



Suplementasi Madu Alami Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Sebagai Sumber Karbohidrat Pengganti Fruktosa Pada Semen Kambing Peranakan Etawah

Natural honey supplementation in Tris-egg yolk diluent as Carbohydrate source replacing Fructose in Etawah Crossbred Goat semen

Yustiani Yuliana Bette¹, Wilmientje Marlen Nalley¹, Thomas MataHine¹

¹ Faculty of Animal Husbandry, Universitas Nusa Cendana Jl. Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur 85001, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: yustibete@gmail.com

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 27 September 2023
Accepted: 1 February 2024

KATA KUNCI:

Semen Kambing PE
Pengencer Tris-KT
Madu

KEYWORDS:

PE goat semen
Tris-KT diluent
Honey

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi substitusi madu asli sebagai sumber energi menggantikan fruktosa dalam pengencer Tris-KT untuk meningkatkan kualitas spermatozoa kambing Peranakan Etawah (PE). Penelitian dilakukan di Sekolah Kejuruan Nekamese dan Laboratorium Biologi dan Reproduksi Yayasan Williams dan Laura selama 2 bulan. Dalam penelitian ini digunakan empat ekor kambing jantan PE sebagai sumber semen. Semen ditampung dua kali seminggu. Semen yang diperoleh dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis kemudian diencerkan dengan pengencer T-KT dengan penambahan madu yang terbagi dalam P0 (kontrol), P1 (T-KT + 0,25 w/v madu), P2 (T-KT + 0,50 w/v madu) dan P3 (T-KT + 0,75 w/v madu). Setelah pengenceran semen disimpan pada suhu 3-5°C. Semen dievaluasi pasca pengenceran dan pasca penyimpanan setiap 24 jam, hingga pergerakan spermatozoa minimal 40%. Variabel yang diuji adalah motilitas dan viabilitas spermatozoa. Perlakuan P3 memberikan hasil terbaik dalam mempertahankan kualitas semen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa substitusi madu dalam pengencer Tris-KT memberikan pengaruh yang nyata terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa ($P < 0,05$) selama penyimpanan.

ABSTRACT

This study aims to identify the substitution of native honey as an energy source to replace fructose in Tris-KT diluent to improve the quality of spermatozoa of Etawah crossbred goats (PE). The study was conducted at the Nekamese Vocational School and the Williams and Laura Foundation Biological and Reproductive Laboratory for 2 months. In this study, four PE male goats were used as a source of semen. Semen is accommodated twice a week. The semen obtained was evaluated macroscopically and microscopically then diluted with T-KT diluent with the addition of honey divided into P0 (control), P1 (T-KT + 0.25 w/v honey), P2 (T-KT + 0.50 w/v honey) and P3 (T-KT + 0.75 w/v honey). After dilution the semen is stored at a temperature of 3-5°C. Semen is evaluated post-dilution and post-storage every 24 hours, until the movement of spermatozoa is at least 40%. The variables tested were motility and

of Agriculture, University of Lampung in collaboration with Indonesian Society of Animal Science (ISAS). This is an open access article under the CC BY 4.0 license: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

viability of spermatozoa. P3 provides the best results in maintaining cement quality. The results showed that honey substitution in Tris-KT diluent exerted a marked effect on the motility and viability of spermatozoa ($P < 0.05$) during storage.

1. Pendahuluan

Kebutuhan protein hewani meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk. Salah satu sumber protein hewani untuk pemenuhan gizi masyarakat bersumber dari ternak kambing, yang mudah dipelihara dan dikembangkan di Nusa Tenggara Timur (NTT). Permintaan daging kambing di NTT setiap tahun mengalami peningkatan, pada tahun 2021 berjumlah 876,62 ton dan tahun 2022 berjumlah 965,11 ton (Badan Pusat Statistik, 2022). Salah satu penyebab peningkatan populasi ternak kambing karena ternak kambing mampu beradaptasi dengan iklim di NTT.

Jenis kambing di NTT adalah kambing kacang dan salah satu kelebihan kambing kacang adalah mampu berproduksi pada lingkungan yang kurang baik namun kambing kacang memiliki ukuran tubuh yang relatif kecil dan laju pertumbuhan bobot badannya relatif rendah (Kusrianty, 2020). Secara umum produktivitas kambing kacang masih rendah oleh karena itu untuk memperbaiki produktivitas kambing kacang dapat dilakukan melalui teknologi inseminasi buatan (IB) dengan kambing yang bergenetik unggul seperti kambing peranakan etawah (PE).

