

Kualitas Sperma Babi *Landrace* dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur yang Ditambahkan *Bovine Serum Albumin*

*(LANDRACE PIG SPERM QUALITY
IN COCONUT WATER - EGG YOLK DILUENT
ADDED WITH BOVINE SERUM ALBUMIN)*

**Thomas Mata Hine^{*}, Welmintje Marlene Nalley,
Aloysius Marawali, Kirenius Uly, Petrus Kune,
Franky MS Telupere, Ni Made Paramita Setyani,
Alvrado Bire Lawa, Yustiani Yuliana Bette**

Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan,
Universitas Nusa Cendana
Jl. Adisucipto, Penfui, Kota Kupang,
Nusa Tenggara Timur, Indonesia 85148.
Telp: (0380) 881580

*e-mail: thomasmatahine@staf.undana.ac.id

ABSTRACT

Young coconut water–egg yolk (yCW-EY) diluent used for semen preservation often produces inadequate sperm quality caused by damage to the sperm plasma membrane and DNA due to radical attack during storage. This research was designed by adding bovine serum albumin (BSA) as an additional supplement to the yCW-EY diluent, because apart from being rich in amino acids, BSA also acts as an antioxidant that can ward off free radical attacks. This study was aimed to evaluate the effectiveness of BSA supplementation in yCW-EY diluent to maintain the sperm quality of landrace pigs. Semen was collected from two three-year-old landrace pigs using the massage method, evaluated macroscopically and microscopically, and then preserved in yCW-EY diluent with BSA added at various levels, namely 0% (control), 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 and 1.5%. The diluted semen was stored in a cool box at a temperature of 15-20 °C, and sperm motility, viability and abnormalities were evaluated at the 48th hour of storage, while sperm viability was evaluated until the 72nd hour of storage. Data analysis was carried out by using analysis of variance and continued with the Duncan Multiple Range Test. Supplementation of 1.25% BSA into the yCW-EY diluent resulted in higher sperm quality and was significantly different from the control ($P < 0.05$), with a percentage of sperm motility reaching 49.00%, viability 58.20%, and longevity 61.26 hours. Sperm abnormalities in all treatments were still far below the maximum SNI standard, namely 4.20-5.80%, and did not show significant differences between treatments ($P > 0.05$). It was concluded that the addition of BSA to the yCW-EY diluent was effective in maintaining sperm quality of landrace pigs, with the best BSA level being 1.25%.

Keywords: coconut water-egg yolk; bovine serum albumin; sperm; landrace pigs

ABSTRAK

Pengencer air kelapa muda-kuning telur (AKm-KT) yang digunakan untuk preservasi semen sering menghasilkan kualitas sperma yang tidak memadai yang disebabkan oleh adanya kerusakan membran plasma dan DNA sperma akibat serangan radikal bebas selama penyimpanan. Penelitian ini dirancang dengan menambahkan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai suplemeni tambahan pada pengencer AKm-KT, karena selain kaya asam amino, BSA juga berperan sebagai antioksidan yang dapat menangkalkan serangan radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah menguji efektivitas suplementasi BSA dalam pengencer AKm-KT untuk mempertahankan kualitas sperma babi *landrace*. Semen ditampung dari dua ekor babi *landrace* berumur tiga tahun dengan metode masase, dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis dan selanjutnya dipreservasi dalam pengencer AKm-KT yang ditambahkan BSA pada berbagai level yakni 0% (kontrol), 0,5; 0,75; 1,0; 1,25 dan 1,5%. Semen yang telah diencerkan disimpan di dalam *cool box* suhu 15-20 °C, dan dilakukan evaluasi terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas sperma pada jam ke-48, sedangkan untuk daya tahan hidup sperma dievaluasi hingga jam ke-72 penyimpanan. Analisis data dilakukan dengan menggunakan sidik ragam dan perbedaan yang nyata antar perlakuan diuji dengan uji jarak berganda Duncan. Suplementasi BSA 1,25% ke dalam pengencer AKm-KT menghasilkan kualitas sperma yang lebih tinggi dan secara signifikan berbeda dengan kontrol ($P < 0,05$), dengan persentase motilitas mencapai 49,00%, viabilitas 58,20%, dan daya tahan hidup sperma 61,26 jam. Abnormalitas sperma pada semua perlakuan masih berada jauh di bawah standar maksimal SNI yakni 4,20-5,80%, dan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan ($P > 0,05$). Disimpulkan bahwa penambahan BSA ke dalam pengencer AKm-KT efektif untuk mempertahankan kualitas sperma babi *landrace*, dengan level BSA terbaik adalah 1,25%.

