



Tersedia daring pada: <http://ejournal.undana.ac.id/jvn>

Kualitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Buah Lontar dan Kuning `Telur Ayam Kampung dengan Metode Penyimpanan yang Berbeda

Maria Selviana Bebhe Bei¹, Nancy Diana F. K. Foeh², Cynthia Dewi Gaina²

¹Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

²Laboratorium Klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana

Abstract

Riwayat Artikel: Diterima: 12 Okt 2020 Direvisi: 9 Jan 2021 Disetujui: 11 Feb 2021	<i>The aim of this study is to find the best concentration ratio of native chicken egg yolk (NCEY) and lontar water (LW) in order to preserve landrace boar semen, with water jacket and non-water jacket method, at 5°C and to find how long can it preserve the semen. Fresh semen was collected from Landrace boar 2-4 years old age. Semen sample is categorized appropriate to be extended if >70% sperm motility, >200x10⁶ cells/ mL, and >20% sperm abnormality. This study was designed with completely randomized design and factorial pattern with 2 controlled group, 6 treated group, and 4 repetition. Controlled group consist of fresh semen without extender. K0 was preserved with non-water jacket method, and K1 was preserved with water jacket method. Controlled group were P1 (95% LW + 5% NCEY), P2 (85% LW + 15% NCEY), P3 (75% LW + 25% NCEY) that preserved with water jacket method, and P4 (95% LW + 5% NCEY), P5 (85% LW + 15% NCEY), P6 (75% LW + 25% NCEY) preserved with non-water jacket method. Sperm motility and viability were evaluated every 2 hours until motility value has reached 40%. The result shows that P2 is the best concentration to preserve sperm motility (26 hours, 45.00±0.00%) and viability (30 hours, 51.00±0.40%).</i>
Keywords: Lontar water native chicken egg yolk water jacket non-water jacket Landrace boar	
Korespondensi: beyelvin@gmail.com	

PENDAHULUAN

Usaha peternakan babi banyak dikembangkan di wilayah Nusa Tenggara Timur (NTT) karena pola konsumsi masyarakat dan adat istiadat yang pada umumnya lebih memanfaatkan ternak babi dibandingkan jenis ternak lainnya. Namun pemerliiharaan ternak babi di NTT masih dilakukan dalam skala kecil dan kurang memperhatikan mutu genetiknya (Tamoës dkk., 2014). Salah satu upaya untuk meningkatkan mutu genetik ternak adalah melalui program Inseminasi Buatan (IB).

Keberhasilan suatu program inseminasi buatan salah satunya ditentukan oleh kualitas semen. Semen akan mengalami penurunan fertilitas apabila tidak segera digunakan setelah penampungan sehingga perlu ditambahkan larutan pengencer untuk menjamin kebutuhan fisik dan kimiawinya. Menurut Toelihere (1993), bahan pengencer yang baik harus mengandung unsur yang berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa, melindungi spermatozoa dari *cold shock*, mempertahankan pH semen, serta mencegah pertumbuhan mikroba. Bahan pengencer yang sering digunakan seperti tris, natrium sitrat, susu skim, laktosa dan beberapa merek dagang pengencer komersial seperti *Beltsville Thawing Solution* (BTS), Trehalosa, MIII[®], dan Zorlesco pada umumnya relatif mahal dan sulit ditemukan di beberapa daerah sehingga perlu penggunaan bahan pengencer alternatif yang lebih murah serta memiliki ketersediaan yang melimpah di alam, salah satunya adalah air buah lontar.

Buah lontar (*Borassus flabellifer*) memiliki ketersediaan yang melimpah di NTT dan telah diteliti memiliki potensi sebagai bahan pengencer semen. Air

buah lontar memiliki kandungan karbohidrat sebanyak 22,5% (Vengaiyah *et al.*, 2015), sehingga dapat dijadikan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Berdasarkan penelitian Foeh dan Gaina (2017), air buah lontar dapat mempertahankan kualitas semen babi setelah 24 jam penyimpanan pada suhu 22 °C dan menurut Paulenz *et al.*, (2000) spermatozoa babi sangat rentan terhadap *cold shock* sehingga hanya dapat disimpan dengan tetap mempertahankan kualitasnya pada kisaran temperatur 15-20 °C, serta daya simpan yang relatif singkat yaitu kisaran 3-7 hari tergantung bahan pengencer yang digunakan (Gadea, 2003; Knox, 2006).

Perpanjangan waktu penyimpanan semen memerlukan upaya preservasi atau pengawetan, baik pada suhu rendah yaitu suhu 4-5 °C dalam *refrigerator* maupun pada suhu beku dalam nitrogen cair. Akan tetapi, penurunan suhu dapat menyebabkan spermatozoa mengalami cekaman dingin (*cold shock*) sehingga diperlukan suatu agen protektif dalam bahan pengencer. Menurut Toelihere dkk. (1993), kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang dapat melapisi membran plasma sel sehingga mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa dan melindunginya dari cekaman dingin. Hal ini membuat kuning telur sangat potensial untuk dijadikan sebagai bahan pengencer selama penyimpanan atau preservasi semen

Penambahan kuning telur dalam bahan pengencer semen alami pernah dilakukan pada semen sapi (Matahine dkk., 2014), semen anjing (Cardoso *et al.*, 2003), semen kambing (Kaka dkk., 2014) dan semen rusa (Daramola *et al.*, 2016). Matahine dkk., (2014) meneliti penambahan kuning telur dalam

pengencer air buah lontar pada semen sapi bali dan kualitasnya dapat dipertahankan selama 11 hari penyimpanan. Penelitian penambahan kuning telur dalam pengencer air buah lontar belum pernah dilakukan pada semen babi. Karakteristik spermatozoa babi yang rentan terhadap *cold shock* serta berbagai kelebihan dari bahan pengencer air buah lontar dan kuning telur, khususnya kuning telur ayam kampung yang memiliki kandungan karbohidrat 10 kali lebih banyak dibandingkan dengan telur ayam ras (Triharyanto, 2001) membuat kombinasi pengencer air buah lontar dan kuning telur ayam kampung memiliki potensi sebagai bahan pengencer alternatif.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di dua tempat yaitu di Instalasi Pembibitan dan Pakan Ternak Tarus, Kabupaten Kupang dan Laboratorium Klinik, Reproduksi dan Patologi FKH Undana.

Sumber Semen

Sumber semen dalam penelitian ini berasal dari tiga ekor semen babi *Landrace* dalam kondisi sehat yang telah mengalami dewasa kelamin dengan umur 1.7-2 tahun. Semen dikoleksi dari Instalasi Pembibitan Tarus, Kabupaten Kupang. Koleksi semen segar dilakukan pada sore hari sekitar pukul 16.00-17.00 WITA setiap dua kali seminggu.

Materi Penelitian

Materi penelitian terdiri dari alat dan bahan yang digunakan. Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi gelas ukur, tabung ependorf, stirrer, masker, *gloves*, kertas label, spuit, gelas beker, *aluminium foil*, bunsen, pH

indikator, mikroskop, *object glass*, *coverglass*, kamar hitung, pipet tetes, mikropipet, kamar hitung, *slide dryer*, dan kertas saring. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen babi *Landrace*, air buah lontar (*Borassus flabelliter* Linn.), kuning telur ayam kampung, pewarna eosin *negrosin*, *formosaline*, aquabidest steril, antibiotik penicillin dan streptomycin.

