

Pengaruh Penambahan Ekstrak Semanggi Air (*Marsilea crenata*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Kaligesing

*Effect of Addition Water Clover (*Marsilea crenata*) Extract in Tris-Egg Yolk Extender on Semen Quality of Kaligesing Goat*

Aridha Elfarikha Windayanti*, Dyah Hariani

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: aridhaelfaa@gmail.com

Abstrak. Semen segar Kambing Kaligesing tidak dapat bertahan lama disimpan dalam suhu ruang, sehingga perlu disimpan dalam suhu beku agar spermatozoa dapat bertahan dalam waktu yang lama. Untuk itu, diperlukan pengencer tris kuning telur (TKT) dengan penambahan antioksidan untuk melindungi spermatozoa dari radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak semanggi air (ESA) sebagai antioksidan dalam pengencer TKT terhadap kualitas semen beku Kambing Kaligesing. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 konsentrasi ekstrak semanggi air (0%, 2%, 4% dan 6%) dalam TKT dengan 5 kali pengulangan. Indikator kualitas spermatozoa meliputi motilitas progresif, viabilitas spermatozoa, dan integritas membran sel spermatozoa. Data kualitas spermatozoa diuji menggunakan Anava. Apabila hasilnya signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan setelah pemberian ESA terhadap kualitas spermatozoa ($P < 0,05$). Pemberian ESA 2% menghasilkan hasil terbaik dengan motilitas sebesar $38,50 \pm 2,87$; viabilitas $47,46 \pm 4,74$; dan integritas membran sel spermatozoa $45,23 \pm 3,43$. Kesimpulan dalam penelitian ini adalah pemberian ESA dengan konsentrasi 2% pada pengencer TKT adalah konsentrasi paling baik dalam menjaga kualitas semen beku kambing Kaligesing.
Kata kunci: ekstrak semanggi air; pengencer tris kuning telur; kambing kaligesing; kualitas spermatozoa; pertanian

Abstract. Fresh semen of Kaligesing goats cannot be stored for a long time at room temperature, it needs to be stored at freezing temperature so spermatozoa can survive for a long time. Egg yolk tris (TKT) diluent is needed with additional antioxidant to protect spermatozoa from free radicals. This study was aimed to determine the effect of water clover extract (ESA) addition in TKT on the quality of frozen semen of Kaligesing goats. This study used a completely randomized design with 4 concentrations of ESA (0%, 2%, 4%, 6%) in TKT with 5 repetitions. The evaluated quality of spermatozoa included motility, viability, and spermatozoa cell membrane integrity. Spermatozoa quality data were tested using Anava. If the results were significant, testing was continued with Duncan's test. The results showed a significant effect of the administration of ESA on the quality of spermatozoa ($P < 0.05$). ESA at 2% concentration resulted in the best result with motility of 38.50 ± 2.87 , viability 47.46 ± 4.74 , and cell membrane integrity 45.23 ± 3.43 . The conclusion was the addition of 2% ESA in TKT diluent was the best concentration in maintaining the quality of frozen semen Kaligesing goats.

Keywords: water clover extract; tris-egg yolk extender; kaligesing goat; spermatozoa quality; agriculture

PENDAHULUAN

Salah satu ternak yang memiliki banyak manfaat adalah kambing Peranakan Etawa (PE). Kambing PE dibagi menjadi dua ras, yakni kambing PE Kaligesing dan kambing PE Senduro. Kambing PE Kaligesing merupakan hasil persilangan antara kambing Etawa dengan kambing Kacang (Fitriyah *et al.*, 2022). Manfaat yang dapat dihasilkannya antara lain daging dan susu dengan nilai gizi tinggi. Daging kambing dapat dijadikan sebagai sumber zat gizi makro yang mengandung kadar protein hewani sebesar 18,34% dan kadar lemak sebesar 7,61% (Firmiaty dan Anitasari, 2022). Daging kambing memiliki kalori yang lebih rendah dibandingkan dengan daging sapi maupun ayam secara berturut-turut sebesar 122 kalori, 179 kalori, dan 162 kalori (Diknaskeswan NTB, 2020). Dengan demikian, daging

kambing bermanfaat bagi kesehatan terutama jantung dibandingkan dengan daging sapi dan ayam (Firmiaty dan Antasari, 2022).

Berdasarkan Surat Keputusan Menteri Pertanian RI Nomor: 695/Kpts/PD.410/2/2013, kambing Peranakan Etawa (PE) sudah diresmikan menjadi kambing *breed* lokal Indonesia (Almaida *et al.*, 2020). Kambing PE Kaligesing berpotensi untuk dibudidayakan dan mempunyai produktivitas daging dan susu yang tinggi (Berliana, 2020). Hal tersebut mendukung untuk mendorong konsumsi daging pada masyarakat Indonesia, yang saat ini sebesar 0,045 kg/kapita dalam satu hari pada tahun 2020. Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan (2021) juga menyebutkan bahwa populasi domba dan kambing dari tahun ke tahun cenderung meningkat sebagai motor penggerak ekonomi masyarakat pedesaan. Hal ini dapat menunjang pemenuhan kebutuhan konsumsi daging kambing di dalam negeri.

Kebutuhan pangan daging kambing di Indonesia semakin meningkat, disusul pula dengan peningkatan kebutuhan ekspor. Hal ini menjadi tugas bersama untuk meningkatkan populasinya, baik pemerintah maupun masyarakat (Noor dan Hidayat, 2017). Upaya peningkatan produksi ternak di Indonesia dapat dilakukan dengan menerapkan bioteknologi tepat guna yang dapat dilakukan oleh peternak, yaitu menggunakan teknologi Inseminasi Buatan (IB). Menurut Dinas Pertanian dan Pangan Kapuas Hulu (2020), Inseminasi Buatan (IB) adalah suatu teknik untuk memasukkan semen beku ternak yang telah dicairkan (*thawing*) ke dalam saluran kelamin betina yaitu vagina dengan menggunakan *insemination gun*. Penggunaan IB memudahkan peternak dalam meningkatkan produktivitas ternaknya. Menurut Kusumaningrum (2022), keberhasilan IB dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu sumber daya manusia (SDM) seperti inseminator dan peternak, manajemen pemeliharaan, waktu pelaksanaan, dan kualitas semen.

Kualitas semen sangat berpengaruh terhadap keberhasilan IB. Semen segar berkualitas dihasilkan oleh pejantan yang berkualitas. Menurut Syafitri (2019), faktor yang mempengaruhi kualitas semen dari seekor pejantan unggul yaitu bobot badan, umur pejantan, genetik, suhu dan musim (hujan dan kemarau), serta frekuensi ejakulasi. Berliana (2020) menyatakan bahwa ternak kambing jantan yang produktif dan siap dikawinkan umurnya berkisar 10-18 bulan. Menurut SNI (2015), persyaratan kuantitatif kambing pejantan Kaligesing adalah berat badan minimum 20 kg dan lingkaran skrotum 20 cm. Semakin besar lingkaran skrotum, diasumsikan semakin banyak pula semen yang dihasilkan.

Pejantan yang berkualitas akan menghasilkan semen segar dengan kualitas yang baik pula. Kualitas semen dapat diamati dengan berbagai cara, yaitu secara mikroskopis dan makroskopis. Menurut Putranto *et al.* (2020), pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, bau, dan konsistensi semen. Sementara itu pemeriksaan spermatozoa secara mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas dan integritas membran spermatozoa. Semen dengan kualitas baik selanjutnya akan diproses untuk pembuatan semen beku demi keberhasilan inseminasi buatan. Berdasarkan SNI (2017), semen beku dalam IB berasal dari semen segar dengan motilitas minimum 70%, motilitas *post thawing* minimal 40%, gerakan individu spermatozoa minimum 2 (dua) ++.

