

Ability of Melon (*Cucumis melo. L*) Fruit Juices Based Tris Diluent on The Quality of Frozen Spermatozoa of Bali Cattle After *Thawing*

Mujahidurrohman^{1*}, Enny Yuliani¹, Lukman HY¹

¹Program Magister Manajemen Sumberdaya Peternakan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barta, Indonesia;

Article History

Received : May 20th, 2023

Revised : June 26th, 2023

Accepted : July 14th, 2023

*Corresponding Author:

Mujahidurrohman,

Program Magister
Manajemen Sumberdaya
Peternakan, Universitas
Mataram, Mataram, Nusa
Tenggara Barta, Indonesia;
Email:

mujahidfaterna@gmail.com

Abstract: The high potassium content in melon plays a role in maintaining the normal function of the muscles, heart, nervous system, and potassium is also the main regulator of blood pressure. The aim of this study was to evaluate the effect of using melon juice (*Cucumis melo L.*) as a diluent on the quality of spermatozoa and semen of Bali cattle both before and after freezing. The Banyumulek Artificial Insemination Center produces sperm used in Bali cattle breeding. The technique used was a completely randomized design (CRD) with 4 treatments and 15 replications. The first treatment was 100% egg yolk tris buffer without the addition of melon juice (P0), the second treatment was 80% buffer without the addition of 20% melon juice (P1), the third treatment was 60% buffer with the addition of 40% melon juice (P2). The fourth treatment was 40% buffer with the addition of 60% melon juice (P3). The outcomes showed that the worth of flawless plasma film and mortality upsides of ox-like semen after weakening and subsequent to defrosting were not essentially unique. Be that as it may, not altogether disparate in that frame of mind of motility, level of reasonability, level of ordinariness and post-defrosting anomalies. According to the findings of this study, melon juice can be used as an alternative extender for fresh Bali cattle sperm and preserve the quality of spermatozoa.

Keywords: Bali cattle, melon juice, semen quality.

Pendahuluan

Penggunaan semen sapi dari pejantan yang sudah terseleksi dengan baik dapat dirasakan manfaatnya oleh kalangan masyarakat yang berprofesi sebagai peternak. Peningkatan populasi ternak di Indonesia perlunya langkah yang intensif untuk meningkatkan populasi ternak lokal. Upaya yang dilakukan untuk meningkatkan efisiensi ternak dapat dilakukan melalui cara untuk lebih mengembangkan kualitas keturunan ternak. Pemerintah melakukan upaya untuk meningkatkan populasi ternak melalui teknologi reproduksi inseminasi buatan (IB).

Inseminasi buatan menjadi teknologi alternatif efektif dan efisien untuk memperbaiki mutu genetik pada ternak (Rahmah, 2018). Semen cair digunakan untuk inseminasi buatan dan memerlukan kuantitas

dan kualitas semen yang baik dan tepat (Susilawati *et al.*, 2020). Kemajuan inovasi inseminasi buatan sangat mempengaruhi kualitas semen beku yang digunakan. Campuran bahan larutan pengencer yang dapat memenuhi persyaratan fisik dan kimia semen selama penyimpanan pada suhu dan kondisi yang diinginkan untuk digunakan dianggap sebagai semen yang baik (Garner & Hafez, 2016).

Pengenceran sangat penting untuk menjaga spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin. Pengencer yang tepat adalah pengencer yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa dalam kondisi tertentu. Secara umum, tris aminomethane kuning telur paling banyak digunakan sebagai pengenceran, karena menjaga kualitas semen (Sulistiawati, 2018). Lipoproterin dan fosfolipid dalam tris kuning telur dapat mengimbangi dan

melindungi lapisan spermatozoa (Allai *et al.*, 2015). Penambahan unsur-unsur ke dalam pengencer semen adalah sangat penting untuk mempertahankan berbagai (angka) variabel spermatozoa yang berperan sebagai penghambat oksidasi setelah proses pembekuan-pelelehan (Naijian *et al.*, 2013).

Motilitas spermatozoa dapat dipertahankan secara efektif pada semen berbahan dasar wortel pada sapi Bali sebesar 40% sampai 45% (Parera *et al.*, 2009). Hasil penelitian Berek *et al.*, (2020) menjaga viabilitas dan motilitas spermatozoa kambing Boer tetap utuh selama empat hari penyimpanan, dengan nilai motilitas sebesar 49,04 persen dan viabilitas 55,70 persen. Beberapa jenis bahan pengencer sari buah alami yang telah diperhitungkan efektif digunakan sebagai bahan pengencer semen antara lain penggunaan ekstrak buah melon dalam semen kambing ras Ettawa (Muhammad *et al.*, 2017); ekstrak tomat pada kambing boer (Dasrul *et al.*, 2013) dan kedelai terpisah pada pengencer semen boer (Sisy *et al.*, 2016).

Melon disarankan oleh ahli gizi karena memiliki khasiat untuk membantu sistem ekskresi, melawan pertumbuhan kanker, mengurangi risiko stroke, penyakit jantung dan mencegah pembentukan darah (Prajnanta, 2008). Karotenoid pada buah melon jingga melindungi sel-sel tubuh dari bahaya ekstrim bebas dan diubah menjadi vitamin A dalam tubuh. Kandungan vitamin A pada melon efektif menjaga kesehatan mata (Tamboza, 2008). Minum perasan buah melon secara rutin menurunkan denyut nadi pada penderita hipertensi, hal ini dikarenakan 5 g buah melon mengandung 3.790 ppm atau 18,95 mg potasium (Bimanteri dan Widaryati, 2014).

Kandungan kalium yang tinggi pada melon menjaga kemampuan normal otot, sistem saraf, jantung, dan potasium pengontrol utama denyut nadi. Berdasarkan uraian diatas buah melon perlu dilakukan kajian mengenai kemampuan sari buah melon (*Cucumis melo* L.) berbasis pengencer tris terhadap kualitas spermatozoa beku sapi Bali pasca *thawing*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penggunaan sari buah melon (*Cucumis melo* L.) sebagai bahan pengencer kualitas spermatozoa dan semen sapi Bali baik sebelum maupun setelah pembekuan.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2022 di Balai Inseminasi Buatan Wilayah Nusa Tenggara Barat Kota Banyuwilek dan Balai Penelitian Imunologi Perguruan Tinggi Mataram.

Prosedur penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) melalui 4 perlakuan dan 15 kali ulangan. Ulangan yang digunakan berupa penampungan. Perlakuan pertama yaitu 100% penyanggah tris kuning telur tanpa penambahan sari buah melon (P0), perlakuan kedua, 80% penambahan sari buah melon 20% (P1), perlakuan ketiga adalah penyanggah 60% penambahan sari buah melon 40% (P2), perlakuan keempat adalah penyanggah 40% penambahan sari buah melon 60% (P3).

$$P0 = 10\% = \frac{10}{100} \times 10 = 10 \text{ ml pengencer tanpa SBM}$$

$$P1 = 20\% = \frac{20}{100} \times 10 = 2 \text{ ml SBM} + 8 \text{ ml pengencer}$$

$$P2 = 40\% = \frac{40}{100} \times 10 = 4 \text{ ml SBM} + 6 \text{ ml pengencer}$$

$$P3 = 60\% = \frac{60}{100} \times 10 = 6 \text{ ml SBM} + 4 \text{ ml pengencer}$$

Pembuatan larutan penyanggah tris kuning telur

Menimbang masing-masing bahan yang digunakan untuk pembuatan larutan penyanggah yang terdiri dari, tris 3,57 gr, fruktosa 1,25 gr, asam sitrat 1,97 gr, streptomycin 0,1 gr, dan penicillin 0,06 gr. Memasukkan semua bahan yang sudah ditimbang dalam beaker glass ukuran 250 ml, kemudian tambahkan aquades sebanyak 73 ml. Memasukkan larutan penyanggah yang telah dibuat sebanyak 73 ml dalam beaker gelas ukuran 250 ml dan dicampur dengan gliserol 7 ml, kuning telur 20 ml, kemudian di homogenkan. Memasukkan larutan penyanggah ke dalam botol, kemudian disimpan di dalam lemari es.

