HUBUNGAN ABNORMALITAS SPERMATOZOA ENTOG TERHADAP MDA (*Malondialdehyde*) PADA PENYIMPANAN SUHU DINGIN (4ºC)

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh Gelar Sarjana Peternakan (S.Pt.) Pada Jurusan Peternakan

Oleh :

Fahmi Afandi

NPM 12.1.04.01.0025

PROGRAM STUDI PETERNAKAN

FAKULTAS PETERNAKAN

UNIVERSITAS NUSANTARA PERSATUAN GURU REPUBLIK INDONESIA

UN PGRI KEDIRI

2016

Skripsi Oleh :

FAHMI AFANDI

N.P.M. 12.1.04.01.0025

Judul :

HUBUNGAN ABNORMALITAS SPERMATOZOA ENTOG TERHADAP MDA (*Malondialdehyde*) PADA PENYIMPANAN SUHU DINGIN (4 °C)

Telah disetujui untuk diajukan kepada
Panitia Ujian/Sidang Skripsi jurusan peternakan
Fakultas peternakan UN PGRI Kediri

Tanggal : 30 Juli 2016

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Fitriani, S.Pt., MP.	Erna Yuniati, S.Pt., MP.
NIDN. 0704016803	NIDN. 0717066904

Skripsi Oleh :

FAHMI AFANDI

N.P.M. 12.1.04.01.0025

Judul :

HUBUNGAN ABNORMALITAS SPERMATOZOA ENTOG TERHADAP MDA (*Malondialdehyde*) PADA PENYIMPANAN SUHU DINGIN (4 °C)

Telah dipertahankan didepan Panitia Ujian/Sidang Skripsi
Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan UN PGRI Kediri
Pada Tanggal : ..01....Agustus...2016

Dan Dinyatakan telah Memenuhi Persyaratan

Panitia penguji :

1. Ketua : Dr. FITRIANI, MP.
2. Penguji I : ERNA YUNIATI, S.Pt, MP
3. Penguji II : Sapta Andaruisworo

Mengetahui,
Dekan Fakultas Peternakan

Dr. Budi Utomo, S.Pt., MP
NIDN. 0710108304

Hubungan Abnormalitas Spermatozoa Entog terhadap MDA (*Malondialdehid*) pada Penyimpanan Suhu Dingin (4ºC)

Fahmi Afandi
12.1.04.01.0025
Prodi peternakan
Fakultas Peternakan
Afandnajo93@gmail.com
Dr. Fitriani, MP dan Erna Yuniati, S.Pt., MP.
UNIVERSITAS NUSANTARA PGRI KEDIRI

ABSTRAK

Pada masa penyimpanan spermatozoa / semen entog, terjadi penurunan kualitas seiring bertambahnya lama penyimpanan terhadap semen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar MDA (*Malondialdehyd)* semen entog dalam pengenceran dan penyimpanan berbeda pada suhu dingin (4ºC). Rangkaian penelitian di eksperimental dalam tingkat pengenceran semen entog dengan lama simpan berbeda pada suhu 4ºC.

Pada penelitian ini menggunakan parameter moltilitas massa spermatozoa, moltilitas individu, abnormalitas spermatozoa, uji aktivitas MDA. Sebanyak 5 ekor entog dewasa berkisar umur 1,5-2 tahun, 3 ekor jantan dan ekor betina, sehat dan mempunyai libido tinggi digunakan sebagai ternak penelitian dan dikandangkan secara individual. Metode penelitian yang digunkan metode eksperimental dengan split plot (pola petak terbagi). Faktor pertama sebagai Petak Utama adalah tingkat pengenceran yaitu 0(A0); 60(A1);120(A2) dan 180 menit (A3), faktor kedua sebagai Anak Petak adalah Iama simpan 0(B0); 5(B1); 10(B2) dan 15(B3) yang disimpan pada suhu dingin 4ºC. Empat kelompok (3 kali ulangan).

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan penambahan tingkat pengencer (0, 5, 10, 15) kali dan lama simpan (0, 60, 120, 180) menit dalam semen entog pada suhu dingin suhu 4 0C dapat menekan Abnormalitas dan MDA. Dan hasil terbaik yang diperoleh pada abnormalitas pada tingkat pengenceran 5x pada lama simpan 180 menit, sedangkan MDA pada tingkat pengenceran 10x pada lama simpan 60 menit. Untuk yang terburuk dari penelitian ini yakni abnormalitas pada tingkat pengenceran 15x pada lama simpan 120 menit, sedangkan MDA pada tingkat pengenceran 15x pada lama simpan 180 menit.

Kata Kunci : Abnormalitas dan MDA, Semen Entog, Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan, Suhu 4ºC.

I. LATAR BELAKANG

Sejauh ini komoditas ternak unggas yang telah berkembang pesat bahkan telah memasuki area industri adalah ayam dan itik. Perhatian terhadap komoditas unggas lain masih kurang karena masih kurangnya informasi terhadap komoditas tersebut. Sebagai contoh komoditas unggas entog tidak banyak laporan-laporan yang merangsang para petani peternak.Padahal komoditas tersebut telah lama berkeliaran di lingkungan masyarakat dan juga telah banyak disukai dagingnya.

