

Pengaruh Penambahan Sari Buah Melon Dalam Pengencer Tris-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Babi Duroc

The Impact of Adding Melon Juice to Tris-Egg Yolk Diluent on the Quality of Duroc Boar Spermatozoa

Fanny Tesalonika Hilly ^{*1}, Thomas Mata Hine ¹, Kirenus Uly ¹, dan Wilmientje Marlene Nalley ¹

¹ Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, Kupang-NTT

*Corresponding author: hlytslnkfnyo228@gmail.com

Received : 07 Januari 2025
Accepted : 15 Februari 2025
Published : 28 Februari 2025

Abstrak : Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui dampak dari penambahan sari buah melon (SBM) dalam pengencer Tris-kuning telur (T-KT) terhadap kualitas spermatozoa babi duroc. Semen segar ditampung dari dua ekor pejantan babi duroc berumur 2 tahun dan dalam kondisi sehat. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan lima ulangan yang terdiri atas $P_0 = T-KT 100\%$, $P_1 = T-KT 90\% + SBM 10\%$, $P_2 = T-KT 80\% + SBM 20\%$, $P_3 = T-KT 70\% + SBM 30\%$, $P_4 = T-KT 60\% + SBM 40\%$, $P_5 = T-KT 50\% + SBM 50\%$. Semen segar yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi standar dengan motilitas 76,20% dan abnormalitas 3,60%. Semen yang telah diencerkan kemudian dibagi ke dalam tabung eppendorf lalu disimpan dalam kotak pendingin dengan suhu 18-20°C dan diamati setiap 12 jam hingga persentase motilitas spermatozoa menurun hingga 40%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan P_3 mampu mempertahankan kualitas spermatozoa yang lebih tinggi dibanding lima perlakuan lainnya ($P < 0,05$) sejak jam ke-12 hingga jam ke-60 penyimpanan; kecuali pada parameter abnormalitas menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P > 0,05$). Kualitas spermatozoa babi duroc hingga jam ke-48 penyimpanan pada perlakuan P_3 adalah: motilitas 49,40%, viabilitas 59,16%, abnormalitas 5,41%, serta daya tahan hidup 58,71 jam. Kesimpulannya adalah dengan menambahkan sari buah melon dalam pengencer Tris – kuning telur efektif untuk menjaga kualitas spermatozoa babi duroc, dengan level sari buah melon yang terbaik adalah 30%.

Kata Kunci: sari buah melon, spermatozoa babi duroc, tris-kuning telur

Abstract : This research was conducted with the aim of determine the effect of addition melon juice (MJ) in Tris-egg yolk diluent (TEY) on the quality of duroc boar spermatozoa. Fresh semen accommodated from two males duroc boars aged 2 years and in good health. Research method using a Completely Randomized Design with six treatments and five replicates consisting of $T_0 = 100\% TEY$, $T_1 = 90\% TEY + 10\% MJ$, $T_2 = TEY 80\% + MJ 20\%$, $T_3 = TEY 70\% + MJ 30\%$, $T_4 = TEY 60\% + MJ 40\%$, $T_5 = TEY 50\% + MJ 50\%$. The fresh semen used in this study met the standard with motility 76,20% and abnormality 3,60%. The diluted semen was then divided into eppendorf tubes and then stored in the cooler box with a temperature of 18-20°C and observed every 12 hours until the percentage of motile spermatozoa decreased to 40%. The results of this study indicate that the T_3 treatment is able to maintain quality of spermatozoa which was higher compared to the other five treatments ($P < 0.05$) since 12th hour until the 60th hour of storage; except for the abnormality parameter which showed results that were not significantly different between treatments ($P > 0.05$). The quality of boars spermatozoa duroc to the 48th hour of storage in T_3 treatment were: motility 49.40%, viability 59.16%, abnormality 5.41%, and survival 58.71 hours. The conclusion is that by adding of melon juice to Tris – egg yolk diluent was effective to maintain the quality of duroc boar spermatozoa, and the best melon juice level is 30 percent.

Keywords: duroc boar spermatozoa, melon juice, tris-egg yolk

1. Pendahuluan

Pengenceran semen memegang peran penting dalam inseminasi buatan untuk meningkatkan efisiensi dan efektivitas reproduksi ternak. Tujuan

semen diencerkan ditujukan agar volume semen meningkat dan spermatozoa mendapatkan zat makanan untuk kelangsungan hidupnya. Oleh karena itu sangat dipengaruhi oleh sifat fisik dan kimia pengenceran yang digunakan, termasuk komponen

tambahan seperti antioksidan, pH, tekanan osmotik, nutrisi, dan lipid yang mendukung stabilitas membran sel. Faktor - faktor ini memainkan peran penting dalam mencegah kerusakan yang disebabkan oleh perubahan suhu selama penyimpanan [1]. Selain itu, [2] menyatakan bahwa selain oleh adanya *cold shock* penurunan kualitas semen juga dapat diakibatkan oleh adanya radikal bebas hasil sisa metabolisme, oleh karena itu, pengencer yang digunakan harus mengandung komponen yang dapat menjaga spermatozoa dari kejutan dingin, mengandung substrat energi, penyangga (*buffer*), serta pelindung sel spermatozoa seperti lipoprotein dan lesitin dalam kuning telur.

Bahan yang lazim digunakan sebagai pengencer adalah diantaranya kalium klorida (KCl), natrium klorida (NaCl), asam sitrat, Tris, fruktosa, laktosa, susu skim, air kelapa, sari buah tomat, sari wortel, kuning telur, filtrat jambu biji, madu [3]; [4]; [5]; [6]; [7]. Berbagai perubahan spermatozoa babi terjadi akibat dari penyimpanan, didalamnya integritas membran, struktur, fungsi, dan kesuburan. Disfungsi membran dimulai dengan tidak stabilnya lapisan fosfolipid, sehingga menambahkan kuning telur dapat mencegahnya [8]. Lipoprotein yang ada pada kuning telur dapat menjaga integritas lipoprotektif dari spermatozoa, tetapi juga mengandung fraksi lipoprotein kepadatan rendah yang dapat melindungi spermatozoa [9]. Kuning telur mengandung bahan - bahan lain dalam bentuk karbohidrat, vitamin, dan mineral yang mempertahankan kualitas spermatozoa. Sifat lipoprotein serta senyawa lesitin dalam kuning telur bekerja saat mempertahankan sperma terhadap sperma kejutan dingin [10] [11].

Tris adalah bahan umum yang digunakan dengan konsentrasi tinggi dan toksisitas rendah sebagai *buffer* yang sangat baik [12]. Tris sebagai pengencer juga ditambahkan kuning telur, karena komponen *buffer* kurang mampu melindungi spermatozoa. Kandungan asam-asam amino dalam kuning telur berperan menjaga integritas membran spermatozoa. [10] menyatakan bahwa kandungan didalam kuning telur berupa vitamin, mineral dan karbohidrat bermanfaat untuk menjaga kualitas spermatozoa.