Permasalahan utama dalam aplikasi teknologi inseminasi buatan adalah kualitas semen, dan salah satu cara untuk memperbaiki kualitas semen adalah dengan melakukan preservasi semen menggunakan pengencer dengan syarat bahan pengencer mampu menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan. Selama penyimpanan spermatozoa memerlukan energi, Energi tambahan yang dibutuhkan oleh spermatozoa, dapat disediakan oleh gula sederhana (monosakarida) seperti fruktosa dan glukosa yang berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran. Secara alami gula sederhana seperti fruktosa dan glukosa yang terkandung dalam madu (Arfah *et al.* 2021).

Madu adalah cairan kental yang dihasilkan oleh lebah dari berbagai sumber nektar. Madu mengandung karbohidrat, protein, vitamin B, mineral, asam amino, enzim dan antibiotik. Kandungan bahan pada madu hampir sama dengan kandungan yang terdapat pada plasma semen (Barozha, 2015). Pada penelitian yang dilakukan oleh Rahardhianto *et al.* (2012) terdapat interaksi antara pemberian madu 0,6% dengan NaCl

sebagai larutan pengencer dan lama penyimpanan yang memberikan hasil persentase motilitas dan viabilitas yang tinggi. Debby Urabi *et al.* (2019) Motilitas Spermatozoa terbaik pada perlakuan D (0,9 ml madu dalam 99,1 ml NaCl), dengan nilai motilitas individu 75,85%, penambahan madu sebagai sumber energi dan nutrisi dalam pengencer semen dapat mendukung motilitas dan viabilitas spermatozoa. Berdasarkan uraian di atas maka telah dilakukan penelitian dengan judul suplementasi madu alami dalam pengencer Tris Kuning Telur sebagai sumber karbohidrat pengganti fruktosa pada semen kambing PE adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi substitusi madu pengganti fruktosa terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa.

2. Materi dan Metode

2.1.. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Sekolah Kejuruan Nekamese sebagai tempat penampungan semen dan Laboratorium Yayasan Williams dan Laura Farm sebagai tempat evaluasi semen.

2.2. Materi

Empat ekor kambing jantan PE berumur 2-3 tahun dengan bobot badan 50-60 kg sebagai sumber semen. Kambing PE dikandangkan dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum. Hijauan atau rumput segar sebagai pakan diberikan sebanyak 10% berat badan, konsentrat diberikan 0,5 kg/ekor/hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Peralatan yang digunakan adalah vagina buatan, tabung penampung berskala, kandang jepit, pH meter, pipet ukur, pH indicator paper, mikroskop, objek glass, cover glass, kulkas, kamar hitung neubauer, aquabides, pewarna eosin nigrosin, madu, Tris-KT, penisilin dan streptomisin.

2.3. Metode

2.3.1. Persiapan Kuning Telur

Kuning telur diperoleh dari telur ayam segar, sebelumnya telur disterilisasi menggunakan alkohol 70%, kemudian dibilas menggunakan aquabidest dan

dikeringkan. Selanjutnya dilakukan pemisahan kuning telur utuh dari albumin menggunakan kertas saring hingga terpisah sepenuhnya.

2.3.2. Pembuatan Pengencer

Bahan pengencer yang digunakan ditimbang sesuai komposisi selanjutnya dilarutkan dengan 100 mL aquabides, dihomogenkan dan selanjutnya dibagi dalam tabung sesuai perlakuan.