Persilangan *entog* jantan dan itik betina dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi IB. Persilangan ini memiliki keuntungan di antaranya adalah *entog* memiliki tubuh yang besar sedangkan itik memiliki telur yang banyak. Proses perkawinan melalui IB fertilitas lebih tinggi yang dapat dicapai adalah 80%. Sedangkan melalui perkawinan alam hanya 20 - 30% (Simanjuntak, 2002). Melalui teknologi IB seekor pejantan yang diambil semennya dapat mengawini betina lebih banyak, dimana untuk terjadinya suatu pembuahan satu sel telur hanya diperlukan satu spermatozoa, sedangkan entog atau itik *muscovy* volume sebesar 0,05 – 0,5 ml/ejakulasi, konsentrasi spermatozoa sebesar 1,6 – 7,4 milyar/ml (Davtian, 1986 dan Kurbatov, 1987 dalam Surai 1996).

Keberhasilan dari IB ini dapat dipengaruhi kualitas semen yang digunakan.Penerapan teknologi reproduksi dan biologi sel semen memerlukan ketersedian semen yang berkualitas untuk diinseminasikan ke ternak betina, tetapi kendalanya untuk sampai ke petani peternak semen sudah mengalami penurunan kualitas semen akibat *stress oksidatif. Stress oksidatif* merupakan keadaan dimana pertahanan antioksidan sel tidak betul-betul efektif, karena kerusakan jaringan yang disebabkan oleh pengaruh luar, sehingga menyebabkan meningkatnya pembentukan radikal bebas yang pada akhirnya mengakibatkan terjadinya penyerangan radikal bebas pada jaringan (Halliwell, 1999). Abnormalitas kepala semen disebabkan banyaknya senyawa oksigen reaktif (ROS) atau radikal bebas yang mempengaruhi semen karena sel – sel kuman pada waktu ejakulasi (Kruger, Acosta, Simmons, Matta and Veeck, 1987). Membran semen adalah target utama ROS dan lipid merupakan sasarannya. Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa memandang apakah abnormalitas tersebut terjadi di dalam tubuli seminiferi, dalam epididimis atau oleh perlakuan yang tidak legeartis terhadap ejakulat. Selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Toelihere, 1993).

Lamarande, *et al* (1997) oksidasi lipid (lipid peroksida) pada membrane semen menghasilkan senyawa *malondialdehyde* (MDA) yang bersifat toksik pada sel sehingga menyebabkan kerusakan membrane semen. Membran semen rusak menyebabkan penurunan integritas dan kualitas semen.

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui hubungan Hubungan Abnormalitas Spermatozoa Entog Terhadap MDA (*Malondialdehyde*) pada Penyimpanan Suhu Dingin (4ºC).serta untuk mengetahui kualitas semen terbaik yang di hasilkan setelah penyimpanan.

II. METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan Mei 2016 di Laboratorium Lapang Jl. Simpang Candi Panggung Malang. Uji aktivitas MDA di Laboraturium Fisiologi / Ilmu FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Uji MDA di Laboratorium untuk mengetahui kerusakan tingkat pengenceran dan lama simpan berbeda semen entog pada suhu dingin (4ºC).

B. Materi Penelitian

1. Materi Penelitian

Entog yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 ekor entog jantan berumur sekitar 1, 5 – 2 tahun dengan berat badan 3 – 3,5 kg dan 2 ekor betina pemancing (*teaser*) berumur sekitar 1, 5 – 2 tahun dengan berat badan 2– 3kg. Entog yang di pelihara dalam kandang individu yang terbuat dari kawat besi dengan ukuran panjang 60cm X lebar 60cm X tinggi 80 cm.

Ternak entog yang diadaptasikan dengan lingkungan selama ± 4 minggu. Pakan yang diberikan di batasi sebanyak 150 g/ekor/hari yaitu campuran dedak dan konsntrat tepung itik petelur (144) pokphand yang terdiri : kadar air max 12.0%, protein max 37,0 – 39,0 %, lemak min 2,0%, dengan perbandingan (4:1) + sedikit air di aduk sampai merata dan pakan yang diberikan sehari sekali antara jam 07.00 - 09.00 dan tempat air minum, pakan dalam kandang. Air di berikan secara *adlibitum*.

2. Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan dengan vagina buatan. Dengan menggunakan betina pemancing (*teaser*) untuk merangsang libido entog jantan kawin dan penampungan di dakukan pada saat jantan menaiki betina dan mengeluarkan semen kemudian ditahan dengan tabung skala.

Pengenceran semen entog dilakukan pagi hari antara jam 07.00 –

09.00 dengan frekuensi penampungan 2x/minggu, di encerkan dengan pengenceran larutan *Ringer's* dan kuning telur dengan tingkat pengenceran 0 ; 5 ; 10 dan 15.

