

“Sumber Daya Pertanian Berkelanjutan dalam Mendukung Ketahanan dan Keamanan Pangan Indonesia pada Era Revolusi Industri 4.0”

Pengaruh *Indigofera sp.* sebagai Suplemen Pengencer Semen terhadap Persentase Hidup dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa

Puteri, T. H., Enny T. S. dan Yon S. O.

*Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang
Jalan drh. Soejono Koesoemo Wardjojo, Tembalang, Semarang - 50275*

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji pengaruh suplementasi *Indigofera sp.* dalam pengencer terhadap persentase hidup dan membran plasma utuh sperma. Materi yang digunakan yaitu semen kambing Peranakan Etawa. Perlakuan dalam penelitian ini adalah T0 (semen + pengencer dengan *Indigofera sp.* 0%), T1 (semen + pengencer dengan *Indigofera sp.* 1%), T2 (semen + pengencer dengan *Indigofera sp.* 2%) dan T3 (semen + pengencer dengan *Indigofera sp.* 3%). Semen kambing yang telah ditampung diuji secara makroskopis terlebih dahulu, kemudian diberi perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase hidup semen kambing etawa menggunakan pengencer *Indigofera sp.* dengan taraf 0%., 1%., 2% dan 3% secara berurutan adalah 60,52%., 55,12%., 45,82% dan 49,50% ($P > 0,05$). Membran plasma utuh masing-masing secara berurutan yaitu 59,24%., 56,25%., 50,13% dan 53,55% ($P > 0,05$). Kesimpulan dalam penelitian ini adalah ekstrak *Indigofera sp.* sebanyak 1 % paling efisien digunakan sebagai suplemen pengencer.

Kata kunci : sperma, *Indigofera sp.*, pengencer, persentase hidup, membran plasma utuh

Pendahuluan

Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu upaya pelestarian ternak secara cepat, murah dan dapat mencegah penularan penyakit akibat perkawinan alami. Salah satu faktor pendukung keberhasilan IB adalah dari bahan pengencer yang digunakan. Pengencer yang baik digunakan adalah yang dapat menyediakan energi, bersifat buffer, bisa menjaga tekanan osmotik dan mengandung antibiotik (Lestari *et al.*, 2014). *Indigofera sp.* merupakan tanaman pakan sumber protein yang mengandung asam amino yang baik dan seimbang serta senyawa aktif (Juwita, 2016) yang diduga jika memperkaya pengencer dapat menjaga angka persen hidup dan membran plasma utuh spermatozoa. *Indigofera sp.* dapat tumbuh diberbagai wilayah Indonesia, tahan kekeringan dan produksi yang tinggi sehingga kontinuitas produksi dapat terjaga. *Indigofera sp.* juga memiliki kandungan protein yang cukup tinggi (24,2%) (Tarigan *et al.*, 2013). Semen yang layak digunakan dapat dilihat dari jumlah sperma yang hidup (Cahyadi *et al.*, 2016).

Persentase hidup sperma dihitung hingga 200 sperma (Husin *et al.*, 2007). Membran plasma utuh juga sangat penting untuk metabolisme spermatozoa, karena jika MPU baik maka persentase hidup sperma meningkat (Arsiwan *et al.* 2014). MPU dapat diuji dengan metode *Hypoosmotic swelling* (HOS) (Herdis, 2017). Nantinya MPU yang masih utuh ditandai dengan ekor yang melingkar dan menggelembung, sedangkan yang rusak ekornya lurus.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh suplementasi *Indigofera sp.* pada pengencer semen terhadap persentase hidup dan membran plasma utuh spermatozoa kambing Peranakan Etawa. Manfaat yang dapat diperoleh yaitu memberikan informasi tentang pengaruh suplementasi *Indigofera sp.* pada pengencer semen terhadap persen hidup dan membran plasma utuh spermatozoa kambing PE. Hipotesis penelitian adalah suplementasi *Indigofera sp.* diharapkan mampu menjaga persen hidup dan membran plasma utuh spermatozoa saat proses pengenceran.