Pada umumnya, semen segar hasil ejakulasi memiliki kualitas yang baik, namun setelah beberapa menit spermatozoa akan mengalami kematian massal. Hal ini disebabkan karena masa adaptasinya yang singkat (Rangkuti *et al.*, 2021). Menurut Gunawan (2021), semen segar hanya dapat bertahan selama 30 menit dalam suhu ruang, sehingga diperlukan pengencer untuk menjaga kualitas spermatozoa. Bahan pengencer berfungsi untuk memenuhi kebutuhan kimiawi dan fisik spermatozoa, sehingga kualitasnya terjaga. Hal ini didukung oleh pernyataan Amalia (2019) dan Baku *et al.* (2022), yang menyebutkan pengencer memiliki berbagai fungsi, di antaranya memperbanyak volume semen, sumber energi bagi spermatozoa, melindungi spermatozoa dari *cold shock*, menyediakan buffer yang berguna dalam mempertahankan pH, tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, mencegah adanya pertumbuhan mikroorganisme serta tidak menghambat pergerakan spermatozoa dan tidak bersifat toksik bagi spermatozoa. Ducha *et al.* (2023) menjelaskan bahwa fungsi pengencer adalah menyediakan kondisi kimia yang baik bagi spermatozoa karena mengandung komponen ionik seperti Na, K, Ca, Cl, Mg. Pengencer juga mengandung sumber energi yaitu fruktosa dan menjaga keseimbangan pH dari tris dan asam sitrat. Salah satu pengencer yang biasa digunakan dalam IB yaitu pengencer tris kuning telur (TKT). Tris bertindak sebagai penyangga (*buffer*) untuk menjaga tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit sekaligus mencegah perubahan pH yang disebabkan oleh asam laktat selama metabolisme spermatozoa berlangsung (Nurcholish, 2021). Kuning telur memiliki krioprotektan ekstraseluler dengan molekul besar, sehingga tidak dapat dilewati membran sel spermatozoa. Kuning telur mengandung protein dengan berat molekul tinggi (lesitin dan lipoprotein) yang akan melindungi spermatozoa selama pembekuan untuk mengurangi *cold shock* (Sugiarto *et al.*, 2014).

Pengencer berperan sebagai penunjang hidup spermatozoa. Namun demikian, diperlukan juga penyimpanan pada suhu rendah agar sel spermatozoa dapat disimpan dalam waktu yang lama. Penyimpanan pada suhu 4-5°C merupakan penyimpanan suhu rendah yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa selama 2-4 hari (Ducha, 2016). Perubahan suhu ruang (27°C) menuju suhu 4-5°C menyebabkan perubahan susunan lipid bilayer dalam membran sel spermatozoa akibat ketidakseimbangan ionik (*cold shock*) (Grötter *et al.*, 2019). Susunan lipid yang berubah menyebabkan pelepasan komponen fosfolipid dan kolesterol serta hilangnya proteinase akrosin pada spermatozoa (Ducha *et al.*, 2013). Kualitas semen yang masih di atas 50% pada suhu 4-5°C dapat dilanjutkan dengan pembekuan pada suhu -196°C (BIB Ungaran, 2011). Pembekuan semen dengan nitrogen cair suhu -196°C dapat mempertahankan masa simpan semen selama 30 tahun (Ismaya, 2014). Akan tetapi, membran sel spermatozoa dapat rusak akibat semen yang dibekukan karena terbentuknya kristal-kristal es yang runcing. Kristal es yang terbentuk berpotensi untuk menghancurkan membran sel spermatozoa, termasuk lipoprotein (Tambing *et al.*, 2000). Untuk itu, diperlukan komposisi bahan-bahan pengencer yang sesuai agar kualitas semen cair dan semen beku dapat terjaga.

Akibat penurunan suhu yang drastis selama pembuatan semen cair dan beku, kualitas semen seringkali mengalami penurunan akibat stress oksidatif (Zulkarnain *et al.*, 2020). Radikal bebas merupakan senyawa yang sangat reaktif karena memiliki elektron tak berpasangan di orbital terluarnya (Pratiwi *et al.*, 2022). Radikal bebas mampu mendegradasi *deoxyribonucleic acid* (DNA) spermatozoa akibat diaktifkannya beberapa enzim caspase (Widayati *et al.*, 2018). Salah satu upaya untuk melawan radikal bebas bagi spermatozoa untuk menjaga kualitas spermatozoa diperlukan adanya antioksidan yang berfungsi untuk melawan radikal bebas tersebut (Zulkarnain *et al.*, 2020). Senyawa antioksidan dapat menghambat radikal bebas yang merusak membran sel spermatozoa saat penyimpanan semen (Sitepu *et al.*, 2018). Antioksidan berfungsi akan memberikan satu elektron pada senyawa yang bersifat oksidan untuk menghentikan aktivitas senyawa oksidan tersebut (Zulaikhah, 2017).

Antioksidan terbagi menjadi dua, yaitu antioksidan sintesis dan antioksidan alami (Chrisanti, 2020). Salah satu bahan sumber antioksidan alami yaitu daun semanggi air. Nurjanah dan Abdullah (2012) menyatakan bahwa ekstrak semanggi air (*Marsilea crenata*) dengan pelarut metanol memiliki komponen bioaktif diantaranya alkanoid, karbohidrat, gula pereduksi, asam amino dan flavonoid. Wulandari (2019) menambahkan bahwa semanggi air (*Marsilea crenata*) memiliki antioksidan flavonoid yang bersifat sebagai akseptor terhadap radikal bebas. Menurut Zuraida *et al.* (2017), flavonoid merupakan senyawa fenol yang termasuk metabolit sekunder dan berfungsi sebagai antioksidan. Bria *et al.* (2022) menyatakan bahwa antioksidan dapat memperlambat atau mencegah proses oksidasi. Membran sel spermatozoa akan dilindungi oleh antioksidan sehingga dapat mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Hal tersebut didukung oleh Bebas *et al.* (2016) yang menyatakan antioksidan dapat menghentikan peroksidasi lipid pada membran sel spermatozoa, sehingga membran sel spermatozoa tetap utuh. Di sisi lain, Ma'arif *et al.* (2016) menyatakan bahwa *M. crenata* mengandung senyawa fitoestrogen yang tinggi (misalnya, lignan, stilben, coumestans, kumarin, dihidrokalkon, triterpenoid). Senyawa fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor estrogen sehingga dapat meningkatkan kadar estrogen dan progesteron. Panjaitan *et al.* (2020) menambahkan bahwa pemberian senyawa fitoestrogen perlu diperhatikan karena berpengaruh terhadap penurunan kualitas sperma.

Penelitian yang dilakukan oleh El Bahijat (2019) pada semen cair kambing Boer menggunakan ekstrak semanggi air (ESA) dengan konsentrasi 0%, 2%, 3%, dan 4% dalam pengencer tris aminomethan kuning telur menunjukkan bahwa semakin tinggi ekstrak semanggi air yang ditambahkan, maka taraf kualitas semen kambing Boer pada suhu 3-5°C semakin meningkat. Penambahan optimal dihasilkan dari konsentrasi 4%, dengan motilitas individu sebesar $49,50 \pm 5,50\%$; viabilitas sebesar $67,53\% \pm 3,01\%$; dan integritas membran sebesar $61,98 \pm 2,78\%$. Penelitian lain yang dilakukan oleh Wahjuningsih *et al.* (2019) pada semen beku kambing dengan konsentrasi ESA 0%; 1%; 3% dan 5% dalam pengencer skim kuning telur, menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan ekstrak semanggi air, maka taraf kualitas semen kambing Boer pada suhu -196°C semakin menurun. Pemberian ekstrak optimal pada konsentrasi 3%, yang mendapatkan motilitas individu sebesar $58.5 \pm 4.74\%$; viabilitas sebesar 77.17 ± 2.11 , dan integritas membran sebesar $68.15 \pm 2.08\%$.