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial yang terdiri dari 6 perlakuan, 2 kontrol perlakuan dan 4 kali ulangan. Pengencer air buah lontar dan kuning telur dikombinasikan dengan rasio konsentrasi yang berbeda-beda dan disimpan pada suhu 5 °C menggunakan metode *water jacket* maupun *non water jacket*. Kelompok-kelompok perlakuan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Perlakuan dalam Semen Cair

Perlakuan	Semen Babi	Komposisi Bahan Pengencer		Metode Penyimpanan
		ABL	KTak	
K0	Semen Segar	-	-	<i>Water jacket</i>
K1	Semen Segar	-	-	<i>Non water jacket</i>
P1	Semen Segar	95 %	5 %	<i>Water jacket</i>
P2	Semen Segar	85 %	15 %	<i>Water jacket</i>
P3	Semen Segar	75 %	25 %	<i>Water jacket</i>
P4	Semen Segar	75 %	25 %	<i>Non water jacket</i>
P5	Semen Segar	85 %	15 %	<i>Non water jacket</i>
P6	Semen Segar	95 %	5 %	<i>Non water jacket</i>

Keterangan : ABL : Air Buah Lontar, KTak : Kuning Telur Ayam Kampung

Penyiapan bahan pengencer

Pada penelitian ini digunakan buah lontar yang masih muda. Buah lontar dipotong pada bagian matanya hingga terlihat bagian daging buah lontar. Air buah lontar yang terdapat di bagian dalam dari daging buah lontar disedot menggunakan spuit steril, dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditutup menggunakan *aluminium foil*. Kuning telur ayam kampung ditambahkan pada air buah lontar sesuai kelompok perlakuan sampai volume pengencer mencapai 20 mL pada masing- masing

kelompok, kemudian *distirrer* selama 25 menit, dan dihomogenkan.

Bahan pengencer yang akan digunakan untuk penelitian tersebut selanjutnya ditambahkan antibiotik penisilin dan streptomycin.

Penampungan semen

Penampungan semen dilakukan dengan metode *massage* menggunakan *dummy sow*. Cairan bening yang pertama keluar harus dibuang karena tidak mengandung spermatozoa. Semen yang telah dikoleksi segera dibawa ke laboratorium dalam keadaan tidak terkena cahaya matahari.

Evaluasi semen

Evaluasi makroskopis

Evaluasi makroskopis terdiri dari evaluasi volume semen, warna, pH, bau dan konsistensi. Volume semen segar diukur dengan melihat skala pada tabung penampung semen. Volume semen babi secara normal berkisar antara 150-200 mL (Garner and Hafez, 2000).

Pengukuran derajat keasaman (pH) semen dilakukan dengan menggunakan kertas indikator pH. Semen diteteskan pada kertas pH dan perubahan warna yang muncul disesuaikan dengan pH indikator. Semen segar babi memiliki pH normal berkisar antara 7.3-7.8 (Garner and Hafez, 2000).

Penilaian konsistensi semen dilakukan dengan memiringkan tabung penampung semen kemudian mengembalikannya ke posisi semula. Konsistensi semen babi adalah cukup encer (Knox, 2006).

Penilaian warna semen dilakukan dengan pengamatan langsung. Warna

semen normal pada babi adalah putih susu (Knox, 2006) dan menunjukkan bau yang khas.

Evaluasi mikroskopis

Evaluasi mikroskopis semen meliputi pengamatan persentase motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa serta konsentrasi spermatozoa. Evaluasi motilitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan semen segar pada *object glass* kemudian ditutup dengan menggunakan *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x dan 40x. Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan secara subjektif kuantitatif dengan membandingkan spermatozoa yang bergerak maju (progresif) dan yang tidak progresif.

Tabel 2. Penilaian motilitas spermatozoa

Penilaian	Persentase (%)	Keterangan
Sangat baik (5)	>80	Gelombang besar dengan gerakan aktif dan tebal
Baik (4)	79-70	Gelombang besar, tipis, jarang
Cukup baik (3)	69-60	Gelombang tipis
Cukup (2)	59-50	Pergerakan lambat
Buruk (1)	49-20	Gerakan individu
Mati (0)	20-0	Tidak ada yang bergerak

Ax et al., (2000)

Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan kamar hitung *Neubauer* dengan bahan tambahan blanko berupa *formosalin* (10 μ L semen dalam 990 μ L *formosalin*). Menurut Garner and Hafez (2000) konsentrasi spermatozoa babi berkisar antara 200-300 x 10⁶ sel/mL.

Persentase viabilitas spermatozoa dilakukan dengan meneteskan semen babi sebanyak satu tetes pada *object glass* diikuti dengan zat warna *eosin negrosin* sebanyak dua tetes kemudian dihomogenkan dan dibuat ulasan tipis pada *object glass*. Preparat ulas selanjutnya dikeringkan diatas *slide*

dryer dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x dan 40 x.

Persentase viabilitas spermatozoa dihitung minimal 200 sel spermatozoa. Spermatozoa hidup tidak menyerap zat warna (transparan) dan spermatozoa mati akan menyerap zat warna merah pada bagian kepala (Nalley dkk., 2015)

$$\text{Persentase Hidup} = \frac{\Sigma \text{spermatozoa hidup}}{\Sigma \text{Spermatozoa}} \times 100$$

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan mengamati kelainan pada bentuk spermatozoa. Kelainan pada kepala seperti besar, ganda, kecil, bengkok atau putus merupakan abnormalitas primer dan kelainan pada ekor seperti ganda, patah dan melingkar merupakan kelainan sekunder. Spermatozoa dihitung minimal 200 sel spermatozoa.

$$\% \text{ abnormalitas} = \frac{\Sigma \text{ spermatozoa abnormali}}{\Sigma \text{ spermatozoa hitung}} \times 100$$

Semen segar yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen dengan motilitas spermatozoa > 70%, konsentrasi spermatozoa \geq 200 juta dan abnormalitas spermatozoa \leq 20%.

Pengenceran semen

Setelah dilakukan evaluasi, semen babi yang memenuhi persyaratan segera dilakukan pengenceran. Semen segar (kelompok kontrol) dan semen cair (kelompok perlakuan) dimasukkan dalam tabung ependorf sesuai dengan jumlah pengamatan. Semen selanjutnya disimpan dalam *refrigerator* dengan suhu 5 °C menggunakan metode *water jacket* dan *non water jacket*. Kelompok K0, P1, P2, dan P3 diletakkan dalam gelas beker yang telah ditambahkan air (metode *water jacket*) dan 4 kelompok

lainnya (K1, P4, P5 dan P6) diletakan dalam *refrigerator* tanpa melalui media air (metode *non water jacket*).

Evaluasi motilitas dan viabilitas spermatozoa setelah pengenceran.