Sari buah melon memiliki kandungan vitamin C, β -karoten (vitamin A), karbohidrat, kalium, magnesium, dan air yang tinggi. Semua komponen ini memainkan peran penting dalam meningkatkan kualitas sperma dengan melindungi kerusakan oksidatif, tingkat kelangsungan hidup dan motilitas sperma. Kerusakan sperma selama pengolahan semen terjadi karena radikal bebas [13]. Membran sel yang dimiliki ternak babi, tinggi akan asam lemak dan rentan dengan proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan peningkatan kekakuan pada membran sel, mengurangi kemampuan membran untuk mendeteksi enzim (termasuk ion), mengurangi aktivitas reseptor dan menurunkan permeabilitasnya

[14]. Penambahan antioksidan yang dapat menangkalkan peroksidasi lipid diperlukan untuk menangkalkan kerusakan sel yang terjadi selama penyimpanan, sehingga mengurangi senyawa radikal bebas [15]. Transportasi elektron ke radikal bebas oleh antioksidan dapat mencegah kerusakan sel. Tindakan antioksidan yang bekerja dengan menghambat rantai radikal bebas dari oksidasi dan pengurangan radikal bebas, sehingga mencegah pengurangan efek karena interaksinya dengan komponen seluler [16].

Pada penelitian sebelumnya diperoleh hasil bahwa pengencer 80 persen sari buah melon mampu menjaga dan mempertahankan kualitas spermatozoa kambing peranakan Ettawa dengan lebih baik [17]. Penelitian lain yang dilakukan oleh [18], melaporkan bahwa variasi kadar sari buah melon sangat efektif dalam peningkatan proporsi kadar spermatozoa normal. Penambahan sari buah melon ke dalam pengencer dengan sangat baik dalam peningkatan nilai motilitas spermatozoa pasca thawing, viabilitas spermatozoa, morfologi dan keutuhan membran plasma spermatozoa dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan sari buah melon) [18].

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek dan level paling baik sari buah melon (SBM) yang ditambahkan dalam pengencer TKT pada kualitas spermatozoa babi duroc.

2. Metode Penelitian

2.1. Materi Penelitian

Semen segar berasal dari dua ekor ternak babi jantan jenis duroc dalam keadaan sehat yang telah dewasa kelamin berumur 2 tahun.

2.2. Metode Penelitian

Metode penelitian eksperimental dengan RAL enam perlakuan (pengencer) dan lima ulangan. Keenam pengencer tersebut adalah T-KT 100% + 0% SBM (P₀), T-KT 90% + 10% SBM (P₁), T-KT 80% + 20% SBM (P₂), T-KT 70% + 30% SBM (P₃), T-KT 60% + 40% SBM (P₄), T-KT 50% + 50% SBM (P₅).

2.2.1 Penyiapan Bahan Pengencer

Sari buah melon disiapkan dengan mencuci hingga bersih buah melon dengan air mengalir kemudian dipotong menjadi beberapa bagian lalu dikupas untuk memisahkan antara kulit buah dan daging buah. Daging buah melon tersebut kemudian diambil sari buahnya menggunakan *juicer*. Setelah itu sari buah melon tersebut dibagi dalam tabung berskala kemudian disentrifugasi dalam 15 menit pada kecepatan 3000 rpm dengan tujuan untuk pemisahan filtrat dan residu. Filtrat hasil sentrifugasi kemudian dituang dalam tabung ukur lalu kemudian ditambahkan kuning telur dan antibiotik. Sari buah melon siap digunakan sebagai pengencer.

Telur dibersihkan dengan alkohol 70% lalu dipecahkan dan dipisahkan antara kuning dan putih telurnya. Kuning telur tersebut kemudian diletakkan diatas kertas saring lalu miringkan dengan hati-hati sehingga dapat diserap habis bagian putih telurnya. Setelah itu selaput vitelin yang membungkus kuning telur disobek menggunakan pipet yang steril dan dituang secara perlahan pada gelas ukur dan selanjutnya siap untuk digunakan.

Pengencer Tris disiapkan dengan menimbang Tris-hydroxymethyl aminomethane 3,634 gram, asam sitrat 1,99 gram, dan fruktosa 0,5 gram lalu dimasukan ke dalam tabung erlenmeyer kemudian ditambahkan aquabides sebanyak 100 mL lalu dihomogenkan. Setelah itu larutan Tris sebanyak 80% ditambahkan 20% kuning telur diberi antibiotik penicillin 1000 IU/ml dan streptomycin 1000 µg/ml, lalu dihomogenkan menggunakan *stirrer* lengkap dengan *spin bar*. Setelah homogen larutan Tris-kuning telur dimasukan kedalam tabung dan siap untuk digunakan sesuai perlakuan.

2.2.2 Penampungan Semen

Semen ditampung memakai metode *Glove hand method* (masase). Untuk memisahkan gelatin, wadah diberi kain saring. Semen segar lalu dievaluasi kualitasnya di laboratorium.

2.2.3 Evaluasi Semen

Semen dievaluasi dengan dua pendekatan, yaitu makroskopis dan mikroskopis. Pada makroskopis pengukuran volume semen dengan gelas ukur, warna diamati secara visual, pH memakai kertas indikator pH dan konsistensi dengan cara memiringkan tabung. Sedangkan evaluasi mikroskopis memakai mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali mencakup pengamatan subjektif spermatozoa motil dan tidak motil, viabilitas melalui pewarnaan eosin untuk melihat hidup mati spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa dengan mengamati kelainan bentuk pada spermatozoa serta konsentrasi spermatozoa.

2.2.4 Pengenceran Semen

Pengenceran semen dilakukan dengan perbandingan 2:1 sesuai dosis dengan total 6 mL untuk setiap perlakuan. Pasca pengenceran semen langsung dievaluasi untuk dilihat kualitas semen dalam pengencer perlakuan.

2.2.5 Preservasi Semen

Semen hasil pengenceran lalu dimasukan ke dalam tabung dan dipreservasi di dalam kotak pendingin dengan suhu 18-20°C menggunakan termometer sebagai kontrol. Semen dievaluasi setiap 12 jam hingga motilitas spermatozoa menurun hingga 40%.

2.2.6 Variabel Penelitian

(a). Motilitas

Motilitas adalah gerakan progresif spermatozoa. Peringkat secara subyektif dari 5 hingga 100, pada skala 5 berdasarkan persentase sperma bergerak dan nilai dinyatakan sebagai persentase (%).