Kata-kata kunci: air kelapa; *bovine serum albumin*; sperma; babi *landrace*

PENDAHULUAN

Preservasi sperma babi merupakan salah satu metode dalam bioteknologi reproduksi yang bertujuan untuk memperpanjang daya hidup dan motilitas sperma sehingga dapat digunakan dalam kurun waktu yang lebih lama (Yeste, 2017; Parrilla *et al.*, 2019). Agar tujuan preservasi tersebut dapat tercapai maka sperma perlu dicampur dengan bahan pengencer yang di dalamnya terkandung berbagai senyawa dan ion yang dibutuhkan oleh sperma dan selanjutnya disimpan pada suhu yang sesuai.

Salah satu bahan yang sudah umum digunakan untuk preservasi sperma babi adalah air kelapa muda (AKm) yang dikombinasikan dengan kuning telur (KT) (Berek *et al.*, 2021). Air kelapa muda mengandung sejumlah nutrisi yang bermanfaat untuk menunjang motilitas dan

kehidupan sperma selama berada di lingkungan *in vitro*. Sejumlah senyawa yang terkandung di dalam AKm adalah glukosa, fruktosa, asam ascorbat dan protein. Glukosa dan fruktosa berperan sebagai substrat energi bagi sperma, asam ascorbat dapat bertindak sebagai antioksidan untuk menangkalkan radikal bebas yang dihasilkan oleh sperma dalam jumlah yang berlebihan pada saat berada pada suhu dingin, sedangkan protein bermanfaat untuk melindungi selubung membran plasma sperma dari efek kejutan dingin (Odrada *et al.*, 2023). Kuning telur berperan sebagai pelindung sperma terhadap kejutan dingin karena mengandung lipoprotein dan lesitin (Pearodwong *et al.*, 2019; Bustani dan Baiee, 2021). Walaupun demikian, penggunaan AKm-KT untuk preservasi seringkali tidak mampu melindungi kehidupan sperma secara optimal yang dibuktikan oleh

daya tahan hidup sperma yang lebih singkat pada pengencer tersebut.

Penelitian ini dirancang dengan menambahkan *bovine serum albumin* (BSA) ke dalam AKm untuk preservasi sperma babi landrace. *Bovine serum albumin* mengandung protein yang sangat tinggi (Sandal *et al.*, 2020) yang berperan melindungi sperma dari kejutan dingin. Bahan tersebut juga dapat mengikat sejumlah ion, molekul dan radikal bebas yang selanjutnya mencegah terjadinya reaksi oksidasi, menstabilkan tekanan osmotik dan pH medium (Priyanto *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa BSA dapat menurunkan peroksidasi lipid pada membran plasma sperma yang disebabkan oleh *reactive oxygen species*/ROS (Murasing *et al.*, 2020) sehingga dapat melindungi membran plasma sperma secara efisien, dan efektif guna mempertahankan motilitas sperma babi selama penyimpanan pada suhu 17 °C (Fu *et al.*, 2017; Suryanatha *et al.*, 2019). Selain memiliki sifat antioksidatif, BSA juga dapat meningkatkan kapasitas antioksidan dari senyawa lainnya dengan cara meminimalkan kejadian oksidasi pada senyawa tersebut (Arts *et al.*, 2001). Alcay *et al.* (2019) melaporkan bahwa penambahan BSA ke dalam pengencer berbahan dasar lecithin dapat meningkatkan viabilitas dan motilitas spermatozoa domba pascathawing. Penambahan BSA ke dalam pengencer AKm-KT diharapkan dapat memberikan tambahan nutrisi dan unsur pelindung bagi sperma terhadap serangan radikal bebas pada saat preservasi *in vitro*.

