas spermatozoa semen segar rata-rata sebesar 83,70±4,74%. Rataan ini masih sesuai dengan kriteria semen segar yang baik menurut Sopiya *et al.* (2006) sebesar 81,63±3,54%, Mosenene (2009) sebesar 81,5±26,5% dan Iskandar *et al.* (2005) sebesar 80%. Menurut Garner dan Hafez (1993) motilitas spermatozoa pada unggas secara umum berkisar antara 60-80%.

Penghitungan jumlah spermatozoa hidup penting dilakukan untuk dapat memberikan informasi lebih jauh mengenai kondisi dari spermatozoa. Menurut Partodihardjo (1992) semen normal memiliki sel spermatozoa hidup sekitar 60-80%. Rerata viabilitas spermatozoa dari semen segar ayam buras yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 85,30±9,09%. Hasil yang diperoleh ini masih mendekati dengan rerata viabilitas spermatozoa dari Danang *et al.* (2012) sebesar 92,60±2,43%, Tabatabaei *et al.* (2011) sebesar 90,42±3,72%, dan Al-Daraji (2011) sebesar 80,7±7,7%.

Berdasarkan Tabel 2 diperoleh rata-rata motilitas spermatozoa ayam kampung terhadap semua perlakuan selama 3 jam pengamatan secara umum cenderung menunjukkan penurunan. Penurunan motilitas spermatozoa ini tampak seiring dengan semakin lamanya waktu penyimpanan. Menurut Solihati *et al.* (2006) semakin lama waktu penyimpanan maka menyebabkan motilitas spermatozoa terus mengalami penurunan oleh karena persediaan energi yang digunakan oleh spermatozoa untuk beraktivitas menjadi sangat terbatas.

Bahan pengencer yang digunakan turut berperan dalam memengaruhi perbedaan persentase motilitas individu dari spermatozoa pada setiap lama waktu simpan. Pengenceran semen dengan NaCl fisiologis dan ekstrak buah mengkudu sebesar 20% memberikan rerata persentase motilitas individu spermatozoa yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain pada tiap waktu pengamatan. Rerata masih tingginya persentase motilitas individu spermatozoa pada P1 dan P2 dimungkinkan disebabkan melalui pemberian ekstrak buah mengkudu hingga dosis 20% di dalam larutan NaCl fisiologis dapat memberikan perlindungan pada spermatozoa dari efek buruk radikal bebas pascapenampungan tanpa mengubah kadar pH yang ideal bagi aktivitas dan kehidupan spermatozoa pada larutan pengencer. Hal ini juga mungkin tidak terlepas dari kandungan asam askorbat yang cukup tinggi pada buah mengkudu dibandingkan dengan zat lain yang ada dalam buah mengkudu.

Berdasarkan pendapat dari Sumarsono (1998) bahwa asam askorbat berfungsi sebagai anti-oksidan yang mampu meningkatkan motilitas pada spermatozoa melalui mekanisme pengikatan oksigen radikal yang

Tabel 2. Pengaruh waktu simpan dan dosis ekstrak buah mengkudu terhadap motilitas progresif individu spermatozoa semen cair

Waktu simpan (jam)	Dosis ekstrak buah mengkudu			
	P0	P1	P2	P3
0	83,70±4,74 ^{ijk}	85,30±5,44 ^{jk}	84,60±6,40 ^k	81,80±7,30 ^{ijk}
1	63,30±9,63 ^{fgh}	72,70±10,06 ^{hi}	78,50±8,59 ^{ij}	64,20±7,93 ^{gh}
2	32,90±8,52 ^{cd}	51,90±11,75 ^{ef}	57,90±10,73 ^{fg}	40,30±11,66 ^{de}
3	15,00±6,20 ^a	28,50±5,68 ^{bc}	33,70±9,06 ^{cd}	19,80±7,47 ^{ab}

a, ab, bc, cd, de, ef, fg, gh, hi, ij, jk, k Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Tabel 3. Pengaruh waktu simpan dan dosis ekstrak buah mengkudu terhadap viabilitas spermatozoa semen cair

