



Optimasi Kualitas Semen Babi Persilangan Landrace X Duroc Dengan Suplementasi Sari Buah Nanas Dalam Pengencer Berbasis Sitrat - Kuning Telur

Agustinus Karel Mboti*, Thomas Mata Hine, Petrus Kune

Universitas Nusa Cendana, Indonesia

Email: agustinusmboti@gmail.com*

Abstrak:

Tujuan dari Penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan sari buah nanas (SBN) dalam pengencer Sitrat-kuning telur (S-KT) terhadap kualitas semen babi persilangan landrace x duroc. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen babi persilangan landrace x duroc berumur 1,5 tahun dan dalam keadaan sehat. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 6 perlakuan dan 5 ulangan yaitu: P0= S-KT, P1= S-KT+SBN 2%, P2= S-KT+SBN 4%, P3= S-KT+SBN 6%, P4= S-KT+SBN 8%, P5= S-KT+SBN 10%. Semen yang telah diencerkan disimpan dalam styrofoam box pada suhu 15- 20°C. Evaluasi semen dilakukan setiap 12 jam yang meliputi: motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa. Data yang terkumpul dianalisis menggunakan analisis of variance dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penambahan SBN 8% (P4) dalam pengencer S-KT menghasilkan kualitas semen yang lebih tinggi dan secara signifikan berbeda nyata dengan perlakuan lain ($P \leq 0,05$) yakni motilitas, 61,00%, viabilitas 73,70%, abnormalitas 5,40% dan daya tahan hidup 57,06 jam. Simpulan dari penelitian ini adalah penambahan SBN 8% dalam pengencer S-KT memberikan respon yang terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc selama penyimpanan 57,06.

Kata Kunci: Sari buah nanas; Sitrat- kuning telur; Semen babi persilangan landrace x duroc; Jus nanas

Abstract:

The purpose of the study was to determine the effect of the addition of pineapple juice (PJ) in citrate-egg yolk (C-EY) diluent on the quality of landrace x duroc cross bred semen. The material used in this study was landrace x duroc cross bred semen aged 1.5 years and in good health. This study used an experimental method with a complete random design consisting of 6 treatments and 5 replicates, namely: T0 = C-EY, T1 = C-EY +PJ 2%, T2= C-EY +PJ 4%, T3= C-EY +PJ 6%, T4= C-EY +PJ 8%, T5= C-EY +PJ 10%. The diluted semen was stored in a styrofoam box at a temperature of 18-20°C. Semen evaluation was carried out every 12 hours which includes: motility, viability, abnormalities, and survival of spermatozoa. The collected data were analyzed using analysis of variance and followed by the Duncan test. The results of statistical analysis showed that the addition of 8% PJ (T4) in C-EY diluent resulted in higher semen quality and was significantly different from other treatments ($P \leq 0.05$), namely motility, 61.00%, viability 73.70%, abnormality 5.40% and life span of 57.06 hours. The conclusion of this study is that the addition

of 8% SBN in the S-KT diluent provides the best response in maintaining the quality of landrace x duroc cross pig spermatozoa during storage 57.06.

Keywords: Boars semen; citrates-egg yolks; crossbred landrace x duroc; Pineapple juice

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) sebagai teknologi reproduksi generasi pertama merupakan rangkaian proses yang berurutan mulai dari penampungan semen seekor pejantan unggul, pengenceran, pembekuan, penyimpanan sampai memasukan semen secara artifisial dengan menggunakan peralatan inseminasi ke dalam saluran reproduksi seekor betina agar menghasilkan pembuahan (Shehu *et al.*, 2010) (Blakely & Bade, 1991). Namun keberhasilan inseminasi di tentukan oleh semen yang digunakan, oleh sebab itu upaya optimalisasi semen perlu dilakukan agar diperoleh kualitas semen yang optimal dengan kualitas yang baik guna dipakai untuk inseminasi.

Pengenceran semen merupakan proses optimalisasi semen yang efektif dan muda dilakukan serta menghasilkan semen cair dengan kualitas yang baik. Pengenceran harus menggunakan bahan pengencer yang dapat menyediakan zat-zat makanan, mencegah perubahan pH, mencegah penumbuhan kuman, melindungi sperma dari cekaman dingin serta memperbanyak volume semen (Toelihere, 1993). Selanjutnya menurut Solihati dan Kune, (2011) syarat bahan pengencer adalah harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, harus memungkinkan sperma dapat bergerak progresif, tidak bersifat racun, menjadi penyanggah bagi spermatozoa, dapat melindungi dari cekaman dingin (*cold shock*) baik untuk semen beku maupun semen cair.

Sitrat-kuning telur (S-KT) merupakan salah satu bahan pengencer yang sering digunakan dalam proses pengenceran semen. Sitrat-kuning telur memiliki kelebihan yaitu mengandung lipoprotein dan lecitin yang berfungsi sebagai bahan penyangga (*buffer*) untuk mempertahankan dan mengatur pH semen, juga mencegah terjadinya cold shock yang disebabkan oleh perubahan temperature (Tanii *et al.*, 2022). Pengencer sitrat-kuning telur memiliki kelemahan karena tidak memiliki kandungan antioksidan sebagai penangkal radikal bebas, sehingah kurang efektif dalam mempertahankan kuitas spermatozoa (Febriano, 2024). Oleh karena itu perlu ditambahkan bahan pengencer yang mempunyai kandungan antioksidan yang lebih dalam mempertahankan kualitas spermatozoa dari serangan radikal bebas.

Buah nanas (*Ananas comosus L*) merupakan buah yang mudah ditemukan serta mengandung sejumlah senyawa antioksidan seperti vitamin A, vitamin C,

vitamin E, dan juga kaya akan karbohidrat. Penambahan sari buah nanas (SBN) ke dalam pengencer S-KT diharapkan dapat berperan untuk menangkal radikal bebas yang diproduksi secara berlebihan pada saat sel sperma berada dalam kondisi stres seperti akibat suhu dingin. Selain itu, adanya kandungan karbohidrat yang cukup tinggi di dalam buah nanas diharapkan dapat berperan sebagai sumber energi untuk menunjang motilitas dan daya hidup sperma di lingkungan in vitro (Mukminat & Suharyati, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sari buah nanas dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair babi persilangan Landrace x Duroc. Masalah yang dirumuskan dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh penambahan sari buah nanas dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair babi persilangan tersebut. Hipotesis yang diajukan adalah H0: Penambahan sari buah nanas dalam pengencer sitrat kuning telur tidak berpengaruh terhadap kualitas semen cair babi persilangan Landrace x Duroc, dan H1: Penambahan sari buah nanas dalam pengencer sitrat kuning telur berpengaruh terhadap kualitas semen cair babi persilangan Landrace x Duroc.