Pembuatan pengencer tris kuning telur yang mengandung Sari Buah Melon (SBM)

Mengambil isi buah melon sebanyak 100 gr kemudian dijuicer. Jus melon dimasukkan kedalam masing-masing tabung reaksi, kemudian selama 15 menit di sentrifuge pada

kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya pisahkan cairan dengan supernatan untuk di pindahkan ketabung reaksi yang sudah disiapkan. Kemudian, selama 15 menit di sentrifuge pada kecepatan 3000 rpm. Pisahkan dengan supernatan, selanjutnya cairan disaring dengan menggunakan kertas saring. Cairan yang sudah disaring selanjutnya disaring lagi menggunakan milipure sehingga di peroleh SBM. Mencampurkan penyangga tris kuning telur yang sudah dibuat dengan SBM ke dalam tabung dengan masing-masing perlakuan sesuai dengan rancangan penelitian.

Pembuatan pewarna eosin nigrosin

Timbang 0,375 gr Na sitrat, 0,125 gr Eosin, dan 0,625 gr Nigrosin, kemudian masukkan ke dalam *beaker glass* dan tambahkan 12,5 ml aquades. Letakkan *beaker glass* di atas hot plate dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larutan tercampur secara merata. Larutan tersebut didinginkan kemudian diayak menggunakan kertas saring yang telah disusun dan kemudian disimpan dalam botol berwarna gelap.

Koleksi semen sapi bali

Penjantan yang terpilih akan diambil semennya dan persiapan vafian buatan yang suhunya mencapai 42-45°C. Mempersiapkan sapi pemancing yang diikat pada kandang jepit. Sebelum penampungan semen, setiap pejantan yang ditampung semennya diberikan waktu yang cukup untuk penyiapan seksualnya dan dibiarkan melakukan penungganggan satu-dua kali pada sapi jantan pengusik (*teaser bull*) untuk meningkatkan rangsangan seksual (*libido*). Setelah sapi jantan menaiki sapi pemancing kemudian sapi yang ditampung semennya mengeluarkan penis, maka segera dimasukkan kedalam vagina buatan. Semen yang terkumpul kemudian diperiksa secara kasat mata dan teliti seperti tone, volume, aroma, konsistensi, pH, fiksasi dan motilitas. Kemudian dipindahkan ke cool box untuk dibawa ke Laboratorium Imunologi.

Evaluasi semen

Sperma segar yang didapatkan diperiksa secara makroskopis seperti volume, pH, konsistensi dan warna. Tabung pengumpul berskala menunjukkan perkiraan volume semen

yang terkandung. Warna sperma dievaluasi berdasarkan penampilannya yang putih susu (*milky white*), kekuningan (*yellowish*), dan krem (*creamy*), yang dapat dilihat tepat di tabung pengumpul. Air mani normal memiliki semen berwarna putih susu (Aisah *et al.*, 2017) dan krem (Sunarti *et al.*, 2016). Pemeriksaan bau semen dapat dilakukan secara langsung dengan mendekatkan silinder ke lubang hidung dan kemudian menghirupnya sampai tercium aroma semen. Bau hewan itu sendiri hadir bersamaan dengan aroma amis dari air mani normal.

Semen yang tidak normal berbau busuk karena mengandung nanah akibat infeksi organ reproduksi hewan jantan (Kusumawati *et al.*, 2018). Semen ditetaskan diatas indikator pH berskala 1-14. Perubahan warna yang terjadi dicocokkan dengan skala warna pada kertas indikator pH (Garner dan Hafez, 2016). Konsistensi semen diukur secara kualitatif: kental, sedang, dan encer. Tabung semen dimiringkan secara bertahap dan kembalikan semen pada posisi semula untuk mengetahui kekentalan semen segar. Apabila gerakan semen didalam tabung lambat menunjukkan konsistensinya kental dan konsistensinya encer apabila gerakan semen pada tabung cepat (Garner dan Hafez, 2016). Penilaian semen dilakukan dengan cara mikroskopis meliputi (motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, dan membrane plasma utuh).

Persentase motilitas

Penentuan persentase motilitas spermatozoa dilakukan melalui gerakan individu dilakukan dengan cara meneteskan sekitar 10-15 μ l sperma di atas gelas objek lalu di tutup menggunakan cover glass dan diamati pada mikroskop perbesaran 400 kali. Penilaian dapat diketahui melalui pengamatan visual melalui layar monitor (Yendraliza, 2018).

$$\text{Motilitas (\%)} = \frac{\text{jumlah sperma motil}}{\text{total sperma}} \times 100\% \quad (1)$$

Persentase viabilitas

Viabilitas spermatozoa digunakan untuk mengetahui nilai suatu semen. Preparat ulasan dengan pewarnaan eosin negrosin digunakan dalam pengamatan ini. Proses pembuatan preparat ulas, yaitu: sampel sperma ditetaskan pada objek glass sebanyak 10-15, kemudian

menambahkan 10 µl eosin negrosin dan dibuat preparat ulas, selanjutnya ditunggu hingga kering dan pada mikroskop pembesaran 400x. Pengamatan dapat dilihat melalui layar monitor. Pewarna tidak akan mewarnai spermatozoa hidup, tetapi pewarna akan diserap oleh spermatozoa mati dan berubah warna menjadi kemerahan (Yendraliza, 2018).

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{jumlah sperma hidup}}{\text{total sperma}} \times 100\% \quad (2)$$

Persentase abnormalitas

Pemeriksaan dilakukan dengan cara sampel sperma 10 µm ditetaskan pada objek glass. Menambahkan 10 µm eosin negrosin dan membuat preparat ulas, serta diamati menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali. Abnormalitas spermatozoa ditentukan dari kepala putus, ekor putus, dan ekor melingkar (Yendraliza, 2018).

$$\text{Abnormal (\%)} = \frac{\text{jumlah sperma abnormal}}{\text{total sperma}} \times 100\% \quad (3)$$

Persentase Membran Plasma Utuh (MPU)

Uji HOST (Hypoosmotic Swelling Test) digunakan untuk pemeriksaan MPU (Jayendran *et al.*, 1984). Larutan HOST terdiri dari bahan-bahan kimia: Tri-sodium citrate dehydrate: 7,35 g; fructose: 13,51 g; aquabides 1000 ml. Setiap straw di *thawing* pada waterbath suhu 37°C selama 30 detik. Mengambil sperma dengan mikropipet sebanyak 50 µl dan dicampur merata dengan larutan HOST 500 µl secara perlahan melalui dinding tabung, kemudian diinkubasi selama 60 menit didalam waterbath pada suhu 37°C. Setelah itu campuran larutan ditetaskan diatas objek glass pra-hangat (37°C) kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali. Spermatozoa dengan membran plasma utuh ditunjukkan dengan spermatozoa ekor melingkar setelah diinkubasi dalam larutan HOST. Membran plasma yang tidak utuh (Hos Test Negative) ditunjukkan dengan spermatozoa berekor lurus (Labetubun dan Siwa, 2011).

$$\text{MPU(\%)} = \frac{\text{jumlah sperma dengan MPU}}{\text{total spermatozoa dihitung}} \times 100\% \quad (4)$$

Filling dan Sealing

Semen yang telah diencerkan sesuai

perlakuan kemudian dilakukan *filling* dan *sealing* (proses pengisian semen yang sudah diencerkan kedalam straw berukuran 0,25 ml dan penyegelan straw) dilakukan di dalam *cool top* yang bersuhu 5°C menggunakan mesin (Novita *et al.*, 2019). Perbandingan semen dengan pengencer 1:4.