Waktu simpan (A) (jam)	Dosis ekstrak buah mengkudu (B)			
	P0	P1	P2	P3
0	85,30±9,09 ^f	87,40±6,22 ^f	68,58±5,30 ^f	81,20±8,04 ^{ef}
1	65,10±6,15 ^{de}	72,70±5,33 ^e	77,70±4,79 ^e	68,70±10,40 ^e
2	32,10±11,86 ^c	50,80±13,59 ^d	56,30±13,76 ^d	36,20±16,61 ^c
3	10,30±9,09 ^a	26,50±10,99 ^{bc}	32,70±13,79 ^c	16,90±11,93 ^{ab}

a, ab, b, bc, c, d, de, e, ef, f Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

Tabel 4. Pengaruh waktu simpan dan dosis ekstrak buah mengkudu terhadap abnormalitas spermatozoa semen cair

Waktu simpan (A) (jam)	Dosis ekstrak buah mengkudu (B)			
	P0	P1	P2	P3
0	8,70±3,40 ^a	7,80±2,04 ^b	8,40±4,33 ^a	9,60±3,41 ^{bc}
1	12,20±4,42 ^e	9,80±2,69 ^{cd}	10,00±2,45 ^{bcd}	10,90±2,64 ^d
2	17,80±5,67 ⁱ	13,60±4,45 ^f	12,50±5,21 ^e	17,10±5,61 ^{hi}
3	20,30±6,38 ^j	16,50±5,19 ^{gh}	15,80±3,71 ^g	21,20±8,16 ^j

a, b, bc, bcd, cd, d, e, f, g, gh, hi, i, j Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

terdapat di dalam sel sehingga dapat mencegah terbentuknya peroksidasi lipid yang dapat menghambat glikolisis dan motilitas. Hasil percobaan juga mengindikasikan bahwa melalui penambahan dosis ekstrak buah mengkudu pada taraf 30 % pada larutan NaCl fisiologis cenderung menurunkan persentase motilitas individu spermatozoa. Keadaan ini diduga disebabkan karena semakin tingginya dosis pemberian ekstrak buah mengkudu maka sama dengan mempertinggi konsentrasi asam askorbat yang terdapat dalam larutan pengencer semen. Menurut Sumarsono (1998) bahwa semakin tingginya konsentrasi asam askorbat pada pengencer semen akan menyebabkan mempercepatnya laju fruktolisis sehingga akan menyebabkan terjadinya percepatan akumulasi asam laktat dan penurunan pH. Menurunnya pH semen menyebabkan penurunan aktivitas enzim-enzim metabolisme, yang berakibat kebutuhan energi untuk motilitas dan kelangsungan hidup spermatozoa tidak dapat terpenuhi (Solihati *et al.*, 2006). Selain itu, penurunan motilitas spermatozoa juga dapat disebabkan oleh karena dengan seiring makin lamanya waktu saat proses penyimpanan semen cair pada suhu ruang, spermatozoa akan semakin banyak kehilangan ion Ca²⁺ yang penting untuk memodulasi flagelum pada spermatozoa untuk bergerak (Tvrda *et al.*, 2013). Hal tersebut disebabkan karena ion Na⁺ pada spermatozoa yang mengatur osmolaritas pada membran spermatozoa banyak tereduksi, sedangkan ion Na⁺ dan Cl⁻ pada larutan NaCl fisiologis memiliki keterbatasan dalam menggantikan ion Na⁺ dan Ca²⁺ pada spermatozoa. Menurut Wiyanti *et al.* (2013) bahwa ion Na⁺ pada pengencer NaCl menjadi faktor dominan dalam memengaruhi osmolaritas ekstraseluler sel yang akan menembus plasma semen sedangkan untuk ion Cl⁻

akan bereaksi dengan pelepasan ion Ca⁺ dari spermatozoa sehingga apabila terjadi keseimbangan antara aktivitas intraseluler dan ekstraseluler dari spermatozoa dan bahan pengencer akan dapat mempertahankan kualitas spermatozoa.