P0 : Tris 3,63gr, asam sitrat 1,99gr, fruktosa 0,50gr, kuning telur 20%, madu 0 w/v, streptomisin 1,0gr, penisilin 1000 IU

P1 : Tris 3,63gr, asam sitrat 1,99gr, fruktosa 0 gr, kuning telur 20%, madu 0,25 w/v, streptomisin 1,0gr, penisilin 1000 IU

P2 : Tris 3,63gr, asam sitrat 1,99gr, fruktosa 0 gr, kuning telur 20%, madu 0,50 w/v, streptomisin 1,0gr, penisilin 1000 IU

P3 : Tris 3,63gr, asam sitrat 1,99gr, fruktosa 0 gr, kuning telur 20%, madu 0,75 w/v, streptomisin 1,0gr, penisilin 1000 IU

2.3.3 Penampungan Semen dan Pengenceran

Koleksi semen dilakukan dua kali seminggu masing-masing satu ejakulat menggunakan vagina buatan, selanjutnya semen dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH sedangkan mikroskopis meliputi gerakan massa, gerakan individu, konsentrasi, spermatozoa hidup dan abnormalitas. Setelah evaluasi, semen dibagi menjadi empat perlakuan pengenceran yaitu P0 (Tris+KT); perlakuan P1 (Tris+KT+ Md madu 0,25 v/w); perlakuan P2 (Tris+KT+ Md madu 0,50 v/w) dan perlakuan P3 (Tris+KT+ Md madu 0,75 v/w). Keempat perlakuan disimpan pada suhu 3-5°C dan dievaluasi motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa setiap 24 jam hingga motilitas spermatozoa mencapai 40% yang merupakan syarat minimal untuk IB.

2.3.4. Pengamatan Motilitas

Pengukuran motilitas dilakukan dengan meletakkan satu tetes semen di atas objek glass dan menutupnya dengan kaca penutup lalu diamati dengan mikroskop dengan pembesaran 200x sampai 400x.

2.3.5. Pengamatan Viabilitas

Pemeriksaan viabilitas semen segar diawali dengan membuat apusan semen menggunakan objek glass. Preparat apusan semen dibuat dari campuran 1 tetes semen dengan 1 tetes pewarna eosin negrosin, apusan difiksasi dengan api. Perhitungan spermatozoa dilakukan menggunakan mikroskop fase kontras (1000x), Dilakukan evaluasi sebanyak 100 spermatozoa, spermatozoa mati akan berwarna merah sedangkan spermatozoa hidup berwarna transparan.

2.3.6. Pengamatan Abnormalitas

Abnormalitas spermatozoa dapat diklasifikasikan menjadi tiga bagian yaitu abnormalitas pada kepala, bagian tengah dan ekor. Abnormalitas pada kepala seperti terlalu besar atau kecil, runcing atau tumpul, kepala dua. Abnormalitas pada bagian tengah seperti bagian leher tebal atau tipis, leher yang bengkok serta abnormalitas pada ekor seperti ekor bengkok, ekor pendek, atau melingkar dari ujung ekor. Identifikasi normal dan abnormalitas spermatozoa sampai dengan 100 spermatozoa. Jumlah spermatozoa abnormal yang didapatkan, dibagi dengan jumlah total spermatozoa yang diamati dan dikalikan 100% .

2.3.7 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan enam kali penampungan semen sebagai ulangan sehingga diperoleh 24 unit percobaan. Data yang terkumpul dianalisis menggunakan *Analisis of variance* (ANOVA).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Karakteristik Semen Segar

Kualitas semen segar merupakan tahapan dasar sebelum diberikan perlakuan, karena nilai kulaitas semen segar menjadi acuan tahapan penelitian selanjutnya. Semen segar yang diperoleh dari keempat ekor kambing PE menunjukkan kualitas yang baik dan layak untuk diproses menjadi semen cair. Hasil penelitian menunjukkan volume $0,57 \pm 0,14$ ml (**Tabel. 1**), hasil penelitian sebelumnya melaporkan volume kambing PE yang bervariasi yaitu laporan Ariantie *et al.* (2014) volume $1,14 \pm 0,14$ ml, Rizal *et al.* (2016) sebesar $1,05 \pm 0,17$ ml dan Hidayati *et al.* (2015) menghasilkan $1,14 \pm 0,14$ ml. Perbedaan volume dari setiap ejakulasi disebabkan oleh pakan, frekuensi penampungan, umur dan faktor lainnya (Salmah, 2014).