Evaluasi spermatozoa dilakukan setiap 2 jam. Evaluasi dilakukan terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa, hingga presentase motilitas menunjukkan angka 40 %. Berdasarkan SNI (2014), evaluasi semen cair dilakukan untuk melihat motilitas dan viabilitas dari spermatozoa dengan penurunan motilitas spermatozoa hingga 40 %.

Analisis Data

Hasil evaluasi semen secara makroskopik dan mikroskopik dianalisis secara deskriptif. Hasil perlakuan di analisis dengan menggunakan program SPSS dalam uji *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan nyata pada perlakuan, maka akan dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan untuk membandingkan hasil perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Volume semen segar babi dari hasil penelitian ini adalah 287±17 mL. Hasil ini sesuai dengan Garner and Hafez (2000) yang menyatakan volume semen babi per ejakulat adalah 150-400 mL, sedangkan volume semen babi tanpa gelatin menurut Garner and Hafez (2000) adalah 150-200 mL dan menurut Ax *et al.*, (2000) berkisar antara 200-250 mL. Adanya perbedaan volume semen yang dihasilkan, menurut Frunza *et al.* (2008) memiliki keterkaitan dengan ras, frekuensi ejakulasi, dan kualitas pakan. Jenis babi *Landrace* menghasilkan

semen paling banyak jika dibandingkan dengan babi *Duroc* dan *Yorkshire*, dengan volume ejakulat 265 mL (Kommisrud *et al.*, 2002). Menurut Vyt (2007), frekuensi penampungan semen pada umumnya dua kali seminggu. Tingginya frekuensi penampungan semen akan memaksa spermatozoa bergerak secara cepat dari caput ke cauda epididimis sehingga tidak memiliki cukup waktu untuk maturasi. Menurut penelitian Rodriguez (2012), babi usia tiga minggu yang diberikan pakan *low feed level* (1.92 kg/hari) selama 15 minggu akan menurunkan volume ejakulat sebanyak 46% jika dibandingkan dengan *high level* (5.74 kg/hari) dan *medium level* (3.62 kg/hari).

Pengukuran derajat keasaman (pH) pada penelitian ini menunjukkan rerata 7.45 ± 0.05 . Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat dari Garner and Hafez (2000) yang menyatakan pH semen babi berkisar antara 7.3-7.8 dan Johnson *et al.*, (2000) yang menyatakan pH semen babi berkisar antara 7.2-7.5. Apabila terjadi penurunan pH, maka metabolisme dan motilitas spermatozoa akan turut mengalami penurunan (Gadea, 2003). Johnson *et al.*, (2000) menambahkan bahwa pH di bawah 7,2 akan menurunkan motilitas spermatozoa.

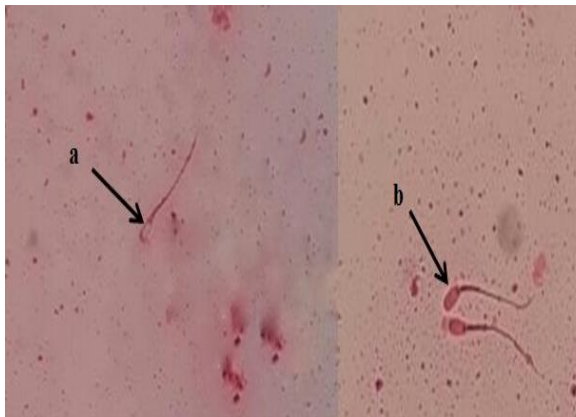
Warna dan konsistensi semen diamati secara langsung setelah penampungan. Penelitian ini menunjukkan semen babi memiliki warna putih susu dengan konsistensi yang encer. Hasil yang diperoleh sesuai dengan pendapat Knox (2006) yang menyatakan semen babi memiliki warna putih susu dan konsistensi semen yang encer. Warna semen berkaitan erat dengan konsistensi dan konsentrasi spermatozoa. Semen yang berwarna pekat menunjukkan konsistensi dan konsentrasi spermatozoa yang tinggi (Sumardani, 2007). Apabila

semen berwarna pink, hal ini mengindikasikan adanya darah yang disebabkan oleh infeksi saluran urinari dan warna kuning menunjukkan adanya urin yang dikoleksi secara tidak sengaja selama penampungan semen (Knox, 2006).

Hasil pemeriksaan mikroskopis menunjukkan semen babi yang dievaluasi memiliki motilitas 80% pada setiap ulangan serta viabilitas spermatozoa yang berkisar antara 92-95% dengan rerata $93 \pm 0.7\%$. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan pendapat Garner and Hafez (2000) yang menunjukkan motilitas dan viabilitas spermatozoa berkisar antara 50-80% dan 70-90%, dan sebaliknya lebih tinggi dari hasil penelitian Dapawole (2014) yang menunjukkan motilitas $76.31 \pm 4.80\%$ dan viabilitas $86.00 \pm 2.88\%$. Faktor-faktor yang mempengaruhi perbedaan motilitas spermatozoa adalah pH, temperatur dan kualitas pakan (Johnson, 2000; Gadea, 2003; Yeste, 2017). Motilitas spermatozoa akan menurun secara gradual pada semen segar babi dengan pH dibawah 7.2 (Johnson, 2000). Menurut Rodriguez (2012), *heat stress* dapat mempengaruhi kualitas semen. Babi yang terpapar pada suhu 34.5°C selama 8 jam memiliki motilitas spermatozoa yang lebih rendah dibandingkan dengan babi yang terpapar pada suhu 23°C . Penurunan motilitas spermatozoa juga disebabkan oleh defisiensi selenium pada pakan (Rodriguez, 2012).

Motilitas spermatozoa berkorelasi dengan viabilitas atau daya hidup spermatozoa. Jumlah Spermatozoa hidup selalu lebih tinggi dari spermatozoa motil karena tidak semua spermatozoa hidup bergerak secara progresif (Kostaman dan Utama, 2006). Viabilitas spermatozoa diamati dengan melihat

warna pada kepala spermatozoa. Spermatozoa yang hidup tampak transparan sedangkan spermatozoa yang mati tampak berwarna merah (Gambar 1). Spermatozoa yang hidup tidak menyerap zat warna eosin-negrosin karena membrannya masih berfungsi dengan baik sedangkan spermatozoa yang mati membrannya tidak berfungsi sehingga permeabilitas membran meningkat dan pewarna dapat masuk ke dalam membran spermatozoa (Susilawati, 2011).



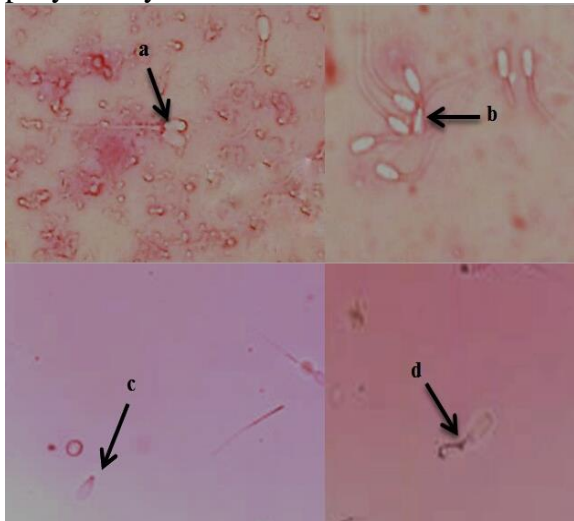
Gambar 1. Spermatozoa hidup dan mati dengan pewarnaan *eosin-negrosin*. (a) Spermatozoa hidup (b) spermatozoa mati (Perbesaran 10x40).