Berdasarkan Tabel 3, pemberian ekstrak buah mengkudu dalam larutan NaCl fisiologis memberikan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01) terhadap viabilitas spermatozoa. Hasil uji beda nyata terkecil saat jam ke-0 diperoleh hasil tidak berbeda nyata antara P0, P1, P2, dan P3. Pada jam ke-1 setelah penyimpanan antara P1 dan P2 tidak memberikan perbedaan yang nyata yakni P1 sebesar (72,70±5,33%) dan P2 sebesar (77,70±4,79%), P2 dan P1 menghasilkan perbedaan sangat nyata terhadap P0 (65,10±6,15%) namun tidak berbeda nyata dengan P3 (68,70±10,40%). P0 dan P3 tidak memberikan perbedaan yang nyata. Pada jam ke-2 setelah penyimpanan antara P1 (50,80±13,59%) dan P2 (56,30±13,76%) tidak memberikan perbedaan yang nyata namun P1 dan P2 menghasilkan perbedaan sangat nyata terhadap P0 (32,10±11,86%) dan P3 (36,20±16,61%). P0 dengan P3 tidak menghasilkan perbedaan yang nyata. Pada jam ke-3 setelah penyimpanan P1 (26,50±10,99%) dan P2 (32,70±13,79%) tidak menghasilkan perbedaan yang nyata. Kelompok P2 menghasilkan perbedaan sangat nyata terhadap P0 (10,30±9,09%) dan P3 (16,90±11,93%), sedangkan P0 dan P3 tidak memberikan perbedaan yang nyata.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa secara statistik pada perlakuan P2 cenderung dapat memberikan persentase spermatozoa hidup yang lebih baik pada tiap waktu pengamatan bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Namun demikian, antara P1 dan P2 cenderung sama-sama dapat mempertahankan

persentase hidup spermatozoa sampai dengan waktu simpan 2 jam dengan persentase spermatozoa hidup di atas 40% yakni P1 sebesar $50,80 \pm 13,59\%$ dan P2 sebesar $56,30 \pm 13,76\%$ sangat berbeda nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dari P0 sebesar $32,10 \pm 11,86\%$ dan P3 sebesar $36,20 \pm 16,61\%$.

Tingginya persentase hidup spermatozoa pada pemberian ekstrak buah mengkudu pada P1 dan P2 dimungkinkan disebabkan tidak terlepas oleh pengaruh dari asam askorbat sebagai antioksidan yang terdapat dalam ekstrak buah mengkudu yang mampu melindungi membran spermatozoa dari kerusakan akibat dari peroksidasi asam lemak penyebab radikal bebas. Membran plasma sel memegang peranan penting dalam keutuhan struktur sistem biologi sehingga integritas membran penting untuk menunjang metabolisme spermatozoa (Wiendarti *et al.*, 1999). Combs (1992) menjelaskan bahwa asam askorbat mampu mengikat oksigen radikal yang terdapat dalam plasma semen maupun spermatozoa sehingga dapat menghambat pembentukan peroksidasi lipid. Lebih lanjut dijelaskan, dengan masih utuhnya membran plasma maka keutuhan membran plasma dapat dipertahankan.