Tabel 1. Karakteristik semen segar kambing PE

Karakteristik Semen	Rataan SD	±
Makroskopis		
Volume (ml)	0,57	± 0,14
Warna	Krem	
Konsistensi	Kental	
pH	6,50	± 0,15
Mikroskopis		
Gerakan massa	+++	
Konsentrasi (x 10 ⁹ sel/ml)	3,89	± 0,46
Motilitas (%)	2,58	
Viabilitas (%)	88,54	±
Abnormalitas (%)	2,11	
	3,65	± 1,18

Konsistensi dan warna berkorelasi dengan jumlah sel spermatozoa yang terkandung dalam semen. Semakin banyak jumlah spermatozoa maka konsistensi akan semakin kental dan warna lebih ke arah krem. Hasil penelitian menunjukkan warna semen krem dengan konsistensi kental serta konsentrasi $3,89 \pm 0,46$ spermatozoa/ml, Hasil ini mirip dengan laporan Ariantie *et al.* (2014) konsentrasi $3,53 \pm 774,07$ spermatozoa/ml, laporan Rizal *et al.* (2016) konsentrasi 3.756,67 juta sel/ml. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi kambing masih dalam keadaan normal pada kisaran 2000-6000 (juta sel/ml).

Gerakan massa spermatozoa yang dihasilkan adalah +++, pH $6,50 \pm 0,15$, laporan ini sama dengan laporan Ariantie *et al.* (2014) gerakan massa +++, pH $6,73 \pm 0,23$. Rizal *et al.* (2016) gerakan massa +++, pH $6,90 \pm 0,10$ dan Suteky *et al.* (2015) pH $6,83 \pm 0,29$ dan gerakan massa +++. Inonie *et al.* (2016) mengatakan pemeriksaan gerakan massa pada semen dibedakan berdasarkan gelombang tebal atau tipis, gerakan massa ke satu arah secara cepat atau lambat bergantung pada konsentrasi spermatozoa hidup serta derajat keasaman (pH) memegang peranan sangat penting karena dapat mempengaruhi viabilitas spermatozoa.

Motilitas spermatozoa yang dihasilkan adalah $83,33 \pm 2,58\%$. Persentase motilitas spermatozoa hasil ejakulasi kambing PE rata-rata $70 \pm 0,00$ (Rizal *et al.*, 2016), $77,78 \pm 2,64$ Hidayati *et al.* (2015), $76 \pm 2,58$ (Rizal *et al.*, 2016). Motilitas dimiliki oleh spermatozoa untuk bergerak progresif membuahi sel telur. Salah satu faktor yang mempengaruhi pergerakan spermatozoa adalah penurunan atau peningkatan suhu sewaktu penampungan dan evaluasi semen. Penurunan suhu secara mendadak menyebabkan cold shock bagi sperma dan peningkatan suhu yang berlebihan dapat mengakibatkan spermatozoa mati oleh karena itu suhu vagina buatan sewaktu penampungan semen harus berkisar $42-44^{\circ}\text{C}$ dan sebaiknya semen dievaluasi dalam suhu ruangan.

Persentase viabilitas yang diperoleh dalam penelitian ini adalah $88,54 \pm 2,11\%$, Hasil beberapa penelitian melaporkan bahwa persentase hidup spermatozoa semen hasil ejakulasi pada kambing PE adalah rata-rata $87,96 \pm 0,02\%$ (Hidayati *et al.*, 2015), $70 \pm 0,00\%$ (Rizal *et al.*, 2016), $95,82 \pm 0,23\%$ (Ardiansyah *et al.*, 2020), $81 \pm 1,22\%$ (Rizal *et al.*, 2016).

Persentase spermatozoa abnormal yang diperoleh dalam penelitian ini rata-rata $3,65 \pm 1,18\%$. Pada spermatozoa semen hasil ejakulasi dilaporkan, bahwa persentase abnormal spermatozoa kambing PE adalah rata-rata $1,3 \pm 0,08$ (Ardiansyah *et al.*, 2020), $4,3 \pm 1,15\%$ (Rizal *et al.*, 2016), rata-rata $95,6\%$ (Tamo Ama *et al.*, 2017), $4,3\%$ (Rizal *et al.*, 2016). Kisaran rataan persentase abnormalitas spermatozoa yang didapatkan sangat baik, sesuai kisaran yang digunakan untuk IB.