Metodologi

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 – Januari 2019 di Kandang Ternak Kambing dan Laboratorium Genetika, Pemuliaan dan Reproduksi Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Materi yang digunakan adalah semen dari kambing Peranakan Etawa, ekstrak daun *Indigofera sp.*, *stock solution* dan *aquabides*. Alat dan bahan yang digunakan saat penampungan adalah vagina buatan, stik, vigel dan air panas. Proses pembuatan ekstrak daun *Indigofera sp.* menggunakan blender, *beaker glass*, *sentrifus*, sendok *stainlees*, timbangan, kertas pH, label dan alat tulis. Proses pembuatan *stock solution* menggunakan label, sendok *stainlees*, timbangan, *enlenmeyer* 100 ml dan 25 ml, *magnetic stirrer*, pipet tetes, kertas pH dan alat tulis. Penelitian menggunakan semen kambing Peranakan Etawa yang ditampung seminggu 2 kali, semen yang didapat ada 6 sampel sebagai ulangan. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 ulangan. Dengan perlakuan T0 (semen + pengencer *Indigofera sp.* 0%), T1 (semen + pengencer dengan *Indigofera sp.* 1%), T2 (semen + pengencer dengan *Indigofera sp.* 2%) dan T3 (semen + pengencer dengan *Indigofera sp.* 3%).

Tahap yang dilakukan terbagi menjadi 3 tahap yaitu tahap persiapan, tahap perlakuan dan pengambilan data serta tahap analisis data.

Tahap persiapan

Tahap persiapan dilakukan dengan mempersiapkan materi, *stock solution* dan ekstrak *Indigofera sp.* *Stock solution* dibuat sebanyak 100 ml dengan bahan NaCl, KCl, NaH₂PO₄.6H₂O, NaHCO₃, glukosa, Na Piruvat, MgCl₂.2H₂O, CaCl₂.2H₂O, penicillin dan *aquabides* dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

Pembuatan ekstrak *Indigofera sp.* terdiri dari *Indigofera sp.* dan *aquabides*. Kemudian kedua bahan tersebut di blender dan diambil supernatnya. Supernatan *Indigofera sp.* kemudian di *sentrifuge* untuk mendapatkan kembali supernatan yang lebih bening karena dipisahkan dari sisa substrat yang masih ada.

Tahap perlakuan dan pengambilan data

Tahap perlakuan dan pengambilan data adalah dengan mengambil data makroskopis semen segar terlebih dahulu sebelum diberi perlakuan. Perlakuan dilakukan dengan cara mencampurkan *stock solution* yang sudah diperkaya *Indigofera sp.* dengan semen kambing Peranakan Etawa yang telah ditampung. *Indigofera sp.* yang disuplementasi ke *stock solution* memiliki konsentrasi 0% (T₀), 1% (T₁), 2% (T₂) dan 3% (T₃). Kemudian dilakukan pengamatan persen hidup dan membran plasma utuh.

Pengamatan persen hidup dilakukan dengan cara semen yang telah diberi perlakuan ditetaskan sebanyak 1 tetes ke *object glass* dan ditetesi eosin 2% sebanyak 1 tetes dan ditutup menggunakan *cover glass* lalu diamati dibawah mikroskop. Sperma yang hidup dihitung dengan menggunakan alat bantu *handtallycounter* sebanyak 100 sperma.

Persen hidup diketahui dengan rumus :

$$\% \text{ Hidup} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa}}{\text{Jumlah total sperma}} \times 100\%$$

Pengujian membran plasma utuh menggunakan metode *Hypoosmotic swelling* (HOS) yaitu dengan menambahkan larutan hypoosmotik 1:10 (0,2 ml semen yang telah diberi perlakuan : 2 ml larutan hypoosmotik) lalu dihomogenkan dan diinkubasi suhu 37⁰C selama 45 menit. Lalu membuat preparat ulas dan diamati di mikroskop pembesaran 400x minimal 100 sperma. Pengamatan yang dilakukan adalah keadaan membran plasma utuh yang rusak maka ekornya lurus, sedangkan yang masih utuh ekornya melingkar dan menggelembung.

Analisis data

Data makroskopis semen segar yang didapat meliputi volume, bau, warna, pH, konsistensi dan konsentrasi kemudian di analisis secara deskriptif, sedangkan untuk uji kualitas semen sesudah diberipengencer *Indigofera sp.* yang diamati adalah persentase hidup dan membran plasma hidup, lalu dianalisis menggunakan uji statistik *Analysis of Varians* (ANOVA). Apabila terdapat pengaruh dilakukan uji lanjut menggunakan Uji Duncan.

Hasil dan Pembahasan

Sifat fisik semen segar

Semen kambing Peranakan Etawa yang telah ditampung dilakukan pemeriksaan makroskopis meliputi volume, bau, warna, pH, kekentalan dan konsentrasi (Tabel 1). Hasil volume rata-rata adalah 1,17 ml. Volume tersebut masih pada kisaran normal sesuai pendapat (Husin *et al.*, 2007) volume semen kambing PE 0,8-1,2 ml. Semen yang ditampung memiliki bau khas seperti bau semen. Warna semen yang ditampung rata-rata putih susu. Menurut (Arsiwan *et al.*, 2014) warna semen putih dan kekuningan, artinya semen tidak terkontaminasi bakteri atau darah. Derajat keasaman semen yang ditampung rata-rata 6,08. Artinya pH cenderung asam, namun masih dapat diterima karena pH semen kambing pada umumnya 5,9-7,3 (Putranti *et al.*, 2010).