Tujuan penelitian adalah menguji efektivitas suplementasi BSA dalam pengencer AKm-KT untuk mempertahankan kualitas sperma babi *landrace*.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah sperma yang ditampung dari dua ekor babi *landrace* yang berumur tiga tahun dan sudah terlatih untuk

penampungan semen dengan metode masase.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas enam perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang lima kali sehingga terbentuk 30 unit percobaan.

Penyiapan Pengencer

Buah kelapa yang masih muda dipotong pada salah ujungnya hingga dagingnya terlihat dari luar. Air kelapa disedot dengan menggunakan spuit steril berukuran 20 mL dan dimasukkan sama banyak ke dalam enam tabung erlenmeyer. Masing-masing tabung erlenmeyer ditambahkan kuning telur 20% (v/v), dicampur hingga homogen dengan bantuan *magnetic stirrer*, dan selanjutnya tambahkan pemicillin 1000 IU dan streptomycin 1000 µg per mL pengencer (Hine *et al.*, 2019). Pengencer perlakuan dipersiapkan dengan menambahkan BSA ke dalam masing-masing tabung pengencer AKm-KT, dengan level 0,0; 0,5; 0,75; 1,0; 1,25 dan 1,50% (w/v).

Penampungan dan Evaluasi Semen

Penampungan semen dilakukan dengan metode masase dari dua ekor babi *landrace* yang berumur tiga tahun. Semen selanjutnya dievaluasi kualitasnya secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis meliputi: volume, warna, konsistensi, dan pH semen. Evaluasi mikroskopis meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi sperma. Semen yang berkualitas baik sesuai dengan standar SNI yakni motilitas sperma di atas 70% dan abnormalitas sperma di bawah 20%, diencerkan dengan pengencer perlakuan yang telah disiapkan.

Pengenceran dan Preservasi Semen

Semen dibagi secara merata ke dalam enam tabung sesuai dengan jumlah perlakuan dan selanjutnya dicampur secara hati-hati dengan masing-masing pengencer perlakuan dengan perbandingan 1 : 2.

Semen encer dibagi ke dalam tabung endorff berukuran 1,5 mL dan dipreservasi di dalam *cool box* dengan suhu 15-20°C (Marlize *et al.*, 2021). Evaluasi terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas sperma dilakukan pada jam ke-48 penyimpanan, sedangkan untuk daya tahan hidup sperma dievaluasi hingga jam ke-72 penyimpanan.

Pengukuran Motilitas Sperma

Motilitas sperma diukur berdasarkan persentase sperma yang bergerak progresif (aktif bergerak maju ke depan) dengan menempatkan satu tetes semen cair di atas gelas objek hangat dan ditutup dengangelas penutup. Amati pergerakan sperma di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x, pada delapan lapang pandang dan berikan penilaian secara subjektif terhadap persentase sperma yang bergerak progresif dibandingkan dengan keseluruhan sperma yang diamati pada setiap lapang pandang mikroskop (Fafu *et al.*, 2016).