C. Pemeriksaan Secara Mikroskopis

1. Motilitas Massa Spermatozoa

Jumlah spermatozoa dalam semen segar hasil ejakulasi yang telah di tambahan pengencer dan lama penyimpanan yang berbeda. Penilaian motilitas massa dapat di tentukan dengan meneteskan semen di atas obyek gelas dan di amati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Jika terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap dan tebal seperti awan maka penilaian sepermatozoa sangat baik (+++). Bila terdapat gelombang – gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lambat maka penilaian semen adalah baik (++). Bila hanya terdapat gerakan –gerakan individu aktif progresif maka penilaian adalah sedang (+) dan bila tidak ada gerakan sama sekali maka penilaian adalah buruk (0) pedoman pada petunjuk (Toelihere, 1993).

2. Motilitas Individu

Dilakukan dengan cara meneteskan semen entog yang di encer kan dengan larutan *Ringer's* 10 kali dan lama simpan yang berbeda pada suhu 4 ºC pada obyek glass kemudian ditutup dengan cover glass. Penilaian motilitas individu dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang gerakannya progresif maju kedepan dibandingkan dengan yang diam tidak bergerak sebanyak ± 100 spermatozoa dengan satuan persen (Bearden dan Fuquay, 1984 ; Partodihardjo, 1992) dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali.

$$\% \text{ Motilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa progresif} \times 100\%}{\text{Total spermatozoa yang diamati}}$$

3. Abnormalitas Spermatozoa

Pengamatan sama dengan pengamatan motilitas spermatozoa. Semen entog yang diencerkan dengan larutan *Ringer's* 20 kali lama simpan yang berbedapada suhu 4ºC diteteskan pada *obyect glaas* kemudian diaduk dengan pewarna *eosin*. Dibuat preparat ulas setipis mungkin dengan *cover glass*. Spermatozoa abnormal dihitung persentase spermatozoa normal diantara ± 100 kali dengan pembesaran 400 kali pada spermatozoa yang di amati. (Partodihardjo, 1992)

$$\% \text{ Abnormal} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal} \times 100\%}{\text{Total spermatozoa yang diamati}}$$

4. UjiAktivitas MDA (*malondialdehid*)

Sampel semen perlakuan diuji Aktivitas MDA dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer. 100 µl sampel semen perlakuan ditambah kandengan 100 µl

larutan MDA (aquades 0,55 µl, TCA 10% 100 µl, HCI 1 N 0,25 µl, Natriobarbiturat 1% 100 µl) disentrifugasi 500 rpm selama 10 menit kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 100 ºC, supernatant dipisahkan dan serapannya diamati dengan spectrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm dan dilakukan pengukuran absorbansinya MDA (Oberley and Spitz, 1985).

D. Analisis Data

Metode penelitian yang digunakan metode eksperimenta ldengan split plot (pola petak terbagi). Faktor pertama sebagai Petak Utama adalah tingkat pengenceran yaitu 0(A_0); 5(A_1);10(A_2) dan 15 menit (A_3), Faktor kedua sebagai Anak Petak adalah Iama simpan 0(B_0); 60(B_1); 120(B_2) dan 180(B_3) yang disimpan pada suhu dingin 4ºC. Empat kelompok (3 kali ulangan) (StelldanTorrie, 1990).

E. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Petak Terbagi dengan 16 perlakuan dimana petak utama tingkat pengenceran yaitu 0(A_0); 5(A_1);10(A_2) dan 15 menit (A_3) dan Anak Petak adalah Iamasimpan 0(B_0); 60(B_1); 120(B_2) dan 180(B_3) yang disimpanpadasuhu dingin 4ºC. Perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut:

A_0B_0 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_0B_1 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 60 Menit.

A_0B_2 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_0B_3 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 180 Menit.

A_1B_0 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_1B_1 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 60 Menit.

A_1B_2 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_1B_3 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 180 Menit.

A_2B_0 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_2B_1 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 60 Menit.

A_2B_2 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_2B_3 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 180 Menit.

A_3B_0 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_3B_1 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 60 Menit.

A_3B_2 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_3B_3 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 180 Menit.

F. Parameter yang Diamati

Pada penelitian ini menggunakan parameter moltilitas massa spermatozoa,

moltilitas individu, abnormalitas spermatozoa, uji aktivitas MDA.

III. HASIL DAN KESIMPULAN

A. Evaluasi Semen Entog

Hasil pemeriksaan semen segar setelah penampungan selama penelitian tertera pada Lampiran 1. Rataan hasil pemeriksaan semen segar dapat dilihat pada Tabel 1. berikut

Tabel 1. Hasil Evaluasi Semen Entog

1. Makroskopis	**Rataan ± SD**
a. Volume (ml)	2.17 ± 0.29
b. Warna	Putih s/d Putih keruh
c. Bau	Khas
d. Konsistensi	Encer s/d kental
e. pH	7,5 ± 0
2. Mikroskopis	**Rataan ± SD**
a. Konsentrasi (10^7/ml)	1.12 ± 0.25
b. Moltilitas massa	++ s/d +++
c. Moltilitas individu (%)	81.67 ± 2.89
d. Spermatozoa hidup (%)	87 ± 1
e. Abnormalitas (%)	
1) Tingkat pengenceran	7.08 ± 1.63
2) Lama simpan	7.08 ± 1.41
f. Aktivitas MDA (umol/dl)	
1) Tingkat pengenceran	1247.70 ± 33.87
2) Lama simpan	1250.19 ± 30.74