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk menambah ilmu pengetahuan bagi akademisi di bidang pemuliaan dan reproduksi ternak serta sebagai bahan informasi ilmiah bagi institusi pendidikan di bidang peternakan, khususnya dalam aspek reproduksi babi.

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana Kupang. Penelitian ini berlangsung selama 6 minggu dan terbagi atas periode persiapan, pengumpulan data dan analisis data.

Materi Penelitian

Penelitian menggunakan semen segar yang diperoleh dari 1 ekor ternak babi persilangan landrace x duroc berumur 1,5 tahun dan dalam keadaan sehat. Ternak babi tersebut dipelihara dalam kandang individu yang dilengkapi tempat makan dan minum.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian rancangan acak lengkap. Yang terdiri dari 6 perlakuan dan 5 ulangan, sehingga terdapat 30 unit atau sampel percobaan. Adapun perlakukannya yaitu sebagai berikut: P0= S-KT, P1= S-

KT+SBN 2%, P2= S-KT+SBN 4%, P3= S-KT+SBN 6%, P4= S-KT+SBN 8%, P5= S-KT+SBN 10%.

Alat dan Bahan

- a. **Alat.** Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Vagina Buatan, Tabung penampungan semen Pipet tetes, tabung penampung semen berskala, tabung elemeyer, kertas tissue mikroskop, haemocytometer, hencounter, objek glass, gelas ukur, sentrifus thermometer, coobox, gelas penutup indicator.
- b. **Bahan.** Bahan yang digunakan adalah Semen persilangan babi landrace x duroc, sari buah nanas, dan pengencer S-KT.

Persiapan Bahan Pengencer semen

Penyiapan kuning telur ayam: Cangkang telur dibersihkan dengan alkohol 70% dan dikeringkan. Kemudian, telur dipecahkan pada bagian lancip yang memiliki rongga udara, kemudian putih telur dipisahkan dari kuning telur. Kuning telur diletakkan di atas kertas saring dan lakukan gerakan memutar untuk memisahkan putih telur yang tersisa. Setelah itu, selaput vitelin pada kuning telur pecahkan menggunakan pinset dan kuning telur dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditutup dengan aluminium foil.

Penyiapan larutan Sitrat: Timbang natrium sitrat sebanyak 2,9 gram kemudian larutkan dengan 100mL aquabidest kemudian dihomogenkan. Penyiapan pengencer sitrat kuning telur: 80 mL pengencer sitrat di tambahkan 20 mL kuning telur, homogenkan dengan stirer lengkap dengan spinbar, selanjutnya tambahkan penisilin 1000 IU/mL dan streptomisin 1 mg/mL. Larutan sitrat diambil dengan mikropipet kemudian dimasukan ke dalam setiap tabung perlakuan dan ditutup dengan kertas aluminium foil.

Penyiapan sari buah nanas: Pembuatan sari buah nanas dilakukan dengan cara bersihkan buah nanas dengan air kemudian kupas kulit nanas dan buang bagian mata nanas menggunakan pisau, potong daging buah nanas kecil-kecil ± 1,5 cm lalu di belender, buah nanas yang sudah di blender disaring untuk memisahkan sari dari ampasnya, lalu dimasukan kedalam tabung dan tutup dengan kertas aluminium steril untuk disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Hasil sentrifugasi sari nanas simpan dalam gelas ukur dan di tutup menggunakan kertas aluminium foil setelah itu sari nanas tersedia ditambahkan sesuai perlakuan dalam tabung yang telah di isi pengencer sitrat-kuning telur.

Penampungan Semen

Sebelum proses penampungan semen, area sekitar kelamin jantan atau penis, khususnya preputium, dibersihkan dengan air. Setelah itu pejantan digiring ke dalam kandang penampungan. Penampungan semen dilakukan dengan metode

manual yang dilakukan dengan metode (*glove hand method*) yakni dengan cara memegang penis dengan telapak tangan yang telah dibersihkan, kemudian penis ditarik perlahan-lahan dengan melakukan perangsangan pada ujung *distal* penis sehingga penjantan dapat terangsang dengan cepat untuk mengeluarkan semen. Semen ditampung pada tempat penampungan yang telah dilapisi dengan kain kasa untuk memisahkan fraksi galatin.

Pengenceran dan Preservasi Semen

Semen segar yang telah dievaluasi dibagi ke dalam enam tabung sesuai dengan perlakuan yang ditetapkan. Pada masing-masing tabung, ditambahkan pengencer sesuai perlakuan menggunakan mikropipet, kemudian lakukan gerakan memutar dengan menggunakan pipet secara perlahan hingga tercampur homogen. Semen yang telah diencerkan disimpan dalam coolbox dengan suhu terkontrol antara 15-20°C. Suhu penyimpanan dipantau menggunakan termometer, dan semen dievaluasi setiap 12 jam hingga tingkat motilitasnya mencapai 40%

Evaluasi Semen

Evaluasi semen segar sangat penting dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas semen dan kelayakan semen secara keseluruhan baik secara makroskopis maupun mikroskopis sebelum melakukan pengenceran. Evaluasi semen secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, pH dan konsistensi. Evaluasi mikroskopis meliputi konsentrasi, motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa (Kaka, 2020).