(b). Viabilitas

Viabilitas spermatozoa diamati menggunakan pewarna eosin-nigrosin. Spermatozoa yang tidak menyerap warna adalah spermatozoa hidup sedangkan spermatozoa mati adalah yang menyerap warna. Pemeriksaan dilakukan pada 10 lapang pandang yang berbeda, setelah itu dihitung persentase hidup spermatozoa, menggunakan rumus:

$$Viabilitas = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

(c). Abnormalitas

Abnormalitas spermatozoa diamati morfologi spermatozoa yang tidak normal dan dihitung dengan rumus :

$$Abnormalitas = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang abnormal}}{\text{Total spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

(d). Daya tahan hidup

DTH diperoleh melalui menghitung lamanya masa penyimpanan spermatozoa hingga persentase motilitas menurun hingga 40%. Rumus perhitungan daya tahan hidup spermatozoa:

$$\text{Daya Tahan Hidup} = JPT + \frac{[MAS - MS]}{[MAS - MBS]} \times RWE$$

Keterangan: JPT = Jam pengamatan terakhir (dengan motilitas spermatozoa masih memenuhi standar IB), MAS = Motilitas spermatozoa yang berada persis di atas standar IB, MS = Motilitas spermatozoa standar IB, MBS = Motilitas spermatozoa yang berada persis di bawah standar IB, RWE = Rentang waktu evaluasi atau pengamatan spermatozoa.

2.2.7 Analisis Data

Semua data yang terkumpul dianalisis dengan uji *One Way Anova* dan uji *Duncan* menggunakan program software SPSS 25.0 for windows.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah pergerakan spermatozoa secara progresif yang diamati secara visual di bawah mikroskop pada sekurang-kurangnya lima lapang pandang [19]. Rata-rata nilai motilitas spermatozoa babi duroc disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil analisis motilitas spermatozoa dalam pengencer uji

JP	Perlakuan (%)						Pvalue
	Po	P1	P2	P3	P4	P5	
0	76,20±2,16 ^a	76,20±2,16 ^a	76,20±2,16 ^a	76,20±2,16 ^a	76,20±2,16 ^a	76,20±2,16 ^a	1,00
12	66,60±2,30 ^c	70,40±0,89 ^b	70,80±1,09 ^b	73,20±1,30 ^a	69,60±0,89 ^b	69,40±1,34 ^b	0,00
24	58,20±2,04 ^d	62,60±2,50 ^{bc}	63,80±2,16 ^b	67,40±1,94 ^a	61,40±2,19 ^{bc}	60,20±1,78 ^{cd}	0,00
36	46,20±3,89 ^d	54,00±3,74 ^{bc}	55,20±2,94 ^b	60,60±2,96 ^a	51,40±4,03 ^{bc}	49,60±0,89 ^{cd}	0,00
48	36,00±2,34 ^d	42,20±2,68 ^{bc}	44,40±2,60 ^b	49,40±3,84 ^a	41,00±2,64 ^{bc}	38,40±2,19 ^{cd}	0,00
60	26,00±2,34 ^c	33,00±3,46 ^b	33,00±3,63 ^b	39,00±2,23 ^a	30,60±2,96 ^b	30,00±3,80 ^{bc}	0,00

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). Po= T-KT 100% + 0% SBM, P1= T-KT 90% + 10% SBM, P2= T-KT 80% + 20% SBM, P3= T-KT 70% + 30% SBM, P4= T-KT 60% + 40% SBM, P5= T-KT 50% + 50% SBM. JP= jam penyimpanan ke-, T-KT= Tris-kuning telur, SBM= sari buah melon.

Berdasarkan **Tabel 1** hasil uji statistik menghasilkan persentase motilitas spermatozoa sesudah diencerkan untuk seluruh perlakuan berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Penurunan nilai motilitas mulai terlihat pada waktu penyimpanan ke-12 hingga dengan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). Hasil uji lanjut *Duncan* menunjukkan bahwa nilai motilitas paling tinggi spermatozoa sampai jam ke-48 penyimpanan ada pada perlakuan P3 (49,40%) dan disusul secara berurutan oleh P2, P1 dan P4 dengan persentase motilitas $> 40\%$. Persentase terendah dan berada di bawah standar motilitas spermatozoa berada pada perlakuan kontrol (Po) tanpa penambahan sari buah melon. Sebagai akibat dari sumber nutrisi bagi spermatozoa yang hanya mengandalkan nutrisi yang terkandung dalam Tris-kuning telur dan mulai berkurang seiring lamanya waktu penyimpanan akibat dari besarnya energi yang dimanfaatkan oleh spermatozoa. [20] juga menyatakan bahwa penurunan nilai motilitas spermatozoa sejalan dengan lamanya waktu preservasi dan ketersediaan nutrisi bagi spermatozoa.

Data yang ada menunjukkan nilai motilitas progresif spermatozoa dengan level 30% sari buah melon (P3) menunjukkan hasil yang konsisten lebih tinggi dan signifikan ($P < 0,05$) pada setiap jam penyimpanan dari jam ke-12 sampai jam ke-48 dengan persentase $> 40\%$. Hal ini berarti bahwa level sari buah melon yang tepat dan kandungan nutrisi terutama antioksidan memberikan efek positif terhadap pergerakan spermatozoa. [21] menjelaskan, spermatozoa ternak mamalia mengandung asam lemak yang sangat jenuh dan sangat rentan terhadap ROS, yang mengakibatkan berkurangnya motilitas sperma dan meningkatkan kerusakan morfologis, sehingga pada akhirnya menembus membran sel, mempengaruhi fungsi membran secara permanen. Sari buah melon kaya akan vitamin C dan senyawa fenolik, dan diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan ini membantu menjaga spermatozoa dari stres oksidatif yang menjadi penyebab rusaknya membran sel dan mengurangi motilitas. Dengan penambahan sari melon, motilitas spermatozoa dapat dipertahankan lebih baik dibandingkan tanpa perlindungan antioksidan. [13] menyatakan,

kandungan antioksidan dalam vitamin C dapat menghambat pengembangan radikal bebas karena aktivitas oksigen aktif dengan asam lemak tak jenuh dalam membran plasma spermatozoa, memungkinkan spermatozoa mempertahankan motilitas. [18] menyatakan bahwa kandungan senyawa dalam buah melon dibutuhkan oleh spermatozoa sehingga meningkatkan motilitas spermatozoa.

Selain mengandung vitamin C, sari buah melon juga mengandung antioksidan lain seperti β karoten yang juga berperan dalam mempertahankan motilitas spermatozoa. Menurut [22] Beta-karoten dapat bertindak sebagai koneksi antioksidan yang sangat baik. Beta-karoten, yakni senyawa antioksidan yang larut dalam lemak mampu memblokir reaksi rantai peroksidasi lipid dalam membran plasma. Beta-karoten sebagai koneksi antioksidan membantu mencegah kelebihan lipid peroksidasi membran plasma yang disebabkan oleh radikal bebas atau koneksi oksidatif [23].