Rataan volume semen entog per–ejakulasi yang diperoleh selama penelitian sebesar (2.17 ± 0.29)ml. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa volume semen yang dihasilkan banyak disebabkan semen yang didapat lebih encer. Diduga dihasilkan saat ejakulasi semen yang ditampung bercampur dengan sekresi lipatan – lipatan limpa dan badan – badan vaskuler di dalam *cloaca* sehingga encer. Ini sesuai dengan penyataan Hafez (2000) semen dibagi menjadi dua bagian padat disebut spermatozoa yang dihasilkan oleh testes dan bagian yang cair disebut *seminal plasma* (cairan semen) yang dihasilkan oleh kelenjar asesoris jantan 9 *bulbo urethralis, prostata, vesicular seminalis, sekresi* tersebut berfungsi sebagai *buffer*

dan medium bagi spermatozoa agar daya hidupnya dapat dipertahankan secara normal setelah ejakulasi.

Warna semen yang diperoleh selama penelitian adalah putih sampai putih keruh. Partodihardjo (1992) menyatakan bahwa warna semen unggas yang normal adalah putih susu, sedangkan derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi semen yang ada, semakin keruh maka kosentrasinya semakin tinggi dan sebaliknya bila warna semen bening menunjukkan konsentrasi yang rendah. Pada perlakuan ini, semen yang berwarna putih keruh menunjukkan bahwa semen tersebut memiliki tingkat konsentrasi yang lebih tinggi dari pada semen yang berwarna putih.

Bau semen segar entog pada saat penelitian didapatkan bahwa bau khas ternak. Bau tersebut menunjukkan semen tersebut dalam keadaan normal dan tidak terdapat kontaminasi. Semen dengan keadaan normal pada umumnya mempunyai bau yang khas sesuai dari bau hewan tersebut. Sesuai dengan pendapat Kartasudjana (2001) yang menyebutkan bahwa semen normal umumnya memiliki bau yang khas dari hewan tersebut, apabila terdapat bau busuk menunjukkan semen bercampur dengan nanah.

Rataan derajat keasaman (pH) semen yang diperoleh selama penelitian adalah (7,5 ± 0). Hafez (1993) menyatakan bahwa, semen unggas yang normal memiliki pH dalam kisaran 7,2 – 7,6. Toelihere (1993) menyatakan bahwa semen segar bersifat agak basa dengan rataan pH berkisar antara 7,0 – 7,6. Nilai pH yang tinggi selama penelitian disebabkan karena pengaruh cairan transparan atau seminal plasma dalam semen yang menyebabkan semen menjadi lebih basa.

Konsistensi yang diperoleh selama penelitian semen entog adalah encer sampai kental. Konsistensi semen berhubungan dengan konsentrasi semen yang terkandung didalamnya. Salisbury dan VanDemark (1978) menyatakan bahwa, kekentalan semen akan naik selaras dengan kandungan semennya. Konsistensi dan konsentrasi berhubungan juga dengan warna semen. Semakin tinggi kandungan semen dalam semen maka warna semen akan semakin keruh.

Rataan konsentrasi semen segar diperoleh selama perlakuan adalah 1.12 ± 0.25 (10^7 /ml). Menurut Hafez (1993), konsentrasi semen unggas berkisar antara 3 – 7 10^9. Setyowati dan Budiarti (1992) menjelaskan bahwa, konsentrasi unggas dipengaruhi oleh pertumbuhannya. Faktor yang lain yang mempengaruhi konsentrasi semen antara lain umur, cahaya, nutrisi, genetik dan frekuensi penampungan.

Menurut Lake 1978 dalam Toelilehe (1993), konsentrasi semen yang

rendah disebabkan adanya cairan transparan dalam semen. Semen yang berwarna krem keputihan dan keruh memiliki jumlah semen kurang 1 milyar/ml, tetapi jika warnanya lebih jernih dari air susu maka diperkirakan mengandung 500 juta semen/ml. Rataan konsentrasi semen segar hasil penelitian menunjukkan bahwa semen di atas termasuk kategori sedang karena memiliki jumlah semen yang lebih dari 1 milyar/ml.

Rataan motilitas massa yang diperoleh selama penelitian berkisar antara ++ sampai dengan +++ (baik sampai dengan sangat baik). Toelihere (1993) menyatakan bahwa, kualitas semen tergolong bagus jika dibandingkan motilitas massa semen mempunyai (++) nilai baik dan (+) kurang baik. Partodihardjo (1993) menyatakan bahwa, gerakan massa diberi skor (+++) jika terlihat gelombong besar banyak, gelap, tebal dan aktif. Skor (++) diberikan jika terdapat gelombong kecil tipis, jarang, bergerak lambat dan kurang jelas. Skor (+) diberikan untuk semen yang tidak menunjukkan gerakan massa bergelombong dengan jelas dan hanya nampak gerakan – gerakan individu semen. Rataan persentase motilitas individu semen segar yang diperoleh selama penelitian adalah 81.67 ± 2.89 %. Semen unggas yang normal menurut Hafez (1993) memiliki motilitas individu berkisar antara 60 –80%.

