

PENGARUH PENAMBAHAN BETA KAROTEN DALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR TEHADAP KUALITAS SEMEN CAIR KERBAU LUMPUR (SWAMP BUFFALO)

EFFECT OF BETA CAROTENE ADDITION IN EGG YOLK TRIS DILUENT ON THE QUALITY OF LIQUID SEMEN OF SWAMP BUFFALO

Nadila Fitri Yani^{1*}, Rini Elisia¹, Maiyontoni¹, Refika Komala¹, Fadilla Meidita²

¹Program Studi Peternakan, Departemen Agroindustri, FMIPA, Universitas Negeri Padang, Indonesia

²Program Studi Peternakan, Jurusan Teknologi Produksi Peternakan, Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh, Indonesia

*E-mail korespondensi: nadilafitriyani242@gmail.com

ABSTRAK

Upaya untuk meningkatkan kualitas semen beku kerbau lumpur selalu dilakukan, salah satu caranya adalah dengan penambahan suatu bahan yang efektif dalam melindungi sperma selama proses pengenceran, pembekuan dan pencairan sebagai senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas (antioksidan). Salah satu antioksidan yang banyak diteliti adalah beta karoten (β -Karoten). Pigmen alami ini memiliki kemampuan untuk menstabilkan membran sel, melindungi DNA, dan mengurangi kerusakan oksidatif pada sel sperma. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan β -karoten dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen cair kerbau lumpur. Materi penelitian yang digunakan terdiri dari vagina buatan, mikroskop, *Computer Assisted Semen Analysis (CASA)*, *object glass*, *cover glass*, sitrat, kuning telur, pewarna *eosin-nigrosin* dan semen segar kerbau lumpur umur empat tahun yang ditampung setiap minggu di BIB Buah Sakato, Payakumbuh. Metode penelitian eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan penambahan β -Karoten ke dalam tris kuning telur (TKT) konsentrasi : 0, 0.1, 0.2, dan 0.3% yang diekuilibrasi selama 3 jam. Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi mortalitas, viabilitas dan abnormalitas semen cair. Hasil penelitian menunjukkan penambahan β -karoten dalam pengencer Tris Kuning Telur (TKT) pada konsentrasi 0%, 0,1%, 0,2%, dan 0,3% tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa kerbau lumpur ($P > 0,05$). Rata-rata motilitas tertinggi tercatat pada konsentrasi 0,1% ($80,12 \pm 3,95$), diikuti 0% ($76,54 \pm 6,48$), 0,2% ($76,48 \pm 5,59$), dan 0,3% ($73,65 \pm 4,88$). Viabilitas juga tertinggi pada 0,1% ($68,22 \pm 5,41$), lalu 0% ($66,88 \pm 6,33$), 0,2% ($64,94 \pm 6,11$), dan 0,3% ($61,51 \pm 8,08$). Abnormalitas terendah ditemukan pada 0,3% ($30,50 \pm 4,58$), kemudian 0,2% ($31,45 \pm 2,63$), 0,1% ($34,23 \pm 2,22$), dan 0% ($34,51 \pm 2,49$). Meski tidak signifikan secara statistik, konsentrasi 0,1% menghasilkan motilitas dan viabilitas tertinggi, sehingga dapat dipertimbangkan ditambahkan dalam pengencer TKT.

Kata Kunci : Semen Kerbau, Tris Kuning Telur, Ekuilibrasi, β -Karoten, Kualitas Semen

ABSTRACT

Efforts to improve the quality of frozen semen of swamp buffalo have always been made, one way is by adding an ingredient that is effective in protecting sperm during the process of dilution, freezing and thawing as a compound that can neutralize free radicals (antioxidant). One antioxidant that has been widely studied is beta carotene (β -Carotene). This natural pigment has the ability to stabilize cell membranes, protect DNA, and reduce oxidative damage to sperm cells. The purpose of this study was to determine the effect of β -carotene addition in egg yolk tris diluent on the quality of liquid semen of swamp buffalo. The research materials used consisted of artificial vagina, microscope, Computer Assisted Semen Analysis (CASA), object glass, cover glass, citrate, egg yolk, eosin-nigrosin dye and fresh semen of four-year-old swamp buffalo collected weekly at BIB Buah Sakato, Payakumbuh. The experimental research method used a completely randomized design with four treatments and five replicates. The treatment of adding β -Carotene into egg yolk tris (TKT) concentration: 0, 0.1, 0.2, and 0.3% which was equilibrated for 3 hours. Variables observed in this study include mortality, viability and abnormality of liquid semen. The results showed the addition of β -carotene in egg yolk Tris (TKT) diluent at concentrations of 0%, 0.1%, 0.2%, and 0.3% showed no significant effect on motility, viability, and abnormality of swamp buffalo spermatozoa ($P > 0.05$). The highest mean motility was recorded at 0.1% concentration (80.12 ± 3.95), followed by 0% (76.54 ± 6.48), 0.2% (76.48 ± 5.59), and 0.3% (73.65 ± 4.88). Viability was also highest at 0.1% (68.22 ± 5.41), then 0% (66.88 ± 6.33), 0.2% (64.94 ± 6.11), and 0.3% (61.51 ± 8.08). The lowest abnormality was found at 0.3% (30.50 ± 4.58), then 0.2% (31.45 ± 2.63), 0.1% (34.23 ± 2.22), and 0% (34.51 ± 2.49). Although not statistically significant, 0.1% concentration produced the highest motility and viability, so it can be considered added in TKT diluent.