Penelitian lain yang dilakukan oleh [24] dengan menggunakan pengencer sitrat dan sari buah melon pada spermatozoa babi landrace menunjukkan hasil yang berbeda, dimana dengan menambahkan sari buah melon mengakibatkan menurunnya motilitas spermatozoa. Perlakuan terbaik pada penelitian tersebut dihasilkan oleh Po (tanpa penambahan sari buah melon) 45,00% yang bertahan sampai 40 jam penyimpanan. Perbedaan hasil penelitian ini diperkirakan penyebabnya karena perbedaan komposisi bahan penyusun antara pengencer sitrat dan Tris, dimana pengencer Tris memiliki komposisi bahan yang lebih banyak karena mengandung Tris hydroxymethyl aminomethane dan asam sebagai *buffer*, fruktosa untuk sumber energi, dan juga kuning telur untuk melindungi spermatozoa akan adanya kejutan dingin. Sementara pengencer sitrat hanya mengandung natrium sitrat sebagai *buffer* dan tidak mengandung fruktosa sebagai sumber energi. Hal ini berdampak pada kemampuan buffering dari pengencer Tris yang lebih baik daripada pengencer sitrat, demikian pula dengan produksi energi yang banyak yang berasal dari fruktosa untuk pergerakan spermatozoa. [25] menyatakan bahwa pengencer Tris

punya beberapa keuntungan, diantaranya mampu menjaga pH, mempertahankan tekanan osmotik, dan menjaga keseimbangan elektrolit.. [26] juga menambahkan bahwa pengencer tris-kuning telur memiliki komposisi bahan yang lebih banyak dan kompleks sebagai penyedia nutrisi dan suplai energi yang baik untuk membuat spermatozoa hidup lebih lama.

Tabel 2. Hasil analisis viabilitas spermatozoa dalam pengencer uji

JP	Perlakuan (%)						Pvalue
	Po	P1	P2	P3	P4	P5	
0	89,73±0,79 ^a	91,12±4,37 ^a	93,07±5,34 ^a	93,20±4,58 ^a	91,44±4,06 ^a	91,12±4,37 ^a	0,772
12	76,16±3,92 ^c	82,63±2,05 ^b	82,63±2,06 ^b	86,64±2,32 ^a	82,60±2,99 ^b	80,86±2,30 ^b	0,00
24	69,26±0,53 ^d	74,94±4,53 ^{bc}	77,57±4,70 ^b	82,09±1,76 ^a	73,37±4,32 ^{bcd}	70,63±1,23 ^{cd}	0,00
36	55,87±3,20 ^d	64,24±5,17 ^{bc}	66,65±3,70 ^b	72,78±4,52 ^a	62,76±4,20 ^{bc}	60,34±1,42 ^{cd}	0,00
48	45,08±1,94 ^d	52,33±2,38 ^{bc}	55,25±3,14 ^b	59,16±4,05 ^a	49,98±1,94 ^c	49,74±1,21 ^c	0,00
60	36,39±2,16 ^c	43,48±5,53 ^b	44,24±4,88 ^b	50,04±0,80 ^a	41,07±6,31 ^{bc}	40,83±3,77 ^{bc}	0,002

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). Po= T-KT 100% + 0% SBM, P1= T-KT 90% + 10% SBM, P2= T-KT 80% + 20% SBM, P3= T-KT 70% + 30% SBM, P4= T-KT 60% + 40% SBM, P5= T-KT 50% + 50% SBM. JP= jam penyimpanan ke-, T-KT= Tris-kuning telur, SBM= sari buah melon.

Data pada **Tabel 2** viabilitas menunjukkan nilai lebih tinggi dari pada motilitas dan menurun seiring lamanya waktu penyimpanan. Menurut [30] viabilitas biasanya lebih tinggi dari motilitas, akibat dari banyak spermatozoa motil non-progresif namun spermatozoa tersebut masih hidup sehingga permeabilitas sel masih rendah dan menyebabkan penyerapan warna sedikit. Nilai viabilitas yang semakin menurun terjadi karena selama penyimpanan cadangan energi berkurang dan kadar asam laktat menjadi tinggi dan membuat pengencer menjadi asam. [31] juga berpendapat bahwa viabilitas akan mengalami penurunan oleh sebab ketersediaan energi berkurang dalam pengencer. [32] menambahkan bahwa motilitas dan viabilitas spermatozoa bergantung pada pasokan energi metabolisme. Oleh karena itu, penyimpanan yang lebih lama memungkinkan terjadinya penurunan nutrisi yang tersedia. Penurunan viabilitas spermatozoa juga terjadi karena kerusakan yang dimulai dengan hilangnya motilitas dan gangguan pada aktivitas metabolisme sel, sehingga kerusakan membran plasma menjadi penyebab dari menurunnya nilai viabilitas [33].

Analisis statistik terhadap viabilitas spermatozoa setelah diencerkan memperlihatkan adanya pengaruh yang tidak signifikan ($P > 0,05$) terhadap viabilitas, sedangkan pada jam ke-12 sampai jam ke-60 menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap perlakuan ($P < 0,05$) dengan nilai viabilitas tertinggi terlihat pada perlakuan P3. Hasil signifikan P3 yang lebih menonjol dibandingkan perlakuan Po sejak jam ke-12 hingga jam ke-48 penyimpanan. Perbedaan ini dapat diartikan bahwa konsentrasi sari buah melon 30% dan Tris-kuning telur 70% memberikan hasil terbaik karena mencapai keseimbangan antara manfaat antioksidan dan perlindungan fisik serta

3.2. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas adalah kesanggupan hidup spermatozoa yang dilihat berdasarkan jumlah hidup-mati spermatozoa melalui pewarnaan eosin atau eosin-nigrosin [27]. Spermatozoa mati akan menyerap larutan eosin menjadi merah muda dan spermatozoa hidup akan transparan atau tidak berwarna [28]; [29].

kimia terhadap spermatozoa. Konsentrasi ini cukup untuk meningkatkan viabilitas, menjaga pH serta mendukung fungsi pengencer secara keseluruhan tanpa menyebabkan ketidakseimbangan. Pendapat ini diperkuat dengan laporan [17] yang menyatakan dengan menambahkan sari buah melon pada media pengencer semen menghasilkan penurunan tingkat stres oksidatif dan peningkatan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan. Kandungan antioksidan alami dalam buah melon berperan penting dalam menghambat pembentukan radikal bebas, sehingga menjaga daya hidup spermatozoa lebih lama.

Sari buah melon memiliki kandungan senyawa fenolik, termasuk polifenol dan flavonoid. Ini memiliki aktivitas antioksidan yang kuat yang efektif ketika melindungi radikal bebas dan melindungi integritas sel. Antioksidan ini dapat mengurangi kerusakan oksidatif pada membran sel spermatozoa yang biasanya rentan terhadap peroksidasi lipid saat proses penyimpanan. [34] menyatakan senyawa antioksidan dapat menghambat ROS yang membuat rusaknya membran sel spermatozoa saat disimpan. Spermatozoa dengan keutuhan membran plasmanya menunjukkan kemampuan bertahan hidup yang tinggi. Hal tersebut didukung oleh [29] yang menyatakan antioksidan dapat menghentikan peroksidasi lipid di membran sel sperma, memungkinkan membran sel spermatozoa tetap utuh. Selain radikal bebas, kemampuan hidup spermatozoa dapat dipengaruhi oleh kondisi di sekitarnya.