Pendinginan/ Ekuilibrasi

Spermatozoa membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri sebelum dibekukan menggunakan cairan N₂ yang disebut ekuilibrasi. Hal ini dilakukan untuk mengurangi resiko kematian spermatozoa. Ekuilibrasi dilakukan didalam kulkas dengan suhu 5°C selama 3-5 jam (Novita *et al.*, 2019)

Proses freezing

Suhu diturunkan secara perlahan sebelum dilakukan penyimpanan dalam N₂ cair pada kontainer disebut proses freezing. Straw yang sudah dikemas, kemudian diberikan tanda untuk mengetahui perlakuan yang sudah dilakukan. Straw diletakkan diatas rak, dan dimasukkan kedalam *cool box* yang berisi N₂ cair dengan jarak ± 1 cm diatas permukaan N₂ cair selama 10 menit dengan suhu -140°C. Kemudian, straw dimasukkan ke dalam goblet dan di bekukan di dalam N₂ cair kemudian disimpan di dalam kontainer suhu -196°C. (Novita *et al.*, 2019).

Penyimpanan semen beku

Straw yang berisi semen yang sudah difreezing dan menyimpan dalam container yang berisi cairan N₂ pada suhu -196°C (Novita *et al.*, 2019).

Pemeriksaan semen setelah pembekuan (*Post Thawing*)

Prosedur evaluasi *Post Thawing Motility* (motilitas semen pasca pelelehan) (Novita *et al.*, 2019). Mengambil straw dari goblet menggunakan tang jepit dengan tidak melawati batas leher kontainer. Memasukkan straw dalam *waterbath* berisi air suhu 37°C selama 30 detik. Mengangkat straw kemudian potongkedua ujung straw, masukkan semen ke dalam tabung. Mengambil semen menggunakan mikropipet sebanyak 10 milimikro, kemudian periksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

Hasil dan Pembahasan

Karakteristik semen segar sapi Bali

Hasil pengamatan semen sapi Bali disajikan pada tabel 1. Volume semen segar sapi Bali yang ditampung $4,92 \pm 2,18$ ml. Volume semen adalah berapa banyak semen yang masuk dalam sekali keluar. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya, volume sperma sapi bali di Singosari adalah 4,83 mililiter (Prastowo *et al.*, 2018) dan 5 ml untuk sapi (Soi, 2016). Volume sperma saat penampungan berbeda karena beberapa faktor yaitu ukuran tubuh, kualitas keturunan, iklim, usia, tingkat makanan, frekuensi penampungan dan faktor lainnya (Afiati *et al.*, 2013).

Tabel 1. Nilai rata-rata karakteristik semen segar sapi Bali

Karakteristik semen	Rataan (\pm SD)
Volume (ml)	$4,92 \pm 2,18$
Warna	Putih susu
Konsistensi	Sedang-kental
pH	$6,98 \pm 0,06$
Motilitas Massa	++ - +++
Motilitas Individu (%)	$70,00 \pm 2,24$
Konsentrasi ($\times 10^6$ / ml semen)	$1684,4 \pm 382,70$
Sperma hidup (%)	$98,60 \pm 0,89$
Sperma normal (%)	$93,40 \pm 1,14$
Sperma ekor putus (%)	$3,20 \pm 1,64$
Sperma ekor bengkok (%)	$2,40 \pm 1,65$
Sperma ekor melingkar (%)	$1,80 \pm 1,64$

Sumber: Data primer penelitian diolah (2023)

Semen sapi Bali yang diperoleh dalam penelitian ini berwarna putih susu. Sejalan dengan Wahyuningsih (2013) bahwa semen normal berwarna putih susu dan krem. Warna semen sapi Bali di Baturiti tidak jauh berberbeda yakni berwarna putih susu (Setyani *et al.*, 2017). Warna semen dapat terlihat jelas setelah ditutup, semen yang bagus berwarna krem (Sunarti *et al.*, 2016). Penelitian ini memperlihatkan warna semen sapi Bali adalah normal. Konsistensi semen yang ditampung menunjukkan konsistensi sedang-kental. Konsistensi merupakan tingkat kekentalan yang erat hubungannya dengan konsentrasi spermatozoa. Sama halnya dengan temuan Nabilla *et al.*, (2018) pada sapi perah Bali dengan konsistensi semen sedang. Konsentrasi sebanding dengan ketebalan semen (Mokoagow, 2021). Konsistensi yang ditemukan dalam

penelitian ini menunjukkan hasil baik. Kekentalan semen yang baik mirip dengan susu, sedangkan yang buruk mirip dengan dengan air kelapa (Anwar *et al.*, 2019).

Semen sapi Bali yang ditampung memiliki pH $6,98 \pm 0,06$. pH berperan penting pada spermatozoa karena mempengaruhi viabilitas spermatozoa. Hasil penelitian ini mirip dengan Prastowo (2018) pada kelompok umur ternak sapi Bali sebesar pH $6,51 \pm 0,12$ dan Bria *et al.*, (2022) dengan pH sapi Bali yang diperoleh $6,46 \pm 0,13$. Spermatozoa normal memiliki pH berkisar antara 6,4 sampai 7,8 (Garner dan Hafez, 2000). Kisaran pH tersebut menunjukkan kesehatan spermatozoa (Sunarti *et al.*, 2016). Kualitas semen yang baik memiliki pH-nya lebih ke arah asam (pH rendah), sedangkan semeng kualitas kurang baik pH-nya lebih ke arah basa (pH tinggi) (Lestari, 2013).

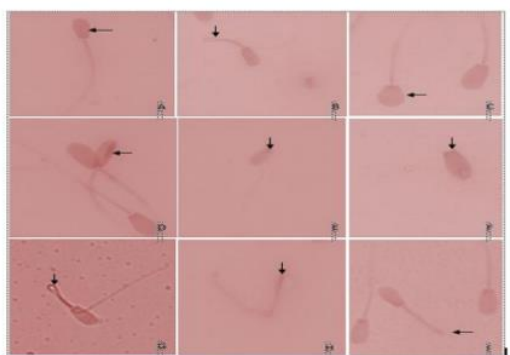
Penilaian motilitas massa pada penelitian ini mendapat nilai normal (++ - +++). Pergerakan massa sperma sapi bali pada penelitian ini sebanding dengan sapi bali di NTT (MataHineet *et al.*, 2014). Beberapa hasil eksplorasi lain menyatakan bahwa motilitas massa semen baru sapi jantan Bali diungkapkan oleh Bria *et al.*, (2022) memiliki nilai +++ yang lebih rendah dari nilai ++, yang ditemukan Fadilah (2016) dan ++ yang dilaporkan oleh Anwar (2014) tentang sapi bali. Perbedaan perkembangan massa dipengaruhi oleh perbedaan usia, negara, perkembangan sperma dan semen plasma (Earn dan Hafez, 2016).

Hasil penelitian memperoleh motilitas individu spermatozoa sapi Bali sebesar $70,00 \pm 2,24\%$, yang menandakan gerakan progresif baik karena adanya pergerakan. Motilitas spermatozoa pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan Anwar *et al.*, (2014). Hasil penelitian ini lebih rendah dari Bria *et al.*, (2022) rata-rata nilai motilitas individu spermatozoa sapi Bali $79,0 \pm 2,23$. Tingkat motilitas individu yang meningkat secara signifikan menentukan hasil perkawinan baik dalam inseminasi buatan maupun secara normal. Motilitas sperma segar yang rendah dapat mengindikasikan kualitas spermatozoa yang rendah dan penurunan fertilitas. Semen dengan persentase motilitas lebih besar dari 70% lebih tahan lama dibandingkan dengan semen dengan persentase motilitas kurang dari 70% (Susilawati, 2018).