Rataan persentase semen hidup dalam semen segar yang diperoleh selama penelitian adalah 87 ± 1 %. Semen unggas yang normal menurut Toelihere (1993) persentase hidup segar kira – kira 80%. Hasil yang diperoleh selama penelitian menunjukkan bahwa semen entog yang ditampung memiliki kualitas yang baik dan dapat digunakan untuk kepentingan IB.

B. Evaluasi Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Pada Suhu Dingin (4ºC)

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan. Selain pengelompokan abnormalitas primer dan sekunder, saat ini pengelompokan abnormalitas dilihat berdasarkan akibat yang ditimbulkannya yaitu abnormalitas mayor dan abnormalitas minor (Yulnawati *et al*. 2013).

Hasil pemeriksaan Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Pada Suhu Dingin (4ºC) tertera pada lampiran 7. Rataan Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan

Berbeda Pada Suhu Dingin (4ºC) dapat dilihat pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Rataan Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Pada Suhu Dingin (4ºC)

Tingkat Pengenceran	Abnormalitas (%) ($\overline{X} \pm$ SD)	Perlakuan Lama simpan (menit)	Abnormalitas (%) ($\overline{X} \pm$ SD)
0	7.22 ± 1.89	0	6.67 ± 1.50
5	6.81 ± 1.31	60	6.81 ± 1.58
10	6.81 ± 1.71	120	8.47 ± 1.34
15	7.50 ± 1.60	180	6.39 ± 1.20
($\overline{X} \pm$ SD)	***7.08 ± 1.63***	***($\overline{X} \pm$ SD)***	***7.08* ±1.41**

Dari hasil penelitian menunjukkan abnormalitas semen entog pada tingkat pengenceran pada 15 kali memperoleh rataan tertinggi 7.50 ± 1.60%, sedangkan penyimpanan 120 menit 8.47 ± 1.34% .

Hasil Analisis Ragam (Lampiran 7) menunjukkan bahwa dalam tingkat pengenceran dan lama simpan tidak berbeda nyata ($p > 0.05$). Rataan pengenceran 15X lebih tinggi karena Penambahan pengencer 15 kali mengakibatkan pengaruh pro-oksidan (metabolisme terurai) akibat banyaknya O_2 yang ikut menguraikannya, sehingga kemampuan mempertahankan kualitas dari kerusakan semen tidak dapat dihindarkan akibat banyaknya pemberian Penambahan pengencer 15 kali dalam pengenceran semen. Sehingga dapat mengurangi atau menambah persentase hidup spermatozoa abnormal akibat *stress* spermatozoa pada lama penyimpanan, juga adanya superoksida yang berlebih mengakibatkan kerusakan asam lemak tidak jenuh pada spermatozoa dan rentan terhadap peroksidasi adanya pembatasan ruang spermatozoa pada suhu dingin (4ºC). hasil ini sesuai dengan penelitian pada entog yang dilakukan Fauzi *et* al. (1999) bahwa pengenceran semen entog dengan NaCl fisiologis dan lama penyimpanan pada suhu ruang mempengaruhi abnormalitas spermatozoa, dengan semakin tingginya derajat pengenceran dan lama penyimpanan akan semakin tinggi pula abnormalitas spermatozoa.

Abnormalitas semen terendah diperoleh pada penambahan pengenceran 5 kali yaitu sebesar 6.81 ± 1.31%. abnormalitas tersebut diakibatkan oleh kelainan yang sudah ada atau dibawa dari testis dan juga ada pengaruh pada saat penampungan dan pengenceran.

Hasil rataan perlakuan Abnormalitas semen entog yang diperoleh adalah tingkat pengencer 7.08 ± 1.63% dan lama simpan 7.08 ± 1.41% (Tabel 2) hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan pengencer ringer kuning telur mampu menekan abnormalitas semen. Persentase ini tergolong normal, sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa pada kebanyakan ejakulat persentase spermatozoa abnormal berkisar antara 5-20%. Bearden dan Fuquay (1984) menyatakan bahwa jika spermatozoa abnormal lebih dari 25% dari total spermatozoa dalam satu ejakulasi, maka akan menurunkan fertilitas. sedangkan menurut Toelihere (1985), abnormalitas spermatozoa yang melampaui angka 14% menunjukkan adanya gejala infertilitas atau ketidak suburan seekor pejantan, sedangkan menurut Hafez (1987), jumlah spermatozoa abnormal dalam semen hingga mencapai 20% tidak akan menyebabkan penurunan angka fertilitas. Walau bagaimanapun terdapat banyak variasi dalam suatu proses ejakulasi dari seekor pejantan sehingga dalam penentuan kesuburannya membutuhkan analisis dari beberapa ejakulasi (Rodríguez-Martínez 2013).

C. Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Dalam Semen Entog Pada Suhu Dingin (4ºC) terhadap MDA

Malondialdehyde (MDA) merupakan hasil senyawa akhir dari oksidasi lipid.Menurut Sanaeka dan Kuspisz, (2004) senyawa MDA menyebabkan kerusakan membran semen dan penurunan integritas membran semen sehingga terjadi penurunan kualitas semen.