Keywords: Buffalo Semen, Egg Yolk Tris, Equilibration, B-Carotene, Semen Quality

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) adalah suatu teknologi mutakhir saat ini yang diciptakan manusia guna meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas ternak (Andrianto, 2016). Inseminasi buatan suatu cara atau teknik memasukkan semen yang telah dicairkan dan telah diproses terlebih dahulu yang berasal dari ternak jantan unggul ke dalam saluran reproduksi betina dengan menggunakan suatu metode dan alat khusus yang disebut *insemination gun*.

Inseminasi buatan telah diterapkan pada berbagai jenis ternak di Indonesia terutama sapi, namun penerapannya pada kerbau masih belum merata dan masih tergolong rendah. Hal ini karena populasi dan peternakan kerbau belum sebesar dan seluas peternakan sapi di Indonesia. Data Badan

Litbang Pertanian (2020) menyebutkan bahwa tingkat keberhasilan inseminasi buatan pada kerbau di Indonesia masih tergolong rendah dibandingkan dengan sapi, yaitu pada kerbau hanya mencapai sekitar 30-40%, sementara pada sapi dapat mencapai 60-70%.

Faktor-faktor yang mempengaruhi tingkat keberhasilan IB di antaranya adalah kualitas semen pejantan, kesuburan betina, keterampilan inseminator, dan pengetahuan zooteknis peternak (Afriani *et al.*, 2018). Keberhasilan IB sangat bergantung pada kualitas semen beku yang digunakan. Salah satu kelemahan semen kerbau adalah sensitivitas spermatozoa terhadap pembekuan, di mana spermatozoa kerbau lebih mudah rusak dibandingkan spermatozoa sapi selama proses pembekuan (Febriani *et al.*, 2014). Salah satu tantangan dalam menjaga kualitas semen beku adalah

kerusakan oksidatif yang terjadi selama proses pengenceran, pembekuan dan pencairan.

Pengenceran semen berfungsi untuk memperbanyak volume semen yang akan dijadikan semen beku. Syarat setiap bahan pengencer adalah harus mampu menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, memungkinkan spermatozoa bergerak secara progresif, tidak bersifat racun bagi spermatozoa, menjadi penyangga bagi sperma, dapat melindungi sperma dari kejutan dingin (*cold shock*) baik untuk semen beku maupun semen yang tidak dibekukan (semen cair) (Parera dan Lenda, 2023).

Bustani dan Baiee (2021) mengatakan spermatozoa tidak bisa hidup untuk waktu yang lama kecuali bila ke dalam semen ditambahkan berbagai unsur yang memiliki fungsi menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, melindungi spermatozoa dari *cold shock*, menyediakan suatu penyangga untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa, mempertahankan tekanan osmotik, dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, serta mencegah perkembangan kuman.

Untuk terus meningkatkan kualitas semen beku kerbau, maka diperlukan penambahan suatu bahan yang efektif dalam melindungi sperma selama proses pengenceran, pembekuan, dan pencairan sebagai senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas (antioksidan). Salah satu antioksidan yang banyak diteliti adalah beta karoten (β -Karoten). Pigmen alami ini memiliki kemampuan untuk menstabilkan membran sel, melindungi DNA, dan mengurangi kerusakan oksidatif pada sel sperma. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya yang mengungkapkan bahwa penambahan vitamin C atau β -karoten pada pengencer dapat meningkatkan ketahanan kualitas spermatozoa selama penyimpanan (Siahaan *et al.*, 2012; Savitri *et al.*, 2014) tentunya dengan waktu ekuilibrisasi

yang tepat. Siahaan *et al.* (2012) menyatakan bahwa penambahan β -karoten dengan konsentrasi 0,002% memberikan hasil rata-rata motilitas dan daya hidup spermatozoa yang nyata pada spermatozoa sapi Bali *post thawing*. Eriani *et al.* (2018) juga menyebutkan penambahan β -karoten 0,625% dalam pengencer berbasis tris kuning telur (TKT) dapat mempertahankan dan melindungi motilitas, viabilitas, integritas akrosom, dan integritas membran plasma pada kerbau rawa Aceh. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana “pengaruh penambahan β -karoten dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen cair kerbau lumpur”.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Produksi Balai Inseminasi Buatan (BIB) Tuah Sakato, Ibu, Payakumbuh, Sumatera Barat pada tanggal 10 Februari sampai 10 Maret 2025. Alat yang digunakan pada saat penelitian adalah perlengkapan vagina buatan, termometer, gelas ukur, tabung reaksi, *stop watch*, mikroskop, CASA (*Computer Assisted Semen Analysis*), *objec glass*, *cover glass*, *water bath*, kertas lakmus, serta alat-alat yang digunakan dalam proses pengenceran, pembekuan, dan *thawing* semen. Adapun bahan yang digunakan adalah semen kerbau lumpur, alkohol 70%, pewarna *eosin-nigrosin*, aquades, nitrogen cair, sitrat, kuning telur, dan β -karoten.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Data yang didapat dianalisa dengan metode statistik Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan dan 5 ulangan, yaitu A (Pengencer Tris KT + 0% β -Karoten /Kontrol), B (Pengencer Tris KT + 0,1% β -Karoten), C (Pengencer Tris KT + 0,2% β -Karoten), D (Pengencer Tris KT + 0,3% β -Karoten)