Konsentrasi spermatozoa dari hasil penelitian ini memiliki rerata $263 \pm 22.7 \times 10^6$ sel/mL. Hasil ini sesuai dengan Garner and Hafez (2000) yang menyatakan konsentrasi spermatozoa normal pada babi adalah 200-300 juta sel/mL dan lebih tinggi dibanding hasil penelitian Sumardani dkk. (2008) dengan konsentrasi spermatozoa sebesar $191.65 \pm 71.1 \times 10^6$ sel/mL. Faktor-faktor yang menyebabkan adanya perbedaan konsentrasi adalah pakan dan interval penampungan (Johnson *et al.*, 2000). Pemenuhan kebutuhan pakan merupakan salah satu faktor yang mendukung

peningkatan produksi spermatozoa (Wilson *et al.*, 2004). Jumlah pakan yang diberikan pada babi dalam penelitian ini adalah 4 kg/hari, sesuai dengan pendapat Susilorini (2008) yang menyatakan jumlah pakan dalam pemeliharaan babi pejantan adalah 3-4 kg/hari. Menurut penelitian Wilson *et al.* (2004), penurunan level pakan dari level tinggi (5.89) dan medium (3.74) ke level rendah (1.91) dapat menurunkan produksi spermatozoa. Penurunan jumlah spermatozoa tidak teramati pada enam minggu pertama setelah perubahan level pakan, melainkan pada minggu ke-8 sampai 12. Hal ini dikarenakan proses spermatogenesis sampai maturasi spermatozoa berlangsung selama 6-7 minggu. Konsentrasi spermatozoa juga dipengaruhi oleh interval penampungan. Semakin lama interval penampungan, maka semakin tinggi konsentrasi spermatozoa. Penelitian Frangez *et al.* (2005) menunjukkan penampungan semen satu kali seminggu menghasilkan konsentrasi spermatozoa yang lebih tinggi yakni $289 \pm 53.33 \times 10^6$ sel/mL dibandingkan penampungan semen dua dan tiga kali seminggu ($276 \pm 53.2 \times 10^6$ sel/mL dan $240 \pm 59.27 \times 10^6$ sel/mL).

Presentase abnormalitas dari hasil penelitian ini adalah $3.5 \pm 1.19\%$. Hasil ini lebih jauh lebih rendah dari penelitian Garner dan Hafez (2000) yang menyatakan abnormalitas spermatozoa maksimal adalah 20% serta Knox (2006) yang menyatakan semen yang baik memiliki abnormalitas di bawah 15%. Abnormalitas spermatozoa digolongkan menjadi abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer berkaitan dengan kepala dan akrosom, abnormalitas sekunder terjadi ketika adanya *sitoplasmic droplet* pada *mid piece* bagian ekor dan abnormalitas tersier adalah kelainan pada ekor (Ax *et*

al., 2000). Abnormalitas primer yang ditemukan adalah *double head* dan *narrow at the base* sedangkan abnormalitas sekunder yang ditemukan adalah *distal sitoplasmic droplet*. Bentuk abnormalitas *lose abnormal head* dapat dikelompokkan menjadi abnormalitas primer maupun sekunder tergantung penyebabnya.



Gambar 2. Abnormalitas Spermatozoa Babi *Landrace*. a) *double head*. b) *narrow at the base*. c) *lose abnormal head*. d) *distal sitoplasmic droplet*.

Abnormalitas *double head* merupakan kejadian dimana suatu sel spermatozoa memiliki dua kepala pada satu ekor. Penyebab utama kejadian ini adalah abnormalitas pada saat proses miosis spermatogenesis (Ax *et al.*, 2008). Bentuk abnormalitas *narrow at the base* ditandai dengan bentuk kepala yang tampak membesar dibagian akrosom dan mengecil ke arah post akrosom tanpa ada batas yang jelas. Bentuk ini terjadi akibat perkembangan yang tidak sempurna saat spermatosit primer dan faktor kelainan genetik (Prastowo, 2008). Bentuk abnormalitas *lose abnormal head* ditandai dengan spermatozoa yang hanya memiliki bagian kepala tanpa ekor. Abnormalitas pada keadaan ini bisa

terjadi secara primer maupun sekunder, kelainan terjadi secara primer akibat adanya gangguan selama proses spermatogenesis, sedangkan kelainan sekunder terjadi karena kerusakan spermatozoa selama perjalanannya di dalam epididimis atau kesalahan dalam preparasi preparat (Prastowo, 2008). Bentuk abnormalitas *distal sitoplasmic droplet* merupakan residu sitoplasma yang tertahan pada bagian *mid piece* mendekati annulus (Garner and Hafez, 2000).

Berdasarkan hasil evaluasi makroskopik dan mikroskopik, semen babi *Landrace* dinyatakan layak untuk diencerkan karena memenuhi syarat presentase motilitas spermatozoa diatas 70%, konsentrasi spermatozoa diatas 200×10^6 dan abnormalitas lebih kecil dari 20% (Johnson *et al.*, 2000).

Evaluasi Motilitas Spermatozoa Babi setelah Pengenceran dengan penyimpanan *Water Jacket* dan *non Water Jacket*

Presentase motilitas spermatozoa babi pada suhu 5 °C yang diamati setiap 2 jam mengalami pola penurunan, baik pada metode penyimpanan *water jacket* maupun *non water jacket* (Tabel 3). Pola penurunan ini diamati sampai presentase motilitas mencapai 40%, yang merupakan motilitas minimal semen cair untuk inseminasi buatan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok *water jacket* (K0, P1, P2 P3) terdapat perbedaan nyata antara motilitas spermatozoa kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Perlakuan P1 (95% air buah lontar + 5% kuning telur ayam kampung) dapat mempertahankan motilitas minimal selama 24 jam penyimpanan, P2 (85% air buah lontar + 15% kuning telur ayam kampung) dan P3 (75% air buah lontar +

25% kuning telur ayam kampung) dapat bertahan selama 26 jam penyimpanan, sedangkan kelompok kontrol (K0) hanya dapat bertahan selama 2 jam penyimpanan.