Selain kandungan antioksidannya, melon juga mengandung karbohidrat sederhana dalam bentuk fruktosa sebagai penyedia energi bagi spermatozoa [35] menyatakan penggunaan karbohidrat alami, seperti fruktosa dari buah-buahan, dapat meningkatkan viabilitas spermatozoa tanpa

menimbulkan efek toksik. Fruktosa merupakan karbohidrat yang efisien dalam menjaga mobilitas spermatozoa selama proses penyimpanan.

Hasil penelitian [17] dengan penggunaan sari buah melon sebagai pengencer pada ternak kambing ettawa efektif terhadap nilai viabilitas hingga hari kelima penyimpanan. Penelitian lain oleh [24] menggunakan sari buah melon pada ternak babi landrace memperoleh nilai viabilitas tertinggi pada

perlakuan P₁ (43,39%) dibanding kontrol dengan konsentrasi sari buah melon 10% dalam pengencer SKT pada 48 jam penyimpanan.

3.3. Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa penting untuk kualitas spermatozoa dimana spermatozoa yang abnormal tidak mampu membuahi sel telur. Nilai rata-rata abnormalitas dilihat pada [Tabel 3](#).

Tabel 3. Hasil analisis abnormalitas spermatozoa dalam pengencer uji

JP	Perlakuan (%)						Pvalue
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	
0	3,79±1,13 ^a	3,83±1,04 ^a	4,03±1,26 ^a	3,88±0,99 ^a	3,93±0,90 ^a	4,03±1,01 ^a	0,999
12	3,92±0,89 ^a	4,11±1,05 ^a	4,08±0,89 ^a	4,19±1,07 ^a	4,09±0,81 ^a	4,14±0,78 ^a	0,998
24	4,60±1,39 ^a	4,62±1,30 ^a	4,66±1,05 ^a	5,03±1,02 ^a	4,83±1,30 ^a	4,92±1,19 ^a	0,990
36	4,85±1,20 ^a	4,86±1,04 ^a	5,00±0,97 ^a	4,87±1,16 ^a	5,07±1,06 ^a	5,19±1,09 ^a	0,995
48	5,36±1,42 ^a	5,39±1,38 ^a	5,56±1,17 ^a	5,41±1,46 ^a	5,57±1,42 ^a	5,77±1,25 ^a	0,997
60	5,85±1,65 ^a	6,00±1,73 ^a	6,35±1,59 ^a	5,98±1,61 ^a	6,20±1,47 ^a	6,31±1,50 ^a	0,995

Keterangan: Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). P₀=T-KT 100% + 0% SBM, P₁= T-KT 90% + 10% SBM, P₂= T-KT 80% + 20% SBM, P₃= T-KT 70% + 30% SBM, P₄= T-KT 60% + 40% SBM, P₅= T-KT 50% + 50% SBM. JP= jam penyimpanan ke-, T-KT= Tris-kuning telur, SBM= sari buah melon.

Terlihat bahwa perlakuan tidak memberi pengaruh yang nyata pada abnormalitas spermatozoa ($P > 0,05$) sejak evaluasi jam ke-0 hingga jam ke-60. Nilai abnormalitas berkisar antara 3,79- 6,35%. Artinya bahwa dengan atau tanpa penambahan sari buah melon pada pengencer Tris – kuning telur, persentase abnormalitas tetap rendah, dan tidak melampaui standar abnormalitas 20% [19]. Persentase nilai abnormalitas pada penelitian ini mungkin disebabkan oleh proses penanganan semen. [36] menyatakan penanganan semen seperti pengenceran dan pembuatan preparate ulas untuk evaluasi yang dilakukan secara kasar dapat merusak spermatozoa. Selain itu, tekanan osmotik mengurangi pH semen dan terjadi selama preservasi [37]. Kelainan spermatozoa merupakan hal terpenting dalam menentukan kualitasnya [38].

Kelainan spermatozoa dikelompokkan menjadi abnormal yang terjadi pada tubuliseminiferi (primer) serta pada saat penanganan semen (sekunder). Hal tersebut ditegaskan dengan pendapat [39] bahwa kelainan primer terjadi karena anomali gangguan spermatogenesis-tubular dan gangguan testis. Bentuk abnormal utama termasuk kepala sangat kecil atau sangat besar, dan ekor yang ganda. Abnormalitas sekunder terjadi pada saat penanganan yang menyebabkan bentuk ekor putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah melipat, serta ekor bengkok. Kelainan pada penelitian ini yakni, kepala tanpa ekor dan ekor melingkar.

Abnormalitas pada spermatozoa secara umum, diakibatkan beberapa faktor, diantaranya stress, genetik ternak, penyakit, suhu lingkungan, dan juga

pada proses penanganan semen [40]. [41] berpendapat bahwa peningkatan nilai abnormal juga dapat terjadi tidak hanya dalam proses evaluasi tetapi juga dengan adanya lipid peroksida.

Ketidakeimbangan suhu dan tekanan osmotik membuat terjadinya kelainan spermatozoa selama proses penyimpanan. Hal ini disampaikan oleh [42] yang melaporkan adanya peningkatan persentase abnormalitas pada spermatozoa dapat diakibatkan oleh lama masa penyimpanan. [43] juga menyatakan bahwa kejutan dingin dan ketidakstabilan tekanan osmotik sebagai akibat proses metabolisme yang berkelanjutan saat penyimpanan mempengaruhi kelainan tinggi.

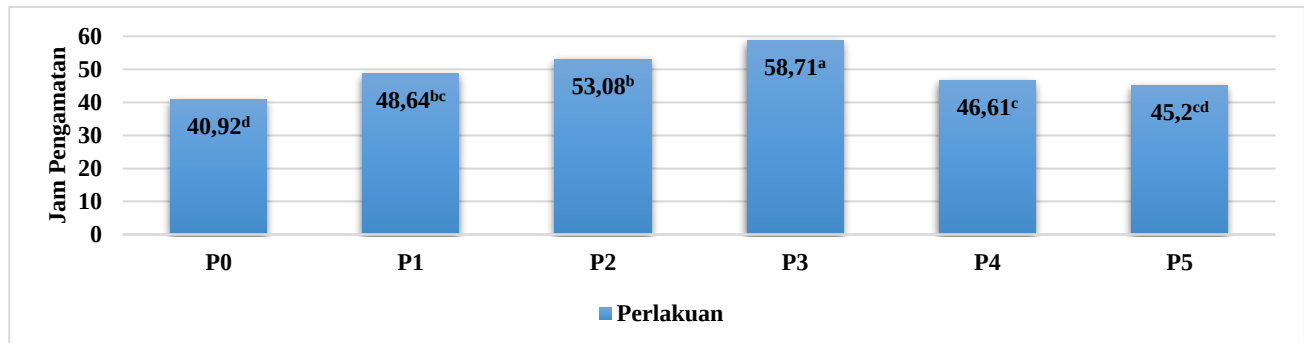
Penelitian lain yang dilakukan oleh [44] dengan penggunaan vitamin E dan pengencer Tris-kuning telur pada babi duroc memperoleh nilai abnormalitas yang lebih tinggi berkisar antara 4,03 sampai 6,89%. [18] melaporkan bahwa dengan penggunaan sari buah melon terhadap kualitas semen sapi bali menunjukkan nilai abnormalitas rata-rata sebesar 4,61%. Hal ini dapat diartikan bahwa penambahan sari buah melon sebagai antioksidan dalam pengencer TKT memiliki dampak umum yang sama dan bagus dalam mencegah meningkatnya nilai abnormalitas oleh radikal bebas. Secara umum nilai abnormalitas setiap perlakuan dalam penelitian yang telah dilakukan ini layak dan dapat digunakan dalam inseminasi buatan karena nilai abnormalitas masih berada jauh dari kisaran normal atau standar 20%.