3.2 Motilitas Spermatozoa Kambing PE dalam Pengencer Perlakuan

Kemampuan spermatozoa bergerak progresif merupakan faktor yang menentukan daya gerak spermatozoa karena berhubungan erat dengan tingkat fertilitas spermatozoa. Motilitas merupakan salah satu cara terbaik yang digunakan untuk menguji kualitas semen yang diawetkan, oleh karena tujuan akhir dari suatu pengenceran adalah untuk inseminasi maka gerak spermatozoa secara progresif (maju ke depan) menjadi patokan yang mutlak diperhitungkan. Persentase motilitas spermatozoa kambing PE hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Pengencer merupakan media bagi spermatozoa selama penyimpanan, sehingga komponen yang terdapat dalam bahan pengencer akan langsung memengaruhi spermatozoa. Pengencer Tris-Md pada P2 (T-KT+0,50 w/v madu) dan P3 (T-KT+0,75 w/v madu) menunjukkan hasil yang lebih baik dalam mempertahankan kualitas semen dibandingkan dengan pengencer Tris-KT karena madu dalam pengencer Tris-KT mengandung empat jenis gula yaitu fruktosa, glukosa, maltosa dan sukrosa sedangkan dalam pengencer Tris-KT hanya mengandung satu jenis gula yaitu fruktosa sehingga ketersediaan sumber energi dalam perlakuan P0 terbatas sehingga memengaruhi motilitas spermatozoa.

Hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan madu dalam pengencer Tris-KT berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase motilitas spermatozoa. Tingkat penurunan persentase motilitas spermatozoa setiap perlakuan tidak sama. Terlihat pada perlakuan P2 dan P3 motilitas layak IB $> 40\%$ hingga hari kelima penyimpanan. Hasil penelitian ini lebih tinggi dari penelitian Muhammady *et al.* (2022) dimana motilitas semen kambing dapat bertahan hanya sampai hari ke-3 dalam pengencer air kelapa hijau muda dan penambahan madu sedangkan perlakuan P0 menunjukkan motilitas mampu bertahan hingga hari ketiga, hasil ini hampir sama dengan laporan Ariantie *et al.* (2014) melaporkan motilitas spermatozoa kambing PE sebesar 77,78% mampu bertahan selama 72-84 jam sedangkan P1 mampu mempertahankan motilitas hingga hari keempat, ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada setiap perlakuan mengalami penurunan bersamaan dengan bertambahnya waktu penyimpanan.

Tabel 2. Persentase (%) \pm SD motilitas spermatozoa kambing PE setelah pengenceran

Hari Ke-	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
0	82.50 \pm 2.73a	83.33 \pm 2.58a	83.33 \pm 2.58a	83.33 \pm 2.58 a
1	75.00 \pm 3.16b	76.67 \pm 4.08a b	80.00 \pm 3.16a	80.00 \pm 0.00 a
2	64.17 \pm 3.76c	67.50 \pm 2.73b c	72.50 \pm 5.24a b	73.33 \pm 5.16 a
3	50.00\pm7.07c	58.33 \pm 4.08b	63.33 \pm 6.05a b	67.50 \pm 5.24 a
4	37.50 \pm 7.58b	42.50\pm5.24b	52.50 \pm 4.18a	57.50 \pm 5.24 a
5	27.50 \pm 8.80b	33.33 \pm 6.83b	44.17\pm4.91a	45.83\pm5.84 a
6	12.50 \pm 4.18c	15.00 \pm 8.36b c	23.33 \pm 9.30b	35.00 \pm 7.07 a

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama, menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), sedangkan superskrip pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$)

Penurunan presentase motilitas lebih cepat terjadi pada suhu ruang dapat disebabkan karena kebutuhan spermatozoa akan energi mulai berkurang karena pada suhu ruang aktivitas seluler pada spermatozoa tinggi sehingga substrat energi yang berasal dari karbohidrat berupa glukosa dan fruktosa dalam media pengencer cepat habis. Karbohidrat dalam bentuk gula tersebut merupakan komponen utama dalam madu. Kandungan karbohidrat monosakarida ini yang nantinya akan berperan penting dalam proses pemberian nutrisi pada sperma yang disimpan. Penambahan fruktosa atau glukosa dalam pengencer berguna untuk mendukung daya hidup spermatozoa pasca pengenceran (Arfah, 2015).