Variabel Penelitian

Parameter yang di amati dalam penelitian ini yaitu

1. Motilitas adalah kemampuan spermatozoa dalam melakukan gerakan maju atau progresif. Tujuan dilakukannya perhitungan motilitas pada spermatozoa adalah untuk mengamati spermatozoa yang hidup dan mati. Spermatozoa yang tidak bergerak progresif dan diam di tempat dapat dikategorikan sebagai spermatozoa mati, sedangkan yang bergerak progresif menunjukkan spermatozoa yang hidup. Penentuan nilai motilitas berdasarkan pengamatan secara subjektif pada 10 lapang pandang. Nilai motilitas diberikan 0-100% dengan skala 5%.
2. Viabilitas spermatozoa adalah pengamatan viabilitas dapat dinyatakan dalam persentase dengan pewarnaan diferensial eosin negrosin dengan cara teteskan semen diatas gelas objek, lalu satu tetes semen ditambahkan lagi pada gelas objek yang sudah ditetesi dengan pewarna eosin. Langkah selanjutnya campurkan secara merata lalu diulasi menggunakan objek gelas lainnya

kemudian dikeringkan dan amati viabilitas spermatozoa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Spermatozoa yang hidup biasanya ditandai dengan kepala sperma tidak berwarna, karena spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna, spermatozoa mati dapat dilihat pada kepala spermatozoa berwarna merah dikarenakan spermatozoa yang mati mampu menyerap warna.

3. Abnormalitas Spermatozoa. Abnormalitas spermatozoa adalah kelainan atau kerusakan fisik spermatozoa yang terjadi pada saat pembentukan spermatozoa. Abnormalitas dapat dikelompokkan menjadi dua jenis yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Pengamatan abnormalitas spermatozoa di lakukan dengan cara semen diambil satu tetes lalu diteteskan pada gelas objek, kemudian ditambahkan eosin beberapa tetes. Selanjutnya, dibuat preparat ulas dan dikeringkan di atas api bunsen, kemudian preparat diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x40. Evaluasi morfologi dilakukan terhadap bentuk abnormalitas dan jenis kerusakan (cacat) dari morfologi tertentu yang dimiliki oleh spermatozoa.
4. Daya tahan hidup ditandai dengan adanya motilitas dan daya gerak yang dijadikan patokan atau cara yang mudah dan sederhana dalam penilaian semen untuk IB. Gerakan individu yang terbaik adalah gerakan maju ke depan daya tahan hidup spermatozoa dihitung berdasarkan periode lama penyimpanan spermatozoa hingga nilai motilitas $\leq 40\%$ (SNI, 2023).

Analisis Data

Analisis data menggunakan uji *analysis of variance* (ANOVA) dan di lanjutkan dengan uji lanjut Duncan dengan menggunakan SPSS 25 *for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Karakteristik Semen Segar Babi Persilangan Landrace x Duroc

Evaluasi semen segar langsung dilakukan setelah penampungan dengan dua metode yang digunakan, yaitu makroskopis dan mikroskopis. Penilaian ini bertujuan sebagai indikator kelayakan semen untuk diproses lebih lanjut, Data awal hasil pengamatan terhadap semen segar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik semen segar babi persilangan landrace x duroc

Karakteristik semen	Nilai rata-rata \pm standar deviasi
Makroskopis	
Volume (mL)	157 \pm 11,51
Warna	Putih Susu
Bau	Khas semen

Konsistensi	Encer
pH	6,82±0,16
Mikroskopis	
Konsentrasi (10×6 sel/mL)	280, ±12,25
Motilitas (%)	82,00±2,74
Viabilitas (%)	94,60±2,07
Abnormalitas (%)	2,70±0,76

Sumber: Data primer penelitian (2026)

Berdasarkan hasil evaluasi semen segar dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kelayakan untuk diproses lebih lanjut, karakteristik semen segar babi persilangan landrace x duroc dapat pada Tabel 1 volume semen segar selama penelitian $157 \pm 11,51$ mL, lebih rendah jika dibandingkan penelitian dari (Bei et al., 2021) dengan rata-rata volume semen sebesar 287 ± 17 mL. Warna putih susu, pH $6,82 \pm 0,16$ tidak beda jauh dengan penelitian (Kaka, 2020; Kolo et al., 2024; Kumaunang & Kamu, 2011; Lesbani et al., 2014; Leyn et al., 2021; Ma & Foeh, 2019; Marlize et al., 2021) yaitu pH 6,62. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi volume, warna, konsistensi, dan pH spermatozoa adalah variasi umur, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulasi, kualitas pakan, kondisi penjantan dan lingkuan (Johnson *et al.*, 2023).

Konsentrasi spermatozoa dalam penelitian ini memiliki rata-rata $280,00 \pm 12,25 \times 10^6$ mL hasil tersebut berada dalam kondisi yang baik seperti hasil yang dilaporkan menurut Robert (2006) yang mana hasilnya 200-300 $\times 10^6$ mL. Motilitas spermatozoa pada penelitian ini memperoleh rataan yaitu $82,00 \pm 2,74\%$. Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Kaka (2020) yang memperoleh motilitas $71,67 \pm 5,16\%$. Rataan nilai viabilitas yaitu $94,60 \pm 2,07\%$, hasil penelitian ini dikategorikan tinggi bila dibandingkan dengan penelitian (Mega et al., 2022) yang memperoleh rata-rata viabilitas yaitu $85,82 \pm 4,45\%$. Abnormalitas spermatozoa $2,70 \pm 0,76\%$ berada dikisaran normal tidak melebihi 20% sesuai (SNI 2023).

2. Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan kemampuan spermatozoa untuk bergerak maju secara progresif ke depan. Evaluasi motilitas spermatozoa dilakukan setiap dua belas jam sampai kualitas spermatozoa menurun hingga 40% (BSN, 2017). Nilai rata-rata motilitas spermatozoa dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata motilitas spermatozoa dalam pengencer uji

JP	Perlakuan (%)						Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	82,00±2,73 ^a	82,00±2,73 ^a	82,00±2,73 ^a	82,00±2,73 ^a	82,00±2,73 ^a	82,00±2,73 ^a	1,000
12	63,00±4,47 ^d	69,00±4,18 ^{bcd}	70,00±5,00 ^{bc}	72,00±4,47 ^b	78,00±5,70 ^a	64,00±2,23 ^{cd}	0,000
24	57,00±4,47 ^d	64,00±4,18 ^{bc}	65,00±3,53 ^b	66,00±4,18 ^b	72,00±5,70 ^a	59,00±2,23 ^{cd}	0,000
36	51,00±2,23 ^c	56,00±4,18 ^{cd}	60,00±3,53 ^{bc}	61,00±4,18 ^b	66,00±4,18 ^a	54,00±2,23 ^{de}	0,000
48	42,00±2,73 ^c	47,00±2,73 ^b	48,00±2,73 ^b	50,00±6,12 ^b	61,00±4,18 ^a	48,00±2,73 ^b	0,000
60	16,00±4,18 ^c	21,00±4,18 ^b	23,00±2,73 ^b	24,00±2,23 ^b	33,00±2,73 ^a	23,00±2,73 ^b	0,000

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata antara perlakuan ($P < 0,05$). SKT: sitrat-kuning telur, SBN: sari buah nanas, P0:SKT, P1:SKT + SBN 2%, P2:SKT + SBN 4%, P3:SKT+ SBN 6% Dan P4:SKT+ SBN 8%, P5: SKT+SBN 10%. JP = Jam Pengamatan.