Berdasarkan uji statistik seperti yang tertera pada Tabel 4 menunjukkan bahwa semen segar yang telah diencerkan dengan menggunakan larutan NaCl dan ekstrak buah mengkudu dengan dosis 20% mampu memberikan rerata abnormalitas spermatozoa yang lebih rendah pada tiap waktu perlakuan walaupun dalam tiap jam mengindikasikan semakin meningkatnya persentase abnormalitas spermatozoa. Hasil uji beda nyata terkecil pada jam ke 0 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antara P2 ($8,40 \pm 4,33\%$) dengan P1 ($7,80 \pm 2,04\%$) dan P3 ($9,60 \pm 3,41\%$). P0 ($8,70 \pm 3,40\%$) tidak berbeda nyata dengan P2. Kelompok P1 dan P3 menghasilkan perbedaan yang tidak nyata. Pada jam ke-1 penyimpanan menunjukkan antara P1, P2, dan P3 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata masing-masing sebesar ($9,80 \pm 2,69\%$), ($10,00 \pm 2,45\%$), dan ($10,90 \pm 2,64\%$) namun P1, P2, dan P3 memberikan perbedaan yang sangat nyata terhadap P0 ($12,20 \pm 4,42\%$). Pada jam ke-2 penyimpanan P2 ($12,50 \pm 5,21\%$) memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap P0 ($17,80 \pm 5,67\%$), P1 ($13,60 \pm 4,45\%$), dan P3 ($17,10 \pm 5,61\%$). Pada jam ke-3 penyimpanan antara P1 dan P2 tidak menghasilkan perbedaan yang nyata namun P1 dan P2 menghasilkan perbedaan yang sangat nyata terhadap P0 dan P3.

Proses fertilisasi ikut dipengaruhi oleh bentuk morfologi dari sel spermatozoa, jika jumlah abnormalitas spermatozoa terlalu tinggi maka dapat menyebabkan menurunnya tingkat fertilitas (Ax *et al.*, 2000). Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh dalam penelitian beberapa bentuk abnormalitas spermatozoa yang banyak didapatkan antara lain ditemukan patahan pada ekor serta ekor melingkar sedangkan spermatozoa normal akan simetris antara bagian kepala dan ekor.

Berdasarkan analisis data menunjukkan seiring dengan semakin lamanya waktu simpan memberikan

rerata persentase abnormalitas spermatozoa setelah pengenceran pada tiap perlakuan cenderung semakin tinggi. Hasil tersebut diduga disebabkan selama waktu penyimpanan. Semen cair telah mengalami serangkaian proses metabolisme yang melibatkan pengaruh antara oksigen dengan radikal lipid bebas yang dihasilkan oleh asam lemak tak jenuh yang banyak terdapat dalam membran spermatozoa. Menurut Feradis (2009) bahwa apabila terjadi reaksi antara asam lemak tak jenuh pada membran spermatozoa dengan oksigen yang berlebihan dapat berakibat pada terjadinya metabolisme oksidatif pada sel yang menyebabkan kerusakan pada membran sel yang tidak dapat dikembalikan seperti semula. Keadaan membran sel pada dinding spermatozoa yang tidak sempurna selanjutnya akan berakibat meningkatnya abnormalitas spermatozoa (Veznic *et al.*, 2007).

Hasil analisis data juga menunjukkan bahwa bahan pengencer yang digunakan ikut memberikan pengaruh dalam meminimalisir tingkat abnormalitas spermatozoa yakni dengan penambahan ekstrak buah mengkudu dengan dosis 20% pada larutan NaCl fisiologis mampu memberikan rerata persentase abnormalitas spermatozoa paling kecil dibandingkan dengan perlakuan yang lain dalam tiap jam pengamatan, yakni pada awal pengamatan sebesar $8,40 \pm 4,33\%$, setelah 1 jam sebesar $10,00 \pm 2,45\%$, setelah 2 jam sebesar $12,50 \pm 5,21\%$, dan setelah 3 jam sebesar $15,80 \pm 3,71\%$. Hasil ini diduga disebabkan melalui penambahan ekstrak buah mengkudu pada dosis maksimal 20% dapat mampu mengurangi terjadinya peroksidasi lipid pada sel spermatozoa. Menurut Alawiyah dan Hartono (2006) peroksidasi lipid dapat memberikan pengaruh terhadap rusaknya struktur dan metabolisme pada spermatozoa sehingga dapat berakibat meningkatnya abnormalitas pada morfologi spermatozoa. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa buah mengkudu merupakan sumber antioksidan yang dapat mencegah terbentuknya peroksidasi lipid dalam sel dikarenakan kandungan utamanya berupa asam askorbat yang cukup tinggi (Yang *et al.*, 2011; Ramamoorthy dan Bono, 2007). Hal ini sesuai dengan pendapat Tabatabaei *et al.* (2011) bahwa melalui pemberian anti-oksidan, seperti tokoferol, β -karoten maupun asam askorbat mampu memberikan perlindungan terhadap sel spermatozoa dari kerusakan morfologi sel yang dapat mengakibatkan abnormalitas pada sel spermatozoa dengan cara mencegah efek buruk radikal bebas terhadap sel spermatozoa.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa melalui pemberian ekstrak buah mengkudu mampu mempertahankan kualitas spermatozoa ayam buras hingga waktu simpan 2 jam pada suhu ruang.