3.4. Daya Tahan Hidup Spermatozoa (DTH)

DTH adalah durasi waktu yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk bertahan dalam lingkungan in

vitro hingga persentase motilitas progresifnya menurun hingga 40 persen [45]. Hasilnya dipaparkan dalam **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil analisis daya tahan hidup spermatozoa dalam pengencer uji



Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P < 0,05$). P0= T-KT 100% + 0% SBM, P1= T-KT 90% + 10% SBM, P2= T-KT 80% + 20% SBM, P3= T-KT 70% + 30% SBM, P4= T-KT 60% + 40% SBM, P5= T-KT 50% + 50% SBM. JP= jam penyimpanan ke-, T-KT= Tris-kuning telur, SBM= sari buah melon.

Hasil uji statistik yang diperoleh, menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P < 0,05$) pada daya tahan hidup spermatozoa. Substitusi sari buah melon (P1, P2, P3, P4, P5) mampu membuat spermatozoa bertahan lama dibandingkan dengan perlakuan kontrol (tanpa penambahan sari buah melon) yang menunjukkan nilai yang lebih rendah. Hal ini dapat diakibatkan oleh kurangnya kandungan antioksidan dalam P0, sehingga kurang efektif ketika melindungi sel dari stres oksidatif dan energi tambahan yang tepat. Kandungan antioksidan dalam melon dapat mempertahankan spermatozoa karena radikal bebas saat disimpan. Kerusakan ini sering terjadi dalam kondisi dingin atau beku karena akumulasi ROS yang dapat merusak membran sel dan struktur DNA spermatozoa [46].

Sari buah melon yang ditambahkan ke dalam pengencer TKT mampu menjaga daya tahan hidup dikarenakan melon mengandung karbohidrat sebagai sumber energi, dan senyawa antioksidan berupa vitamin C, yang mampu menjaga kualitas spermatozoa. Vitamin C adalah antioksidan yang dapat menghancurkan rantai ROS serta meningkatkan stabilitas membran plasma akibat peroksida lipid dan memungkinkan pemeliharaan kualitas sperma [47]. Karbohidrat berperan penting dalam penyimpanan energi dan sebagai sumber energi utama bagi spermatozoa yang dapat membantu mempertahankan motilitas (kemampuan bergerak) dan viabilitas (kemampuan hidup) selama penyimpanan. Karbohidrat sederhana seperti sukrosa dan fruktosa, yang ada dalam buah melon, mendukung proses metabolisme sel spermatozoa, memungkinkan perpanjangan daya hidup hingga waktu yang lebih lama selama proses penyimpanan [48].

Konsentrasi penambahan sari buah melon (30%) dalam pengencer Tris-kuning telur (70%) pada P3 memperlihatkan efek yang nyata dan berbeda secara

signifikan dengan perlakuan lainnya dimana spermatozoa dapat bertahan hidup hingga waktu penyimpanan rata-rata 58,71 jam. Hal ini dapat berarti bahwa kombinasi level sari buah melon dan Tris-kuning telur pada perlakuan P3 merupakan level yang tepat dalam mempertahankan spermatozoa babi duroc. Penambahan kuning telur yang ditambahkan dalam pengencer berfungsi sebagai pelindung yang sangat penting selama proses penyimpanan. Kandungan lipid, lipoprotein densitas rendah (LDL) dalam kuning telur melindungi membran plasma dari kerusakan yang disebabkan oleh syok dingin. LDL dalam kuning telur berikatan dengan protein dalam plasma seminal yang sering kali dapat merusak integritas membran sel, sehingga stabilitas dan DTH lebih terjaga dalam jangka waktu lebih lama [49].

Penelitian yang dilaporkan oleh [17] memperoleh hasil bahwa penggunaan sari buah melon sebagai pengencer mampu menjaga daya tahan hidup spermatozoa ternak kambing peranakan etawa hingga hari ke-5 penyimpanan.

4. Kesimpulan

Level sari buah melon terbaik sebesar 30 persen dalam pengencer tris-kuning telur, efektif mempertahankan kualitas spermatozoa babi duroc.

Referensi

- [1] R. Boni, R. Ruggiero, T. Di Palma, M. A. Ferrara, G. Preziosi, dan S. Cecchini Gualandi, "Stallion Sperm Freezing with Different Extenders: Role of Antioxidant Activity and Nitric Oxide Production," *Animals*, vol. 14, no. 17, hlm. 2465, Agu 2024, doi: 10.3390/ani14172465.
- [2] A. P. Nugroho dan D. M. Saleh, "Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kampung