Konsentrasi adalah tingkat kekentalan

volume spermatozoa yang terkandung dalam satu kali ejakulat yang di dihasilkan oleh sapi Bali jantan. Konsentrasi spermatozoa sapi Bali yang diperoleh sebanyak $1684,4 \pm 382,702 \times 10^6/\text{ml}$. Temuan penelitian ini lebih unggul dari Sunarti *et al.*, (2016) pada sapi Bali sebesar $1185,57 \pm 392$ juta/m. Konsistensi daging sapi semen dikatakan kental jika memiliki konsentrasi 1.000 juta hingga 2.000 juta sel spermatozoa per ml (Feradis, 2010). Fluktuasi konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan selama penampungan berpengaruh terhadap umur sapi Bali (Nugraha *et al.*, 2019).

Spermatozoa hidup (viabilitas) dapat ditentukan dengan menggunakan zat warna eosin dan negrosin. Banyaknya sperma yang didapatkan dari hasil penelitian ini adalah $98,60 \pm 0,89\%$. Warna eosin dan negrosin akan diserap spermatozoa mati sedangkan spermatozoa hidup tidak menyerap warna (Afiati *et al.*, 2013). Hasil penelitian yang diperoleh lebih tinggi dari Bria *et al.*, (2022) dan Fadilah (2016) semen segar sapi Bali dengan persentase viabilitas sebesar $86,11 \pm 3,12$ dan $77,74 \pm 4,34$. Indikator kualitas spermatozoa di tandai dengan tingginya persentase viabilitas (Sukmawati *dkk.*, 2014). kekentalan spermatozoa untuk proses pengenceran sperma dan pembekuan sperma minimal memiliki 60% - 75% spermatozoa hidup (Garner dan Hafez, 2000). Morfologi spermatozoa pada ternak yang di peroleh dari hasil penelitian yaitu spermatozoa normal (93,40%), spermatozoa ekor putus (3,20%), spermatozoa ekor bengkok (2,40%), dan spermatozoa ekor melingkar (1,80%).



Bentuk normal dan abnormalitas spermatozoa, A) bentuk sperma normal, B) *Pearshape*, C) *Macrocephalus*, D) *Microcephalus*, E) *Detached head*, F) kepala saja, G) melingkar, H) ekor saja, I) ekor buntung

Gambar 1. Morfologi spermatozoa

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa total dari spermatozoa abnormal yaitu 7, 40%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak sperma normal maka semen sapi Bali layak untuk diproses untuk semen beku. Apabila abnormalitas primer mencapai 18-20% dapat menyebabkan penurunan fertilitas sperma pada sapi (Barth dan Oko, 1989). Hal ini disebabkan sapi yang ditampung spermanya sudah terlatih serta sistem manajemen pakan dikelola dengan baik. Kualitas sperma dipengaruhi oleh teknik pada saat penampungan semen. Sapi perah yang tidak terbiasa membuang maninya akan menyebabkan kelainan spermatozoa esensial yang tak terhitung jumlahnya. Teknik pemijatan dapat meningkatkan persentase spermatozoa abnormal pada kerbau lumpur sebesar 31,86 persen (Arifiantini, 2012).

Karakteristik semen sapi Bali setelah pengenceran dan *Thawing*

Persentase motilitas; kualitas semen sapi Bali memperlihatkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P < 0,05$) pada motilitas spermatozoa (Tabel 2). Persentase motilitas spermatozoa menunjukkan nilai rata-rata motilitas berbeda. Perlakuan P0 (tanpa sari buah melon) berbeda sangat nyata dengan P1, P2, dan P3. Perlakuan P1 sangat berbeda dengan perlakuan P0 dan P3 dalam banyak hal penting. Perlakuan P2 menunjukkan perbedaan yang sangat luar biasa dengan perlakuan P0. Persentase motilitas progresif spermatozoa setelah pengenceran dengan penambahan 60% sari buah melon (P3) menunjukkan hasil yang terbaik yaitu $80,33 \pm 6,11$ berbeda sangat nyata pada perlakuan P0 dan P1.

Tabel 2. Persentase motilitas spermatozoa (%) sapi Bali setelah pengenceran dan *thawing*

Perlakuan	Setelah diencerkan	Setelah <i>thawing</i>
P0 (SBM 0%)	$70,00 \pm 5,00^a$	$26,33 \pm 9,53^b$
P1 (SBM 20%)	$76,00 \pm 6,03^b$	$34,33 \pm 10,15^c$
P2 (SBM 40%)	$79,00 \pm 4,70^{bc}$	$25,33 \pm 7,89^b$
P3 (SBM 60%)	$80,33 \pm 6,11^c$	$17,00 \pm 5,27^a$

Ket: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom berpengaruh sangat nyata ($P < 0,05$)

Penambahan sari buah melon dapat meningkatkan motilitas spermatozoa karena

didalam buah melon terdapat kandungan senyawa yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Kandungan gizi buah melon dalam 100 g buah, terdiri dari protein (0,6 g), kalori (23 kalori), air (93 ml), thiamin (0,045 mg), Vitamin B (0,045 mg), Vitamin C (30 mg), niasin (1 mg), vitamin B2 (0,065 mg), vitamin A 2,4 IU, karbohidrat (6 mg), zat besi (0,4 mg) nikotianida (0,5 mg), riboflavin (0,065 mg), serat (0,4 g), dan kalsium (17 mg) (Siswanto, 2010). Kandungan energi yang cukup, terutama karbohidrat mempengaruhi motilitas spermatozoa (Nugraheni *et al.*, 2003). Nilai hasil pengujian yang diperoleh dari perasan buah melon pada penelitian ini layak digunakan sebagai pengencer. Sejalan dengan persyaratan BSN (2017) untuk sapi dengan spermatozoa motil setelah pengenceran 55%.

Pengencer berbasis tris kuning telur dicampur dengan jus melon 60% pada sapi Bali memperoleh persentase rata-rata motilitas spermatozoa lebih rendah dibandingkan Yendraliza *et al.*, (2019) pada spermatozoa sapi bali pengencer andromed dengan penambahan 15% sari wortel (55,65%). Selain itu, semen kambing Boer pengencer sari tomat (47%) (Rosmidar *et al.*, 2013). Hasil penelitian yang berbeda kemungkinan diakibatkan perbedaan pengencer yang digunakan, jenis ternak, umur, pakan, model kolektng semen, dan sistem pemeliharaan (Garner & Hafez, 2016). Jika dibandingkan dengan temuan Yendraliza *et al.*, (2019) nilai persentase motilitas semen sapi Bali pada studi ini menurun secara signifikan dari 80,33% menjadi 17% (63,33 persen). Suhu dapat menurunkan nilai motilitas karena membuat bentuk fosfolipid membrane plasma berubah dari cair ke kental (Watson, 2000).

Viabilitas spermatozoa; Indikator untuk mengukur kualitas pengenceran semen dilihat dari nilai viabilitas spermatozoa. Kualitas semen sapi bali menunjukkan pengaruh ($P>0,05$) dan memberikan perbedaan yang sangat besar ($P<0,01$) terhadap kepraktisan spermatozoa (Tabel 3). Persentase viabilitas spermatozoa sapi Bali sesudah diencerkan menunjukkan hasil pada semua perlakuan memiliki nilai sama besar tidak ada pengaruh ($P>0,05$).