Pengukuran Viabilitas Sperma

Viabilitas sperma adalah persentase sperma hidup yang ditandai oleh kepala sperma yang tidak menyerap zat warna. Dua tetes pewarna eosin-nigrosin ditempatkan di atas gelas objek, kemudian tambahkan satu tetes semen cair di atas pewarna tersebut, campur secara hati-hati hingga merata, dan selanjutnya dibuat preparat ulas pada gelas objek baru. Panaskan secara tidak langsung di atas api bunsen hingga ulas mengering (Mato *et al.*, 2024; Pamungkas *et al.*, 2014; Toelihere, 1993) dan lakukan pengamatan di bawah mikroskop pada pembesaran 400x. Hitung sperma hingga 200 sel dan lakukan perhitungan viabilitas dengan rumus: Viabilitas (%) = [(jumlah sperma dengan kepala tidak berwarna) x (total sperma yang dihitung)⁻¹] x 100%

Pengukuran Abnormalitas Sperma

Pengukuran abnormalitas dilakukan sama dengan teknik pengukuran viabilitas sperma, namun yang diamati adalah sperma

yang memiliki kelainan morfologis seperti kepala terlalu besar atau kecil, kepala pipih memanjang, kepala pendek melebar, kepala ganda, kepala tanpa ekor, ekor putus, ekor bercabang, dan *cytoplasmic droplet* pada ekor. Perhitungan abnormalitas dihitung dengan rumus: Abnormalitas (%) = [(jumlah sperma abnormal) x (total sperma yang dihitung)⁻¹] x 100%

Pengukuran Daya Tahan Hidup (DTH) Sperma

Perhitungan DTH sperma berpatokan pada persentase motilitas sperma. Daya tahan hidup sperma adalah lama waktu bertahannya sperma dalam penyimpanan *in vitro* hingga motilitasnya menurun hingga 40 persen, sesuai dengan standar SNI motilitas minimal yang layak untuk inseminasi buatan. Daya tahan hidup sperma dihitung dengan rumus: DTH (jam) = JPT + $\frac{(MAS-MS)}{(MAS-MBS)} \times RWE$.

Keterangan: JPT = jam pengamatan terakhir (dengan persentase motilitas progresif sperma masih memenuhi standar IB, MAS = motilitas progresif sperma yang berada persis di atas standar IB, MS = Motilitas progresif sperma standar IB, MBS = Motilitas progresif sperma yang berada persis di bawah standar IB, RWE = rentang waktu evaluasi sperma.

Analisis Data

Data penelitian dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan, dengan bantuan perangkat lunak SPSS IBM versi 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar

Kualitas semen segar yang digunakan sebagai materi penelitian ditampilkan pada Tabel 1. Data pada Tabel 1 merupakan hasil analisis secara makros-kopis dan mikroskopis terhadap kualitas semen segar. Evaluasi secara makroskopis meliputi sejumlah variabel yakni volume, warna, konsistensi dan pH semen, sedangkan evaluasi secara mikroskopis terdiri atas

motilitas, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi sperma. Kualitas semen segar yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi kriteria yang ditetapkan SNI yakni motilitas sperma di atas 70%, abnormalitas sperma di bawah 20%. Hal

ini menggambarkan bahwa ternak babi jantan yang digunakan tergolong sebagai pejantan fertil karena dari lima kali penampungan, semen yang ditampung selalu berkualitas baik.

Tabel 1. Data semen segar babi *landrace*

Variabel	Penampungan ke-					Rerata ± SD
	1	2	3	4	5	
Volume (mL)	174	160	145	185	158	164,40 ± 15,44
Warna	Putih	Puih	Putih	Putih	Putih	-
Konsistensi	Susu	Susu	Susu	susu	Susu	-
pH	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang	-
Konsentrasi (10 ⁶)	6,7	6,4	6,7	6,4	6,7	6,58 ± 0,16
Motilitas (%)	230	260	280	270	220	252,00 ± 25,88
Viabilitas (%)	85	80	80	80	85	82,00 ± 2,74
Abnormalitas (%)	94	88	85	88	90	89,00 ± 3,32
	3	3	4	2	6	3,60 ± 1,52