DAFTAR PUSTAKA

Ajayi, F.O., B.O Agaviezor, and P.K. Ajuogu, 2011. Semen characteristics of three strains of local cocks in the humid

- tropical environment of Nigeria. **Int. J. Anim. Vet. Adv.** 3(3):125-127.
- Alawiyah, D. dan M. Hartono. 2006. Pengaruh penambahan vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing Boer. **J. Indon. Trop. Anim. Agric.** 31(1):8-14.
- Al-Daraji, H.J. 2011. Effect of diluent supplementation with different levels of green tea on roosters semen quality during in vitro storage. **Int. J. Pl. An. and Env. Sci.** 1(3):51-56.
- Ax, R.L., M.R. Dally, B.A. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez, and M.E. Bellin. 2000. Semen Evaluation. In **Reproduction in Farm Animals**. Hafez, B. and E.S.E. Hafez (Eds.). 7th ed. Lippincot Williams & Wilkins Maryland, USA.
- Combs, Jr. F. 1992. **The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health**. Academic Press Inc. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Toronto.
- Danang, D.R., N. Isnaini, dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer ringer's pada suhu 4° C. **TROPIKA**.13(1):47-57.
- Elagib, H.A., N.A. Musharaf, S.A. Makawi, and H.E. Mohamed. 2012. The effects of age and season on semen characteristic of white leghorn cocks under Sudan condition. **Int. J. Poult. Sci.** 11(1):47-49.
- Etchu, K.A., G.N. Egbunike, and I.N. Woogeng. 2013. Evaluation of the fertility of broiler breeder cocks fed on diets containing differently processed sweet potato tuber in a humid tropical environment. **Int. J. Livestock Product.** 4(5):82-87.
- Feradis. 2009. Peranan antioksidan dalam pembekuan semen. **J. Peternakan.** 6(2):62-70.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 1993. Spermatozoa and Seminal Plasma. In **Reproduction in Farm Animals**. Hafez, B. and E.S.E. Hafez (Eds.). 7th ed. Lippincot Williams & Wilkins Maryland, USA.
- Ifeanychukwu, U. 2011. Use of factor scores for determining the relationship between body measurements and semen traits of cocks. **J. Anim. Sci.** 2(1):41-45.
- Iskandar, S., R. Mardalestari, R. Hernawati, E. Mardiah, dan E. Wahyu. 2005. Pengaruh jenis, konsentrasi krioprotektan, dan metode thawing terhadap kualitas semen beku ayam arab. **JITV.** 11(1):34-38.
- Makhalofa, M.B., D.O. Umesiohi, and T.L. Nedambale. 2012. Relationship between phenotypic and sperm traits of South African indigenous cockerels. **Int. J. Livestock Product.** 3(6):61-65.
- Malik, A., A.W. Haron, R. Yusoff, M. Nesa, M. Bukar, and A. Kasim. 2013. Evaluation of the ejaculate quality of the red jungle fowl, domestic chicken, and bantam chicken in Malaysia. **J. Vet. Anim. Sci.** (37):564-568.
- Mosenene, T.M. 2009. Characterization and Cryopreservation of Semen of Four South African Chicken Breeds. **Thesis**. Faculty of Natural and Agricultural Sciences. University of the Free State. Bloemfoentein.
- Nandashri, P., K. K. Pawa, J. Kaewtubtim, C. Jeamchanya, C. Jansom, and C. Sattaponpun. 2005. Nutraceutical properties of Thai "Yor", *Morinda citrifolia*, and "Noni" juice extract. **J. Sci. Technol.** 27:580-586.
- Noirault, J. and J.P. Brillard. 1999. Effect of frequency of semen collection on quantitative and qualitative characteristics of semen in turkey breeders males. **Poult. Sci.** 78:1034-1039.