Viabilitas spermatozoa setelah dilakukan pengenceran pada penelitian ini adalah 97,60% - 98% lebih tinggi dibandingkan viabilitas sapi jantan Bali yang menggunakan ekstrak wortel dalam pengencer andromed 73% - 82,33%

(Yendraliza *et al.*, 2019). Perbedaan terjadi karena jenis pengencer yang digunakan berbeda (Garner & Hafez, 2016). Persentase viabilitas spermatozoa $\geq 50\%$ dapat digunakan untuk keperluan IB (Kusumawati *et al.*, 2018). Saat pengenceran nilai viabilitasnya turun menjadi 97,60%-98%, dengan kisaran 93,06%-96,40%. Hal ini disebabkan adanya sukrosa yang bertanggung jawab terhadap metabolisme dan aspartat yang bertanggung jawab terhadap lipid peroksidase pada membran plasma. (Gordon, 2017).

Tabel 3. Rataan persentase viabilitas spermatozoa (%) sapi Bali setelah pengenceran dan *thawing*

Perlakuan	Setelah diencerkan	Setelah <i>thawing</i>
P0 (SBM 0%)	97,33 ± 1,58 ^a	94,26 ± 1,98 ^a
P1 (SBM 20%)	98,00 ± 1,55 ^a	96,40 ± 1,45 ^b
P2 (SBM 40%)	97,93 ± 1,53 ^a	94,66 ± 1,58 ^a
P3 (SBM 60%)	97,60 ± 1,72 ^a	93,06 ± 3,10 ^a

Ket: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan pengaruh sangat nyata ($P<0,05$)

Persentase spermatozoa mati (mortalitas); Persentase nilai mortalitas semen sapi Bali menunjukkan tidak ada pengaruh ($P>0,05$) terhadap mortalitas spermatozoa setelah pengenceran menggunakan tris kuning telur yang ditambahkan sari buah melon (Tabel 4). Kematian sperma adalah tingkat spermatozoa yang lewat setelah pencairan. Spermatozoa mati akan mempertahankan warna eosin tetapi spermatozoa hidup tidak mengasimilasi warnanya. Kematian sperma disebabkan rusaknya membrane plasma. Reaksi peroksidasi oleh radikal bebas mengakibatkan kerusakan membran plasma.

Mortalitas spermatozoa menunjukkan tidak ada perbedaan antara perlakuan setelah pengenceran tris kuning telur campur sari buah melon. Penyebabnya karena jus melon yang tidak dapat dikembangkan lebih lanjut kelayakannya setelah pembekuan. Nilai mortalitas dalam penelitian ini lebih rendah (4,73%) dibandingkan Yahaq *et al.*, (2019) 8,93%. Semakin kecil nilai mortalitas spermatozoa makan semakin baik. Penurunan nilai mortalitas sesudah diencerkan paling baik pada perlakuan P1 (2%-2,40%) menjadi (4,73%-5,80%) setelah *thawing*.

Tabel 4. Rataan persentase spermatozoa mati (%) sapi Bali setelah pengenceran dan *thawing*

Perlakuan	Setelah diencerkan	Setelah <i>thawing</i>
P0 (SBM 0%)	2,66 ± 1,58 ^a	5,33 ± 3,01 ^a
P1 (SBM 20%)	2,00 ± 1,55 ^a	4,73 ± 2,31 ^a
P2 (SBM 40%)	2,06 ± 1,53 ^a	5,46 ± 2,13 ^a
P3 (SBM 60%)	2,40 ± 1,72 ^a	5,80 ± 2,45 ^a

Ket: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom berpengaruh sangat nyata ($P < 0,05$)

Penyebabnya karena perubahan suhu yang mempengaruhi peningkatan metabolisme sel sehingga asam laktat menumpuk dan mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid pada membrane plasma (Gordon, 2017). Tabel 4 menunjukkan semakin banyak konsentrasi penambahan sari buah melon maka semakin banyak kematian sperma. Sejalan dengan pendapat Yahaq *et al.*, (2019), pengelompokan asam L-askorbat yang berlebihan dapat menyebabkan kondisi pH pada pengencer beton menjadi asam. Keadaan asam ini bisa menyebabkan matinya sel sperma.

Persentase spermatozoa normal; pengenceran dengan tris kuning telur dicampur sari buah melon menunjukkan persentase spermatozoa normal tidak ada perbedaan ($P > 0,05$) dan setelah *thawing* terjadi perbedaan ($P < 0,05$). Persentase spermatozoa normal sapi Bali setelah diencerkan tidak terdapat perbedaan ($P > 0,05$) antara kontrol. Nilai yang tertinggi ke terendah konsentrasi SBM 60% (96%), SBM 20% (95,73%), SBM 40% (95,33%) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan kontrol (94,46%). Jika diamati secara keseluruhan rata-rata nilai persentase spermatozoa normal lebih tinggi dibandingkan Aliyah *et al.*, (2022) sebesar 87,65%. Perbedaan ini diduga karena berbagai jenis pengencer, umur, jenis hewan peliharaan yang digunakan, pakan, kerangka pemeliharaan dan model variasi semen (Garner & Hafez, 2016).

Persentase spermatozoa normal sapi Bali setelah *thawing* terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) antara kontrol, nilai yang tertinggi-rendah konsentrasi SBM 20% (93,80%), SBM 40% (92,60%), SBM 60% (91,60%) berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kontrol (90,60%). Akibat proses pengenceran, pembekuan, dan pencairan kembali, persentase spermatozoa normal

menurun setelah pencairan semen sapi Bali dari 94,46% menjadi 96,00% setelah pengenceran. Membran plasma, motilitas dan viabilitas semen, serta kelainannya akan dipengaruhi oleh suhu yang lebih rendah setelah pembekuan (Watson, 2000).

Tabel 5. Rataan persentase total sperma normal (%) sapi Bali setelah pengenceran dan *thawing*

Perlakuan	Setelah diencerkan	Setelah <i>thawing</i>
P0 (SBM 0%)	94,46 ± 2,19 ^a	90,60 ± 2,32 ^a
P1 (SBM 20%)	95,73 ± 1,94 ^a	93,80 ± 2,36 ^c
P2 (SBM 40%)	95,33 ± 2,12 ^a	92,60 ± 1,59 ^{bc}
P3 (SBM 60%)	96,00 ± 1,73 ^a	91,60 ± 2,87 ^{ab}

Ket: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom berpengaruh sangat nyata ($P < 0,05$)

Persentase abnormalitas spermatozoa setelah diencerkan; Salah satu cara untuk mengetahui kualitas spermatozoa secara fisik adalah dengan mengetahui abnormalitas. Penyimpangan spermatozoa merupakan anomali yang terjadi pada morfologi spermatozoa. Penyebabnya karena struktur sel spermatozoa yang tidak normal dapat menjadi penghambat dalam proses fertilitas, tingginya persentase abnormalitas pada spermatozoa dapat menyebabkan infertilitas (Rahayu *et al.*, 2020). Pengenceran dengan tris kuning telur dicampur sari buah melon menunjukkan tidak ada pengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa (Tabel 6).

Persentase nilai abnormalitas spermatozoa kepala putus dari yang tertinggi-rendah pada konsentrasi SBM 40% (1,46%), SBM 60% (1,06%), SBM 20% (0,86%) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan kontrol (1,80%) (Tabel 6). Persentase nilai abnormalitas spermatozoa dengan konsentrasi pengencer SBM nilai abnormalitas ekor bengkok dari tertinggi-rendah pada konsentrasi SBM 20% (2,40%), 40% (2,06%), 60% (1,93%) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan kontrol (2,40%). Persentase nilai abnormalitas spermatozoa ekor melingkar dari tertinggi-rendah pada konsentrasi SBM 40% (1,13%), 20% (1%), 60% (1%) tidak berbeda nyata dengan kontrol (1,31%). Penambahan konsentrasi SBM tidak menunjukkan hasil yang besar pada abnormalitas spermatozoa pada sapi Bali setelah mengalami pengenceran.