Penelitian eksperimental ini dilakukan untuk mengetahui tingkat konsentrasi suplementasi ESA yang tepat untuk ditambahkan dalam pengencer TKT sehingga dapat menjaga kualitas semen beku kambing Kaligesing. Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penambahan konsentrasi ESA (*Marsilea crenata*) dalam pengencer TKT terhadap kualitas semen beku Kambing Kaligesing serta mengkaji konsentrasi optimal ekstrak semanggi air dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen beku Kambing Kaligesing.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan ekstrak semanggi air dilakukan dengan mencuci semanggi air segar sebanyak 5 kg, kemudian dikeringkan dan di *blender* hingga mendapatkan 1,4 serbuk semanggi air. Serbuk kemudian direndam dengan methanol 6000 ml selama 3 hari untuk mendapatkan *supernatant*. Selanjutnya, evaporasi *supernatant* dilakukan dengan suhu 60° hingga tidak terdapat methanol yang mengalir pada alat evaporasi. Ekstrak yang sudah dibuat, nantinya akan dicampurkan dengan pengencer sebanyak perlakuan yaitu 0%, 2%, 4%, dan 6% dari seluruh total pengencer yang digunakan (El Bahijat, 2019).

Penampungan semen segar dilakukan dengan menyiapkan *artificial vagina* (AV) yang sudah diberi air hangat suhu 40°C-45°C dan *lubricant gel* sebagai pelumas. Setelah disiapkan, AV diarahkan ke ujung penis ketika pejantan menaiki *teaser*. Ujung penis yang sudah menyentuh mulut AV kemudian mengalami ejakulasi. Hasil semen yang sudah didapat kemudian dicatat volume ejakulasi, waktu dan dilakukan pengujian semen segar secara makroskopis dan mikroskopis (Naufal, 2019).

Pengujian semen secara makroskopis meliputi volume dengan melihat volume semen segar pada skala tabung penampung, uji pH dengan menggunakan pH meter untuk mengetahui derajat keasaman semen segar, warna dengan melihat secara langsung warna semen kambing pada tabung penampung, dan konsistensi dengan menggoyang tabung secara perlahan untuk melihat derajat kekentalan (Putranto *et al.*, 2020).

Pengujian semen segar secara mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas, dan viabilitas. Gerakan massa diamati dengan meneteskan satu tetes semen pada *object glass* untuk melihat gelombang yang ditimbulkan oleh pergerakan spermatozoa menggunakan mikroskop perbesaran 10x10 (Saputra, 2017). Motilitas individu diamati dengan meneteskan semen di *object glass* kemudian ditutup menggunakan *cover glass* dan diamati dengan perbesaran 40 x 10 (Hijriyanto, 2017), sedangkan viabilitas diamati dengan meneteskan semen di *object glass*, kemudian menambahkan larutan eosin-negrosin dan menghomogenkan keduanya. Homogenat diulas pada *object glass* dan dilakukan pengamatan viabilitas menggunakan mikroskop perbesaran 10 x 10 (Masyitoh *et al.* 2018).

Pengujian integritas membran dilakukan dengan meneteskan semen pada medium hipostomik, kemudian meneteskan kedua cairan tersebut ke *object glass* dan ditutup menggunakan *cover glass*. Integritas membran diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 4 x 10. Pengamatan integritas membran dilihat dari ekor spermatozoa. Ekor spermatozoa yang mengalami pembengkokan atau pembengkakan dapat diartikan memiliki membran utuh. Jika ekor terlihat lurus maka membran telah rusak (Rohman, 2018). Semen segar yang sudah sesuai dengan standar SNI (2017) ditandai dengan memiliki motilitas individu minimum 70% dan gerakan massa minimum 2 (dua) ++ dapat dilanjutkan untuk proses pembekuan.

Pada pembekuan semen, semen segar yang telah didapatkan kemudian dilakukan pengenceran yang terdiri dari tiga tahap yaitu pengenceran A1 (TKT+ESA+semen segar) dengan perbandingan pengencer dan semen sebanyak 1:1 pada *waterbath* suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengenceran A2 (TKT+FR+Larutan A1) pada *cool top* suhu yang sudah turun hingga 5°C dengan rumus merujuk pada Rahayu dan Ducha (2022) sebagai berikut:

$$\text{Vol. total} = \frac{\text{Vol.semen} \times \text{Konsentrasi spermatozoa} \times 0.25}{25 \times 10^6} \quad (1)$$

$$\text{Vol. A2} = \frac{\text{Vol.total}}{2} - \sum \text{Vol. semen} + \text{Vol. A1} \quad (2)$$

Selanjutnya pengenceran B (TKT 93%+gliserol 7%) pada *cool top* suhu 4-5°C dengan rumus merujuk pada Rahayu dan Ducha (2022) sebagai berikut:

$$\text{Vol. B} = \frac{\text{Vol.total}}{2} \quad (3)$$

Tahap *filling and sealing* dilakukan selanjutnya menggunakan mesin MPP Quatro untuk memasukkan semen ke dalam *straw* pada *cool top* suhu 4-5°C (Miraz *et al.*, 2022). Selanjutnya dilakukan tahap *pre-freezing* dengan meletakkan *straw* di atas nitrogen cair dengan suhu -140°C selama 9 menit. Setelah itu, *straw* dilakukan *freezing* dengan menggunakan nitrogen cair suhu -196°C. Semen beku kemudian dilakukan *thawing* pada suhu 37°C selama 30 detik (Novita *et al.*, 2019).

Pengamatan motilitas dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali dengan melihat gerak progresif spermatozoa (Sholeh *et al.*, 2020). Perhitungan persentase motilitas menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Motilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang progresif}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\% \quad (4)$$

Pengamatan viabilitas dilakukan dengan menambahkan pewarna eosin-negrosin untuk mengamati spermatozoa hidup yang bagian kepalanya tidak terwarnai, menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali (Armandasari *et al.*, 2021). Perhitungan persentase viabilitas dapat menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah kepala spermatozoa yang tidak terwarnai}}{\text{Jumlah total spermatozoa yang diamati}} \times 100\% \quad (5)$$

Pengamatan integritas membran spermatozoa dilakukan dengan menambahkan larutan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOST) untuk mengidentifikasi spermatozoa hidup yang bagian ekor melengkung menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali (Wijayanto *et al.*, 2019). Perhitungan persentase integritas membran dapat menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Integritas membran} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa ekor yang melingkar}}{\text{Jumlah total spermatozoa yang diamati}} \times 100\% \quad (6)$$

Pengamatan motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa yang diperoleh ditransformasikan dalam bentuk *Arcsin*. Kemudian dilakukan uji normalitas dengan *Kolmogorov-smirnov*, selanjutnya dilanjutkan dengan uji Anava. Hasil data Anava yang signifikan, dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perlakuan terbaik. Perhitungan statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS 23.0 *for Windows*.