Parameter pengamatan dalam penelitian ini dikelompokan atas dua

kelompok yakni evaluasi semen segar yang dilakukan secara makroskopis yang meliputi a) volume, b) warna, c) konsistensi/kekentalan, d) pH, e) bau, serta evaluasi semen segar secara mikroskopis yang terdiri dari a) gerakan massa, b) konsentrasi dan c) motilitas dianalisis menggunakan komputer CASA (*Computer Assisted Semen Analysis*).

Setelah semen diekuilibrasikan selama 3 jam, selanjutnya dilakukan evaluasi semen cair dengan parameter yang diamati meliputi motilitas sperma, presentase hidup (viabilitas), dan abnormalitas spermatozoa. Data motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa yang didapat diolah secara statistik menggunakan analisis sidik ragam atau ANOVA.

Motilitas spermatozoa adalah penilaian pergerakan spermatozoa yang bergerak progresif secara visual dengan mikroskop atau menggunakan sistem otomatis dengan bantuan komputer (*computer assisted semen analysis/CASA*) (Dominiek *et al.*, 2011). Persentase hidup/viabilitas spermatozoa adalah banyaknya jumlah spermatozoa yang masih hidup. Cara menentukan persentase hidup spermatozoa yaitu dengan pewarnaan, karena spermatozoa yang masih hidup belum tentu motil (Campbell dan Kenealy, 2003). Rumus persentase spermatozoa dinyatakan dalam persen (%).

$$\% \text{ Viabilitas spermatozoa} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan : A = jumlah sperma yang tidak terwarnai B = jumlah sperma yang diamati

Abnormalitas spermatozoa adalah spermatozoa yang tidak sesuai dengan bentuk dan ukurannya. Penyimpangan pada bentuk morfologi spermatozoa yang dapat menurunkan daya fertilitas spermatozoa. Ada dua macam spermatozoa abnormal yaitu abnormalitas primer yang meliputi kelainan pada kepala seperti kepala kecil, kepala besar, kepala kerucut, kepala miring, kepala dua, kepala salah bentuk, kepala bulat, berekor dua, akrosom salah bentuk, berleher besar,

sedangkan abnormalitas sekunder meliputi kepala terpisah dari leher, leher patah, ekor kusut, ekor patah dan ekor tergulung. Rumus abnormalitas spermatozoa dinyatakan dalam persen (%).

$$\% \text{ Abnormalitas spermatozoa} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan: A = jumlah sperma yang tidak terwarnai, B = jumlah sperma yang diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semen segar harus dievaluasi terlebih dahulu untuk mengetahui kualitasnya yang akan menentukan semen segar tersebut layak atau tidak untuk diproses lebih lanjut. Semen segar yang akan diencerkan akan diperiksa terlebih dahulu secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi/kekentalan, pH, bau, dan secara mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi dan motilitas. Hasil rata-rata pemeriksaan dengan 5 kali ulangan secara makroskopis dan mikroskopis semen segar sebelum dilakukan perlakuan pada saat pengenceran semen dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kualitas semen segar kerbau lumpur secara mikroskopis dan makroskopis.

Parameter	Keterangan
Volume (ml)	2,26±1,15
Warna	Krem
Konsistensi	Sedang
Derajat Keasaman (pH)	6,54±0,08
Bau	Khas
Konsentrasi (10 ⁶ /ml)	1.182±386,91
Gerakan Massa	++
Motilitas (%)	71±2,00

Pada tabel 1 terlihat bahwa rata-rata hasil pemeriksaan semen segar dengan 5 kali ulangan penampungan, secara makroskopis menunjukkan volume semen yang dikoleksi 2,26 ml, memiliki warna krem, konsistensi sedang, pH 6,54, bau yang khas semen

kerbau. Hasil pemeriksaan ini menunjukkan bahwa semen yang dikoleksi memenuhi syarat untuk dilakukannya proses mengenceran. Sesuai dengan pendapat Andrianto, (2016) Secara makroskopis, semen umumnya berwarna putih krem dengan pH berkisar antara 6,4 hingga 6,8. Volume semen yang dianggap baik pada setiap ejakulasi berkisar antara 0,8 hingga 2,5 cc, dengan konsentrasi antara 800 hingga 4000 juta spermatozoa per cc; sekitar 90% dari jumlah ini adalah sel yang hidup. Menurut Yendraliza *et al.* (2019) dan Bastiana *et al.* (2020), warna semen segar yaitu krem dan putih kekuningan.