Sumber: Data primer penelitian (2026)

Berdasarkan tabel tersebut menunjukkan bahwa nilai motilitas spermatozoa pada jam ke-0 berbeda tidak nyata antara perlakuan ($P > 0,05$). Hal ini disebabkan tidak ada penurunan motilitas spermatozoa pada semua perlakuan yang mengindikasikan bahwa kondisi pengencer masih sangat kondusif untuk keberlangsungan hidup spermatozoa. Ketersediaan zat nutrisi di dalam pengencer sangat penting sebagai sumber energi maupun sebagai penyangga pH, masih tersedia sangat berlimpah pada jam-jam awal penyimpanan (Hartono, 2008; Hidayaturrahmah, 2007; Hsieh et al., 2006).

Pengamatan jam ke-12 nilai penurunan motilitas pada P0 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan P1 dan P5, namun berbeda nyata ($P < 0,05$) perlakuan P2, P3 dan P4. Pada jam pengamatan ke-24, P0 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan P3 dan P4, dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan P1, P2, dan P5. Pada jam pengamatan ke-36, P0 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan P4 dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan P1, P2, P3 dan P5. Pada jam pengamatan ke-48, P0 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P4 namun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan P1, P2, P3 dan P5. Perbedaan ini menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan maka akan berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa hal ini didukung pendapat dari Pemungkas dan Anwar, (2013) yang menyatakan semakin lama penyimpanan maka semakin berkurang nutrisi yang terkandung dalam pengencer.

Nilai motilitas secara bertahap menurun dengan bertambahnya waktu penyimpanan, semakin lama semen disimpan maka akan terjadi peningkatan kadar *reactive oxygen species* (ROS), yang merupakan produk sampingan metabolisme sel (Bean & Peni, 2023) yaitu asam laktat. Tingginya kadar ROS akan

menimbulkan stres oksidatif yang dapat berpengaruh terhadap metabolisme sel penurunan motilitas lebih cepat terjadi pada perlakuan P0 dan P1 dibandingkan perlakuan lainnya, hal ini karena perbedaan level sari buah nanas dalam pengencer sitrat-kuning telur.

Dari data hasil analisis statistik, dapat dilihat pada perlakuan P4 dapat mempertahankan motilitas spermatozoa yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelima perlakuan lainnya hingga jam ke-48 penyimpanan dengan nilai motilitas $61,00 \pm 4,18\%$. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antioksidan yang terdapat di dalam sari buah nanas dapat mempertahankan kualitas spermatozoa selama masa penyimpanan yang mampu menangkal radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya. Kandungan yang terdapat pada sari buah nanas seperti vitamin A, C, dan E sebagai bahan antioksidan untuk menangkal radikal bebas.

Adanya kandungan vitamin A, C dan E dapat mempertahankan kualitas spermatozoa hingga jam ke 48. Bebas *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa adanya kandungan vitamin E yang mempunyai kemampuan memutus rantai reaksi peroksidasi atau menangkap rantai radikal bebas dengan cara bereaksi secara langsung dengan berbagai peroksi organik sehingga mencegah terjadinya reaksi berantai dan dapat menekan terjadinya kerusakan peroksidatif yang berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa. Demikian juga vitamin C yang berperan sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal hasil sisa metabolisme spermatozoa (Bebas *et al.*, 2015, 2016).

Selain itu, sari buah nanas juga mengandung karbohidrat yang cukup tinggi, yang dapat dijadikan sebagai substrat energi untuk menunjang motilitas spermatozoa. Karbohidrat memiliki beberapa fungsi, yaitu sumber energi bagi spermatozoa selama inkubasi, memelihara tekanan osmotik cairan dan dapat bertindak sebagai krioprotektan. Karbohidrat berupa glukosa dimetabolisme menjadi *Adenosine Triphosphate* (ATP), dapat digunakan spermatozoa sebagai sumber energi yang penting untuk menjaga motilitas dan fungsi spermatozoa (Butta *et al.*, 2021).

Jika dilihat pada P1, P2, dan P3 mendapatkan nilai motilitas spermatozoa dibawah P4, hal ini disebabkan karena dosis yang diberikan belum optimal, sedangkan alasan lebih rendahnya motilitas spermatozoa pada P5 dibandingkan dengan P4, diduga disebabkan oleh penambahan sari buah nanas yang berlebihan sehingga dapat bersifat toksik bagi spermatozoa.

Hasil persentase motilitas penelitian ini lebih rendah dari hasil yang dilaporkan oleh (Banamtuan *et al.*, 2021) yang menggunakan semen cair babi

duroc dengan penambahan air buah lontar dan sari tebu dalam pengencer durasperm dengan lama waktu penyimpanan 64 jam menunjukkan persentase motilitas $40,00 \pm 0,00\%$, namun lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Elni et al., 2024) bahwa dengan penambahan etilen glikol kedalam sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi landrace yang menghasilkan nilai motilitas spermatozoa $45,00 \pm 6,12$.

3. Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa merupakan persentase spermatozoa yang hidup yang diukur berdasarkan perbedaan serapan warna antara sperma mati dan sperma hidup. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap zat warna dari eosin sedangkan spermatozoa mati menyerap zat warna merah dari eosin. Rata-rata viabilitas spermatozoa ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Viabilitas spermatozoa dalam pengencer uji

J P	Perlakuan (%)						P- Valu e
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	94,60±2,0 7 ^a	94,60±2,07 a	94,60±2,07 a	94,60±2,07 a	94,60±2,0 7 ^a	94,60±2,07 a	1,00 0
1 2	77,30±3,6 3 ^c	82,20±4,42 bc	83,40±5,00 bc	85,20±7,07 b	92,40±2,1 6 ^a	82,80±4,45 bc	0,00 2
2 4	66,70±6,4 1 ^b	75,40±2,94 a	75,80±4,75 a	75,90±5,17 a	83,60±7,4 7 ^a	75,80±6,30 a	0,00 5
3 6	60,50±3,4 6 ^d	65,40±4,51 cd	70,20±4,25 bc	72,10±2,70 ab	72,20±3,9 1a	72,80±4,19 ab	0,00 0
4 8	53,00±2,8 9 ^c	57,10±5,38 bc	60,70±6,27 bc	63,30±5,04 b	73,70±3,7 5 ^a	59,70±8,88 bc	0,00 0
6 0	30,10±3,6 6 ^c	34,10±3,00 d	39,10±2,38 bc	41,10±2,60 b	47,00±2,0 3 ^a	37,00±2,20 3 ^a	0,00 0

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata antara perlakuan ($P < 0,05$). SKT: sitrat-kuning telur, SBN: sari buah nanas, P0:SKT, P1:SKT+SBN 2%, P2:SKT+ SBN 4%, P3:SKT+ SBN 6% Dan P4:SKT+ SBN 8%, %, P5: SKT+SBN 10%. JP = Jam Pengamatan.

Sumber: Data primer penelitian (2026)

Hasil analisis statistik terhadap viabilitas spermatozoa setelah pengenceran (jam ke-0 penyimpanan) menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$) antara perlakuan, namun pada jam ke-48 penyimpanan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dimana perlakuan P4 menghasilkan viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi daripada kelima perlakuan lainnya.

Perlakuan P0 memiliki persentasi terendah yaitu $53,00 \pm 2,89$ jam ke-48 penyimpanan, rendahnya nilai viabilitas spermatozoa pada perlakuan ini mungkin disebabkan ketersediaan energi hanya mengandalkan pada kuning telur tanpa adanya penambahan SBN. Rendahnya nilai viabilitas spermatozoa pada perlakuan P1, P2, dan P3 dikarenakan level SBN yang diberikan yang belum optimal sehingga nilai viabilitas spermatozoa berada dibawah P4, sedangkan pada P5 terjadi penurunan nilai motilitas spermatozoa mungkin disebabkan karena penambahan SBN kedalam pengencer S-KT yang berlebihan sehingga berpengaruh negative terhadap viabilitas spermatozoa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penambahan SBN 8% menghasilkan nilai viabilitas spermatozoa yang terbaik, hal ini karena adanya kandungan vitamin A, vitamin C dan vitamin E yang berperan sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. (Nahak et al., 2022; Onin et al., 2024; Pamungkas & Anwar, 2013; Parker, 2000; Pubiandara et al., 2016; I. M. H. Putra et al., 2019) menyatakan, kandungan antioksidan dalam vitamin C dapat menghambat pengembangan radikal bebas karena aktivitas oksigen aktif dengan asam lemak tak jenuh dalam membran plasma spermatozoa. Vitamin E juga merupakan salah satu antioksidan yang digunakan untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (T. W. Putra et al., 2023; Rhoyan et al., 2014; Rusdin & Jum'at, 2009).

Selama penyimpanan, spermatozoa membutuhkan energi untuk proses metabolisme, sehingga dibutuhkan lebih banyak energi untuk menjaga kualitas spermatozoa, karbohidrat yang terdapat didalam SBN seperti fruktosa, glukosa dan sukrosa dapat digunakan oleh spermatozoa sebagai sumber energi sehingga dapat mempertahankan nilai viabilitas. Hal ini sejalan dengan penelitian Butta *et al.* (2021) yang menyatakan glukosa yang dimetabolisme menjadi ATP dapat digunakan oleh spermatozoa sebagai sumber energi.

Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian (Amtiran et al., 2020) yang mendapatkan nilai viabilitas spermatozoa sebesar $50,01 \pm 0,46\%$ pada jam penyimpanan ke 48, namun lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan Waluwanja *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa dengan penambahan berbagai konsentrasi minyak zaitun ekstra virgin sebagai antioksidan ke dalam Sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi duroc menghasilkan nilai viabilitas $47,53 \pm 1,59$.

4. Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan kelainan fisik dari spermatozoa yang terjadi akibat proses pembentukan spermatozoa dalam tubuli seminiferi, saat perjalanan spermatozoa melewati seluruh organ kelamin jantan saat penampungan semen, penyiapan pengencer dan penyimpanan semen. Proses pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan pewarnaan diferensial eosin negrosin dan di amati di bawah mikroskop. Hasil analisis nilai abnormalitas spermatozoa di sajikan pada Tabel 4

Hasil analisis statistik, menunjukkan bahwa rata-rata nilai persentase abnormalitas spermatozoa pada jam ke 0 penyimpanan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$). Hal ini mungkin nutrisi dalam pengencer masih mempertahankan nilai abnormalitas spermatozoa. Namun, pada jam ke-48 penyimpanan, perlakuan P4 menghasilkan persentase abnormalitas spermatozoa yang lebih rendah daripada P0, P1, P2, dan P3 ($P<0,05$), namun berbeda tidak nyata dengan perlakuan P5 ($P>0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa penambahan SBN sebesar 8% kedalam pengencer S-KT merupakan konsentrasi yang optimal sehingga mampu mempertahankan abnormalitas spermatozoa pada persentase yang lebih rendah. Dilihat dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pada perlakuan P0 mendapatkan nilai abnormalitas tertinggi karena hanya mendapatkan nutrisi dari sitrat kuning telur saja, sedangkan pada perlakuan P1, P2 dan P3 nilai abnormal tinggi karena penambahan sari buah nanas yang belum optimal. Hasil penelitian ini lebih rendah dan masih baik dan layak karena menurut laporan (Febriano, 2024; Feradis, 2010; Fitriki & Supartini, 2012; Foeh, 2015; Foeh & Gaina, 2017) persentase abnormalitas spermatozoa babi mencapai 10,5%.