Hasil pemeriksaan Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Dalam Semen Entog Pada Suhu Dingin (4ºC) terhadap MDA tertera pada lampiran 8. Rataan Tingkat Pengenceran dan lama penyimpanan hasil rataan MDA pada suhu 4ºC setelah perlakuan terlihat pada Tabel 3. berikut.

Tabel 3. Rataan Tingkat pengenceran dan lama simpan berbeda dalam semen entog pada suhu dingin (4ºC) terhadap MDA.

Tingkat Pengenceran	MDA (umol/dl) ($\overline{X} \pm$ SD)	Perlakuan Lama simpan (menit)	MDA (umol/dl) ($\overline{X} \pm$ SD)
0	818.38 ± 5.70	0	963.17 ± 29.30
5	1430.25 ± 22.95	60	1298.71 ± 36.08
10	1341.92 ± 44.53	120	1353.00 ± 26.42
15	1400.25 ± 62.31	180	1385.88 ± 81.17
($\overline{X} \pm$ SD)	***1247.70 ± 33.87***	***($\overline{X} \pm$ SD)***	***1250.19 ± 30.74***

Dari hasil penelitian menunjukkan aktivitas MDA pada tingkat pengenceran pada 5 kali memperoleh rataan tertinggi (kerusakan tertinggi) (1430.25 ± 22.95)umol/dl, sedangkan penyimpanan 180 menit (1385.88 ± 81.17) umol/dl.

Penambahan tingkat pengencer dan lama penyimpanan pada suhu 4 ^{0}C, penambahan tingkat pengencer sebagai antioksidan dapat menangkal kerusakan peroksidasi lipid yang bereaksi dengan lemak tak jenuh dalam pengenceran semen entog segar, sehingga mengalami dengan uji MDA terjadinya penurunan kerusakan adanya endapan perubahan warna merah muda. Penambahan tingkat pengenceran pada 5 kali menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang bereaksi dengan komponen membran sel dalam pengenceran semen entog lebih cepat, hal ini terjadi pada sampel tanpa perlakuan (kontrol) semen belum mengalami *stress* dan sesudah perlakuan semen banyak yang *stress* akibat perlakuan dan penambahan pengencer kuning telursehingga spermatozoa mengalami kerusakan. Membran sel yang tersusun atas lipid kemudian dioksidasi sehingga menyebabkan putusnya ikatan rangkap yang terdapat pada lipid, sehingga timbul senyawa yang toksis terhadap sel, antara lain senyawa *aldehid* seperti *malondialdehid* (MDA) (Riadi, 2004).

Kadar MDA pada perlakuan kontrol lebih sedikit mengalami kerusakan dibandingkan perlakuan yang ditambahkan tingkat pengenceran dan lama simpan berbeda. Diduga pada perlakuan penambahan kadar tingkat pengenceran dan lama simpan berbeda pada suhu 4 ^{0}C bereaksi dengan lemak tak jenuh dalam pengenceran semen entog sehingga menyebabkan pro-oksidan.

Dari hasil Analisis Ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa penambahan pengencer, lama penyimpanan

dan interaksinya tidak berbeda nyata ($p < 0.05$), penambahan tingkat pengencer dalam semen entog mampu menurunkan jumlah radikal bebas dalam perlakuan. Ini sesuai dengan pendapat Wresdiyati dan Makita, (1995) bahwa *malondialdehide* merupakan produk akhir dari oksidasi lipid, tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid yang juga menunjukkan jumlah radikal bebas.

Penambahan tingkat pengencer berlebih mengakibatkan banyaknya kerusakan lipid, diduga kerusakan antara antioksidan dalam spermatozoa tidak dapat menerima antioksidan dari luar akhirnya terjadi pro-oksidan. Juga adanya radikal bebas dari oksigen berlebih bersifat reaktif mengakibatkan kerusakan lipid juga tidak dapat dihindari (alami).

D. Hubungan Abnormalitas Semen Entog Terhadap MDA pada Suhu Dingin (4ºC)

Dari hasil Analisis Ragam menunjukkan bahwa penambahan kadar tingkatpengencertidak berbeda nyata dikarenakan pada level kenaiaknnya masih tergolong sedikit (0, 5, 10, 15), sedangkan lama simpan juga pada level kenaiaknnya masih tergolong sedikit (0, 60, 120, 180) dan interaksinya tidak berbeda nyata ($p< 0.05$). Dari persentase MDA tertinggi baik pada suhu 4 ^{0}C tanpa ditambahkan tingkat pengencer, perlakuan penambahan tingkat pengencer 15 X dengan penyimpanan 180 menit MDA lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Menurunnya motilitas diikuti abnormalita diduga disebabkan proses metabolisme, sehingga banyaknya energi yang digunakan untuk bergerak menyebabkan selama penyimpanan mengalami penurunan serta kemungkinan terjadi perubahan sifat – sifat fisiologis semen dalam medium. Keutuhan integritas membran plasma semen akan dilindungi, enzim – enzim dalam kantong akrosomnya terjaga untuk proses fertilisasi. ROS di dalam seminal plasma terlalu banyak, artinya tidak seimbang dengan zat pencegah kerusakan yang diperlukan, namun demikian penambahan tingkat pengencer mampu menurunkan jumlah radikal bebas. Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa memandang apakah abnormalitas tersebut terjadi didalam tubuli seminiferi, dalam epididimis atau oleh perlakuan yang tidak legeartis terhadap ejakulat. Selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Toelihere, 1993).