HASIL

Hasil dari penelitian ini didapat dari semen segar kambing Kaligesing usia 2 tahun yang ditampung menggunakan *artificial vagina* (AV). Kualitas semen segar diuji secara makroskopis dan mikroskopis. Semen segar pada penelitian ini telah dikategorikan normal sesuai dengan standar SNI (2017), ditandai dengan semen segar memiliki motilitas minimum 70% dengan gerak massa spermatozoa minimum 2 ++. Hasil pengamatan dapat disajikan pada Tabel 1. Pemeriksaan semen segar dilakukan untuk mengetahui kelayakan semen untuk proses lebih lanjut.

Tabel 1. Hasil evaluasi semen segar Kambing Kaligesing yang digunakan pada penelitian

Parameter	Hasil Evaluasi
Warna	Putih kekuningan
Volume	1 ml
Konsistensi	Kental
Ph	6,7
Konsentrasi	3545 x 10 ⁶
Motilitas massa	+++ (3+)
Motilitas Individu (%)	70
Viabilitas (%)	87,50
Integritas (%)	83,65

Berdasarkan Tabel 2, pemberian konsentrasi ESA 2% menghasilkan motilitas *pre-freezing* tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Tren motilitas spermatozoa *pre-freezing* menunjukkan peningkatan pada penambahan ESA 2% dan mengalami penurunan seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Motilitas spermatozoa *pre-freezing* berkisar antara 38,00±1,62% sampai dengan 59,00±1,29%. Motilitas spermatozoa tertinggi didapatkan pada konsentrasi ESA 2% yaitu sebesar 59,00%±1,29% dan motilitas spermatozoa terendah ada konsentrasi ESA 6% yaitu sebesar 38,00±1,62%.

Tabel 2. Motilitas spermatozoa kambing Kaligesing dengan berbagai konsentrasi ekstrak semanggi air dalam pengencer Tris kuning telur.

Perlakuan Ekstrak Semanggi Air (%)	Motilitas		Penurunan Motilitas (%)
	Pre-freezing	Post Thawing	
0	52,00±1,56 ^C	22,00±2,39 ^b	30,00
2	59,00±1,29 ^D	38,50±2,87 ^c	20,50
4	47,00±1,57 ^b	24,00±3,83 ^b	23,00
6	38,00±1,62 ^A	15,00±5,68 ^a	23,00

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$)

Pemberian konsentrasi ESA 2% menghasilkan motilitas *post thawing* tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Motilitas spermatozoa *post thawing* menunjukkan tren meningkat pada penambahan ESA 2% dan mengalami tren menurun seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Motilitas spermatozoa *post thawing* berkisar antara 15,00±5,68% sampai dengan 38,50±2,87%. Motilitas spermatozoa tertinggi didapatkan pada konsentrasi ESA 2% yaitu sebesar 38,50±2,87% dan motilitas spermatozoa terendah pada konsentrasi ESA 6% yaitu sebesar 15,00±5,68%. Hal tersebut menunjukkan adanya penurunan motilitas ketika semakin besar konsentrasi ESA yang ditambahkan.

Berdasarkan hasil uji Anava, maka dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh pemberian ESA terhadap motilitas *pre-freezing* dan *post thawing*. Penambahan ekstrak semanggi air 2% berbeda nyata dari semua perlakuan, serta memiliki nilai persentase motilitas *pre-freezing* dan *post thawing* terbaik yaitu 59,00±1,29% dan 38,50±5,68%. Perlakuan penambahan ESA 6% memiliki nilai persentase motilitas *pre-freezing* dan *post thawing* terendah yaitu 38,00±1,62% dan 15,00±2,87%.

Hasil penelitian viabilitas spermatozoa setelah diberi perlakuan ESA dalam pengencer TKT *pre-freezing* dan *post-thawing* dapat dilihat pada Tabel 3. Pemberian konsentrasi ESA 2% menghasilkan viabilitas *pre-freezing* tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Viabilitas spermatozoa *pre-freezing* menunjukkan tren yang meningkat pada penambahan ESA 2% dan menurun seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Viabilitas spermatozoa *pre-freezing* berkisar antara 48,20±2,25% sampai dengan 69,72±1,21%. Viabilitas spermatozoa tertinggi didapatkan pada konsentrasi ESA 2% yaitu sebesar 69,72±1,21% dan viabilitas spermatozoa terendah pada konsentrasi ESA 6% yaitu sebesar 48,20±2,25%.

Tabel 3. Viabilitas spermatozoa Kambing Kaligesing dengan penambahan berbagai konsentrasi ekstrak semanggi air pada pengencer Tris kuning telur

Perlakuan Ekstrak Semanggi Air (%)	Viabilitas		Penurunan Viabilitas (%)
	Pre-freezing	Post Thawing	
0	60,39±3,30 ^b	28,20±1,97 ^a	32,19
2	69,72±1,21 ^c	47,46±4,74 ^b	22,26
4	57,27±1,53 ^a	33,38±6,54 ^a	23,89
6	49,20±2,25 ^a	24,85±4,57 ^a	24,35

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$)

Pemberian konsentrasi ESA 2% menghasilkan viabilitas *post thawing* tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain (Tabel 3). Viabilitas spermatozoa *post thawing* menunjukkan tren yang meningkat pada penambahan ESA 2% dan mengalami tren menurun seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Viabilitas spermatozoa *post thawing* berkisar antara 24,85±4,57% sampai dengan 47,46±4,74%. Viabilitas spermatozoa tertinggi didapatkan pada konsentrasi ESA 2% yaitu sebesar 47,46±4,74% dan viabilitas spermatozoa terendah pada konsentrasi ESA 6% yaitu sebesar 24,85±4,57%. Berdasarkan pemberian ESA dalam TKT menunjukkan bahwa penurunan viabilitas terjadi dengan semakin besar konsentrasi ESA.

Hasil penelitian integritas membran spermatozoa setelah diberi perlakuan ESA dalam pengencer TKT *pre freezing* dapat dilihat pada Tabel 4. Pemberian konsentrasi ESA 2% menghasilkan integritas membran spermatozoa *pre freezing* tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Integritas membran spermatozoa *pre-freezing* menunjukkan tren yang meningkat pada penambahan ESA 2% dan mengalami penurunan tren seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Integritas membran spermatozoa *pre freezing* berkisar antara 46,40±5,01% sampai dengan 67,43±2,78%. Integritas membran spermatozoa tertinggi didapatkan pada konsentrasi ekstrak semanggi air 2% yaitu sebesar 67,43±2,78% dan integritas membran spermatozoa terendah pada konsentrasi ekstrak semanggi air 6% yaitu sebesar 67,43±2,78%.