- dengan Pengencer Ringer Laktat-Putih Telur dan Lama Simpan pada Suhu 5 C selama 48 Jam,” *Acta Vet. Indones.*, vol. 4, no. 1, hlm. 35-41, Feb 2016, doi: 10.29244/avi.4.1.35-41.
- [3] Iw. L. Sumadiasa, T. Susilawati, G. Ciptadi, dan N. Isnaini, “The potency of guava filtrate (*Psidium guajava* Linn) for preservation of Bali bull spermatozoa,” *J. Agric. Vet. Sci.*, vol. 8, no. 5, hlm. 51-57, 2015.
- [4] M. E. Astuti, “Pengaruh Penambahan Sari Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*) Sebagai Pengencer Alami Terhadap Kualitas Penyimpanan Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*),” *J. Bionature*, vol. 18, no. 2, hlm. 129-139, 2017.
- [5] A. Malik, M. Shahdan, M. I. Zakir, dan N. Sasongko, “Penambahan Minyak Ikan Dalam Pengencer Skim Milk-Egg Yolk Terhadap Motilitas Dan Abnormalitas Ayam Kampung Pasca Thawing,” *J. Ilm. Ilmu-Ilmu Peternak.*, vol. 21, no. 2, 2018, [Daring]. Tersedia pada: <https://doi.org/10.22437/jiip.v21i2.5823>
- [6] Al. Marawali, M. S. Abdullah, dan J. Jalaludin, “Efektivitas Suplementasi Filtrat Jambu Biji dalam Pengencer AirKelapa-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Bali,” *J. Vet.*, vol. 20, no. 1, hlm. 20, Mei 2019, doi: 10.19087/jveteriner.2019.20.1.20.
- [7] Y. Yendraliza, M. Ridho, M. Rodiallah, dan Z. Zumarni, “The Quality of Buffalo Sperm Following Preservation Using Different Diluents and Sperm Concentrations,” *Bul. Peternak.*, vol. 46, no. 1, hlm. 36-40, Feb 2022, doi: 10.21059/buletinpeternak.v46i1.69012.
- [8] K. S. Apriliana, W. Bebas, dan I. G. N. B. Trilaksana, “Mempertahankan Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Kelapa Kuning Telur Bebek dengan Pengimbuhan Sari Wortel,” *Indones. Med. Veterinus*, vol. 10, no. 3, hlm. 409-419, 2021, doi: 10.19087/imv.2021.10.3.409.
- [9] F. L. Berek, A. A. Dethan, dan P. K. Tahuk, “The Effect of Long Shelf Life of Duroc Pig Male Semen Diluted Using Tris-Egg Yolk-Young Coconut Water on The Value of Viability, Abnormality and pH,” *J. Trop. Anim. Sci. Technol.*, vol. 3, no. 2, hlm. 108-120, Agu 2021, doi: 10.32938/jtast.v3i2.1201.
- [10] A. A. Tarig dkk., “Effect of different concentrations of soybean lecithin and virgin coconut oil in Tris-based extender on the quality of chilled and frozen-thawed bull semen,” *Vet. World*, vol. 10, no. 6, hlm. 672-678, Jun 2017, doi: 10.14202/vetworld.2017.672-678.
- [11] W. Nalley dan R. Arifiantini, “The Viability of Local Ram Semen in Tris Buffer With Three Different Egg Yolks,” *Anim. Prod.*, vol. 13, no. 1, hlm. 39-44, 2011.
- [12] A. N. Tethool, G. Ciptad, S. Wahjuningsih, dan T. Susilawati, “Deterioration of Frozen Semen of Bali Cattle after Cooling at 5°C,” *Worlds Vet. J.*, vol. 12, no. 4, hlm. 395-404, Des 2022, doi: 10.54203/scil.2022.wvj50.
- [13] T. W. Putra, S. Suharyati, S. Siswanto, dan M. Hartono, “Pengaruh Penambahan Vitamin C Dan E Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Ayam Bangkok,” *J. Ris. Dan Inov. Peternak.*, vol. 7, no. 4, hlm. 523-534, Nov 2023, doi: 10.23960/jrip.2023.7.4.523-534.
- [14] D. Sanocka dan M. Kurpisz, “Reactive oxygen species and sperm cells,” *Reprod. Biol. Endocrinol.*, vol. 2, no. 1, hlm. 12, 2004, doi: 10.1186/1477-7827-2-12.
- [15] M. M. Bria, W. M. Nalley, J. N. Kihe, dan T. M. Hine, “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),” *J. Nukl. Peternak.*, vol. 9, no. 1, hlm. 23-32, 2022, doi: 10.35508/nukleus.v9i1.4393.
- [16] M. G. G. Gena, N. D. F. K. Foeh, dan C. D. Gaina, “Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Sebagai Antioksidan Dalam Pengencer Semen Babi Landrace Berbasis Air Buah Lontar,” *J. Vet. Nusantara*, vol. 4, no. 1, hlm. 1-12, 2021.
- [17] M. Riyadhi, A. Haris, I. Sumantri, dan M. Rizal, “Kemampuan Sari Melon Dalam Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Peranakan Ettawa,” *Pros. Semin. Nas. Peternak. 3 Univ. Lambung Mangkurat*, hlm. 64-69, Sep 2017.
- [18] M. Mujahidurrohman, E. Yuliani, dan L. Hy, “Ability of Melon (*Cucumis melo* L.) Fruit Juices Based Tris Diluent on The Quality of Frozen Spermatozoa of Bali Cattle After Thawing,” *J. Biol. Trop.*, vol. 23, no. 3, hlm. 450-463, Jul 2023, doi: 10.29303/jbt.v23i3.5380.
- [19] S. N. I. SNI 8034, “Semen Cair Babi.” Keputusan Kepala Badan Standarisasi Nasional Nomor512/KEP/BSN/11/2023, 2023.
- [20] R. I. Arifiantini, T. L. Yusuf, dan N. Graha, “Longivitas Dan Recovery Rate Pasca Thawing Semen Beku Sapi Fresian Holstein Menggunakan Bahan Pengencer Yang Berbeda,” *Bul. Peternak.*, vol. 29, no. 2, 2005, [Daring].