Tabel 3. Motilitas Spermatozoa Babi pada Metode Penyimpanan *Water Jacket* dan *Non Water Jacket* (Mean \pm SEM%)

Pengamatan (Jam ke)	Motilitas Spermatozoa (Mean \pm SEM%)							
	Metode Water Jacket				Metode Non Water Jacket			
	K0	P1	P2	P3	K1	P4	P5	P6
0	73.33 \pm 1.66	78.33 \pm 1.66	80.00 \pm 0.00	78.33 \pm 1.66	73.33 \pm 1.66	80.00 \pm 0.00	78.33 \pm 1.66	
2	50.00 \pm 3.53	73.75 \pm 1.25	78.75 \pm 1.25	75.00 \pm 2.04	35.00 \pm 5	77.50 \pm 1.44	77.50 \pm 1.44	
4	35.00 \pm 5.4	72.50 \pm 1.44	76.25 \pm 1.25	72.50 \pm 2.50	32.50 \pm 4.78	73.75 \pm 1.25	75.00 \pm 2.04	
6	-	71.25 \pm 2.39	72.50 \pm 1.44	70.00 \pm 0.00	-	70.00 \pm 2.04	71.25 \pm 2.39	
8	-	62.50 \pm 3.22	68.75 \pm 1.25	66.25 \pm 2.39	-	65.00 \pm 2.04	65.00 \pm 2.04	
10	-	60.00 \pm 2.04	67.50 \pm 1.44	61.25 \pm 2.39	-	60.00 \pm 2.04	66.25 \pm 2.39	
12	-	55.00 \pm 2.04	63.75 \pm 1.25	58.75 \pm 1.25	-	57.50 \pm 1.44	60.00 \pm 2.04	
14	-	52.50 \pm 2.5	62.50 \pm 1.44	52.50 \pm 1.44	-	56.25 \pm 1.25	58.75 \pm 1.25	
16	-	48.75 \pm 2.39	61.25 \pm 1.25	51.25 \pm 3.14	-	55.00 \pm 2.04	55.00 \pm 0.00	
18	-	48.75 \pm 2.39	61.25 \pm 1.25	52.50 \pm 4.33	-	48.75 \pm 3.75	53.75 \pm 2.39	
20	-	45.00 \pm 2.04	60.00 \pm 2.04	51.25 \pm 3.75	-	46.25 \pm 3.14	51.25 \pm 1.25	
22	-	41.25 \pm 1.25	57.50 \pm 1.44	47.50 \pm 3.22	-	46.25 \pm 3.14	48.75 \pm 1.25	
24	-	40.00 \pm 2.04	53.75 \pm 1.25	45.00 \pm 2.04	-	43.75 \pm 1.25	45.00 \pm 2.04	
26	-	-	45.00 \pm 0.00	40.00 \pm 2.04	-	-	42.50 \pm 1.44	
28	-	-	-	-	-	-	-	
30	-	-	-	-	-	-	-	

Hasil penelitian pada kelompok *non water jacket* (K1, P4, P5, P6) juga menunjukkan adanya perbedaan nyata antara motilitas spermatozoa kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Daya tahan semen babi setelah pengenceran pada metode penyimpanan ini menunjukkan presentase motilitas yang lebih bervariasi. Perlakuan P4 (75% air buah lontar + 25% kuning telur ayam kampung) dapat disimpan selama 24 jam, P5 (85% air buah lontar + 15% kuning telur ayam kampung) selama 26 jam, dan P6 (95% air buah lontar + 5%

kuning telur ayam kampung) hanya dapat disimpan selama 22 jam. Berbeda halnya dengan kelompok kontrol, yang motilitasnya memenuhi standar hanya pada jam ke-0 ($73.3 \pm 1.66\%$). Pengamatan pada jam ke-2 menunjukkan motilitas spermatozoa kelompok kontrol sudah tidak memenuhi standar minimal untuk inseminasi buatan ($35 \pm 5\%$). Hal ini membuktikan bahwa semen babi tidak dapat disimpan pada suhu preservasi 5°C tanpa tambahan bahan pengencer yang dapat melindunginya dari cekaman dingin. Hasil ini sesuai dengan pendapat Jonson *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa semen babi sangat rentan terhadap *cold shock* apabila semen babi segar langsung disimpan pada suhu di bawah 15°C . Penyebabnya karena membran fosfolipid spermatozoa mengandung lebih banyak asam lemak tidak jenuh dibandingkan asam lemak jenuh dan kandungan kolesterol yang rendah, sehingga pada saat temperatur diturunkan menjadi 5°C membran spermatozoa direduksi, terjadi pemisahan struktur fosfolipid membran plasma dari fase cair menjadi fase gel yang dapat menyebabkan kerusakan membran plasma (Watson, 1996; Johnson *et al.*, 2000; Yeste, 2017). Kerusakan membran plasma menyebabkan enzim *aspartat-aminotransferase* (AspAT) dilepaskan ke plasma semen sehingga menghambat produksi ATP dan menyebabkan sperma tidak dapat bergerak (Colenbrander *et al.*, 1992; Sumardani, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa lama penyimpanan mempengaruhi penurunan motilitas spermatozoa babi *Landrace*. Hal ini dikarenakan selama masa penyimpanan, spermatozoa menggunakan karbohidrat yang yang diperoleh dari plasma semen maupun pengencer untuk diubah menjadi

energi melalui proses glikolisis. Metabolisme glikolisis selain menghasilkan energi, juga menghasilkan asam laktat. Semakin lama waktu penyimpanan dapat menyebabkan penimbunan asam laktat sehingga menurunkan pH semen dan menghambat motilitas spermatozoa (Gadea, 2003).

Evaluasi Viabilitas Spermatozoa Babi setelah Pengenceran dengan penyimpanan *Water Jacket* dan *Non Water Jacket*

Presentase viabilitas spermatozoa menurun bersamaan dengan penurunan motilitas spermatozoa. Sesuai dengan pendapat Sumardani (2007) yang menyatakan bahwa presentase viabilitas spermatozoa sangat berkaitan erat dengan presentase motilitas spermatozoa, dimana presentase viabilitas spermatozoa lebih tinggi dibandingkan presentase motilitas spermatozoa.

Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa nilai $p < 0.05$ yang menunjukkan adanya perbedaan nyata antara viabilitas spermatozoa kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Evaluasi viabilitas spermatozoa pada metode *water jacket* menunjukkan bahwa perlakuan P1 dapat bertahan selama 28 jam penyimpanan ($44.50 \pm 2.25\%$), sedangkan P2 dan P3 dapat bertahan selama 30 jam penyimpanan dengan presentase viabilitas masing-masing $51.00 \pm 0.57\%$, dan $44.75 \pm 1.54\%$. Kelompok kontrol (K0) hanya bertahan selama 6 jam penyimpanan dengan viabilitas spermatozoa $44 \pm 4.0\%$.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa waktu penyimpanan mempengaruhi penurunan viabilitas spermatozoa. Semakin lama waktu penyimpanan maka semakin rendah

viabilitas spermatozoa. Menurut Soler *et al.* (2003), spermatozoa yang mati selama proses preservasi dapat menjadi toksik bagi spermatozoa yang hidup.