Tabel 4. Integritas membran spermatozoa Kambing Kaligesing dengan penambahan berbagai konsentrasi ekstrak semanggi air pada pengencer Tris kuning telur

Perlakuan Ekstrak Semanggi Air (%)	Integritas Membran		Penurunan Integritas Membran (%)
	Pre-freezing	Post Thawing	
0	57,61±2,43 ^b	28,01±2,67 ^a	29,60
2	67,43±2,78 ^c	45,23±3,43 ^b	22,20
4	56,04±0,60 ^b	33,25±6,67 ^a	22,79
6	46,40±5,01 ^a	24,49±5,23 ^a	22,91

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$)

Pemberian konsentrasi ESA 2% menghasilkan integritas membran spermatozoa *post thawing* tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain (Tabel 4). Integritas membran spermatozoa *post thawing* menunjukkan tren yang meningkat pada penambahan ESA 2% dan mengalami penurunan tren seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Integritas membran spermatozoa *post thawing* berkisar antara 24,49±5,23% sampai dengan 45,23±3,43%. Integritas membran spermatozoa tertinggi didapatkan pada konsentrasi ESA 2% yaitu sebesar 45,23±3,43% dan integritas membran spermatozoa terendah pada konsentrasi ESA 6% yaitu sebesar 24,49±5,23%. Penurunan integritas membran semakin tinggi semakin besar konsentrasi ESA yang ditambahkan.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian semen segar kambing PE, diketahui bahwa kualitas semen segar Kambing Kaligesing yang digunakan dalam penelitian ini secara makroskopis memiliki volume 1 ml; warna putih kekuningan; derajat keasaman (pH) 6,7; dan konsistensi sedang. Secara mikroskopis, semen segar kambing Kaligesing yang digunakan pada penelitian ini memiliki konsentrasi 3545×10^6 ; motilitas massa +++ (3+); motilitas individu 70%; viabilitas sebesar 80,57% dan integritas membran sebesar 83,65% (Tabel 1). Semen segar ini dapat dikategorikan normal sesuai dengan standar SNI (2017) yang mensyaratkan motilitas minimum 70% dan gerakan massa spermatozoa minimum 2 (dua) ++.

Semen segar pejantan kambing Kaligesing pada Balai Inseminasi Buatan (BIB) Ungaran berkualitas baik karena induk dari pejantan kambing Kaligesing diperoleh dari *breed* yang unggul yang merupakan pemberian dari Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Manajemen pemeliharaan sesuai dengan SNI (2019) yang menjelaskan bahwa persyaratan mutu pakan konsentrat yang baik yaitu memiliki kadar air maksimal 13%; abu maksimal 8%; protein kasar maksimal 10%; lemak kasar maksimal 7%; kalsium 1,30-0,80%; fosfor total minimal 0,20%; *Neutral Detergent Fiber* maksimal 35%; *Total Digestible Nutrient* 60% dan aflatoxin total maksimal 200 µg/kg. Selain manajemen, usia kambing juga mempengaruhi kualitas semen segar Kambing PE. Penelitian ini menggunakan Kambing Kaligesing usia 2 tahun. Sementara Heriyanta *et al.* (2014) menyatakan bahwa kambing PE dengan kualitas paling baik yaitu pada usia 3-4 tahun. Kualitas kambing PE Kaligesing masih dapat ditingkatkan seiring dengan pertambahan usia. Dari manajemen pemeliharaan dan pemilihan usia yang baik, tentunya akan menghasilkan kualitas semen segar yang baik pula. Semen segar yang sesuai standar kemudian dapat dilanjutkan dengan proses pengenceran, pendinginan dan pembekuan.

Motilitas spermatozoa yang disimpan pada suhu ruang 27°C menuju suhu 4-5°C nilainya berkisar 38,00±1,62% sampai dengan 59,00±1,29%. Motilitas spermatozoa yang disimpan dari suhu 27°C menuju suhu 4-5°C mengalami penurunan. Penurunan motilitas spermatozoa terjadi akibat ROS (*reactive oxygen species*). Palhares *et al.* (2020) menyatakan bahwa kerusakan akibat ROS terjadi karena spermatozoa kaya asam lemak tak jenuh yang rentan terhadap peroksidasi, sehingga dapat merusak protein membran sel. Kerusakan membran sel spermatozoa akibat ROS merubah tatanan rantai asam lemak dan protein, sehingga dapat mengganggu tingkat homeostasis membran sel spermatozoa yang mengakibatkan keluar masuknya ion yang berperan dalam metabolisme spermatozoa seperti Ca^{2+} , K^+ , Na^+ . Metabolisme spermatozoa yang terganggu akan menurunkan produksi adenosina trifosfat (ATP) pada mitokondria yang berperan penting dalam pergerakan spermatozoa.

Motilitas *post thawing* setelah pembekuan suhu -196°C berkisar antara 15,00±5,68% sampai dengan 38,50±2,87%. Perubahan suhu drastis dari 4-5°C menuju -196°C mengalami penurunan motilitas akibat pembentukan kristal es tajam yang dapat merusak membran plasma dan inti sel spermatozoa. Prihantoko *et al.* (2020) menyatakan bahwa kerusakan membran mengganggu kondisi homeostasis pada membran sel, sehingga nutrisi dan ion Ca^{2+} , K^+ , Na^+ dan enzim aspartat aminotransferase (AspAT) yang memproduksi ATP dari dalam membran sel spermatozoa akan keluar dan mengurangi frekuensi pergerakan spermatozoa. Namun kerusakan dapat diminimalisir dengan penambahan gliserol

sebagai krioprtektan untuk melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat pembekuan. Hal ini dipertegas oleh Pubiandara *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa pembentukan kristal es mengakibatkan keluarnya ATP pada mitokondria sehingga menurunkan presentase motilitas.

Terdapat pengaruh penambahan ESA dalam pengencer tris kuning telur terhadap motilitas spermatozoa. Hal ini ditunjukkan dengan tren motilitas *pre-freezing* dan *post thawing* yang semakin menurun seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Motilitas terbesar diperoleh dari penambahan konsentrasi ESA 2% yaitu sebesar $59,00 \pm 1,29\%$ pada *pre-freezing* dan $38,50 \pm 2,87\%$ pada *post thawing*. Pemberian konsentrasi ESA 2% menghasilkan motilitas tertinggi, meskipun belum memenuhi standar SNI (2017) yaitu $\geq 40\%$. Pemberian ESA konsentrasi 2% menghasilkan motilitas tertinggi karena kandungan flavonoid sebagai antioksidan. Kandungan flavonoid pada semanggi air sebesar 937 mg/100 g (Nurjanah dan Abdullah, 2012). Hal ini diperkuat oleh pernyataan Montano *et al.* (2022) yang menjelaskan bahwa flavonoid dapat secara cepat memberikan atom hidrogen pada senyawa radikal bebas (R^* , ROO^*), menjadikannya lebih stabil, dan juga mengikat ion logam untuk mencegah pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Namun pemberian ESA dalam pengencer TKT memiliki tren yang semakin menurun seiring dengan penambahan konsentrasi ESA dengan motilitas terbesar pada konsentrasi 2% dan motilitas terendah pada konsentrasi 6%. Hal ini terjadi akibat kandungan bioaktif pada semanggi air. Gopalakrishnan dan Udayakumar (2017) menyatakan bahwa semanggi air mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, terpenoid, saponin dan alkaloid. Saponin dan alkaloid yang terkandung dalam ESA dapat menyebabkan berkurangnya integritas membran spermatozoa yang terdiri dari lipid dan protein. Akbar (2010) menyatakan bahwa saponin yang berlebih dapat melemahkan integritas membran spermatozoa yang terdiri dari lipid bilayer sehingga elastisitas membran sel spermatozoa akan berkurang dan mengganggu proses transport aktif.

Viabilitas spermatozoa *pre-freezing* berkisar antara $49,20 \pm 2,25\%$ sampai dengan $69,72 \pm 1,21\%$. Penurunan viabilitas spermatozoa pada *pre-freezing* dapat terjadi akibat meningkatnya aktivitas metabolisme spermatozoa. Utomo dan Boquifai (2010) berpendapat bahwa proses metabolisme spermatozoa berlangsung terus menerus akan mengakibatkan terjadinya penumpukan asam laktat. Semakin banyak jumlah asam laktat maka akan terjadi peningkatan kerusakan membran sel spermatozoa akibat penurunan proses metabolisme dan respirasi spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pernyataan Setiadi (2014) yang menyatakan bahwa spermatozoa yang telah mati menjadi toksik bagi spermatozoa lain yang hidup sehingga akan menurunkan kualitas spermatozoa.