Tabel 4. Abnormalitas spermatozoa dalam pengencer uji

J P	Perlakuan (%)						Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	2,70±0,75 a	2,70±0,75 ^a	2,70±0,75 ^a	2,70±0,75 ^a	2,70±0,75 a	2,70±0,75 ^a	1,00 0
12	4,70±0,83 b	4,20±0,83 ^a b	3,90±0,82 ^a b	3,50±0,93 ^a b	3,20±0,75 a	4,20±0,90 ^a b	0,11 4
24	6,00±0,61 c	5,30±0,83 ^b c	4,90±0,65 ^a b	4,40±0,65 ^a b	4,00±0,61 a	4,70±0,67 ^a b	0,00 2
36	7,40±0,41 d	6,80±0,44 ^c d	6,30±0,57 ^b c	5,60±0,65 ^a b	4,90±0,54 a	5,70±0,75 ^b	0,00 0
48	8,10±0,41 d	7,50±0,50 ^c d	7,00±0,50 ^c	6,20±0,57 ^b	5,40±0,54 a	5,90±0,54 ^a b	0,00 0

60	8,70±0,57	8,20±0,57	7,80±0,57	7,00±0,35	5,90±0,54	6,60±0,41	0,00 0
-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata antara perlakuan ($P < 0,05$). SKT: sitrat-kuning telur, SBN: sari buah nanas, P0:SKT, P1:SKT+SBN 2%, P2:SKT+ SBN 4%, P3:SKT+ SBN 6% Dan P4:SKT+ SBN 8%, P5: SKT+SBN 10%. JP = Jam Pengamatan.

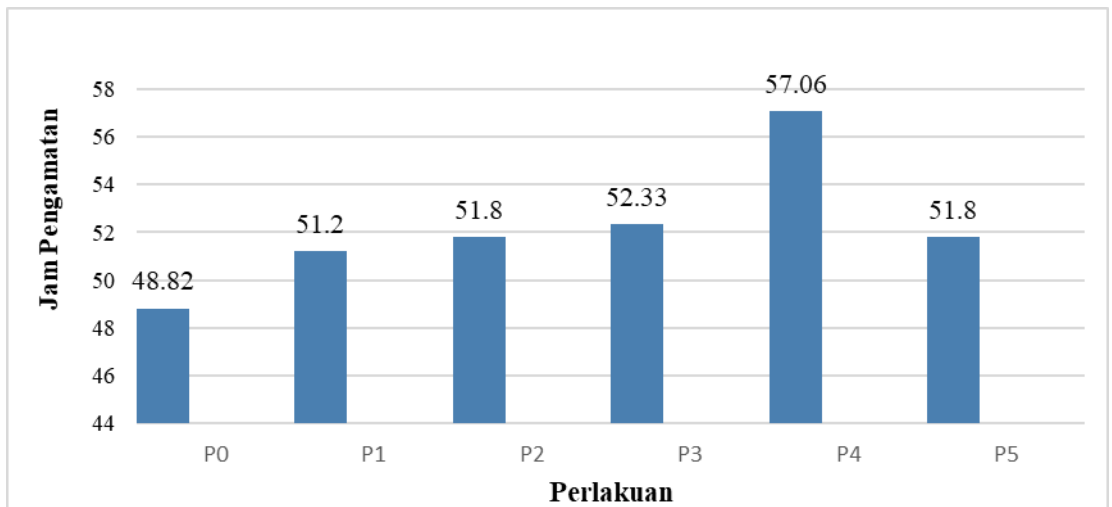
Sumber: Data primer penelitian (2026)

(Fafu et al., 2016) menyatakan bahwa meningkatnya angka abnormalitas dapat juga disebabkan karena adanya peroksdasi lipid, yang mengakibatkan rusaknya membran plasma pada bagian tengah spermatozoa, yang berakibat pada terhambatnya pembentukan energi sebagai sumber nutrisi bagi spermatozoa. (Agung et al., 2023) menyatakan bahwa meningkatnya angka abnormalitas dapat disebabkan juga karena adanya proksidasi lipid. Prokteksi aktif membran spermatozoa supaya bertahan hidup dilakukan dengan cara penambahan zat pelapis ekstraseluler membran dengan penyesuaian susunan membran plasma yang berupa karbohidrat di dalam sari buah nanas yang berkaitan dengan lipid dan protein (Anwar *et al.*, 2019).

Hasil penelitian ini menunjukkan persentase abnormalitas lebih tinggi dari hasil yang dikemukakan oleh Woda *et al.* (2024) yaitu $4,56 \pm 2,36\%$. Semakin rendah persentase abnormalitas maka kualitas semen akan semakin baik. Walaupun terjadi peningkatan persentase abnormalitas spermatozoa babi sampai jam ke-48. Penelitian ini mendapatkan nilai abnormalitas spermatozoa lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Pandahuki *et al.* (2024) yang menyatakan dengan penambahan ekstrak biji kelor kering yang mengandung antioksidan seperti vitamin E kedalam pengencer Beltsville Thawing Solution mendapatkan nilai abnormal sebesar $6,03 \pm 0,89\%$ pada jam penyimpanan ke 40. Akan tetapi semen dalam penelitian masih layak digunakan untuk IB karena abnormalitas spermatozoa sesuai dengan estándar (Nasional, 2017) yaitu masih dibawah 20%.

5. Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap bergerak dalam kurun waktu yang tertentu setelah penyimpanan *in vitro*. Daya tahan hidup spermatozoa setiap perlakuan pada penelitian ini dapat dilihat pada diagram dibawa ini.