Tabel 4. Viabilitas Spermatozoa Babi pada Metode Penyimpanan *Water Jacket* dan *Non Water Jacket* (Mean \pm SEM%)

Pengamatan (Jam ke)	Viabilitas Spermatozoa (Mean \pm SEM%)							
	Metode <i>Water Jacket</i>				Metode <i>Non Water Jacket</i>			
	K0	P1	P2	P3	K1	P4	P5	P6
0	81.00 ± 0.5	89.33 ± 0.33	92.00 ± 0.57	89.33 ± 0.33	81.3 ± 0.6	92.00 ± 0.57	90.33 ± 1.20	90.33 ± 1.20
2	66.25 ± 2.92	85.75 ± 0.62	89.00 ± 0.70	86.50 ± 0.28	64.00 ± 1.7	87.75 ± 0.47	87.75 ± 0.75	85.25 ± 1.10
4	56.66 ± 0.6	83.25 ± 0.85	87.00 ± 0.70	83.75 ± 0.75	53.00 ± 1.7	84.50 ± 0.86	86.00 ± 0.70	82.50 ± 1.50
6	44.00 ± 4.0	81.25 ± 1.49	83.75 ± 1.10	80.50 ± 0.64	44.00 ± 5	81.50 ± 1.55	82.75 ± 1.79	78.00 ± 1.22
8	-	73.75 ± 1.31	81.50 ± 0.86	76.50 ± 1.19	-	77.00 ± 2.34	80.00 ± 1.22	74.00 ± 0.57
10	-	72.25 ± 1.49	79.25 ± 0.94	74.50 ± 1.19	-	73.00 ± 1.58	76.75 ± 1.43	70.50 ± 1.19
12	-	68.00 ± 1.22	76.50 ± 0.64	70.75 ± 0.25	-	70.50 ± 1.19	73.50 ± 1.19	68.25 ± 1.60
14	-	65.00 ± 1.58	75.25 ± 0.47	68.25 ± 0.85	-	68.50 ± 0.86	71.75 ± 0.47	66.50 ± 1.55
16	-	62.00 ± 2.00	74.75 ± 0.62	65.50 ± 2.10	-	67.50 ± 0.28	68.75 ± 1.10	63.00 ± 0.70
18	-	61.00 ± 2.04	73.50 ± 0.50	63.50 ± 2.63	-	61.50 ± 1.70	66.50 ± 1.25	60.00 ± 1.08
20	-	59.50 ± 1.89	72.00 ± 0.40	62.25 ± 3.22	-	59.75 ± 2.13	64.50 ± 0.95	56.75 ± 0.47
22	-	57.00 ± 2.73	70.00 ± 0.40	59.50 ± 2.46	-	59.00 ± 1.91	61.00 ± 0.70	53.50 ± 0.50
24	-	53.00 ± 1.08	67.75 ± 1.10	57.25 ± 1.31	-	56.25 ± 2.05	57.50 ± 0.64	48.25 ± 1.03
26	-	49.75 ± 2.21	61.75 ± 1.37	53.50 ± 0.64	-	53.00 ± 0.57	55.00 ± 1.22	44.25 ± 1.03
28	-	44.50 ± 2.25	55.25 ± 2.49	48.00 ± 1.22	-	46.50 ± 2.95	49.25 ± 0.62	40.50 ± 0.64
30	-	-	51.00 ± 0.40	44.75 ± 1.54	-	44.00 ± 3.39	45.00 ± 0.91	-

Toksisitas ini disebabkan oleh aktifitas enzim *amino acid oxidase* yang hanya aktif ketika spermatozoa mati. Hasil metabolit enzim ini adalah peroksida, yang dapat menjadi toksik bagi spermatozoa hidup (Shanon and Curson, 1971), sehingga semakin lama waktu penyimpanan dapat menurunkan presentase viabilitas spermatozoa. Selain itu menurut Rizal dkk. (2003), motilitas dan viabilitas spermatozoa bergantung

pada suplai energi dari hasil metabolisme sel, sehingga semakin lama waktu penyimpanan menyebabkan menurunnya ketersediaan nutrisi untuk dimetabolisme menjadi energi.

Perbandingan Kualitas Spermatozoa Babi dalam Rasio Air Buah Lontar-Kuning Telur Ayam Kampung dan Metode Penyimpanan yang berbeda

Evaluasi kualitas semen cair babi *Landrace* bertujuan untuk mengetahui perbandingan motilitas dan viabilitas spermatozoa setelah pengenceran pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan rasio konsentrasi air buah lontar-kuning telur ayam kampung dan metode penyimpanan yang paling tepat untuk preservasi semen cair babi pada suhu 5 °C. Hasil Uji ANOVA pada kelompok perlakuan menunjukkan nilai signifikansi $p < 0.05$ sehingga analisis dilanjutkan dengan uji duncan.

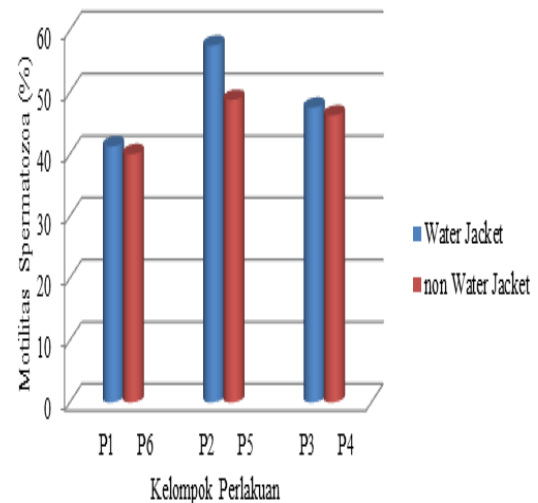
Tabel 5. Motilitas Spermatozoa Babi berdasarkan Uji Lanjut Duncan pada Jam ke-22

Rasio Bahan Pengencer	Rataan Motilitas Spermatozoa (%)
P1 (95%ABL + 5%Ktak + WJ)	41.25±1.25 ^{ab}
P2 (85%ABL + 15%Ktak + WJ)	57.5±1.44 ^d
P3 (75%ABL + 25%Ktak + WJ)	47.5±3.22 ^{bc}
P4 (75%ABL + 25%Ktak + NWJ)	46.25±3.14 ^{abc}
P5 (85%ABL + 15%Ktak + NWJ)	48.75±1.25 ^c
P6 (95%ABL + 5%Ktak + NWJ)	40±0.0 ^a

Keterangan : ABL : air buah lontar, Ktak : kuning telur ayam kampung; WJ : metode *water jacket*; NWJ : metode *non water jacket*; superscript : huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata

Motilitas spermatozoa berdasarkan hasil uji lanjut duncan (Tabel 5.) menunjukkan bahwa, presentase motilitas P2 berbeda nyata ($P < 0.05$) dengan P1, P3, P4, P5 dan P6. Akan tetapi presentase motilitas P5 tidak

berbeda nyata ($P > 0.05$) dengan P3 dan P4. Motilitas P4 tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) dengan P1 dengan P6.