Berdasarkan Tabel 3, viabilitas spermatozoa *post thawing* pada suhu -196°C berkisar antara $24,85 \pm 4,57\%$ sampai dengan $47,46 \pm 4,74\%$. Tren viabilitas spermatozoa *post thawing* terus mengalami penurunan seiring dengan penambahan konsentrasi ESA, dengan viabilitas spermatozoa terbesar didapatkan pada konsentrasi ESA 2% yaitu sebesar 47,46% dan viabilitas terendah ada konsentrasi ESA 6% yaitu sebesar 24,85%. Perubahan suhu yang drastis, $4-5^\circ\text{C}$ menuju -196°C mengalami penurunan viabilitas akibat terbentuknya kristal es yang merusak membran spermatozoa sehingga mengakibatkan keluarnya cadangan makanan akibat ketidakseimbangan cairan elektrolit dan perbedaan konsentrasi. Perbedaan konsentrasi mengakibatkan pertukaran larutan intraseluler dan ekstraseluler antara pengencer dan spermatozoa yang mengeluarkan nutrisi dari dalam sel spermatozoa sehingga mengakibatkan kematian sel akibat dehidrasi (Hoesni, 2017)

Berdasarkan Tabel 3, pemberian ESA dalam pengencer tris kuning telur berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa. Tren viabilitas spermatozoa *pre-freezing* dan *post thawing* terus mengalami penurunan seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Pemberian ESA dengan konsentrasi 2% menghasilkan viabilitas tertinggi, namun belum memenuhi standar SNI yaitu viabilitas $\geq 50\%$. Konsentrasi ESA 2% menghasilkan viabilitas spermatozoa tertinggi akibat kandungan flavonoid sebagai antioksidan. Flavonoid pada semanggi air akan memberikan atom hidrogen pada radikal bebas sehingga mencegah pembentukan anion superoksida pada mitokondria yang memicu timbulnya ROS (Simanjuntak, 2012).

Semanggi air pada konsentrasi 2% hanya mampu mempertahankan daya hidup sel spermatozoa sebesar $46,47 \pm 4,74\%$ dan terus mengalami penurunan seiring dengan penambahan ESA pada konsentrasi 4% dan 6%. Kandungan bioaktif saponin dan alkaloid pada ESA yang berlebih mampu menurunkan viabilitas spermatozoa. Alkaloid berlebih akan meningkatkan ion Na^+ dan K^+ dan menghambat enzim ATPase, sehingga keluarnya nutrisi dan pembentukan ATPase dalam spermatozoa menghambat diproduksinya ATP pada bagian *middle piece* (Wuwungan *et al.*, 2017). Ion K^+ yang berlebihan pada sel spermatozoa akan mengaktifkan enzim endonuklease yang dapat merubah struktur DNA pada inti sel. Hal ini dipertegas oleh Akbar (2010) yang menyatakan bahwa saponin

yang berlebih pada semanggi air dapat melemahkan ikatan lipid dan protein pada membran sel spermatozoa, sehingga terjadi perubahan osmolaritas yang dapat mengeluarkan nutrisi pada sitoplasma. Dengan demikian, viabilitas spermatozoa akan semakin menurun.

Berdasarkan hasil pada Tabel 4, integritas membran spermatozoa pada suhu 4-5°C berkisar antara 46,40±5,01% sampai dengan 67,43±2,78%. Penurunan integritas membran spermatozoa dari suhu 27°C menuju 4-5°C terjadi akibat terganggunya keseimbangan osmotik sehingga terjadi perpindahan cairan dari dalam sel ke luar sel. Kusumawati *et al.* (2019) menyatakan bahwa terganggunya keseimbangan osmotik dapat merusak membran sel spermatozoa, akibatnya nutrisi dan ion yang dibutuhkan spermatozoa tidak tersedia sehingga mengakibatkan kematian. Hal ini dipertegas oleh Setiono *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa penurunan suhu yang drastic menyebabkan tekanan osmotik sehingga dapat merusak membran sel spermatozoa.

Berdasarkan Tabel 4, integritas membran spermatozoa *post thawing* pada suhu -196°C berkisar antara 24,49±5,23% sampai dengan 45,23±3,43%. Penurunan suhu 4-5°C menuju -196°C mengalami penurunan integritas membran akibat terbentuknya kristal es yang tajam. Kristal es dapat merusak membran sel spermatozoa sehingga nutrisi dari dalam sel ke luar. Moore *et al.* (2005) menyatakan bahwa penurunan suhu drastis memicu pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) akibat dari osmolaritas yang ekstrim. Jika ROS meningkat maka akan terjadi peroksidasi lipid yang merubah komposisi membran plasma sehingga dapat merusak membran spermatozoa. Namun kerusakan membran akibat pembekuan dapat diminimalisir dengan penambahan kuning telur sebagai krioprotektan yang akan menyelubungi membran sel sehingga melindungi membran sel spermatozoa

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 4, pemberian ESA dalam pengencer tris kuning telur berpengaruh terhadap integritas membran sel spermatozoa. Tren integritas membran sel spermatozoa *pre-freezing* dan *post thawing* terus mengalami penurunan seiring dengan penambahan konsentrasi ESA. Konsentrasi ESA 2% memiliki integritas membran tertinggi karena kandungan flavonoid pada semanggi air. Parera dan Lenda (2022) menyarankan bahwa flavonoid pada semanggi air akan memberikan satu atom hidrogen pada radikal bebas untuk meminimalisir pembentukan ROS.

Ekstrak semanggi air pada konsentrasi 2% hanya mampu mempertahankan integritas membran spermatozoa sebesar 24,49±5,23% dan semakin menurun seiring penambahan ESA 4% dan 6%. Hal ini terjadi akibat kandungan bioaktif saponin pada ESA. Kandungan saponin akan melemahkan ikatan lipid dan protein pada membran sel spermatozoa (Akbar, 2010). Hal ini dipertegas oleh Puteri (2019) yang menyatakan bahwa membran sel spermatozoa yang utuh akan menyerap larutan hipoosmotik dan mengakibatkan pembengkakan pada spermatozoa sehingga ekor spermatozoa akan melingkar. Sementara spermatozoa dengan membran tidak utuh, tidak dapat menyerap larutan hipoosmotik sehingga ekor spermatozoa akan lurus.

Hasil penelitian motilitas, viabilitas dan integritas membran sel spermatozoa lebih rendah dari penelitian Wahjuningsih *et al.* (2019). Hal ini disebabkan karena konsentrasi ESA yang terlalu tinggi. Penelitian Wahjuningsih *et al.* (2019) menggunakan skim kuning telur sebagai pengencer dengan penambahan ESA. Susu skim sendiri memiliki komponen lesitin dan lipoprotein yang dapat digunakan untuk mengencerkan semen guna melindungi spermatozoa dari efek *cold shock*. Spermatozoa terlindungi dari kerusakan peroksidasi oleh kombinasi susu skim dan kuning telur. Membran sel spermatozoa dilindungi krioprotektan dari susu skim dan kuning telur sehingga dapat mencegah peroksidasi lipid dan kerusakan membran sel spermatozoa dapat diminalisir (Bardan *et al.*, 2009).