Tabel 6. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa (%) sapi Bali setelah pengenceran

Parameter	Abnormalitas setelah diencerkan				Total rataan
	SBM 0% (P0)	SBM 20 % (P1)	SBM 40 % (P2)	SBM 60 % (P3)	
SKP (%)	1,80 ± 2,30 ^a	0,86 ± 0,91 ^a	1,46 ± 1,76 ^a	1,06 ± 0,88 ^a	1,30 ± 1,58
SEB (%)	2,40 ± 1,35 ^a	2,40 ± 1,59 ^a	2,06 ± 1,62 ^a	1,93 ± 1,33 ^a	2,20 ± 1,45
SEM (%)	1,33 ± 0,89 ^a	1,00 ± 1,41 ^a	1,13 ± 1,18 ^a	1,00 ± 1,25 ^a	1,11 ± 1,18
TSA (%)	5,53 ± 2,19 ^a	4,26 ± 1,94 ^a	4,66 ± 2,12 ^a	4,00 ± 1,73 ^a	4,61 ± 2,04

Ket: Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

Ket: SKP (Spermatozoa Kepala Putus), SEB (Spermatozoa Ekor Bengkak), SEM (Spermatozoa Ekor Melingkar), TSA (Total Spermatozoa Abnormal).

Proses inseminasi spermatozoa harus menggunakan semen cair atau beku di bawah 20% (BSN, 2017). Tingkat nilai semen aneh sapi Bali setelah pelemahan pada penelitian ini adalah 4% - 5,53%. Berbeda dengan Blegur *et al.* (2020) pada semen sapi jantan Bali setelah mengalami pelemahan dengan rendemen 3,84% - 5,92%. Sejalan dengan Solihati dan Kune (2009); Hastuti dan Riviani (2020), bahwa peningkatan abnormalitas spermatozoa dipengaruhi kelainan selama waktu yang dihabiskan spermatogenesis di tubulus seminiferus, proses pelemahan dan susunan susunan apusan serta alokasi waktu mereka disimpan. Laju spermatozoa yang abnormal juga disebabkan oleh peroksidasi lipid yang terjadi akibat reaksi lemak tak jenuh dan radikal bebas yang menyebabkan kerusakan pada lapisan plasma spermatozoa (Suyadi *et al.*, 2012; Fafo *et al.*, 2016).

Persentase abnormalitas spermatozoa setelah thawing; Nilai abnormalitas semen sapi Bali menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata ($P<0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa (Tabel 7). Persentase nilai abnormalitas spermatozoa kepala putus dari yang tertinggi-rendah pada konsentrasi SBM 60% (2,86%), SBM 40% (1,86%), SBM 20% (1,40%) berbeda sangat nyata ($P<0,05$) dengan kontrol (3,20%). Persentase nilai abnormalitas spermatozoa dengan konsentrasi pengencer SBM nilai abnormalitas ekor bengkak dari tertinggi - rendah pada konsentrasi SBM 20% (3,53%), 40% (3,53%), 60% (3,46%) tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan kontrol (4,40%). Persentase nilai abnormalitas spermatozoa ekor melingkar dari tertinggi-rendah pada konsentarsi SBM 60% (2,06%), 40% (2%), 20% (1,26%) tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan kontrol (1,80%).

Tabel 7. Rataan persentase abnormalitas spermatozoa (%) sapi Bali setelah *thawing*

Parameter	Abnormalitas setelah <i>thawing</i>				Total rataan
	SBM 0% (P0)	SBM 20 % (P1)	SBM 40 % (P2)	SBM 60 % (P3)	
SKP (%)	3,20±3,12 ^b	1,40±1,54 ^a	1,86±1,45 ^{ab}	2,86±2,32 ^{ab}	2,33±2,28
SEB (%)	4,40±2,69 ^a	3,53±2,32 ^a	3,53±1,92 ^a	3,46±2,58 ^a	3,73±2,37
SEM (%)	1,80±1,69 ^a	1,26±1,33 ^a	2,00±1,81 ^a	2,06±1,79 ^a	1,78±1,65
TSA (%)	9,40±2,32 ^c	6,20±2,36 ^a	7,40±1,59 ^{ab}	8,40±1,73 ^{bc}	7,85±2,56
MPU (%)	29,06±14,55 ^a	30,40±17,41 ^a	30,86±13,98 ^a	26,80±12,26 ^a	29,28±14,38

Ket: Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang menunjukkan perbedaan pengaruh sangat nyata ($P<0,05$) dan pengaruh tidak nyata ($P>0,05$).

Ket: SKP (Spermatozoa Kepala Putus), SEB (Spermatozoa Ekor Bengkak), SEM (Spermatozoa Ekor Melingkar), TSA (Total Spermatozoa Abnormal), MPU (Membran Plasma Utuh).

Total nilai presentase spermatozoa abnormal dari nilai tertinggi-rendah pada konsentrasi SBM 60% (8,40%), 40% (7,40%), 20% (6,20%) berbeda sangat nyata ($P<0,05$) dengan kontrol (9,40%). Persentase abnormalitas dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan Parera *et al.*, (2009) sebesar 9,83%, dan Sutekyet

et al., (2015) sebesar 12,80%. Sesuai dengan pendapat Barth *et al.*, (2007) maksimal abnormalitas spermatozoa yang layak untuk di IB dibawah 25%. Faktor usia dan kesuburan pria mungkin menjadi penyebab perbedaan ini (Garner & Hafez, 2016). Penurunan nilai ketidakrataan semen sapi perah Bali setelah

diencerkan (4%-5,53%) menjadi 6,20%-9,40% setelah pencairan disebabkan proses pengendapan dan pembekuan dan pencairan kembali. Membran plasma, motilitas dan viabilitas semen, serta kelainannya akan dipengaruhi suhu yang lebih rendah setelah pembekuan (Watson, 2000)

Persentase membran plasma utuh (MPU); Persentase nilai MPU semen sapi Bali menunjukkan tidak ada pengaruh terhadap keutuhan membrane plasma spermatozoa sapi Bali (Tabel 7). Spermatozoa yang baik harus memiliki membran plasma yang utuh (MPU) yang berfungsi untuk mengatur semua komposisi biokimia yang terjadi di dalam sel. Lapisan plasma spermatozoa memiliki fosfolipid yang mengandung lemak tak jenuh, membuatnya sangat lemah untuk melepaskan serangan ekstrim. Membran plasma akan rusak akibat reaksi autokatalitik yang dipicu oleh radikal bebas (Sukmawati *et al.*, 2014). Membrane plasma murni spermatozoa sapi bali yang menggunakan pengencer sari buah melon hingga 60% tidak mempengaruhi nilai lapisan plasma murni, sama dengan perlakuan tanpa sari melon. Hal ini diduga karena pengencer mampu memberikan substrat energi kepada spermatozoa sehingga pencernaannya dapat berjalan dengan baik.

Hasil dari proses ini akan menghasilkan peningkatan ATP yang akan digunakan untuk pengembangan flagela (Watson, 2000). Senyawa ATP ini terkait erat dengan motilitas sperma dan daya tahan spermatozoa (Garner & Hafez, 2016). Nilai MPU semen sapi Bali lebih rendah (26,80 persen-30,86 persen) dibandingkan sapi jantan di Malaysia (59 persen-72 persen) (Tarig *et al.*, 2017). Arifyingini & Purwantara (2010) berspekulasi bahwa berbagai metode penyimpanan yang digunakan, serta berbagai jenis ternak dan pengencer, menyebabkan variasi ini.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan ditemukan bahwa sari buah melon dapat meningkatkan nilai motilitas sperma sapi Bali, namun nilai viabilitas sperma sapi Bali tidak ada perbedaan yang, morfologi dan keutuhan membrane plasma spermatozoa terhadap kelompok kontrol dengan sari buah melon.