Tabel 1. Data makroskopis semen segar

Makroskopis	Rata-rata \pm SD	Kisaran
Volume (ml)	1,17 \pm 0,67	0,8-1,2
Bau	Khas	Khas
Warna	Putih susu	Putih dan kekuningan
Derajat Keasaman (pH)	6,08 \pm 0,00	5,9-7,3
Konsistensi (kekentalan)	Agak kental	Encer-kental
Konsentrasi (10^7)	228,17 \pm 57,68	200-300

Rata-rata konsistensi semen yang ditampung adalah agak kental. Konsistensi dan konsentrasi sperma saling berhubungan. Semen akan semakin kental sejalan dengan kenaikan konsentrasi sperma (Hidayati *et al.*, 2015). Konsentrasi semen yang ditampung rata-rata 228,17 $\times 10^7$ /sel. Menurut (Husin *et al.*, 2007) konsentrasi semen kambing adalah 200-300 $\times 10^7$ /sel.

Persentase hidup

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan penambahan *Indigofera sp.* kedalam *stock solution* tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) terhadap persentase hidup sperma (Tabel 2). Diduga ekstrak *Indigofera sp.* yang diberikan ke dalam *stock solution* memiliki kandungan nutrisi yang hampir sama pada setiap perlakuan. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, dimana didalam *Indigofera sp.* terdapat kandungan protein yang diduga dapat menjaga kualitas sperma saat pengenceran. Menurut Herdiawan dan Krisnan (2014) *Indigofera sp.* memiliki kandungan protein yang cukup tinggi yaitu sekitar 22-28% dibandingkan dengan leguminosa lainnya. Protein ini tersusun dari asam amino yang nantinya akan masuk ke sel pada sperma. Kandungan rata-rata asam amino esensial pada *Indigofera sp.* yaitu 21,53%. Paling tinggi yaitu kandungan leusinya sebesar 2,26% (Palupi *et al.*, 2014). Persen hidup sendiri sangat penting perannya dan berhubungan dengan kualitas semen lainnya. Kandungan antibiotik berupa flavonoid (antioksidan) pada *Indigofera sp.* membantu mencegah turunnya persentase hidup semen karena radikal bebas saat proses pengenceran.

Rataan perlakuan T0, T1, T2 dan T3 adalah 60,52%, 55,12%, 45,82% dan 52,74% (Tabel 2). Dapat dilihat pengencer yang diperkaya *Indigofera sp.* sebanyak 1% adalah yang paling efisien.

Tabel 2. Persentase Hidup dan Membran Plasma Utuh.

Parameter	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Persentase Hidup	60,52 ^{ns}	55,12 ^{ns}	45,82 ^{ns}	49,50 ^{ns}
Membran Plasma Utuh	59,24 ^{ns}	56,25 ^{ns}	50,13 ^{ns}	53,55 ^{ns}

Keterangan:^{ns}= non signifikan (P>0,05)

Membran plasma utuh

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan penambahan *Indigofera sp.* kedalam *stock solution* tidak berbeda nyata antar perlakuan (P>0,05) terhadap membran plasma utuh sperma (Tabel 2). Kandungan nutrisi berupa protein dalam *Indigofera sp.* tinggi. Selain itu *Indigofera sp.* juga mengandung karbohidrat berupa fruktosa dan antibiotik. Kandungan yang terdapat didalam *stock solution* juga sudah disesuaikan dengan kebutuhan sperma seperti karbohidrat berupa glukosa, antibiotik dan lain-lain. Hal tersebut dilakukan guna memenuhi kebutuhan makanan sperma dan dapat menjaga MPU sperma. Selain itu pH pada pengencer tersebut dibuat netral sehingga dapat diterima oleh sel sperma. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Souhoka *et.al.*,(2009) kambing Peranakan Etawa memiliki pH rata-rata 7,13 dan yang terendah yaitu 6,71. MPU sendiri memiliki fungsi sebagai pelindung sperma, tempat keluar masuknya nutrisi, sebagai reseptor dan penyeleksi nutrisi. Diduga *indigofera sp.* pada taraf yang diberikan kemudian masuk melewati MPU masih dapat diterima sehingga tidak menimbulkan efek negatif bagi sperma.