Ini sesuai dengan pendapat Wrsdiyati dan Makita, (1995) bahwa *malondialdehide* merupakan produk akhir dari oksidasi lipid, tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid

yang juga menunjukkan jumlah radikal. Penambahan kadar tingkat pengencer dan lama simpan yang berbeda pada suhu 4 ^{0}C semen entog memberikan rataan terhadap persentase abnormalitas individu semen. Penambahan larutan *hiposmotik* terhadap perlakuan akan memberikan reaksi untuk menyerap larutan tersebut dimana semen akan menggembung jika pengerakan semennya aktif. Integritas semen untuk menggembung berperan penting, perubahan jelas kelihatan dibawah mikroskop cahaya, semen menunjukkan menggembung ini menandakan membran semen yang utuh sedangkan membran semen yang fungsinya mengalami kerusakan ekornya tidak menggembung disebabkan rusaknya ultrastruktur biokimia dan fungsi membran (Jayendra, Vander, Perez, Grapol and Zaneveld, 1984).

E. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan penambahan tingkat pengencer(0, 5, 10, 15) kali dan lama simpan (0, 60, 120, 180) menit dalam semen entog pada suhu dingin suhu 4^{0}C dapat menekan Abnormalitas dan MDA. Dan hasil terbaik yang diperoleh pada abnormalitas pada tingkat pengenceran 5x pada lama simpan 180 menit, sedangkan MDA pada tingkat pengenceran 10x pada lama simpan 60 menit. Untuk yang terburuk dari penelitian ini yakni abnormalitas pada tingkat pengenceran 15x pada lama simpan 120 menit, sedangkan MDA pada tingkat pengenceran 15x pada lama simpan 180 menit.

F. SARAN

1. Semen entog hasil penelitian ini terbaik yang diperoleh pada abnormalitas pada tingkat pengenceran 5x pada lama simpan 180 menit, sedangkan MDA pada tingkat pengenceran 10x pada lama simpan 60 menit..
2. Untuk penelitian lanjutan dilakukan dilevel tingkat pengenceran dan lama simpan dengan jarak yang lebih jauh.

G. DAFTAR PUSTAKA

Abuja, P.M .Albertini, R. 2001. *Methods For Monitoring Oxydative Resistance Stress, Lipid Peroxidation and Oxidation Resistance of Lipoproteins.*Clin Chim Acta.306 : 1 – 17.

Afiati, F. Yulnawati. Riyadi, M. Raden, I.A. 2015.*Abnormalitas spermatozoa domba dengan frekuensi berbeda.*Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon vol 1, No. 4. ISSN: 2407-8050.

Andreyev. 1987 dalam Setioko, A.R, 2000. *Inseminasi Buatan Pada Ternak Itik. Makalah Temu Aplikasi Paket Teknologi Pertanian (APTEK)*. Banjarbaru Kalimantan Selatan.

Anonim, 2000.*Mula Duck* ??? Metzinfo " metzer farms. Com.Internet.

Baser., Zad, R.K. 2004. *Involvement of Protein Tyrosine Phosphorylation of Human Sperm Capacitation Acrocome reaction and Zone Pellucida Binding.* Bio.Sci, 1:206-213.

Basu, Y., Takuda, Y., Takamura, T., dan Isojima, S. 2004. *Localization of Human Seminal Plasma No & Antigen (Ferrisplan) in Accessory Glands of Male Genital etract.*J.Reprod.Immunol.

Bebas, W. 2002. *Pengaruh Lama Penyimpanan Semen Ayam Hutan Hijau (Gallus varius) pada Suhu 40C Terhadap Daya Hidup Spermatozoa dan Fertlitas Telur Ayam Kampung (Gallus domesticus)*. (http://wwwl.Veterinary.Journal/lab/reprod/veteriner/html. Diakses 26 Maret 2016).

D.L. Garner dan E.S.E. Hafez. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma.* Dalam Hafez reproduction in Farm Animals *7 th Edition*. Lippincot Williams & Wilkins. Marylan USA.

Desminarti. S, Rimbawan, Anwar. F, Winarto. A.. 2012. *Efek Bubuk Tempe Instan terhadap Malodialdehid (MDA) Serum Tikus Hiperglikemik.*Jurnal kedokteran hewan ISSN: 1978-225X. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.

Dorota, S.dan M, Kurpisz. 2004. *Reactive Oxygen Species and Sperm Cells.* Jounal Reproduction Biology and Endocrinology, March 2: 1-7.

Estevest, S., Sharma, R., dan Thomas, A. 2002. *Effect of Swim-up Sperma washing and Subseguent Capacitation on Acrocome Status and Fungsional Membrane Integrity of Normal Spem.*Departement of Urolory the ceveland Clinic Foundation Clevelani. Ohio.