Secara mikroskopis hasil pemeriksanan gerakan massa (++), konsentrasi 1.182 juta/ml dan hasil rata-rata motilitas $71\pm 2,00$. Gerakan massa (++), berdasarkan skala evaluasi semen, menunjukkan pergerakan spermatozoa yang cukup baik. Gerakan massa yang optimal mencerminkan kesehatan sperma dan kemampuannya dalam mencapai sel telur untuk fertilisasi (Chauhan *et al.*, 2018). Motilitas spermatozoa dalam penelitian ini adalah $71\pm 2,00\%$. Menurut penelitian oleh Qureshi *et al.* (2016), nilai motilitas spermatozoa yang baik pada kerbau adalah di atas 60%. Serta angka ini sudah memenuhi SNI semen segar yaitu Semen beku berasal dari semen segar dengan motilitas progresif spermatozoa progresif minimum 70% (SNI, 2024). Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa berada dalam kisaran optimal, yang sangat berpengaruh terhadap keberhasilan pembuahan. Sebagian besar parameter kualitas semen segar kerbau berada dalam rentang normal yang telah dilaporkan dalam berbagai penelitian sebelumnya.

Hasil ini menunjukkan bahwa semen yang diperoleh memiliki potensi fertilisasi yang baik, sejalan dengan penelitian oleh Agarwal *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa semen dengan volume, pH, konsistensi, dan motilitas yang optimal dapat meningkatkan keberhasilan inseminasi buatan pada kerbau.

Oleh karena itu, hasil penelitian ini memberikan gambaran bahwa kualitas semen segar kerbau dari penelitian ini memiliki potensi reproduktif yang baik dan sesuai dengan standar kualitas semen yang dibutuhkan untuk program inseminasi buatan (IB).

Motilitas spermatozoa adalah penilaian pergerakan spermatozoa yang bergerak progresif maju atau kedepan. SNI (2024) Pemeriksaan semen berupa motilitas progresif spermatozoa dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara manual atau dengan menggunakan *Computer Assisted Semen Analysis* (CASA). Persentase sperma yang motil digunakan sebagai indikator kemampuan spermatozoa untuk membuahi sel telur dari betina, oleh karena itu motilitas spermatozoa memegang peranan penting untuk keberhasilan fertilisasi. Data yang diperoleh dari masing-masing perlakuan telah diolah dan disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. Rataan motilitas semen cair kerbau lumpur setelah ekuilibrisasi.

Perlakuan	Rata-rata \pm Standar Deviasi
A	76,54 \pm 6,48
B	80,12 \pm 3,95
C	76,48 \pm 5,59
D	73,65 \pm 4,88

Keterangan: A (Pengencer Tris KT + 0% β -Karoten /Kontrol), B (Pengencer Tris KT + 0,1% β -Karoten), C (Pengencer Tris KT + 0,2% β -Karoten), D (Pengencer Tris KT + 0,3% β -Karoten)

Berdasarkan Tabel 2, hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa penambahan β -karoten tidak memberikan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas semen cair kerbau lumpur setelah ekuilibrisasi. Perbandingan antara perlakuan menghasilkan rata-rata motilitas sperma secara berurut yaitu Perlakuan B $80,12 \pm 3,95$, perlakuan A $76,54 \pm 6,48$, Perlakuan C $76,48 \pm 5,59$, dan Perlakuan D menghasilkan rata-rata motilitas sperma yang sedikit lebih rendah, yaitu $73,65 \pm 4,88$.

Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan β -karoten dalam berbagai konsentrasi tidak menyebabkan perbedaan yang signifikan pada motilitas sperma kerbau lumpur setelah equilibrasi. Meskipun ada fluktuasi kecil dalam data, tidak ada perlakuan yang menunjukkan pengaruh nyata terhadap meningkatnya motilitas semen cair kerbau lumpur. Dari data yang tersaji dapat dilihat penambahan 0,1% β -Karoten dalam pengencer tris kuning telur (TKT) sedikit meningkatkan motilitas spermatozoa namun peningkatan konsentrasi β -karoten ke dalam pengencer TKT cenderung menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa.

Berdasarkan penelitian oleh Siahaan *et al.* (2012) penggunaan β -karoten pada semen sapi bali post thawing dengan konsentrasi 0,002% menunjukkan efek positif dalam meningkatkan kualitas semen, termasuk motilitas sperma. Bria *et al.* (2022) juga melaporkan bahwa media lain seperti sari buah semangka yang mengandung β -karoten dapat meningkatkan motilitas spermatozoa sapi Bali Eriani *et al.* (2018) juga menyebutkan penambahan β -karoten 0,625% dalam pengencer berbasis TKT dapat mempertahankan dan melindungi motilitas, viabilitas, integritas akrosom, dan integritas membran plasma pada kerbau rawa Aceh. Hal tersebut tergantung pada jenis ternak, konsentrasi krioprotektan yang digunakan dan kondisi penelitian. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut dengan desain eksperimen yang lebih ketat dan evaluasi terhadap konsentrasi yang lebih tepat dapat memberikan gambaran yang lebih jelas tentang potensi β -karoten dalam meningkatkan kualitas semen pada kerbau lumpur.