Gambar 3. Grafik Motilitas Spermatozoa Babi *Landrace* dalam Pengencer Air Buah Lontar- Kuning Telur Ayam Kampung

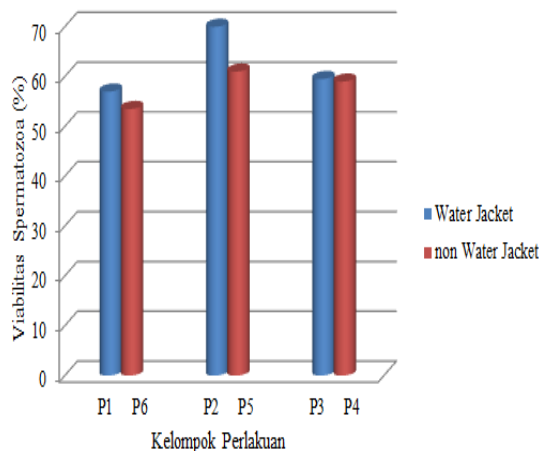
Data pada grafik (Gambar 3) menunjukkan bahwa pada masing-masing konsentrasi perlakuan, metode *water jacket* dapat mempertahankan motilitas spermatozoa lebih baik dibandingkan metode *non water jacket*. Perlakuan P2 memberikan hasil yang paling baik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa, kemudian diikuti dengan P5, P3, P4, P1 dan P6.

Hasil uji lanjut duncan pada viabilitas spermatozoa menunjukkan P2 berbeda nyata ($P < 0.05$) dengan P1, P3, P4, P5 dan P6. Perlakuan 1 (P1) tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) dengan P3, P4, P5 dan tidak berbeda nyata pula dengan P6 ($P > 0.05$).

Tabel 6. Viabilitas Spermatozoa Babi berdasarkan Uji Lanjut Duncan pada Jam ke-22

Rasio Bahan Pengencer	Rataan Viabilitas Spermatozoa (%)
P1 (95%ABL + 5%Ktak + WJ)	57±2.73 ^{ab}
P2 (85%ABL + 15%Ktak + WJ)	70±0.4 ^c
P3 (75%ABL + 25%Ktak + WJ)	59.5±2.46 ^b
P4 (75%ABL + 25%Ktak + NWJ)	59±1.91 ^b
P5 (85%ABL + 15%Ktak + NWJ)	61±0.7 ^b
P6 (95%ABL + 5%Ktak + NWJ)	53.5±0.5 ^a

Keterangan : ABL : air buah lontar, Ktak : kuning telur ayam kampung ; WJ: metode *water jacket*; NWJ : metode *non water jacket*; superscript : huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata



Gambar 4. Grafik Viabilitas Spermatozoa Babi *Landrace* dalam Pengencer Air Buah Lontar- Kuning Telur Ayam Kampung

Data pada grafik (Gambar 4) menunjukkan bahwa pada masing-masing konsentrasi perlakuan, metode *water jacket* dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa lebih baik dibandingkan metode *non water jacket*. Perlakuan P2 memberikan hasil yang paling baik dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa, kemudian diikuti dengan P5, P3, P4, P1 dan P6.

Berdasarkan hasil analisis (Tabel 5 dan Tabel 6), perlakuan P2 mendapatkan motilitas dan viabilitas paling tinggi

dibandingkan lima perlakuan lainnya, yakni 57.5±1.44% dan 70±0.4%. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi 85% air buah lontar dan 15% kuning telur ayam kampung pada metode penyimpanan *water jacket* merupakan konsentrasi perlakuan dan metode penyimpanan terbaik. Perlakuan 2 (P2) dalam metode penyimpanan *water jacket* ini dapat mempertahankan motilitas sampai 26 jam penyimpanan dengan presentase 45±0.0% dan viabilitas selama 30 jam dengan presentase 51.00±0.57%. Hasil yang diperoleh hampir sama dengan penelitian Delviona (2016) yang menggunakan kombinasi pengencer komersial BTS + 20% kuning telur pada suhu preservasi 5 oC dan motilitasnya dapat dipertahankan selama 24 jam dengan presentase 47.33±1.7%.

Penggunaan air buah lontar dan kuning telur ayam kampung dalam rasio perlakuan 75%ABL + 25%KTak dan 95%ABL + 5%Ktak juga dapat mempertahankan kualitas semen babi pada suhu 5 oC, namun bukan merupakan kelompok perlakuan terbaik. Hal ini diduga karena kuning telur 25% merupakan dosis pemberian yang terlalu banyak sehingga dapat menghambat pergerakan spermatozoa dan dosis kuning telur 5% belum dapat melindungi integritas membran spermatozoa secara optimal.

Penggunaan kuning telur pada preservasi semen ternak mamalia umumnya adalah 20% (Manjunath, 2012; Ducha dkk., 2013). Kuning telur digunakan dalam preservasi semen karena mengandung lipoprotein dan lesitin sehingga dapat melindungi integritas membran spermatozoa dari cekaman dingin (Toelihere, 1993). Selain itu, kandungan LDL (low density lipoprotein) dalam kuning telur mengurangi pemindahan kolesterol

maupun fosfolipid dari membran spermatozoa dan dapat mempertahankan motilitasnya selama penyimpanan (Manjunath, 2012). Pada penelitian ini, digunakan telur ayam kampung yang memiliki kandungan karbohidrat dan lipid lebih banyak dibandingkan telur ayam ras (Triharyanto, 2001), sehingga konsentrasi 15% kuning telur sudah memberikan hasil yang paling optimal dibandingkan kelompok perlakuan lainnya.

Berdasarkan grafik motilitas dan viabilitas yang ditampilkan sebelumnya, diketahui bahwa metode water jacket dapat mempertahankan kualitas spermatozoa lebih baik dibandingkan metode non metode water jacket. Hasil ini sesuai dengan penelitian Neno (2016) yang menyatakan metode penyimpanan water jacket lebih baik dalam mempertahankan kualitas semen cair babi pada suhu 5 oC. Pendinginan yang cepat membuat spermatozoa mengalami cold shock, sehingga diperlukan penurunan suhu secara gradual untuk meningkatkan daya tahan terhadap cold shock (Johnson et al., 2000). Menurut Yusuf (2005) penambahan media air menciptakan lingkungan mikro yang bisa beradaptasi dengan perubahan suhu. Melalui pemanfaatan media air, suhu dalam tempat penyimpanan spermatozoa tidak menurun secara dratis sehingga dapat meminimalisir terjadinya efek cold shock.

SIMPULAN

Kombinasi 85% air buah lontar dan 15% kuning telur ayam kampung merupakan perlakuan terbaik dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas semen babi *Landrace*. Semen babi *Landrace* dalam pengencer air buah lontar- kuning telur ayam kampung dapat disimpan dengan tetap

mempertahankan motilitasnya selama 26 jam dan viabilitas selama 30 jam pada metode penyimpanan *water jacket* maupun non *water jacket*. Metode *water jacket* dapat mempertahankan kualitas semen babi *Landrace* pada suhu penyimpanan 5 °C lebih baik dibandingkan metode *non water jacket*