Fitriani, Suyadi, Nuryadi, Sasmito. M.D., 2009.*Kadar Mda Dan Integritas Membran Semen Entog Selama Penyimpanan Dingin Dengan Penambahan α Tokoferol Berbeda Dalam Pengencer* .Jurnal.Fakultas Peternakan, Unibraw. Malang

Fitriani.2009. *Kajian Penambahan Alfa Tokoferol dengan Lama Penyimpanan dan Suhu Berbeda terhadap Kualitas Semen Entog*.Disertasi UB.Malang.

_____. 2011. *Tingkat Pengenceran dan dosis Semen Entog terhadap Fertilitas Telur Hasil Persilangan Entog dengan Itik Melalui Teknologi IB*. Veterinaria medika.vol 4,no 3. Unair. Surabaya.

_____. 2013. *Pengaruh Penambahan Alpha Tocopherol terhadap Kualitas Semen Entog yang disimpan pada Suhu Dingin.* Jurnal ilmu-ilmu peternakan 23 (2): 36-41 ISSN: 0852-3581.. Fakultas Peternakan UB. Malang.

Hardjosworo, P.S, 2001. *Blasteran Entog dan Itik*. Sumber Daging Masa Depan. Trobos Edisi Juni.

Hayati, A., Mangkoewidjojo, S,. Hinting, A dan Moeljopawiro, S. 2006. *Hubungan Kadar MDA Sperma dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (Rattus norvericus) setelah Pemaparan 2-Methoxythanol*. Reviewer Seminar Biologi Nasional 2005 Surabaya.

Murtina , T.L., 2011. *Moltilitas Spermatozoa Ayam Kampung dalam Pengencer Air Kelapa, NaCl Fisiologis dan Air Kelapa-NaCl Fisiologis pada 25-29°C.*Agripet Vol 11 No 2. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.

Ostashko *et al*, 1977 dalam Surai, P.E and Wishart, G.J, 1996. *Poultry Artificial Insemination Technology In The Countries Of The Former USSR*. World's Poultry Science Journal. Vol.52(1).

Prasetyo. A.N., Mulyadi. D.S.. 2016. *Moltilitas dan Abnormalitas Spermatozoa dengan Pengencer Ringer Laktat-Putih Telur dan Lama Simpan Pada suhu 5°C Selama 48 Jam.* Acta Veterinaria Indonesia ISSN 2337-3202, E-

ISSN 2337-4373 Vol. 4, No. 1: 35-41. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.

Salamah, N. 2014.*Motilitas, persentase hidup dan abnormalitas Spermatozoa semen beku sapi bali pada pengencer Andromed dan tris kuning telur.* Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar.

Setioko, A.R, 2000. *Inseminasi Buatan Pada Ternak Itik.* Makalah Temu Aplikasi Paket Teknologi Pertanian (APTEK). Banjarbaru Kalimantan Selatan.

Simanjuntak, l, 2002. *Tiktok Unggas Pedaging Hasil Persilangan itik dan Entog*.Penerbit PT AgroMedia Pustaka. Jakarta.

Stevens, V.I, R. Blair, R.E. Salmon and J.P Stevens, 1984. *Effect of Varyng Levels of Dietery Vitamin D 3 on Turkey Hen egg production, Fertility and Hatchabitility, Embryo Mortality and Incident of Embryo Beak Malformations.*Poultry Science 63: 760- 764.

Surai, P.E and Ionov, I.A. 1992. dalam Surai, P.E and Wishart, G.J, 1996. *Poultry Artificial Insemination Technology In The Countries Of The Former USSR.* World's Poultry Science Journal. Vol.52(1).

Susanto.A, Wahyuningsih. R, Pramono. E,. 2002. *Pengaruh Aras Testosteron Pada Pengencer dan Derajat Pengenceran Semen terhadap Kecepatan Gerak dan Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kedu.* Animal Production, Vol. 4, No.2, Nopember 2002: 60-70. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.

Suyadi, A. Rchmawati, N. Iswanto. 2012. *Pengaruh α-Tocoferol yang Berbeda Dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan Pada Suhu 5°C.* Jurnal ilmu-ilmu peternakan 22 (3): 1-8. Fakultas Peternakan UB. Malang.

Tai Liu, j.J and Tai, C, 1991. *Mule Duck Production in Taiwan*.Artificial Insemination of Duck Food & Fertilizer Technology Center. Extension Bulletin no. 328: Pp 1 – 6.

Taufik, H. 2001. *Pengaruh Bahan Pengencer Laktat Ringer Kuning Telur dan Lama Penyimpanan Semen Terhadap Fertilitas Telur Ayam Buras*.Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.

Toelihere, M.R, 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Penerbit Angkasa bandung. Anggota IKAPI. Jawa Barat.

Yuliani. S, Wasito, Wuryastuti. H., 2002.*Pengaruh Pemberian Vitamin E terhadap Kadar Malondialdehid Plasma pada Tikus yang diberi Pakan Lemak Tinggi*.J. Sain Vet. Vol. XX No. 1. Fakultas Kedokteran Hewan UGM. Yogyakarta.