Walaupun hasil penelitian menunjukkan penambahan β -karoten tidak memberikan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas semen, namun semen hasil ekuilibrasi ini dapat dilanjutkan tahap proses pembekuan semen berikutnya, karena memenuhi standar SNI syarat pembekuan

semen kerbau motilitas spermatozoa progresif minimum 70% (SNI, 2024).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa pengencer TKT, merupakan pengencer yang dapat digunakan dalam pengenceran semen beku kerbau. Pengenceran tris yang dikombinasikan dengan kuning telur dilaporkan memiliki kualitas pengenceran yang baik pada sperma sapi Aceh (Muhammad *et al.*, 2020) Kuning telur mempunyai komponen lipoprotein dan lesitin yang dapat mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa (Yendraliza *et al.*, 2023). Meskipun dalam penelitian ini β -karoten tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan, namun sifat antioksidan yang dimiliki β -karoten dapat membantu melindungi sperma dari kerusakan oksidatif. Penelitian (Muhammad *et al.*, 2020) penambahan β -karoten 0,002% pengencer TKT dapat mempertahankan motilitas sperma sapi Aceh. Beta karoten sebagai provitamin A, dikenal untuk meningkatkan kualitas semen dalam beberapa spesies ternak karena kemampuannya dalam mengurangi stres oksidatif, (Muhammad *et al.*, 2020) Penambahan antioksidan yang tepat berperan penting dalam menjaga membran spermatozoa dalam proses pengenceran.

Viabilitas spermatozoa merupakan kemampuan sperma untuk bertahan hidup setelah proses pencampuran. Semakin tinggi viabilitas spermatozoa, semakin besar peluang terjadinya fertilisasi baik melalui kopulasi alami maupun buatan. Untuk menilai viabilitas ini, dilakukan dengan menghitung jumlah spermatozoa yang hidup dan yang sudah mengalami kematian (Manehat *et al.*, 2021). Tabel 3 menunjukkan viabilitas semen cair kerbau lumpur dengan pengencer tris kuning telur dengan penambahan β -Karoten.

Hasil analisis dan pengujian statistik yang dilakukan menunjukkan bahwa penambahan β -karoten tidak memberikan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) terhadap viabilitas semen cair kerbau lumpur.

Perbandingan antara perlakuan menghasilkan rata-rata viabilitas sperma secara berurut yaitu B $68,22 \pm 5,41$, A $66,88 \pm 6,33$, C $64,94 \pm 6,11$, dan D menghasilkan rata-rata viabilitas sperma yang lebih rendah, yaitu $61,51 \pm 8,08$.

Tabel 3. Rataan viabilitas semen cair kerbau lumpur setelah ekuilibrisasi.

Perlakuan	Rata-rata \pm Standar Deviasi
A	$66,88 \pm 6,33$
B	$68,22 \pm 5,41$
C	$64,93 \pm 6,11$
D	$61,51 \pm 8,08$

Keterangan: A (Pengencer Tris KT + 0% β -Karoten /Kontrol), B (Pengencer Tris KT + 0,1% β -Karoten), C (Pengencer Tris KT + 0,2% β -Karoten), D (Pengencer Tris KT + 0,3% β -Karoten)

Dari data yang tersaji dapat dilihat penambahan 0,1% β -Karoten dalam TKT sedikit meningkatkan viabilitas spermatozoa namun peningkatan konsentrasi β -karoten ke dalam pengencer TKT cenderung menyebabkan penurunan viabilitas spermatozoa, salah satu kemungkinan yang dapat menjelaskan temuan ini adalah dosis β -karoten yang baik berkisar antara 0,1 % dan di bawah 0,2% karna pada konsentrasi yang lebih tinggi justru malah menurunkan viabilitas semen kerbau lumpur.

Penelitian oleh Rizal (2005) Penambahan β -karoten berpengaruh nyata terhadap kualitas spermatozoa domba Garut dengan konsentrasi 0,002% setelah *thawing* (Muhammad *et al.*, 2020) Penambahan ekstrak bunga flamboyan yang kaya antioksidan memberikan pengaruh positif terhadap kualitas spermatozoa setelah pengenceran yang meliputi motilitas, viabilitas, integritas membran plasma, dan abnormalitas spermatozoa dimana konsentrasi optimum ekstrak bunga flamboyan spermatozoa sapi aceh adalah 0,15%. Eriani *et al.* (2018) juga menyebutkan penambahan β -karoten 0,625% dalam pengencer berbasis TKT dapat mempertahankan dan melindungi motilitas,

viabilitas, integritas akrosom, dan integritas membran plasma pada kerbau rawa Aceh.