Hasil analisis varians (Anova) menunjukkan bahwa pada hari ke-0 penyimpanan, penambahan madu dalam pengencer Tris-KT tidak berpengaruh ($P > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa kambing PE, sedangkan pada hari ke-1 hingga hari ke-5 penyimpanan mulai terlihat adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). Besarnya penurunan nilai persentase motilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan karena nutrisi yang diberikan dalam larutan pengencer telah habis digunakan. Penurunan motilitas setiap perlakuan terjadi secara perlahan-lahan karena pengencer Tris-KT berfungsi sebagai penyangga dan melindungi spermatozoa dari

kejutan dingin, penambahan madu dalam pengencer mampu menyediakan nutrisi bagi spermatozoa sebagai sumber energi.

Menurut Rahardianto *et al.* (2012), madu mengandung gula pereduksi sebanyak 67,84% yang terdiri dari fruktosa dan glukosa. Kandungan gula pereduksi ini digunakan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dan juga madu mengandung mineral. Bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan bantuan enzim fruktolisin dalam proses glikolisis. menyatakan gula pereduksi tersebut dapat dimetabolisme oleh spermatozoa untuk menghasilkan energi berupa Adenosin Trifosfat atau ATP. Selanjutnya spermatozoa memanfaatkan ATP sebagai sumber energi dalam mempertahankan daya hidupnya, terdapat unsur elektrolit seperti Na, Ca, K berfungsi sebagai cryoprotectant di dalam pengencer.

Secara umum, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dengan penambahan madu dalam pengencer Tris-KT mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa, karena di dalam madu mengandung fruktosa, glukosa, sukrosa dan maltosa yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Selain itu madu juga mengandung mineral yaitu magnesium (mg) sebagai kofaktor dalam proses glikolisis.

3.3 Viabilitas Spermatozoa Kambing PE dalam Pengencer Perlakuan

Persentase viabilitas merupakan salah satu indikator untuk menentukan baik-buruknya kualitas spermatozoa dan mengetahui banyaknya spermatozoa tersebut hidup atau tidak hidup yang pada penampakan spermatozoa tidak bergerak atau imotil dalam proses penyimpanan dengan penambahan larutan pengencer. Daya hidup spermatozoa dapat dipengaruhi oleh motilitas, derajat keasaman atau pH, dan kerusakan membran plasma (Dwitarizki *et al.*, 2015).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase hidup spermatozoa selama penyimpanan. Perlakuan P3 mampu bertahan hidup lebih lama hingga hari ke 6 penyimpanan dibandingkan pada perlakuan P2, P1 mampu bertahan hingga hari ke 5 dan P0 hari ke 4 (**Tabel 3**).

Tabel 3. Persentase ((%) \pm SD viabilitas spermatozoa kambing PE setelah pengenceran

Hari Ke-	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
0	88.51 \pm 2.80 ^a	89.89 \pm 2.57 ^a	90.08 \pm 1.33 ^a	89.50 \pm 1.89 ^a
1	83.98 \pm 2.25 ^b	84.70 \pm 2.56 ^{ab}	87.43 \pm 2.00 ^a	86.64 \pm 2.22 ^{ab}
2	75.53 \pm 1.48 ^b	77.12 \pm 2.71 ^b	81.99 \pm 3.48 ^a	84.03 \pm 1.91 ^a
3	62.14 \pm 6.02 ^c	68.16 \pm 3.41 ^b	73.47 \pm 3.07 ^a	77.30 \pm 2.52 ^a
4	51.78\pm5.12^b	54.24 \pm 6.09 ^b	64.65 \pm 3.51 ^a	68.63 \pm 4.53 ^a
5	36.90 \pm 8.68 ^b	43.27\pm9.22^b	55.93\pm7.60^a	61.88 \pm 6.60 ^a
6	21.65 \pm 9.21 ^b	25.33 \pm 11.04 ^b	33.74 \pm 8.16 ^b	45.91\pm9.87^a

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama, menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), sedangkan superskrip pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$).