Pengaruh Perlakuan terhadap Kualitas Sperma Babi *Landrace*

Kualitas sperma babi *landrace* ditampilkan pada Tabel 2. Persentase motilitas dan viabilitas sperma menurun seiring dengan umur penyimpanan, sebaliknya abnormalitas sperma semakin meningkat dengan bertambahnya umur penyimpanan (Tabel 2). Hal ini dapat disebabkan oleh nutrisi yang terkandung di dalam pengencer semakin menipis karena digunakan oleh sperma untuk bertahan hidup, serta mempertahankan motilitas dan integritas membran sperma selama preservasi. Selain itu, proses preservasi memengaruhi perubahan morfologi dan ultrastruktur pada sperma yang menyebabkan kerusakan pada membran sitosol dan inti. Sebagian besar kerusakan pada sperma itu terjadi selama preservasi dikaitkan dengan penurunan suhu selama penyimpanan (Najafi *et al.*, 2019).

Pada Tabel 2, disajikan bahwa penambahan BSA ke dalam pengencer AKm-KT dapat meningkatkan kualitas sperma babi *landrace*. Hasil pengamatan kualitas sperma pada jam ke-48 penyimpanan menunjukkan bahwa penambahan BSA 0,5 hingga 1,5% menghasilkan motilitas, viabilitas dan DTH sperma yang lebih tinggi (p<0,05) dari pada perlakuan

kontrol, sedangkan untuk variabel abnormalitas sperma menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (p>0,05). Motilitas dan DTH sperma tertinggi dihasilkan oleh perlakuan dengan level BSA 1,25% dan secara signifikan berbeda dengan kontrol dan keempat perlakuan lainnya (p<0,05). Viabilitas sperma tertinggi dihasilkan oleh perlakuan BSA 1,25% dan secara signifikan berbeda dengan kontrol, level BSA 0,5; 0,75 dan 1,5% (p<0,05). Namun, dengan BSA 1,0% menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05). Hasil penelitian ini menegaskan bahwa level BSA terbaik dalam pengencer AKm-KT adalah 1,25%.

Hasil penelitian ini memperkuat hasil-hasil penelitian sebelumnya bahwa BSA memiliki peranan positif terhadap sperma ketika bahan tersebut ditambahkan ke dalam pengencer. *Bovine serum albumin* bersama dengan kuning telur dapat mempertahankan integritas membran sperma yang selanjutnya berdampak pada peningkatan motilitas dan fertilitas sperma pascapreservasi atau kriopreservasi (Alcay *et al.*, 2019). Penggunaan BSA dalam pengencer semen telah terbukti dapat mempertahankan motilitas, integritas membran plasma dan akrosom sperma selama perubahan suhu pada kriopreservasi dan

thawing (Alcay *et al.*, 2019). Suatu studi terhadap suplementasi BSA dalam pengencer juga menunjukkan adanya peningkatan viabilitas sperma yang

signifikan ketika sperma sapi diencerkan dengan bahan pengencer yang ditambahkan dengan BSA (Nang *et al.*, 2012).

Tabel 2. Kualitas sperma babi *landrace* dalam pengencer AKm-KT yang disuplementasi berbagai level BSA yang diamati pada jam ke-48 preservasi

Perlakuan	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	Daya tahan hidup (jam)
AKm-KT	22,00 ± 5,70 ^c	29,30 ± 5,37 ^c	4,80 ± 1,49 ^a	33,83 ± 3,45 ^d
AKm-KT+BSA 0,5%	30,00 ± 3,44 ^d	37,20 ± 3,11 ^b	5,00 ± 0,71 ^a	38,84 ± 2,96 ^c
AKm-KT+BSA 0,75%	33,00 ± 2,74 ^{cd}	40,80 ± 4,27 ^b	5,60 ± 1,14 ^a	41,17 ± 2,54 ^c
AKm-KT+BSA 1,0%	42,00 ± 2,74 ^b	54,40 ± 1,14 ^a	5,80 ± 1,48 ^a	50,57 ± 3,53 ^b
AKm-KT+BSA 1,25%	49,00 ± 2,24 ^a	58,20 ± 1,92 ^a	4,20 ± 0,84 ^a	61,26 ± 3,75 ^a
AKm-KT+BSA 1,50%	35,00 ± 0,00 ^c	41,00 ± 2,45 ^b	5,60 ± 0,89 ^a	42,88 ± 0,29 ^c
<i>p-value</i>	0,00	0,00	0,24	0,00