- Partodihardjo. S. 1992. **Ilmu Reproduksi Hewan**. Sumber Widya, Jakarta.
- Peters, S.O., O.D. Shoyebo, B.M. Ilori, M.O. Ozoje, C.O.N. Ikeobi, and O.A. Adebambo. 2008. Semen quality traits of seven strain of chickens in the humid tropics. **Int. J. Poult. Sci.** 7(10):949-953.
- Qureshi, M.S, M. Inam, S. Khan, P. Chenoweth, A. Sultan, and N. Imtiaz. 2012. Effects of vitamin C and electrolytes supplementation on exotic and local poultry semen quality under thermal stress in Pakistan. **Proceedings Association for Applied Animal Andrology**. Vancouver:204.
- Ramamoorthy, P.K. and A. Bono. 2007. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. **JESTEC.** 2(1):70-80.
- Solihati, N., R. Idi, R. Setiawan, I.Y. Asmara, dan B.I. Sujana. 2006. Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5° C terhadap periode fertil dan fertilitas spermatozoa. **J. Ilmu Ternak.** 6(1):7-10.
- Sopiyana, S., S. Iskandar, T. Susanti, dan D. Yogaswara. 2006. Pengaruh krioprotektan DMA, DMF, dan gliserol pada proses pembekuan semen ayam kampung. **Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner**. Bogor:704-710.
- Sumarsono, T. 1998. Peningkatan Kualitas Spermatozoa Kerbau Lumpur dengan Penambahan Asam Askorbat dalam Pengencer Semen Beku. **Tesis**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Surai, P.F., N. Fujihara, B.K. Speake, J.P. Brillard, G.J. Wishard, and N.H.C. Sparks. 1998. Lipid and antioxidant composition of chicken semen and its susceptibility to peroxidation. **Poult. Avia. Biol. Rev.** 9:11-23.
- Tabatabaei, S., R. Batavani, and E. Ayen. 2011. Effects of vitamin C addition to chicken semen on sperm quality during in vitro storage of semen. **Vet. Res. Forum.** 2(2):103-111.
- Toelihere, M.R. 1985. **Fisiologi Reproduksi pada Ternak**. Angkasa, Bandung.
- Tvrda, E., P. Sikeli, J. Lukacova, P. Massanyi, and N. Lucac. 2013. Mineral nutrient and male fertility. **J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci.** 3(1):1-14.
- Vežnic, Z., D. Svecova, A. Zajicova, Z. Reckova, and J. Rubes. 2007. The Interrelationship between, quality parameters of sperm before and after separation by gradient centrifugation. **Vet. Med.** 52(10):423-429.
- Wiendarti,W.I., M.R. Toelihere, I. Supriatna, dan I.K. Utama. 1999. Efek Pemberian berbagai konsentrasi a-tokoferol sebagai antioksidan dalam pengencer tris sitrat terhadap motilitas dan ketuhan membran plasma spermatozoa kambing peranakan etawa (PE). **Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner**. Bogor:244-252.
- Wiyanti, D.C, N. Isnaini, dan P. Trisunuwati. 2013. Pengaruh lama simpan semen dengan pengencer NaCl fisiologis pada suhu ruang terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung (*Gallus domesticus*). **J. Ked. Hewan.** 7(1):53-55.
- Yang, J., R. Gadi, and T. Thomson. 2011. Antioxidant capacity, total phenols, and ascorbic acid content of noni (*Morinda citrifolia*) fruits and leaves at various stages of maturity. **J. Micronesica.** 41(2):167-176.
- Zin, Z.M., A. Hamid, and A. Osman. 2001. Antioxidative activity of extract from mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, leaf, and fruit. **Food Chem. J.** 78:227-231.