Hasil penelitian ini sama dengan laporan Diyani *et al.*, (2021) dimana viabilitas bertahan selama 144 jam atau 6 hari penyimpanan. Perbedaan persentase hidup pada tiap perlakuan disebabkan karena ketersediaan nutrisi sebagai sumber energi bagi spermatozoa pada masing-masing perlakuan berbeda-beda. Energi yang tersedia dalam pengencer terus menerus berkurang karena digunakan oleh spermatozoa untuk melakukan metabolisme seiring dengan lama penyimpanan. Beberapa keunggulan dari madu yaitu dapat menjadi pengganti gula, sumber vitamin dan mineral umumnya vitamin C, kalsium, dan zat besi, sumber antioksidan yang dapat meminimalisir pengaruh buruk radikal bebas, dan mengandung zat antibiotik yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri tertentu karena memproduksi enzim hydrogen peroksida (Nadhilla, 2014).

Bahan utama yang dipakai spermatozoa sebagai sumber energi dari luar testis adalah fruktosa yang diubah menjadi asam laktat dan energi dengan bantuan enzim fruktolisin dalam proses glikolisis. Madu mengandung gula pereduksi dapat dimetabolisme oleh spermatozoa untuk menghasilkan energi berupa ATP. Selanjutnya spermatozoa memanfaatkan ATP sebagai sumber energi dalam mempertahankan daya hidupnya. Terdapat unsur-unsur elektrolit seperti Na, Ca, K berfungsi sebagai cryoprotectant di dalam pengencer (Rahardhianto *et al.*, 2012).

Menurut Danang *et al.* (2012) semakin berkurangnya cadangan makanan dan ketidak seimbangan cairan elektrolit akibat metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan membran sel spermatozoa. Kerusakan ini sebagai akibat adanya pertukaran larutan intraseluler dan ekstraseluler antara bahan pengencer dengan

spermatozoa karena adanya perbedaan konsentrasi. Proses pengenceran semen dapat menyebabkan rusaknya membran plasma serta menurunkan motilitas. Kerusakan membran sel spermatozoa akan berdampak pada membran yang pada awalnya mempunyai sifat semipermeabel tidak lagi mampu menyeleksi keluar masuknya zat, sehingga pada saat diberi warna eosin zat tersebut masuk ke dalam plasma. Hal ini dapat dikatakan walaupun ketahanan hidup spermatozoa bisa bertahan lama akan percuma jika tidak memiliki daya pergerakan yang cukup untuk membuahi pada inseminasi buatan (IB).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan madu sebagai pengganti fruktosa dalam pengencer Tris-KT mampu mempertahankan kualitas spermatozoa (motilitas dan viabilitas) kambing PE hingga hari keenam dan perlakuan P3 (Tris+KT+ Md madu 0,75 v/w) memberikan hasil terbaik dalam mempertahankan kualitas semen dengan persentase motilitas dan viabilitas tertinggi dibandingkan ketiga pengencer lainnya.

Daftar Pustaka

- Ardiansyah, Saili, T., dan Rahadi, S. 2020. Kualitas Semen Kambing Peranakan Etawah dengan Penambahan Lesitin Kedelai dalam Pengencer Tris Aminomethane Kuning Telur pada Penyimpanan Suhu 3-5°C. *Jurnal Ilmiah Peternakan Halu Oleo*, 2(1) : 30-35. DOI: 10.56625/jipho.v2i1.11162.
- Ariantje. S. O, Yusuf, T, L., Sajuthi, D., Arifiantini, R, I. 2014. Kualitas Semen Cair Kambing Peranakan Etawah dalam Modifikasi Pengencer Tris dengan Trehalosa dan Rafinosa. *Jurnal Veteriner*, 15(1): 11-22
- Arfah, H., Hasan, F Mia Setiawati. 2015. Pemberian Berbagai Jenis Madu dengan Rasio Pengenceran Berbeda Terhadap Kualitas Sperma Pangasianodon. *Jurnal Akuakultur*. 14 (2): 164–170
- Arfah, H., Hasan, F Mia Setiawati. 2021. Pengaruh Penggunaan Madu Sumbawa dan Madu Olahan Berbagai Konsentrasi Terhadap Kualitas Spermatozoa Epididimis Domba Setelah Penyimpanan Dalam Refrigerator. *Ovozoa*, 10(1).
- Badan Pusat Statistik. 2022. Produksi Daging Kambing Menurut Provinsi (Ton), 2020-2022.
- Barozha, D. L . 2015. The Effect of Honey to Motility and Viability Catfish (*Pangasius pangasius*) Spermatozoa. *Journal Majority*, 4(3).
- Danang, D.R., Isnaini, N., Trisunuwati, P. 2012. Pengaruh Lama Simpan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung Dalam Pengencer Ringer's Pada Suhu 40°C. *Jurnal Ternak Tropika*, 13: 47–57.