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). AKm = air kelapa muda, KT = kuning telur, BSA = bovine serum albumin,

Bovine serum albumin merupakan protein yang secara alami terdapat di dalam plasma semen mamalia yang dapat melindungi sperma terhadap efek berbahaya dari radikal bebas. *Bovine serum albumin* telah dilaporkan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan katalase setelah proses pembekuan-*thawing* semen. Penambahan BSA ke dalam pengencer semen dapat meningkatkan motilitas, integritas membran plasma dan membran akrosom spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Selain itu, BSA juga dapat membantu sperma untuk bertahan hidup di saluran reproduksi sebelum pembuahan (Sariözkan *et al.*, 2013). Penambahan BSA pada bahan pengencer telah terbukti dapat meningkatkan motilitas, integritas membran plasma, viabilitas dan integritas DNA sperma (Blank *et al.* 2020).

Efek BSA semakin ditingkatkan dengan keberadaan kuning telur di dalam bahan pengencer. Kuning telur mengandung fosfolipid, suatu fraksi *low-density lipoprotein* (LDL), yang memiliki komponen yang efektif melindungi membran sperma dari perubahan suhu dan kejutan dingin selama proses preservasi.

Penambahan kuning telur pada pengencer semen berfungsi untuk menjaga kestabilan integritas dan lapisan membran lipoprotein (Doležalová *et al.*, 2015). *Bovine Serum Albumin* dan kuning telur dapat berikatan dengan gugus fosfolipid, protein dan glikoprotein pada membran plasma sperma, sehingga partikel membran plasma tersebut semakin solid (Rachmawati *et al.*, 2021).

Hasil penelitian Lee *et al.* (2019) menunjukkan bahwa BSA yang dikombinasikan dengan *alpha-linolenic acid* selama kriopreservasi mengurangi kerusakan membran plasma dan membran akrosom, meningkatkan aktivitas mitokondria, keutuhan morfologi dan motilitas sperma babi, dan menurunkan peoksidasi lipid yang disebabkan oleh *reactive oxygen species* (ROS). Sebagai salah satu faktor yang merugikan selama pembekuan sperma, ROS dapat menyebabkan perubahan struktur membran melalui redistribusi lipid dan protein dalam membran plasma sperma selama proses pendinginan. Selama perubahan suhu, asam lemak yang menyebabkan penurunan fluiditas dan permeabilitas membran dilepaskan dari membran plasma (Watson, 2000).

Integritas membran plasma sperma juga sangat penting dalam mencegah terjadinya reaksi akrosom dini. Reaksi akrosom yang terjadi sebelum fertilisasi menyebabkan sperma kehilangan fertilitas dan viabilitasnya (Tello-Mora *et al.*, 2018). Langkah pertama reaksi akrosom adalah fusi membran plasma dengan membran akrosom, dengan demikian, pemeliharaan integritas membran spermatozoa sangat erat kaitannya dengan pencegahan reaksi akrosom dini. Reaksi akrosom dini dapat dipicu oleh berbagai tekanan fisik dan kimia seperti pembentukan ROS, pembentukan kristal es dan tekanan osmotik. Kerusakan akrosom atau reaksi akrosom dini dapat dikurangi dengan penambahan BSA dalam pengencer (Lee *et al.*, 2016).