Rataan perlakuan T0, T1, T2 dan T3 adalah 59,24%, 56,25%, 50,13% dan 53,55% (Tabel 2). Rata-rata pemberian *Indigofera sp.* ke dalam *stock solution* tidak jauh berbeda yaitu 0%, 1%, 2% dan 3%. Pengencer yang diperkaya *Indigofera sp.* paling efisien yaitu yang rendah kandungan *Indigofera sp.*nya sebesar 1%.

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan suplementasi *Indigofera sp.* dalam pengencer yang paling efisien untuk mempertahankan persen hidup dan membran plasma utuh sperma yaitu sebesar 1%. Meskipun pengencer yang diperkaya *Indigofera sp.* masih bisa digunakan sampai taraf 3%, namun pemberian *Indigofera sp.* yang paling rendah lebih efisien daripada pemberian lainnya.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada Dr. drh. Enny Tantini Setiatin M. Sc selaku pembimbing utama dan Dr. Ir. Yon Soepri Ondho, M.Sselaku pembimbing anggota yang telah memberi arahan dan bimbingan kepada penulis. Serta kepada teman-teman “Tim Indigofera” dan

teman-teman laboratorium “Genetika, Pemuliaan dan Reproduksi” yang telah memberi doa atau dukungan kepada penulis.

Daftar Pustaka

- Arsiwan, T. Saili, L. O. Baa dan S. Rahadi. 2014. Membran plasma utuh spermatozoa epididymis kambing Peranakan Ettawa dalam natrium klorida dengan konsentrasi berbeda. *JITRO*. 1(1): 79-87.
- Cahyadi, T. R. T., M. Christiyanto dan E. T. Setiatin. 2016. Persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa kambing peranakan etawah (PE) dengan pakan yang disuplementasi daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Animal Agriculture Journal*. 5(3): 23-32.
- Herdiawan, I. dan R. Krisnan. 2014. Produktivitas dan pemanfaatan tanaman leguminosa pohon *Indigofera zollingeriana* pada lahan kering. *Wartazoa*. 24 (2): 75 – 82.
- Herdis. 2017. Karakteristik semen segar Domba Garut tipe laga pada tiga waktu penampungan semen. *Zoo Indonesia*. 26(1): 8-19.
- Hidyati, N., R. I. Arifiantini dan D. Sajuthi. 2015. Preservasi semen kambing Peranakan Etawa dalam pengencer tris dan sitrat kuning telur dengan penambahan *Sodium Dodecyl Sulphate*. *Jurnal Veteriner*. 16(3): 334-342.
- Husin, N., T. Suteky dan Kususiyah. 2007. Uji kualitas semen kambing Nubian dan peranakannya (Kambing Nubian X PE) serta kambing Boer berdasarkan lama penyimpanan. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 2(2): 57-65.
- Juwita, I. 2016. Pengaruh Berbagai Jenis Media Tumbuh Organik Terhadap Pertumbuhan Bibit Legum Tanaman Nila (*Indigofera sp.*). Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makasar. (Skripsi Mahasiswa Peternakan).
- Lestari, T. P. S., M. N. Ihsan dan N. Isnaini. 2014. Pengaruh waktu simpan semen segar dengan pengencer andromed pada suhu ruang terhadap kualitas semen kambing boer. *J. Ternak Tropika*. 15(1): 43-50.
- Palupi, R., L. Abdullah., D. A. Astuti dan Sumiati. 2014. Potensi dari pemanfaatan tepung pucuk *Indigofera sp.* sebagai bahan pakan substitusi bungkil kedelai dalam ransum ayam petelur. *JITV*. 19(3): 210-219.
- Putranti, O. D., Kustono dan Ismaya. 2010. Pengaruh penambahan *Crude Tannin* pada sperma cair kambing Peranakan Etawa yang disimpan selama 14 hari terhadap viabilitas spermatozoa. *Buletin Peternakan*. 34(1): 1-7.
- Souhoka, D. F. S., M. J. Matatula, W. M. Mesang - Nalley dan M. Rizal. 2009. Laktosa mempertahankan daya hidup spermatozoa kambing Peranakan etawa yang dipreservasi dengan plasma semen domba priangan. *Jurnal Veteriner*. 10(3): 135-142.
- Tarigan, A., J. Sirait dan S. P. Ginting. 2013. Produksi dan komposisi nutrisi *Indigofera sp.* pada intensitas pemotongan dan jarak tanam yang berbeda di dataran tinggi dengan curah hujan sedang. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Loka Penelitian Kambing Potong. 2013. Sumatera Utara.