Konsentrasi ESA terendah pada 2% menghasilkan motilitas, viabilitas dan integritas membran tertinggi. Namun pemberian konsentrasi 2%, 4%, dan 6% menyebabkan kualitas spermatozoa semakin menurun. Hal ini dapat terjadi karena peneliti menggunakan interval konsentrasi terlalu besar yaitu penambahan sebanyak 2%. Maka pada penelitian yang akan datang, penggunaan ESA sebagai antioksidan perlu dikombinasikan dengan pengencer skim kuning telur. Apabila menggunakan tris kuning telur, interval konsentrasi ESA yang ditambahkan perlu diturunkan pada 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2% untuk mendapatkan hasil yang optimal.

SIMPULAN

Penambahan Ekstrak Semanggi Air (ESA) dengan berbagai konsentrasi pada pengencer Tris Kuning Telur (TKT) memberikan pengaruh terhadap kualitas spermatozoa Kambing Peranakan Etawa pada saat sebelum dan setelah pembekuan. Penambahan konsentrasi ekstrak semanggi air 2% pada pengencer TKT adalah yang paling baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa Kambing Peranakan Etawa dibandingkan dengan penambahan ekstrak 4% dan 6%. Namun masih perlu

penelitian lebih lanjut untuk melihat konsentrasi paling optimal dengan menurunkan interval perbedaan antar konsentrasi ekstrak semangi air.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press
- Almaida RG, Oktanella Y, dan Ciptadi G, 2020. Variasi Genetik Kambing Senduro dan Peranakan Etawa (PE) Berdasarkan Sekuen Gen CYT-B (Cytochrome-B) Dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*; 21(2): 102-110.
- Baku A, Dethan AA, and Tahuk PK, 2022. Quality of Landrace Semen in Yolk Citrate Cement which Plus Glucose with Different Concentrations. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*; 4(1): 42-55.
- Bardan B, Feradis F, dan Adelina T, 2009. Penggunaan Air Tebu yang Dikombinasikan dengan Kuning Telur sebagai Pengencer Semen Sapi Bali. *Jurnal Peternakan*; 6(2).
- Bebas, W, Buyona GL dan Budiasa MK, 2016. Penambahan Vitamin E pada Pengencer BTS® terhadap Daya Hidup dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace pada Penyimpanan 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*; 8(1): 1-7
- Berliana CL, 2020. Pengaruh Umur Terhadap Kualitas Semen Segar Kambing Peranakan Etawa (PE) di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Thesis*. Tidak Dipublikasikan. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung.
- BIB Ungaran (Petunjuk Teknis). 2011. *Standar Operasional Pelayanan (SOP)*. BIB Sidomulyo Ungaran, Semarang
- Bria MM, Nalley WM, Kihe JN. dan Hine TM, 2022. Pengaruh Substitusi Sari Buah Semangka (*Citrullus Lanatus*) Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Nukleus Peternakan*; 9(1): 23-32.
- Diknaskeswan NTB. 2020. *Fakta Nutrisi Dibalik Daging Kambing*. <http://disnakeswan.ntbprov.go.id/>, diakses pada 20 Oktober 2022
- Dinas Pertanian dan Pangan Kapuas Hulu. 2020. *Inseminasi Buatan pada Sapi*. <https://distanpangan.kapuashulukab.go.id/>, diakses pada 28 November 2022
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2021. *Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2021*. Available at: <https://ditjenpkh.pertanian.go.id>.
- Ducha N, 2016. Motilitas Spermatozoa dari Semen Sapi yang Berbeda Selama Penyimpanan pada Suhu 4-5°C dalam Pengencer CEPD dengan Suplementasi Kuning Telur. Artikel disajikan dalam *Prosiding Semnas Biologi 2016*.
- Ducha N, Hariani D, Budijastuti W, Susilawati T, and Wahyuningsih, S, 2023. Effects of Adding a-tocopherol to Brahman Bull Chilled Semen on Sperm Quality, Lipid Peroxidation, Membrane Integrity, and DNA Integrity. *Iranian Journal of Veterinary Science & Technology*; 15(1).
- Ducha N, Susilawati T, dan Wahyuningsih S, 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan Pada Refrigerator Dalam Pengencer CEP-2 Dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*; 7(1).
- El Bahijat BM, 2019. Suplementasi Ekstrak Semangi Air (*Marsilea crenata*) dalam Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer Selama Penyimpanan Suhu 3-5°C. *Skripsi*. Universitas Brawijaya.
- Firmiatiy S. dan Anitasari B, 2022. Potensi Ternak Kambing PE sebagai Sumber Pendapatan dan Protein Hewani Bagi Masyarakat Endrekang Sulawesi Selatan. *Open Community Service Journal*; 1(2): 71-76.
- Fitriyah A, Subagia H, Hasanah N, dan Adhyatma M, 2022. Perbedaan ras kambing PE Kaligesing dan PE Senduro terhadap pertumbuhan anak kambing mulai lahir-sapih. *Conference Proceeding Series 3*, 87- 94.
- Gopalakrishnan K, and Udayakumar R, 2017. Phytochemical content of leaf and stem of *Marsilea quadrifolia* (L.). *Journal of Plant Science and Phytopathology*; 1: 26-37.
- Grötter LG, Cattaneo L, Marini PE, Kjelland ME, and Ferré LB, 2019. Recent advances in bovine sperm cryopreservation techniques with a focus on sperm post-thaw quality optimization. *Reproduction in Domestic Animals*; 54(4): 655-665.
- Gunawan RA, 2021. Pengaruh Vitamin E Dan C Pada Pengencer Semen Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Ayam Kub Pada Suhu Ruang. Doctoral Dissertation. Tidak Dipublikasikan. Universitas Gadjah Mada.
- Heriyanta E, Ihsan MN, dan Isnaini N, 2014. Pengaruh Umur Kambing Peranakan Etawah (PE) terhadap Kualitas Semen Segar. *Journal of Tropical Animal Production*; 14(2): 1-5.
- Hijriyanto M, 2017. Pengaruh Frekuensi Penampungan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa pada Ayam Bangkok. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*; 1(1).