Konsentrasi berbagai sari buah melon dapat meningkatkan persentase nilai spermatozoa normal. Penambahan sari buah melon ke dalam pengencer secara signifikan meningkatkan nilai motilitas spermatozoa pasca *thawing*, viabilitas spermatozoa, morfologi dan keutuhan membrane plasma spermatozoa dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan sari buah melon).

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu khususnya Fakultas Peternakan, Universitas Mataram yang telah mendukung penelitian hingga akhir tulisan ini.

Referensi

- Afiati, F., & Said, I. S. (2013). *Pembibitan Ternak dengan Inseminasi Buatan*. Penebar Swadaya Grup.
- Aliyah, S. N., Santoso, H., & Zayadi, H. (2022). Analisis Normalitas dan Abnormalitas Spermatozoa Segar Sapi Limousin (*Bos taurus*) dan Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Sebelum Proses Pembekuan Di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang. *Sciscitatio*, 3(1), 38-46.
- Allai, L., Druart, X., Contell, J., Louanjli, N., Moula, A. B., Badi, A., ... & El Amiri, B. (2015). Effect of argan oil on liquid storage of ram semen in Tris or skim milk based extenders. *Animal reproduction science*, 160, 57-67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.07.003>
- Anwar, A., Solihati, N., & Rasad, S. D. (2019). Pengaruh medium dan lama inkubasi dalam proses sexing sperma terhadap kualitas semen kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 19(1), 53-61. DOI: <https://doi.org/10.24198/jit.v19i1.23009>
- Anwar, P., Ondho, Y., & Samsudewa, D. (2014). Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali. *Jurnal Peternakan*, 11(2), 48-58. DOI: <http://dx.doi.org/10.24014/jupet.v11i2.2719>
- Arifiantini, R. I., & Purwantara, B. (2010). Motility and viability of friesian holstein

- spermatozoa in three different extender stored at 5°C. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 35(4), 222-226. DOI: <https://doi.org/10.14710/jitaa.35.4.222-226>
- Barek, M.E., Hine, T.M., Nalley, W.M. and Belli, H.L. (2020). Pengaruh Penambahan Sari Wortel Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Bligon (The effect of carrot juice supplementation in citrate-egg yolk extender on spermatozoa quality of bligon goat). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), pp.109-117. DOI: <https://doi.org/10.35508/nukleus.v7i2.3152>
- Barth, A. D., & Oko, R. J. (1989). *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Iowa State University Press.
- Bimanteri, L. and Widaryati, W. (2014). *Pengaruh Pemberian Jus Melon Terhadap Tekanan Darah Penderita Hipertensi di Modinan Banyuraden Sleman Yogyakarta* (Doctoral dissertation, Stikes'Aisyiyah Yogyakarta).
- Blegur, J., Nalley, W.M. and Hine, T.M. (2020). Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Selama Preservasi (Influence addition virgin coconut oil in tris egg yolk on the quality of Bali bull spermatozoa during preservation). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), pp.130-138. DOI: <https://doi.org/10.35508/nukleus.v7i2.2997>
- Bria, M.M., Nalley, W.M., Kihe, J.N. and Hine, T.M. (2022). Pengaruh Substitusi Sari Buah Semangka (*Citrullus Lanatus*) Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali (Effect of watermelon juice supplementation in citrate-egg yolk extender on spermatozoa quality of Bali bulls). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), pp.23-32. DOI: <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i1.4393>
- Dasrul, R. and Lubis, T.M., (2014). Pengaruh penambahan sari buah tomat dalam media pengencer terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Boer yang disimpan pada suhu 3–5 °C. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, p.97324.
- Fadilah, Z.N., Isnaini, N. and Ihsan, M.N., (2016). Kualitas semen cair sapi Bali selama penyimpanan suhu ruang menggunakan pengencer skim milk dengan penambahan filtrat kecambah kacang hijau. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*, 17(1), pp.22-30. DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2016.017.013>
- Fafo, M., Hine, T.M. and Nalley, W.M. (2016). Pengujian efektivitas ekstrak daun kelor dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), pp.184-195. DOI: <https://doi.org/10.35508/nukleus.v3i2.805>
- Feradis. (2010). *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta, Bandung.
- Garner, D. L & Hafez, E.S.E., (2000). *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In *Reproduction in Farm Animal Ed ke-7*. In ESE Hafez (ed). Lea and Febiger Publishing, Philadelphia.
- Garner, D. L. & Hafez, E.S.E., (2016). *Spermatozoa and Seminal Plasma, in Reproduction in Farm Animals*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland, USA. pp. 96-109.
- Gordon, I. (2017). *Reproductive Technologies in Farm Animals 2nd Edition*. University College Dublin. Ireland.
- Harahap, A. E., Handoko, J., Rodiallah, M., & Arman, C. (2020). Quality of Bali bull cryopreserved sperm using different extenders and equilibration times on pregnancy rate of Bali cows. *Songklanakar Journal of Science & Technology*, 42(3).
- Harahap, A.E., Handoko, J., Rodiallah, M. and Arman, C., 2020. Quality of Bali bull cryopreserved sperm using different extenders and equilibration times on pregnancy rate of Bali cows. *Songklanakar Journal of Science & Technology*, 42(3).
- Hardiyanti, H. and Kurniawan, M.E., (2020). Pengaruh Penambahan Sari Wortel (*Daucus Carota*, L) Pada Pengencer

- Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung Selama Penyimpanan. *Musamus Journal of Livestock Science*, 3(2), pp.12-20.
- Hastuti, D.W.B. and Riviani, R., (2020). Efektifitas Penggunaan Jenis Ekstender dan Dosis Madu Berbeda Terhadap Motilitas dan Viabilitas Sperma Ikan Nilem (*Osteochilus vittatus*) Setelah Penyimpanan. *Jurnal Airaha*, 9(02), pp.122-129. DOI: <https://doi.org/10.15578/ja.v9i02.183>
- Kune, P., Uly, K. and Nalley, W.M., (2021). Pengaruh Penambahan Filtrat Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali: The Effect of Adding Rosella Flower Petal Filtrate (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) to Tris-Egg Yolk Diluent on The Quality of Bali Bull Spermatozoa. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*, 3(1), pp.1309-1323.
- Kusumawati, E.D., Betu, H., Krisnaningsih, A.T.N. and Rahadi, S., (2018). Kualitas semen segar sapi Limousin pada lama simpan yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*, 3(1), pp.1-9. DOI: <https://doi.org/10.32503/fillia.v3i1.162>
- Labetubun, J. and Siwa, I.P., (2011). Kualitas spermatozoa kauda epididimis sapi Bali dengan penambahan laktosa atau maltosa yang dipreservasi pada suhu 3-5°C. *Jurnal Veteriner*, 12(3), pp.200-207.
- Lestari, S.D., Tagama, T.R. and Saleh, D.M., (2013). Profil produksi semen segar sapi simmental pada tingkat umur yang berbeda di balai inseminasi buatan lembang jawa barat. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1(3), pp.897-906.
- MataHine, T. and Burhanuddin, M.A., (2014). Efektivitas air buah lontar dalam mempertahankan motilitas, viabilitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi Bali. *Jurnal veteriner*, 15(2), pp.263-273. DOI: <http://dx.doi.org/10.33772/jitro.v6i2.5936>
- Mokoagow, F., Pudjihastuti, E., Hendrik, M.J. and Papatungan, U., 2021. Makroskopik semen segar kambing bangsa Peranakan Etawa (PE), Boer dan Saanen di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Zootec*, 41(1), pp.150-157. DOI: <https://doi.org/10.35792/zot.41.1.2021.32462>
- Muhammad, R., Abdillah, H., Ika, S. and Muhammad, R., (2017). Kemampuan Sari Melon Dalam Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Peranakan Ettawa. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan 3*. Universitas Hasanuddin. Makassar, 18 September 2017. Hlm. 64-69.
- Nabilla, A., Arifiantini, R.I. and Purwantara, B., (2018). Kualitas semen segar sapi Bali umur produktif dan non-produktif serta penentuan konsentrasi krioprotektan dalam pengencer tris kuning telur. *Jurnal Veteriner*, 19(2), pp.242-250.
- Naijian, H.R., Kohram, H., Shahneh, A.Z., Sharafi, M. and Bucak, M.N., (2013). Effects of different concentrations of BHT on microscopic and oxidative parameters of Mahabadi goat semen following the freeze-thaw process. *Cryobiology*, 66(2), pp.151-155. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2012.12.010>
- Novita, R., Karyono, T. and Rasminah, R. (2019). Kualitas Semen Sapi Brahman pada Persentase Tris Kuning Telur yang Berbeda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 14(4), pp.351-358. DOI: <https://doi.org/10.31186/jspi.id.14.4.351-358>
- Nugraha, C.D., Herwijanti, E., Novianti, I., Furqon, A., Septian, W.A., Busono, W. and Suyadi, S. (2019). Correlations between age of Bali bull and semen production at National Artificial Insemination Center, Singosari-Indonesia. *J. Indones. Trop. Anim. Agric*, 44, pp.258-260. DOI: <https://doi.org/10.14710/jitaa.44.3.258-265>
- Nugraheni, T., Astirin, O.P. and Widiyani, T., (2003). Pengaruh vitamin c terhadap perbaikan spermatogenesis dan kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). *Biofarmasi*, 1(1), pp.13-19.
- Parera, F., Prihatiny, Z., Souhoka, D.F. and Rizal, M., (2009). Pemanfaatan sari wortel sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi Bali. *J. Indon. Trop. Anim.*

- Agric*, 34(1), pp.50-56. DOI: <http://dx.doi.org/10.33772/jitro.v9i2.22616>
- Prajnanta, F., (2008). Melon: Pemeliharaan Secara Intensif dan Kiat Su ses Beragribisnis. *Jakarta: Penebar Swadaya hal*, pp.8-12.
- Prastowo, S., Dharmawan, P., Nugroho, T., Bachtiar, A. and Pramono, A., (2018). Kualitas semen segar sapi Bali (*Bos javanicus*) pada kelompok umur yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 18(1), pp.1-7.
- Rahayu, S., Susilawati, T. and Soewondo, A., (2020). *Biologi Reproduksi: Kajian Seluler dan Molekuler*. Universitas Brawijaya Press.
- Rahmah, U.I.L., Imanudin, O. and Permadi, D.I.D.I., (2018). Analisis faktor-faktor yang berhubungan dengan tingkat keberhasilan inseminasi buatan pada kambing kacang (*Capra hircus*). *Jurnal Ilmu Pertanian dan Peternakan*, 6(2), pp.180-189.
- Rahmiati, R., Eriani, K. and Dasrul, D., (2018). Kualitas dan morfologi abnormal spermatozoa sapi aceh pada berbagai frekuensi ejakulasi. In *Prosiding Seminar Nasional Biotik* (Vol. 3, No. 1). DOI: <http://dx.doi.org/10.22373/pbio.v3i1.2716>
- Setyani, N.M., N.P. Sariyani, & I.L. Oka. (2017). Heterogenitas kuantitas dan kualitas semen sapi Bali pejantan di Unit Pelaksana Teknis Balai Inseminasi Buatan Daerah, Baturiti. *Peternakan Tropika*, 5(1):91-104. URL: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/29466>
- Siswanto, I. (2010). Meningkatkan Kadar Gula Buah Melon. *MT. Dosen Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Jawa Timur ISBN*, pp.978-602.
- Sisy, D., El-Nattat, W.S., El-Sheshtawy, R.I. and El-Maaty, A.M.A., (2016). Substitution of egg yolk with different concentrations of soybean lecithin in tris-based extender during bulls' semen preservability. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(4). DOI: 10.1016/j.apjr.2016.10.011
- Soi, M.N.J., (2016). Uji viabilitas spermatozoa sapi Bali jantan dengan menggunakan larutan natrium clorida (NaCl) yang berbeda level. *JAS*, 1(2), pp.28-29. DOI: <https://doi.org/10.32938/ja.v1i02.39>
- Solihati, N. and Kune, P. (2009). Pengaruh jenis pengencer terhadap motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa semen cair sapi Simmental. *Jurnal Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran, Bandung*.
- Sukmawati, E., Arifiantini, R.I. and Purwantara, B. (2014). Freezing capacity of sperm on various type of superior bulls. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 19(3), pp.168-175. URL: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20153070689>
- Sulistyowati, D., Faris, M.A., Yekti, A.P.A., Wahjuningsih, S. and Susilawati, T., (2018). Kualitas semen cair sapi Peranakan Ongole pada pengencer tris aminomethan kuning telur tanpa raffinosa yang disimpan pada media yang berbeda suhu. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*, 19(1), pp.38-45. DOI: <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2018.019.01.6>
- Sunarti, T.S. and Nafiu, L.O., (2016). Karakteristik spermatozoa sapi Bali setelah sexing menggunakan metode kolom albumin dengan lama waktu sexing yang berbeda. *Fakultas Peternakan UHO, Kendari. Jitro*, 1(1), pp.65-76.
- Susilawati, T. and Yekti, A.P.A., 2018. *Teknologi Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Cair (Liquid Semen): Solusi untuk Daerah yang Tidak Ada/Sulit Nitrogen Cair*. Universitas Brawijaya Press.
- Susilawati, T., Isnaini, N., Satria, A.T., Huda, A.N. and Yekti, A.P.A., (2020). The pregnancy evaluation on Ongole crossbred cows by using liquid semen and frozen semen. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 478, No. 1, p. 012015). IOP Publishing. DOI: 10.1088/1755-1315/478/1/012015
- Suyadi, A.R. and Iswanto, N. (2012). Pengaruh α -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethane kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 5oC. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan*, 22(3), pp.1-8.

- Tamboza, B. (2008). *Serba-serbi Bertanam Melon*. Bandung: Rawansah.
- Tarig, A.A., Wahid, H., Rosnina, Y., Yimer, N., Goh, Y.M., Baiee, F.H., Khumran, A.M., Salman, H., Assi, M.A. and Ebrahimi, M., (2017). 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. *Veterinary world*, 10(6), p.672. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5499086/>
- Wahyuningsih, A. and Saleh, D.M., Sugiyatno. (2013). Pengaruh umur pejantan dan frekuensi penampungan terhadap volume dan motilitas semen segar sapi Simmental di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1(3), pp.947-953.
- Watson, P.F., (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal reproduction science*, 60, pp.481-492.
- Yahaq, M.A., Ondho, Y.S. and Sutiyono, B., (2019). Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Semen Sapi Limousin yang Dibekukan Terhadap Kualitas Post Thawing. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 14(4), pp.380-386. DOI: <https://doi.org/10.31186/jspi.id.14.4.380-386>
- Yendraliza, M.M., Elviriadi, Z. and Rodiallah, M., (2018). Viabilitasspermatozoa sapi Bali menggunakan pengencer andromed dengan penambahan konsentrasi sari wortel yang berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*, 6(2), pp.239-245. URL: <https://garuda.kemdikbud.go.id/document/s/detail/1053829>