Gambar 1. Daya tahan hidup spermatozoa (jam) pada masing-masing perlakuan

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata antara perlakuan ($P < 0,05$). S-KT: sitrat-kuning telur, SBN: sari buah nanas, P₀: S-KT, P₁: S-KT+SBN 2%, P₂: S-KT+ SBN 4%, P₃: S-KT+ SBN 6%, P₄: S-KT+ SBN 8%

Sumber: Data primer penelitian (2026)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap daya tahan hidup spermatozoa. daya tahan hidup spermatozoa yang ditambahkan sari buah nanas (P₁, P₂, P₃, P₄, P₅) mampu bertahan lebih lama dibandingkan kontrol (tanpa penambahan sari buah nanas). Namun terlihat bahwa perlakuan P₄ dengan konsentrasi SBN 8 % menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan perlakuan lainnya, dimana spermatozoa dapat bertahan hidup hingga jam ke 57,06 jam. Hal ini dapat diartikan bahwa penambahan sari buah nanas dalam pengencer sitrat kuning telur dengan level yang tepat dapat meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa

Kandungan antioksidan yang terdapat dalam SBN seperti vitamin A, C dan vitamin E yang mampu meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa dengan menangkalkan radikal bebas yang dapat merusak spermatozoa. Hal ini sejalan dengan pernyataan Bebas *et al.* (2016) bahwa untuk meminimalkan kerusakan spermatozoa akibat radikal bebas adalah dengan menambahkan antioksidan ke dalam pengencer, yang dalam penelitian ini vitamin E digunakan sebagai antioksidan untuk suplementasi dalam pengencer sitrat-kuning telur. Vitamin E adalah antioksidan yang larut dalam lemak yang dapat menghentikan peroksidasi lipid pada membran plasma spermatozoa selama proses preservasi. Didalam SBN

juga terdapat karbohidrat (fruktosa, glukosa, sukrosa) yang dapat digunakan spermatozoa sebagai sumber energi sehingga dapat mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa.

Rendahnya persentase daya tahan hidup pada P0 dibandingkan perlakuan lainnya karena P0 tidak memiliki unsur pelindung seperti antioksidan sehingga tidak dapat mencegah terjadinya kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Pada P1, P2, dan P3 disebabkan konsentrasi sari buah nanas dalam pengencer yang belum optimal sehingga perlindungan terhadap spermatozoa tidak optimal. Sedangkan rendahnya nilai daya tahan hidup pada P5 disebabkan oleh konsentrasi sari buah nanas yang terlalu tinggi sehingga menyebabkan toksisitas pada spermatozoa babi. Menurut Rhoyan *et al.* (2014) rendahnya persentase daya tahan hidup juga dapat disebabkan oleh adanya aktifitas metabolisme spermatozoa yang membentuk asam laktat dalam media pengencer. Asam laktat yang berlebihan pada pengencer dapat menyebabkan perubahan pH yang dapat menimbulkan efek racun dan kematian yang tinggi bagi spermatozoa (Widjaya, 2011).

Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Buting *et al.*, 2024) yaitu dengan penambahan sari buah lontar kedalam pengencer air kelapa muda-kuning telur terhadap kualitas semen babi landrace dapat mempertahankan daya tahan hidup selama $37,77 \pm 2,45$ jam.

KESIMPULAN

Penambahan sari buah nanas 8% dalam pengencer sitrat-kuning telur memberikan respon yang terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc selama penyimpanan 57,06. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji keberhasilan pelaksanaan inseminasi buatan menggunakan semen babi persilangan landrace x duroc yang diencerkan menggunakan penambahan 8% sari buah nanas dalam pengencer sitrat kuning telur. Sebagai tindak lanjut, direkomendasikan agar dilakukan uji lapangan berupa inseminasi buatan (IB) menggunakan semen yang diencerkan dengan kombinasi pengencer sitrat-kuning telur + 8% sari buah nanas untuk mengevaluasi keberhasilan fertilisasi *in vivo*, yang meliputi angka kebuntingan, kelahiran, dan jumlah anak per kelahiran. Selain itu, perlu dikaji pula pengaruh pengencer ini terhadap kualitas spermatozoa pasca thawing jika akan dikembangkan untuk semen beku. Dari sisi praktis, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar bagi peternak atau inseminator untuk mengadopsi bahan pengencer alternatif yang murah, mudah didapat, dan aplikatif di tingkat lapangan. Untuk mendukung adopsi

tersebut, perlu dilakukan diseminasi teknologi melalui pelatihan pembuatan pengencer sederhana berbasis bahan lokal, serta penyusunan standar operasional prosedur (SOP) yang mudah dipahami oleh peternak. Dengan langkah-langkah tersebut, pemanfaatan sari buah nanas sebagai bahan pengencer alami diharapkan dapat meningkatkan efisiensi reproduksi ternak babi secara berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, D. S., Marawali, A., Uly, K., & Telupere, F. M. S. (2023). Pengaruh penambahan beberapa level glutathione dalam pengencer air kelapa kuning telur terhadap kualitas semen sapi Angus. *Jurnal Nukleus Undana*, 10(1), 27–37. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v10i1.7948>
- Amtiran, D. E., Hine, T. M., & Uly, K. (2020). Pengaruh penambahan vitamin E dalam pengencer tris-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi Duroc. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*, 2(4), 1111–1118.
- Banamtuan, A. N., Nalley, W. M., & Hine, T. M. (2021). Kualitas semen cair babi Duroc dalam pengencer Durasperm yang disuplementasi air buah lontar dan sari tebu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(1), 41–48. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.1.41-48>
- Bean, A., & Peni. (2023). Pengaruh penambahan ekstraksi etanol daun kelor dalam pengencer semen life terhadap kualitas spermatozoa babi Landrace. *Prosiding Joint Seminar Nasional*.
- Bebas, W., Budiasa, M. K., & Astutik, I. Y. (2015). Penambahan vitamin C pada pengencer spermatozoa babi Landrace yang disimpan pada suhu 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*, 7(2), 179–185.
- Bebas, W., Buyona, G. L., & Budiasa, M. K. (2016). Penambahan vitamin E pada pengencer BTS terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace pada penyimpanan 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1), 1–7.
- Bei, M. S. B., Foeh, N. D. F. K., & Gaina, C. D. (2021). Kualitas spermatozoa babi dalam pengencer air buah lontar dan kuning telur ayam kampung dengan metode penyimpanan yang berbeda. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 4(1), 1–13.
- Blakely, J., & Bade, D. H. (1991). *Ilmu Peternakan (Edisi ke-4)*. Universitas Gajah Mada Press.
- Buting, A. D. N., Marawali, A., Lawa, A. B., & Kune, P. (2024). Pengaruh penambahan sari buah lontar dalam pengencer air kelapa muda kuning telur terhadap kualitas semen babi Landrace. *Jurnal Penelitian Ilmu Humaniora*, 7(6), 67–75.