Penambahan β -karoten dalam semen cair kerbau lumpur dengan pengencer TKT pada konsentrasi yang diuji (0%, 0,1%, 0,2%, dan 0,3%) tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap viabilitas semen. Meskipun terdapat kecenderungan peningkatan pada perlakuan 0,1% β -karoten, perbedaan antara perlakuan-perlakuan tersebut tidak cukup besar untuk menunjukkan efek yang nyata secara statistik (Eriani *et al.*, 2018) Suhu, kandungan pengencer dan waktu ekuilibrisasi dapat mempengaruhi penurunan viabilitas sperma kerbau. Muhammad *et al.* (2020) Persentase viabilitas spermatozoa setelah ekuilibrisasi dapat dipengaruhi oleh kandungan pengenceran dan integritas membran spermatozoa. Penelitian lebih lanjut dengan mempertimbangkan faktor lain yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian seperti durasi penyimpanan semen, seperti dapat dilihat pengaruh β -karoten saat pengenceran dan saat *thawing* semen. Serta desain eksperimen yang lebih ketat dan evaluasi terhadap konsentrasi penambahan yang lebih tepat dapat memberikan gambaran yang lebih jelas tentang potensi β -karoten dalam meningkatkan kualitas semen pada kerbau lumpur.

Abnormalitas spermatozoa adalah spermatozoa yang tidak sesuai dengan morfologi normalnya (SNI, 2024). Penyimpangan pada bentuk morfologi spermatozoa yang dapat menurunkan daya fertilitas spermatozoa. Abnormalitas spermatozoa adalah indikasi penurunan kesuburan karena berfungsi mengurangi kapasitas spermatozoa pada saat fertilisasi dan mempengaruhi perkembangan dan pemeliharaan kebuntingan (Banaszewska dan Andraszek, 2021).

Berdasarkan data Tabel 4, rata-rata abnormalitas semen cair kerbau lumpur dengan penambahan β -karoten pada pengencer Tris Kuning Telur (TKT), terlihat

bahwa terjadi penurunan abnormalitas semen seiring dengan peningkatan konsentrasi β -karoten. Pada perlakuan A rata-rata abnormalitas semen adalah $34,51 \pm 2,49$, yang menjadi dasar untuk membandingkan perlakuan lainnya. Pada perlakuan B rata-rata abnormalitas semen sedikit menurun menjadi $34,23 \pm 2,22$, sementara pada perlakuan C terjadi penurunan lebih lanjut menjadi $31,45 \pm 2,63$. Perlakuan D menunjukkan rata-rata abnormalitas semen terendah, yaitu $30,50 \pm 4,58$.

Tabel 4. Rataan abnormalitas semen cair kerbau lumpur setelah ekuilibrisasi.

Perlakuan	Rata-rata \pm Standar Deviasi
A	$34,51 \pm 2,49$
B	$34,23 \pm 2,22$
C	$31,45 \pm 2,63$
D	$30,50 \pm 4,58$

Keterangan: A (Pengencer Tris KT + 0% β -Karoten /Kontrol), B (Pengencer Tris KT + 0,1% β -Karoten), C (Pengencer Tris KT + 0,2% β -Karoten), D (Pengencer Tris KT + 0,3% β -Karoten)

Meskipun dalam penelitian ini β -karoten tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan ($P > 0,05$), dilihat dari Tabel 4 tetap menunjukkan adanya penurunan abnormalitas semen yang diamati, yaitu pada konsentrasi penambahan 0,3% β -karoten memberikan indikasi bahwa β -karoten dapat berperan dalam mengurangi abnormalitas semen. Pada penelitian Muhammad *et al.* (2020) menunjukkan pengencer TKT dan penambahan β -karoten 0,002% memberikan hasil terbaik untuk menurunkan abnormalitas sperma sapi Aceh yaitu $12,4 \pm 1,51$, serta Potret *et al.* (2024) kombinasi sari buah semangka (SBS) dan TKT dapat menurunkan abnormalitas spermatozoa babi Landrace di angka $3,30 \pm 0,27$.

Hal ini sejalan dengan sifat antioksidan β -karoten yang dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan oksidatif. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam

atau menonaktifkan serangan radikal bebas dan ROS atau *Reactive Oxygen Species* (Kusbandari dan Susanti, 2017). Radikal bebas akan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif bila jumlahnya dalam tubuh berlebih (Rais, 2018). Stres oksidatif yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara radikal bebas dan kemampuan tubuh untuk menetralkannya, dapat merusak struktur sperma, termasuk membran sel, DNA, dan motilitas. Dengan sifat antioksidannya, β -karoten membantu mengurangi kerusakan tersebut, menjaga integritas sel sperma. Efek ini berfokus pada perbaikan kualitas sperma setelah diproduksi, bukan pada proses pembentukan sperma di testis.