- Debby Urabi, Farida Farida, Tuti Puji Lestari. 2019. Pengaruh Penambahan Madu Pada Pengenceran Sperma Terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Baung (*Mystus Nemurus*). *Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmu Perikanan dan Kelautan*, 11(2).
- Dwitarizki ND, Ismaya, Asmarawati, W. 2015. Pengaruh Pengenceran Spermatozoa Dengan Air Kelapa Dan Aras Kuning Telur Itik Serta Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Domba Garut Pada Penyimpanan 5°C. *Buletin Peternakan* 39: 149-56.
- Hidayati, Arifiantini, R, I., Sajuthi, D. 2015. Preservasi Semen Kambing Peranakan Ettawa dalam Pengencer Tris dan Sitrat Kuning Telur dengan Penambahan Sodium Dodecyl Sulphate. *Jurnal Veteriner*, 16 (3) : 334-342.
- Inonie, R. L., Baa, L.O., Saili.T. 2016. Kualitas Spermatozoa Kambing Boerawa dan Kambing Kacang pada Penggunaan Tris Kuning Telur yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Tropis*, 3 (1): 53-64.
- Kusrianty, N., Nuraidil. 2020. Pengaruh Pemberian Pakan Tambahan Hijauan Lamtoro Terhadap Pertambahan Bobot Badan Kambing Kacang Yang Digembalakan. *TolisIlmiah: Jurnal Penelitian*, 2(2).
- Muhammady, Fachrezy, A., Ihsan, M, I. 2022. Kualitas Semen Cair Kambing Boer Dengan Pengencer Dasar Air Kelapa Hijau Muda Dan Penambahan Madu Selama Pendinginan di Suhu 4-5°C. *Thesis*. Universitas Brawijaya.
- Nadhilla, N,F. 2014. The Activity Of Antibacterial Agent Of Honey Against *Staphylococcus Aureus*. *Journal Majority*, 3: 94-101.
- Paulenz, H., Kommisrud E., dan Hofmo PO. 2000, Effect of Long-Term Storage at Different Tempertures on the Quality of Liquid Boar Semen. *Reprod Dom Anim*. 35: 83-85.
- Rahardhianto, A., Abdulgani, N., dan Trisyani, N. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu Dalam NaCl Fisiologis Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Selama Masa Penyimpanan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 1(1).
- Rahardhianto, A., Abdulgani, N., dan Trisyani, N. 2012. Pengaruh Konsentrasi Larutan Madu dalam NaCl Fisiologis terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Ikan Patin (*pangasius pangasius*) selama Masa Penyimpanan. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 1(1)
- Rizal, M., Sulistiowati, D., Sulaiman, A., Herdis, Sangadji, I. 2016. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Kambing Peranakan Ettawa yang Dipreservasi dengan Pengencer Tris dan Berbagai Konsentrasi Maltosa. *Jurnal Sain Veteriner*.
- Rizal, M., Thahir, M. 2016. Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawa yang Dipreservasi Dengan Berbagai Jenis Pengencer. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*, 3(3): 2572. DOI:10.33772/jitro.v3i3.2572.
- Salmah, N. 2014. Motilias, Presentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Pengenceran Andromed dan Tris Kuning Telur. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin.
- Suteky, T., Kadarsih, S., dan Novitasari, Y, Y. 2015. Pengaruh Pengencer Susu Skim dengan Sitrat Kuning Telur dan Lama Penyimpanan terhadap Kualitas Semen Kambing Persilangan Nubian dengan Peranakan Ettawa. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 3(2): 81-88. DOI:10.31186/jspi.id.3.2.81-88.

Tamo A, K.;Kusumawati; E.D., Krisnaningsih, A,T,N., 2017. Kualitas Spermatozoa Semen Sexing Kambing Peranakan Etawa (Pe) Dengan Metode Sedimentasi Putih Telur Menggunakan Pengencer Yang Berbeda. *Jurnal Sains Peternakan*. 5(1).