- Butta, C. A., Gaina, C. D., & Foeh, N. D. F. K. (2021). Motilitas dan viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer air kelapa-kuning telur ayam kampung. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 4(1), 1–13.
- Elni, M. Y., Kune, P., Riwu, A. R., & Telupere, F. M. S. (2024). Pengaruh level etilen glikol dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi Landrace. *Jurnal Penelitian Ilmu Humaniora*, 7(8), 8–16.
- Fafo, M., Hine, T. M., & Nalley, W. M. (2016). Pengujian efektivitas ekstrak daun kelor dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen babi Landrace. *Jurnal Nukleus Undana*, 3(2), 184–195.
- Febriano, M. (2024). *Penggunaan sari buah tomat pada pengencer sitrat kuning telur dalam mempertahankan kualitas semen sapi Limousin pada suhu penyimpanan 5°C*. Fakultas Peternakan Universitas Jambi.
- Feradis. (2010). Bioteknologi reproduksi pada ternak. *Indian Journal of Animal Science*, 75(8), 922–924.
- Fitrik, & Supartini, N. (2012). Pengaruh suhu dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa kambing Peranakan Etawa. *Buana Sains*, 12, 81–86.
- Foeh, N. D. F. K. (2015). *Kualitas semen beku babi dalam pengencer BTS dan MIII menggunakan krioprotektan dimethylacetamide dan gliserol dengan sodium dedocyl sulphate*. Bogor Agricultural University (IPB).
- Foeh, N. D. F. K., & Gaina, D. C. (2017). Sari buah lontar sebagai pengencer alami dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi. *Jurnal Kajian Veteriner*, 5(1), 52–58.
- Hartono, M. (2008). Optimalisasi penambahan vitamin C dalam pengencer sitrat kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen kambing boer. *Jurnal Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 33(1), 11–19.
- Hidayaturrahmah. (2007). Waktu motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) pada beberapa konsentrasi larutan fruktosa. *Bioscientiae*, 4(1), 9–18.
- Hsieh, Y. Y., Chang, C. C., & Lin, C. S. (2006). Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *International Journal of Biological Sciences*, 2(1), 23–29. <https://doi.org/10.7150/ijbs.2.23>
- Kaka, A. (2020). Karakteristik dan daya fertilitas spermatozoa babi peranakan landrace. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 22(3), 277–283.
- Kolo, Y., Nubatonis, A., Bria, H. L., Boybana, M., Hakileu, Y. R., Bria, S. B., & Seran, F. (2024). Morphometric analysis in determining body score index

- of male duroc pigs. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 12(1), 36–48.
- Kumaunang, M., & Kamu, V. (2011). Aktivitas enzim bromelin dari ekstrak kulit nenas (*Ananas comosus* L. Merr). *Jurnal Ilmiah Sains*, 11(2), 198–201.
- Lesbani, A., Yuliasari, N., Riyanti, F., Loekitowati, H. P., & Yusuf, S. (2014). Pembinaan industri kecil sari buah nenas dan nutri jelly sebagai pengolahan alternatif. *Jurnal Pengabdian Sriwijaya*, 8(4), 196–206.
- Leyn, M. F. T., Belli, H., Nalley, W. M., Kune, P., & Hine, T. M. (2021). Kualitas spermatozoa kambing bligon dalam pengencer tris-kuning telur dengan penambahan ekstrak kulit buah naga. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(1), 23–32. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v8i1.4230>
- Ma, M. B., & Foeh, N. D. (2019). Pengaruh pengencer komersial terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa semen babi landrace. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 2(2), 60–71.
- Marlize, S., Hine, T. M., & Nalley, W. M. (2021). Pengaruh waktu ekuilibrisasi terhadap kualitas semen beku babi landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(2), 150–160. <https://doi.org/10.35508/nucleus.v8i2.4867>
- Mega, M. G., Nalley, W. M., Marawali, A., & Belli, H. L. (2022). Pengaruh perbedaan waktu ekuilibrisasi terhadap kualitas semen beku babi landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), 57–65.
- Mukminat, A., & Suharyati, S. (2014). Pengaruh penambahan berbagai sumber karbohidrat pada pengencer skim kuning telur terhadap kualitas semen beku sapi bali. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(2), 87–92.
- Nahak, P. L., Dethan, A. A., & Kian, K. W. (2022). Kualitas semen babi landrace dalam pengencer sitrat-kuning telur yang ditambah glukosa. *JAS*, 7(1), 12–15.
- Nasional, B. S. (2017). *Semen Beku—Bagian 1: Sapi (SNI 4869-1:2017)*. Badan Standarisasi Nasional.
- Onin, O. M., Nalley, W. M., Setyani, N. M. P., & Hine, T. (2024). Pengaruh penambahan minyak zaitun dalam pengencer sari buah semangka-kuning telur. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*, 6(2), 168–175.
- Pamungkas, F. A., & Anwar. (2013). Daya tahan hidup spermatozoa kambing boer dalam pengencer tris kuning telur. *Jurnal Litbang Pertanian*, 21–27.
- Parker, J. E. (2000). *Reproductive physiology in poultry*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Pubiandara, S., Suharyati, S., & Hartono, M. (2016). Pengaruh penambahan dosis rafinosa dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas dan abnormalitas spermatozoa sapi ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*,

4(4), 292–299.

- Putra, I. M. H., Bebas, W., & Budiasa, M. K. (2019). Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi vitamin E pada pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas spermatozoa puyuh. *Buletin Veteriner Udayana*, 11(1), 58–64.
- Putra, T. W., Suharyati, S., Siswanto, S., & Hartono, M. (2023). Pengaruh penambahan vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair ayam bangkok. *Jurnal Riset Dan Inovasi Peternakan*, 7(4), 523–534.
- Rhoyan, Y. H., Lestari, T. D., & Setiawan, R. (2014). Kualitas semen cair dingin domba garut pada tiga jenis larutan pengencer. *Jurnal Ilmu Ternak*, 14(1), 63–67.
- Rusdin, & Jum'at, K. (2009). Motilitas dan recovery sperma domba dalam berbagai pengencer selama penyimpanan pada suhu 5°C. *Agroland: Jurnal Ilmu Pertanian*, 16(2), 187–192.