Oleh karena itu, penurunan abnormalitas sperma yang terjadi akibat penambahan β -karoten lebih berhubungan dengan abnormalitas sekunder, yaitu masalah yang timbul setelah sperma diproduksi dan disimpan, seperti kerusakan membran sperma, penurunan motilitas, dan bentuk sperma yang tidak normal. Antioksidan bekerja untuk meningkatkan kualitas sperma yang telah terbentuk dengan melindungi sel sperma dari kerusakan yang dapat menyebabkan penurunan motilitas, viabilitas, dan morfologi sperma yang pada akhirnya mengurangi abnormalitas sperma sekunder yang terjadi selama penyimpanan.

Meskipun ada penurunan abnormalitas semen pada peningkatan konsentrasi β -karoten, pengujian statistik menggunakan analisis sidik ragam atau ANOVA menunjukkan bahwa penambahan β -karoten tidak memberikan perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas semen cair kerbau lumpur. Dengan kata lain, meskipun terdapat nilai penurunan abnormalitas semen pada konsentrasi β -karoten yang lebih tinggi, perbedaan tersebut tidak cukup kuat secara statistik untuk dianggap berpengaruh nyata. Hal ini mungkin disebabkan oleh sejumlah faktor antara lain variabilitas genetik, variabilitas hormon individu pada sampel semen kerbau lumpur yang digunakan dalam

penelitian ini, serta *handling* sperma selama proses penampungan, pengenceran, hingga equilibrasi, atau faktor-faktor lain yang mempengaruhi kualitas semen yang tidak terkontrol dalam penelitian ini. Penelitian lebih lanjut dengan desain yang lebih kuat, jumlah sampel yang lebih besar, dan pengendalian variabel yang lebih ketat diperlukan untuk menilai secara lebih mendalam potensi β -karoten dalam meningkatkan kualitas semen kerbau lumpur.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan β -Karoten dengan konsentrasi yang berbeda ke dalam tris kuning telur (TKT) tidak memberikan pengaruh nyata terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen cair, tetapi penambahan β -karoten sampai 0,1% layak diberikan untuk meningkatkan motilitas dan viabilitas spermatozoa kerbau lumpur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Kepala Balai, staf laboratorium, dan staf lapangan Inseminasi Buatan (BIB) Tuah Sakato, Ibhuh, Payakumbuh, Sumatera Barat, yang telah memberikan kesempatan penelitian di laboratorium BIB Tuah Sakato, Payakumbuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina Siahaan, Eva, and Lab Reproduksi Veteriner. 2012. Efektivitas Penambahan Berbagai Konsentrasi β -Karoten Terhadap Motilitas Dan Daya Hidup Spermatozoa Sapi Bali Post Thawing." *Indonesia Medicus Veterinus* 1(2): 239–51.
- Andrianto, F., 2016. Pengaruh Sari Kulit Dan Buah Semangka Merah (*Citrullus Lanatus*) Sebagai Bahan Pengencer Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Domba (Doctoral dissertation, Universitas Airlangga).
- Agarwal, S., Sharma, R., dan Verma, A. 2020. *Reproductive Physiology of Buffalo: A Review*. International Journal of Animal Science.
- Badan Litbang Pertanian. 2020. Laporan Tahunan Program Inseminasi Buatan pada Ternak di Indonesia. Jakarta: Badan Litbang Pertanian.
- Banaszewska, D., and Katarzyna, Andraszek. 2021. Assessment of the Morphometry of Heads of Normal Sperm and Sperm with the Dag Defect in the Semen of Duroc Boars. *Journal of Veterinary Research (Poland)* 65(2): 239–44. doi:10.2478/jvetres-2021-0019.
- Bustani, G. S., dan Baiee, F. H. 2021. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Veterinary World*, 14(5),1220–1233. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233>
- Bria, Maria M., Wilmientje M. Nalley, Johny N. Kihe, and Thomas M. Hine. 2022. Pengaruh Substitusi Sari Buah Semangka (*Citrullus Lanatus*) Dalam Pengencer Sitrat- Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali (Effect of Watermelon Juice Supplementation in Citrate - Egg Yolk Extender on Spermatozoa Quality of Bali Bulls). *Jurnal Nukleus Peternakan* 9(1): 23–32. doi:10.35508/nukleus.v9i1.4393.
- Chauhan, M. S., Verma, R., dan Singh, R. 2018. *Sperm Motility and Fertility in Buffaloes*. *Buffalo Journal of Reproduction*.
- Dominiek, M., Alfonso, L. R., Tom, R., Philip, V., dan Ann, V. S. (2011). *Artificial Insemination in Pigs*. In M. Manafi (Ed.), *Artificial Insemination in Farm Animals*. Intech Open. <https://doi.org/10.5772/16592>
- Eriani, K., A. Azhar, M. Ihdina, B. Rosadi, M. Rizal, and A. Boediono. 2018. *Quality*