DAFTAR PUSTAKA

- Ax R.L., Dally M., Didion B.A., Lenz R.W., Love C.C., Varner D.D., Hafez B., and Bellin M.E. 2000, *Semen evaluation*. In: Hafez, B. and Hafez, E.S.E., editor. *Reproduction in Farm Animal*, 7th Ed, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p 365-389.
- Cardoso, R.C., Silva, A.R., Uchoa, D.C., da Silva, L.D. 2003, Cryopreservation of Canine Semen using a Coconut Water Extender with Egg Yolk and Three different Glycerol Concentrations, *Theriogenology Journal*, **59(3)**:743-751.
- Colenbrander, B., Fazeli, A.R., Van Buiten, A., Parlevliet, J., Gadella, B.M. 1992, Assesment of Sperm Cell Membran Integrity in the Horse. *Acta Veterinaria Scandinavica Journal*, **88**:49-58.
- Daramola, J.O., Adekunle, E.O., Oke, O.E., Onagbesan, I.K., Oyewusi, I.K. and Oyewusi, J.A. 2016, Effects of Coconut (*Cocos nucifera*) Water with or without Egg-Yolk on Viability of Criofpreserved Buck Spermatozoa, *Animal Reproduction Journal*, **13(2)**:57-62.
- Dapawole, R.R. 2014, Preservasi dan Kriopreservasi Semen Babi dalam Pengencer BTS dan MIII yang disuplementasi dangan dan tanpa Trehalosa, *Tesis*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Delviona, F.Y. 2016, 'Kualitas Semen Cair Babi dalam Pengencer Beltsville Thawing Solution yang Ditambah Kuning Telur dan Kuning Telur dan Gliserol Disimpan pada Suhu 5 °C

- dan 18 °C, *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ducha, N., Susilawati, T., Aulanni'am, dan Wahyuningsih, S. 2013, Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin selama Penyimpanan pada Refrigerator dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur, *Jurnal Kedokteran Hewan*, **7(1)**:5-8.
- Foeh, N.D.F.K. dan Gaina, C.D. 2017, Sari Buah Lontar sebagai Pengencer Alami dalam Mempertahankan Kualitas Spermatozoa Babi, *Jurnal Kajian Veteriner*, **5(1)**:52-58.
- Frunza, I., Cernescu, H., Korodi, G. 2008, Physical and Chemical Parameters of Boar Semen, *Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara*, **41**:634-640.
- Garner, D.L., Hafez, E.S.E. 2000, *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In: Hafez, B. and Hafez, E.S.E., editor, *Reproduction in Farm Animal*, 7th Ed, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p 365-389.
- Gadea, J. 2003, Semen Extenders Used in the Artificial Insemination of Swine, *Spanish Journal of Agricultural Research*, **1(2)**:17-27.
- Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fisher, P., and Maxwell, W.M.C. 2000, Storage of Boar Semen, *Animal Reproduction Science Journal*, **62**:143-172.
- Kaka, A., Nalley, W.M., Kune, P. dan Burhanuddin, 2014, Persentase Nira Lontar (*Borassus flabellifer* L) dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Peranakan Etawah yang disimpan pada Suhu 3-5 °C, *Jurnal Nukleus Peternakan*, **1(1)**:21-27.
- Knox, R.V. 2006, 'Semen Processing, Extending & Storage for Artificial Insemination in Swine', Departemen of Animal Science, University of Illinois.
- Kommisrud, E., Paulenz, H., Sehested, E., Grevle, I.S. 2002, Influence of Boar and Semen Parameters on Motility and Acrosome Integrity in Liquid Stored for Five Days, *Acta Veterinaria Scandinavica Journal*, **43**:49-51.
- Kostama, T. dan Sutarna, I.K. 2006, Studi Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Kambing Boer pada Pengencer Tris Sitrat-Fruktosa, *Jurnal Sain Vet*, **24(1)**: 58-64.
- Manjunath, P. 2012, New Insights into the Understanding of the Mechanism of Sperm Protection by Extender Components, *Animal Reproduction Journals*. **9(4)**:809-815.
- Matahine, T., Burhanuddin Dan Marawali A. 2014, Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas, Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali, *Jurnal Veteriner*, **15(2)**:263-273.
- Nalley, M., Gaina, C.D., Belli, H.L.L. 2015, *Penuntun Praktikum Ilmu dan Teknologi Reproduksi*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
- Neno, M.E.W., 2016, 'Pengaruh Pengencer Komersial dengan Metode *Water Jacket* dan *Non Water Jacket* terhadap Kualitas Semen Babi Landrace', *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
- Paulenz, H., Kommisrud, E. and Hofmo, P.O. 2000, Effect of Long-Term Storage at different Temperatures on the Quality of Liquid Boar Semen. *Reproduction in Domestic Animals Journal*. **35**:83-85.
- Prastowo, A. 2008, 'Morfologi dan Morfometri Spermatozoa Babi Yorkshire dalam Nilai Ejakulat dengan Pewarnaan Williams', *Skripsi*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008, *Inseminasi Buatan pada Domba*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Rodriguez, A. L. 2012, 'Boar Semen : Quality Control and Production', *Disertation*, Ghent University, Belgia.
- Shanon, P. and Curson, R. 1971, Toxic Effect and Action of Dead Sperm on

- Diluted Bovine Semen, *Journal of Dairy Science*, **55(5)**:614-620.
- Soler, A.J., Guzman, M.D., dan Garde, J.J. 2003, Storage of Red Deer Epididymides for Four Days at 5 °C : Effect on Sperm Motility, Viability and Morphology Integrity, *Journal of Experimental Zoology*, **29A(2)**:188-199.
- Standar Nasional Indonesia. 2014. Semen cair babi. Badan Standarisasi Nasional.
- Sumardani, N.L.G. 2007, 'Viabilitas dan Fertilitas Spermatozoa dalam Modifikasi Pengencer BTS Dan Zorlesco dengan Penyimpanan Berbeda dalam Rangkaian Inseminasi Buatan pada Babi' *Tesis*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sumardani, N.L., Tuty, L.Y. dan Siagian, P.H. 2008, Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Bestville Thawing Solution) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda, *Jurnal Media Peternakan*, **31(2)**:81-86.
- Susilawati, T. 2011, *Spermatology*, Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Susilorini, E.T. 2008, *Budidaya 22 Ternak Potensial*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Tamoes, J.A., Nalley, W.M dan Hine, T.M. 2014, Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco dengan Susu Kacang Kedelai, *Jurnal Sains Peternakan*, **20(1)**:20-30.
- Toelihere, M.R. 1993, *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Triharyanto, B. 2001, *Peternakan Ayam Arab*, Kanisius, Yogyakarta.
- Vengaiyah, P.C., Vijaya, K.B., Murti, G.N. and Prasad, K.R. 2015. Physico-Chemical Properties of Palmyrah Fruit Pulp (*Borassus flabellifer* L.), *Journal of Nutrition and Food Sciences*, **5(5)**:1-4.
- Vyt, P. 2007, 'Examination and Storage of Liquid Porcine Semen', *Thesis*, Ghent University, Belgia.
- Watson, P. F. 1996, Cooling of Spermatozoa and Fertilizing Capacity, *Reproduction in Domestic Animals Journal*, **31**:135-140.
- Wilson, M.E., Rozeboom, K.J. and Crenshaw, T.D. 2004, Boar Nutrition for Optimum Sperm Production, *Advances in Pork Production*, **15**:295-306.
- Yusuf, T.L., Arifiantini, R.I. dan Mulyadi Y. 2006, Efektifitas Waktu Pemaparan Glicerol terhadap Motilitas Spermatozoa pada Pembekuan Semen Domba Lokal menggunakan Pengencer Tris Kuning Telur, *Animal Production Journal*, **8(3)**:168-173.