Penambahan BSA diyakini dapat mengurangi peroksidasi lipid pada sistem membran sehingga menghasilkan integritas membran yang lebih tinggi (Belinskaia *et al.*, 2020). Demikian pula hasil penelitian Bailey *et al.* (2000) melaporkan bahwa persentase viabilitas sperma dengan akrosom utuh lebih tinggi pada pengencer yang mengandung BSA dibandingkan dengan perlakuan kontrol pada 0 jam setelah *thawing*. Diketahui bahwa stres oksidatif selama preservasi atau kriopreservasi merusak fungsi akrosom. Persentase viabilitas sperma yang lebih tinggi telah diamati pada sperma yang dikriopreservasi dalam pengencer yang mengandung BSA (Anghel *et al.*, 2010). Diperkirakan bahwa peningkatan viabilitas sperma dengan memasukkan BSA ke dalam pengencer dikaitkan dengan pengurangan radikal bebas yang dihasilkan dari mitokondria, peroksidasi lipid membran plasma dan spermatozoa mati/abnormal selama proses pembekuan dan *thawing*.

Sejumlah laporan penelitian sebelumnya telah memperkuat tentang efek positif BSA bagi kehidupan spermatozoa. Hasil penelitian Suryanatha *et al.* (2019) menunjukkan bahwa penambahan BSA 10 mg/mL ke dalam pengencer *Beltsville Thawing Solution* (BTS®) dapat meningkatkan daya hidup dan motilitas spermatozoa babi *landrace*. Hal yang sama

juga terjadi ketika BSA digunakan sebagai bahan suplemen dalam pengencer kuning telur-fosfat untuk preservasi semen kalkun menghasilkan motilitas spermatozoa yang lebih tinggi dengan level BSA terbaik adalah 2% (Wahana *et al.*, 2014).

Penelitian ini menggunakan air kelapa – kuning telur sebagai pengencer dasar. Air kelapa telah digunakan sebagai bahan pengencer alami terutama untuk semen kambing, domba, sapi dan babi. Air kelapa merupakan larutan steril dan mengandung garam dan beberapa nutrisi penting seperti protein, faktor pertumbuhan, gula, vitamin dan lemak netral. Selain sebagai pemasok berbagai elektrolit, air kelapa memberikan pH yang sesuai untuk preservasi sperma. Selain itu, air kelapa telah menunjukkan hasil yang memuaskan bila digunakan untuk preservasi sperma kuda (Brasileiro *et al.*, 2019). Air kelapa juga mengandung konsentrasi vitamin C yang bervariasi antara 19,7 hingga 94,3 mg/100 mL. Vitamin C telah terbukti dapat mendaur ulang vitamin E yang terdegradasi sehingga dapat meningkatkan potensi antioksidan mikronutrien ini (Chou *et al.*, 2018) dan memberikan perlindungan lebih pada membran DNA.

Kuning telur mengandung triasilgliserol dalam konsentrasi tinggi yang berfungsi untuk melindungi membran plasma sperma dari kejutan dingin, Triasilgliserol dapat ditransfer ke dalam membran plasma sperma untuk mengurangi sensitivitas terhadap suhu rendah. Triasilgliserol dapat berinteraksi dengan membran plasma sperma, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan toleransi sperma terhadap suhu yang lebih rendah (Casas dan Althouse, 2013). Triasilgliserol (TAG) adalah ester yang berasal dari gliserol dan asam lemak yang juga dapat berfungsi sebagai sumber energi. Akumulasi TAG adalah strategi organisme yang beradaptasi dengan dingin yang memerlukan penurunan aktivitas seluler mereka sementara menjaga integritas struktural seluler (Moellering *et al.* 2010).

Kombinasi air kelapa dan kuning telur sebagai pengencer dasar dan di-

suplementasi dengan BSA 1,25% lebih efektif untuk mengencerkan sperma babi *landrace*. Hal ini dibuktikan oleh adanya motilitas, viabilitas dan daya tahan hidup sperma yang lebih tinggi pada konsentrasi BSA 1,25% dibandingkan dengan level BSA lainnya.

SIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa penambahan BSA ke dalam pengencer air kelapa muda-kuning telur efektif untuk mempertahankan kualitas sperma babi *landrace*, dengan level BSA terbaik adalah 1,25%.