- Enhancement of Aceh Swamp Buffalo (Bubalus Bubalis) Frozen Semen by Supplementing β -Carotene. Tropical Animal Science Journal* 41(1): 1–7. doi:10.5398/tasj.2018.41.1.1.
- Faisal, A. 2016. Pengaruh Kulit Sari Dan Buah Semangka Merah (*Citrullus Lanatus*) Sebagai Bahan Pengencer Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Domba. (Skripsi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga: Surabaya).
- Febriani G. D., Hamdan, dan J. Melia. 2014. Pengaruh waktu ekuilibrisasi terhadap kualitas semen kerbau lumpur (*bubalus bubalis*) setelah thawing. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1):1-4
- Isnaini, N., dan Fazrien, W. A. 2020. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Kerbau. Malang : UB Press
- Kusbandari, A., dan Susanti, H. 2017. Kandungan Beta Karoten dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap DPPH (1,1-Difenil 2-Pikrilhidrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis melo* Var. *Cantalupensis* L) Secara Spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas (Journal of Pharmaceutical Sciences and Community)*, 14(1), 37–42. <https://doi.org/10.24071/IPSC>. 00562
- Muhammad, Marlina, Kartini Eriani, Aida Fithri, Amalia Rusdi, and Hendra Saputra. 2020. *Potential of Flamboyant Flower (Delonix Regia (Boj. Ex Hook) Raf) Extract to Maintain Post-Dilution Quality of Aceh Cattle (Bos Taurus Indicus) Spermatozoa. E3S Web of Conferences* 151: 1–5. doi:10.1051/e3sconf/202015101044.
- Parera, H., dan Lenda, V. 2023. Evaluasi Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Babi dalam Berbagai Modifikasi Pengencer. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. Vol. 11(1): 13-33. <https://dx.doi.org/10.23960/jipt.v11i1.p13-33>
- Potret, S.P, Aloysius Marawali, Agustinus Ridlof Riwu, Petrus Kune, Fakultas Peternakan, Kelautan Perikanan, and Universitas Nusa Cendana. 2024. "Animal Agricultura Kombinasi Sari Buah Semangka Dalam Pengencer Kuning Telur Dan Larutan Tris Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace." 2(2): 593–601.
- Putra Riza A, M. Ikhsan Rias, Fuad Madarisa. 2021. Potret Usaha Peternakan Kerbau di Kabupaten Padang Pariaman. *Jurnal Sains Peternakan* Volume 9 No. 2, Hal : 79-86.
- Rais, L. B. (2018). Pengaruh Penambahan Jus Brokoli (*Brassica oleracea* L.) terhadap Aktivitas Antioksidan Beberapa Jus Buah. Skripsi.
- Rizal M. 2005. "Efektivitas Berbagai Konsenttasi β -Karoten Terhadap Kualitas Semen Beku Domba Garut." *Animmal Production* 7(1): 6–13. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/download/1811/1180>.
- Rizal, M. dan M. Herdis. 2008. Inseminasi Buatan Pada Domba. PT. Rineka Cipta. Jakarta
- Safitri, A., Ambarwati, I. T., et al. (2024). Analisis Faktor-Faktor Penentu Keberhasilan Peternakan Kerbau Lokal di BPTUHPT Siborong-Borong. *Agribusiness and Socioeconomic Jurnal*. <https://www.asejournal.fapertauim.ac.id/index.php/ASEJournal/article/view/87>.
- Savitri, F.K., Sri S. dan Siswanto. 2014. Kualitas Semen Beku Sapi Bali Dengan Penambahan Berbagai Dosis Vitamin C Pada Bahan Pengencer Skim Kuning Telur. P:30-36.
- Siahaan, E.A., D.N.D.I. Laksmi dan W. Bebas. 2012. Efektifitas Penambahan Berbagai Konsentrasi B-Karoten Terhadap Motilitas Dan Daya Hidup Spermatozoa Sapi Bali Post Thawing.

- Indonesia Medicus Veterinus. Vol.1(2):
239-251
- Sumantri, I. Habibah, . Dwijatmiko, A., dan Hidayanto, R. G. P. (2021). Model estimasi bobot badan dan produksi karkas kerbau Kalimantan Selatan yang dipelihara dengan sistem kalang. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, (Halaman). Universitas Lambung Mangkurat.
- Standar, Rancangan, and Nasional Indonesia. 2024. "Semen Beku – Bagian 1: Sapi.
- Yendraliza., (2014). *Reproduksi Ternak Kerbau*. Riau: Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kcpada Masyarakat Universitas Islam Sultan Syarif Kasim Riau.
- Yendraliza, H. Abadi, R. Misrianti, A. Ali, dan A. Effendi. 2019. Identifikasi ukuran tubuh dan kualitas semen sapi Kuantan jantan. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 7 : 186-191.
- Yendraliza, Yendraliza, Ahmaddyan Sitorus, Muhammad Rodiallah, and Zumarni Zumarni. 2023. "Kualitas Spermatozoa Sapi Simmental Pada Pengencer TRIS Dengan Kuning Telur Dan Waktu Equilibrase Yang Berbeda." *Jurnal Agripet* 23(1): 1–8. doi:10.17969/agripet.v23i1.26381.