- Tersedia pada:
<http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/37296>
- [21] J. A. Maldjian, P. J. Laurienti, R. A. Kraft, dan J. H. Burdette, "An automated method for neuroanatomic and cytoarchitectonic atlas-based interrogation of fMRI data sets," *NeuroImage*, vol. 19, no. 3, hlm. 1233-1239, Jul 2003, doi: 10.1016/S1053-8119(03)00169-1.
 - [22] W. A. Pryor, W. Stahl, dan C. L. Rock, "Beta Carotene: From Biochemistry to Clinical Trials," *Nutr. Rev.*, vol. 58, no. 2, hlm. 39-53, Apr 2009, doi: 10.1111/j.1753-4887.2000.tb07810.x.
 - [23] E. A. Siahaan, "Efektivitas Penambahan berbagai Konsentrasi B-Karoten terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Sapi Bali Post Thawing," *Indones. Med. Veterinus*, vol. 1, no. 2, hlm. 239-251, 2012.
 - [24] S. K. Wawang, M. Nalley, dan T. Mata Hine, "Kualitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur dengan Substitusi Sari Buah Melon (Cucumis melo L)," *COMSERVA J. Penelit. Dan Pengabd. Masy.*, vol. 3, no. 11, hlm. 4689-4699, Mar 2024, doi: 10.59141/comserva.v3i11.1248.
 - [25] R. L. Ax dkk., "Semen Evaluation," dalam *Reproduction in Farm Animals*, 1 ed., B. Hafez dan E. S. E. Hafez, Ed., Wiley, 2000, hlm. 363-375. doi: 10.1002/9781119265306.ch25.
 - [26] D. L. Garner dan E. S. E. Hafez, "Spermatozoa and Seminal Plasma," dalam *Reproduction in Farm Animals*, 1 ed., B. Hafez dan E. S. E. Hafez, Ed., Wiley, 2000, hlm. 96-109. doi: 10.1002/9781119265306.ch7.
 - [27] A. Agarwal, S. Gupta, dan R. Sharma, "Eosin-Nigrosin Staining Procedure," dalam *Andrological Evaluation of Male Infertility*, A. Agarwal, S. Gupta, dan R. Sharma, Ed., Cham: Springer International Publishing, 2016, hlm. 73-77. doi: 10.1007/978-3-319-26797-5_8.
 - [28] A. F. Lubis, R. I. Arifiantini, W. Nalley, dan A. Bondan, "Pengujian Morfologi Spermatozoa Pada Berb Agai Breed Babi Menggunakan Pewarnaan Eosin-Nigrosin Dan Carbofluchsin," *Pros. Semin. Dan Lokakarya Nas. Tenak Babi*, hlm. 246-256, 2014.
 - [29] W. Bebas, G. L. Buyona, dan M. K. Budiasa, "Penambahan Vitamin E Pada Pengencer BTS® Terhadap Daya Hidup Dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace Pada Penyimpanan 15°C," *Bul. Vet. Udayana Vol. 8 No 1 1-7 P-ISSN 2085-2495 E-ISSN 2477-2712*, vol. 8, no. 1, 2016.
 - [30] T. Susilawati, N. Isnaini, A. Puspita Anugra Yekti, I. Nurjannah, E. Errico, dan N. Da Costa, "Keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen beku dan semen cair pada sapi Peranakan Ongole," *J. Ilmu-Ilmu Peternak.*, vol. 26, no. 3, hlm. 14-19, Des 2016, doi: 10.21776/ub.jiip.2016.026.03.03.
 - [31] Wirarti, V. D. Bunga, T. Susilawati, dan S. Wahjuningsih, "Kualitas Semen Sapi Limousin Pada Pengencer Yang Berbeda Selama Pendinginan," *J. Ternak Trop.*, vol. 15 (1): 13-20, 2014.
 - [32] R. P. Audia, M. A. Salim, N. Isnaini, dan T. Susilawati, "Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau Sebagai Bahan Pengencer Yang Ditambah 10% Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer," *J. Trop. Anim. Prod.*, vol. 18, no. 1, hlm. 58-68, 2017, doi: 10.21776/ub.jtapro.2017.018.01.8.
 - [33] M. Gundogan, D. Yeni, F. Avdatek, dan A. F. Fidan, "Influence of sperm concentration on the motility, morphology, membrane and DNA integrity along with oxidative stress parameters of ram sperm during liquid storage," *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 122, no. 3-4, hlm. 200-207, Des 2010, doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.012.
 - [34] S. A. Sitepu, Z. Udin, J. Jaswandi, dan H. Hendri, "Kombinasi Minyak Atsiri Jeruk Manis dan Penisilin dengan Streptomisin pada Pengencer Semen Beku Kambing Boer," *J. Peternak. Indones. Indones. J. Anim. Sci.*, vol. 22, no. 3, hlm. 332, 2020, doi: 10.25077/jpi.22.3.332-338.2020.
 - [35] S. Salamon dan W. M. C. Maxwell, "Storage of ram semen," *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 62, no. 1-3, hlm. 77-111, 2000, doi: 10.1016/S0378-4320(00)00155-X.
 - [36] A. Wijayanti dkk., "Effect of Addition of Green Tea Extract (Camellia sinensis) in Egg Yolk Tris Diluter on Spermatozoa Quality in Bali Cattle (Bos sondaicus) After Freezing," *J. Med. Vet.*, vol. 6, no. 1, hlm. 66-74, Apr 2023, doi: 10.20473/jmv.vol6.iss1.2023.66-74.
 - [37] M. L. Papituan, P. Kune, K. Uly, dan W. M. Nalley, "Pengaruh Penambahan Filtrat Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa Linn) dalam pengencer tris-kuning telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali," *J. Peternak. Lahan Kering*, vol. 3, no. 1, hlm. 1309-1323, 2021.
 - [38] F. Afiati, Yulnawati, M. Riyadhi, dan R. I. Arifiantini, "Abnormalitas Spermatozoa Domba dengan Frekuensi Penampungan Berbeda," *Pros. Semin. Nas. Masy. Biodivers. Indones.*, vol. 1, no. 4, hlm. 930-934, 2015, doi: 10.13057/psnmbi/mo10449.
 - [39] M. Hartono, S. Suharyati, P. E. Santosa, dan Siswanto, *Buku Penuntun Praktikum Teknologi*

- Reproduksi Ternak*. Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung., 2020.
- [40] R. I. Arifiantini dan F. Ferdinan, "Tinjauan Aspek Morfologi dan Morfometri Spermatozoa Kerbau Rawa (*Bubalus Bubalis*) yang Dikoleksi dengan Teknik Masase," *J. Vet.*, vol. 7, no. 2, hlm. 83-91, 2006.
- [41] N. Iswanto, Suyadi, dan A. Rachmawati, "Pengaruh Konsentrasi α -Tocopherol Yang Berbeda Dalam Pengencer Tris Aminomethane Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Yang Disimpan Pada Suhu 5°C," *J. Vet.*, vol. 2, no. 1, hlm. 1-13, 2012.
- [42] N. Solihati dan P. Kune, "Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas Dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Cair Sapi Simmental." Pustaka Ilmiah Universitas Padjajaran, Bandung, 2009.
- [43] J. Szymanowicz *dkk.*, "Storage of boar semen at 16-18 °C in the long-term commercial extender prepared with deionized water or nanowater," *Anim. Reprod.*, vol. 16, no. 4, hlm. 864-870, 2019, doi: 10.21451/1984-3143-AR2019-0023.
- [44] D. E. Amtiran, T. M. Hine, dan K. Uly, "Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc," *J. Peternak. Lahan Kering*, vol. 2, no. 4, hlm. 1111-1118, 2020.
- [45] T. M. Hine, Burhanuddin, dan A. Marawali, "Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas, Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali," *J. Vet.*, vol. 15, no. 2, hlm. 263-273, 2014.
- [46] A. T. M. Retta, Suherni Susilowati, Sri Pantja Madyawati, Tatik Hernawati, Wurlina Wurlina, dan Retno Sri Wahjuni, "Effect of fruit juices in skim milk extender in maintaining Sapudi ram spermatozoa quality at chilled temperature," *Ovozoa J. Anim. Reprod.*, vol. 11, no. 2, hlm. 49-53, Agu 2022, doi: 10.20473/ovz.v11i2.2022.49-53.
- [47] A. Akbari, G. Jelodar, S. Nazifi, dan J. Sajedianfard, "An Overview of the Characteristics and Function of Vitamin C in Various Tissues: Relying on its Antioxidant Function," *Zahedan J. Res. Med. Sci.*, vol. 18, no. 11, Okt 2016, doi: 10.17795/zjrms-4037.
- [48] R. H. Foote, C. C. Brockett, dan M. T. Kaproth, "Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender containing antioxidants," *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 71, no. 1-2, hlm. 13-23, Mei 2002, doi: 10.1016/S0378-4320(02)00018-0.
- [49] G. S. Bustani dan F. H. Baiee, "Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders," *Vet. World*, vol. 14, no. 21, hlm. 1220-1233, Mei 2021, doi: 10.14202/vetworld.2021.1220-1233.