- Hoesni F, 2017. Pengaruh penggunaan tris dalam pengencer susu skim terhadap resistensi spermatozoa sapi Simmental pasca pembekuan. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*; 19(2): 77-82
- Ismaya, 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Yogyakarta: Gadjah Mada Press
- Kusumaningrum R, 2022. Antara Persepsi Peternak dan Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) dalam Upaya Percepatan Peningkatan Populasi Sapi. *Jurnal Kajian Islam Modern*; 8(1): 20-37.
- Kusumawati ED, Rahadi S, Nurwathon S, dan Yulianti DL, 2019. Kualitas Post Thawing Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (PE) pada Suhu 37°C dengan Waktu yang Berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*; 6(2): 246-250.
- Masyitoh H, Suprayogi TW, Praja RN, Srianto P, Madyawati SP, dan Saputro AL, 2018. Persentase Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Sapera Dalam Pengencer Tris Kuning Telur dan Susu Skim Kuning Telur Before Freezing. *Jurnal Medik Veteriner*; 1(3): 105-112.
- Montano L, Maugeri A, Volpe MG, Micali S, Mirone V, Mantovani A, Navarra M, and Piscopo M, 2022. Mediterranean diet as a shield against male infertility and cancer risk induced by environmental pollutants: A focus on flavonoids. *International Journal of Molecular Sciences*; 23(3): 1568.
- Moore AI, Squires EL, and Graham JK, 2005. Adding Cholesterol to The Stallion Sperm Plasma Membrane Improves Cryosurvival. *Cryobiology*; 51(1): 241-249.
- Naufal T, 2019. Korelasi Antara Lingkar Skrotum Terhadap Kualitas Semen Kandidat Pejantan Sapi Madura. *Thesis*. Tidak Dipublikasikan. Universitas Airlangga.
- Noor, Y., dan R. Hidayat. 2017. Menggerakkan produksi ternak kambing domba berorientasi ekspor. *Indonesian Center for Animal Research and Development (ICARD)*: 37- 47.
- Novita R, Novrida H, dan Lestari S, 2019. Effect Of Long Thawing On The Quality Of Frozen Cow Brahman Cattle. *Jurnal Peternakan (Jurnal of Animal Science)*; 3(2): 69-78.
- Nurcholish F, 2021. Kualitas Spermatozoa Kerbau Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Yang Ditambahkan 4% Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L*) Dengan Waktu Equilibrasi Yang Berbeda. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim
- Nurjanah A. dan Abdullah A, 2012. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Semanggi Air (*Marsilea crenata*). *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*: 152-158.
- Palhares PC, de Lima Assis I, da Silva Souza, JG, de Souza Franca T, Egger RC, de Jesus Paula DA, and Murgas, LDS, 2020. Effect of melatonin supplementation to a cytoprotective medium on post-thawed Brycon orbignyanus sperm quality preserved during different freezing times. *Cryobiology*; 96: 159-165.
- Parera H, dan Lenda V, 2022. Motilitas Spermatozoa Babi Dalam Berbagai Modifikasi Pengencer yang Disimpan Pada Suhu 13°C Selama 4 Hari. In *Prosiding Seminar Nasional Penelitian*; 5(1)
- Pratiwi YI, Lukmayani Y, dan Patricia VM, 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Selenicereus monacanthus* (Lem.) DR Hunt) Menggunakan Metode DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). In *Bandung Conference Series: Pharmacy*; 2(2): 563-568.
- Prihantoko KD, Yuliasuti F, Haniarti H, Kusumawati A, Widayati DT, and Budiyanto A, 2020. The acrosome integrity examination of post-thawed spermatozoa of several ongole grade bull in indonesia using giemsa staining method. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*; 478(1): 012042
- Pubiandara S, Suharyati S, dan Hartono M, 2016. Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*; 4(4): 292-299.
- Puteri LO, 2019. Kualitas Semen Sapi Limousin Berdasarkan Lingkar Skrotum Yang Berbeda. Doctoral Dissertation. Tidak Dipublikasikan. Universitas Brawijaya.
- Putranto HD, dan Nurmeiliasari, Harferry KT, 2020. Studi kualitas semen ayam burgo. *Bull Trop Anim Sci*; 1(1): 10-15.
- Rahayu JD, dan Ducha N, 2022. Pengaruh Air Tebu sebagai Kandidat Pengganti Fruktosa dalam Pengencer CEP terhadap Kualitas Spematozoa Sapi *Friesian Holstein* Selama Penyimpanan Beku. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*; 10(2): 209-231.
- Rangkuti NJ, Suteky T, dan Putranto HD, 2021. Pengaruh Waktu Pre Freezing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali di UPTD IB Bengkulu. In *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian*; 2(1): 165-176.
- Rohman DF, 2018. Pengaruh Sari Bawang Putih (*Allium Sativum L.*) Dalam Pengencer Andromed Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Penyimpanan Suhu Kamar. *Thesis*. Tidak Dipublikasikan. Universitas Brawijaya.
- Saputra DJ, Ihsan MN, dan Isnaini N, 2017. Korelasi Antara Lingkar Skrotum dengan Volume Semen, Konsentrasi dan Motilitas Spermatozoa Pejantan Sapi Bali. *Journal of Tropical Animal Production*; 18(2): 59-68.
- Setiadi MA, 2014. Motilitas dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Epididimis Kucing Selama Penyimpanan pada Suhu 4°C. *Media Kedokteran Hewan*; 21(3).
- Simanjuntak K, 2012. Peran antioksidan flavonoid dalam meningkatkan kesehatan. *Bina Widya*; 23(3): 135-140.

- Sitepu SA, Udin Z, Jaswandi, and Hendri. 2018. Quality Differences of Boer Liquid Semen During Storage with Addition Sweet Orange Essential Oil in Tris Yolk and Gentamicin Extender. *Journal of Community Service and Research* 1: 78-82.
- SNI. 2015. Bibit kambing - Bagian 1 : Peranakan Etawah. Diakses melalui <http://sispk.bsn.go.id/SNI/DetailSNI/10392> pada tanggal 28 November 2022.
- SNI. 2017. Semen beku-Bagian 1: Sapi. Diakses melalui <http://sispk.bsn.go.id/SNI/DetailSNI/11372> pada tanggal 28 November 2022.
- SNI. 2019. Pakan konsentrat domba penggemukan. Diakses melalui <http://sispk.bsn.go.id/SNI/DetailSNI/12912> pada tanggal 28 November 2022.
- Sugiarto N, Susilawati T, dan Wahyuningsih S, 2014. Kualitas Semen Cair Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer CEP-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Sari Kedelai. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*; 14(1): 51-58
- Syafitri M. 2019. Pengaruh Variasi Individu Terhadap Kuantitas Dan Kualitas Semen Segar Kambing Boer Di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari. *Skripsi*. Universitas Brawijaya.
- Tambing SN, Toelihere MR, Yusuf TL, dan Sutama I, 2000. Pengaruh Gliserol dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Etawah. *Jurnal ilmu ternak dan veteriner*; 5(2): 1-8.
- Utomo S, dan Boquifai E, 2010. Pengaruh Temperatur dan Lama Thawing Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Dalam Penyimpanan Straw Beku. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*; 8(1): 22-25.
- Wahjuningsih S, Ciptadi G, and Pridiawati K, 2019. The Effect Of Water Clover (*Marsilea Crenata*) Extract Addition In Egg Yolk And Skim Milk Extender On Frozen Goat Semen Quality. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*; 387(1): 012103.
- Widayati A, and Hayati A, 2018. Effects of Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam) Oil on Malondialdehyde Level And Spermatozoa Quality in Mice (*Mus musculus*) Exposed to Monosodium Glutamate. *Folia Medica Indonesiana*; 54(2): 84-88.
- Wulandari D, 2019. Suplementasi Ekstrak Semanggi Air (*Marsilea Crenata*) Dalam Pengencer CEP-3 Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer Pada Penyimpanan Suhu 3-5°C. Thesis. Universitas Brawijaya.
- Wuwungan C, 2017. Kualitas spermatozoa tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) setelah pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.). *Pharmacoin*; 6(3).
- Zulaikhah ST, 2017. The Role of Antioxidant to Prevent Free Radicals in The Body. *Sains Medika*; 8(1): 39-45.
- Zulkarnain Z, Amrullah SH, Rukmana R, Nurman N, dan Alir RF, 2020. Keanekaragaman Flora Kandidat Antioksidan Dalam Memperbaiki Kualitas Spermatozoa Yang Telah Terpapar Asap Rokok. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi*; 6(1): 36-40.
- Zuraida Z, Sulistiyani S, Sajuthi D, dan Suparto IH, 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R. Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*; 35(3): 211-219.

Article History:

Received: 31 Juli 2023

Revised: 14 November 2023

Available online: 21 November 2023

Published: 31 Januari 2024

Authors:

Aridha Elfariha Windayanti, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: aridhaelfaa@gmail.com

Dyah Hariani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: dyahhariani@unesa.ac.id

How to cite this article:

Windayanti AE, Hariani D, 2024. Pengaruh Penambahan Ekstrak Semanggi Air (*Marsilea crenata*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Kaligesing. *LenteraBio*; 13(1): 105-116.