SARAN

Preservasi sperma babi *landrace* dianjurkan menggunakan pengencer air kelapa-kuning telur yang ditambahkan dengan BSA 1,25%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima Kasih disampaikan kepada Universitas Nusa Cendana yang telah mendanai penelitian ini melalui DIPA undana tahun 2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Alcay S, Toker MB, Gokce E, Onder NT, Ustuner B, Nur Z. 2019. Long term incubation resilience of post-thaw ram semen diluted with lecithin-based extender supplemented with bovine serum albumin. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 25(3): 291-297. doi: 10.9775/kvfd.2018.20843
- Anghel A, Zamfirescu S, Dragomir C, Nadolu D, Elena S, Florica B. 2010. The effects of antioxidants on the cytological parameters of cryo-preserved buck semen. *Rom Biotech Lett* 15: 26-32.
- Arts MJ, Haenen GR, Voss HP, Bast A. 2001. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food Chem Toxicol* 39: 787-791.
- Bailey JL, Bilodeau JF, Cormier N. 2000. Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomena. *J Androl* 22: 508-515.
- Belinskaia DA, Voronina PA, Shmurak VI, Vovk MA, Batalova AA, Jenkins RO, Goncharov NV. 2020. The universal soldier: enzymatic and non-enzymatic antioxidant functions of serum albumin. *Antioxidants* 9(10): 966. <https://doi.org/10.3390/antiox9100966>
- Berek F, Dethan A, Tahuk P. 2021. The effect of long shelf life of duroc pig male semen diluted using tris-egg yolk-young coconut water on the value of viability, abnormality and pH. *Journal of Tropical Animal Science and Technology* 3(2): 108-120. <https://doi.org/10.32938/jtast.v3i2.1201>.
- Blank MH, Silva VC, Rui BR, Novaes GA, Castiglione VC, Pereira RJG. 2020. Beneficial influence of fetal bovine serum on *in vitro* cryosurvival of chicken spermatozoa. *Cryobiology* 95: 103-109.
- Brasileiro LS, Segabinazzi LGTM, Menezes E, Salgueiro CC, Novello G, Scheeren VFDC, Alvarenga MA, Nunes JF. 2019. Coconut water as an extender component for cooled equine sperm. *Journal of Equine Veterinary Science* 78: 69-73.
- Bustani GS, Baiee FH. 2021. Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Vet World* 14(5): 1220-1233. <https://doi.org/10.14202%2Fvetworld.2021.1220-1233>.
- Casas I, Althouse GC. 2013. The protective effect of a 17°C holding time on boar sperm plasma membrane fluidity after exposure to cold-shock. *Cryobiology* 66: 69-75.

- Chou CC, Sung YC, Davison G, Chen CY, Liao YH. 2018. Short-term high-dose vitamin C and E supplementation attenuates muscle damage and inflammatory responses to repeated Taekwondo competitions: a randomized placebo controlled trial. *Int J Med Sci* 15(11): 1217-1226.
- Doležalová M, Stádník L, Biniová Z, Ducháček J, Beran J. 2015. The effect of the freezing curve type on bull spermatozoa motility after thawing. *Acta Vet Brno* 84: 383–391.
- Fafo M, Hine TM, Nalley WM. 2016. Pengujian efektivitas ekstrak daun kelor dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*3(2):184-195. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v3i2.805>
- Fu J, Li Y, Wang L, Zhen L, Yang Q, Li P, Li X. 2017. Bovine serum albumin and skim-milk improve boar sperm motility by enhancing energy metabolism and protein modifications during liquid storage at 17 °C. *Theriogenology* 102: 87-97.
- Hine TM, Uly K, Nalley WM, Armadianto H. 2019. Kualitas Sperma Beku Sapi Bali dalam Pengencer Air Kelapa Modifikasi dengan Berbagai Aras Dimethyl Sulfoxide. *Jurnal Veteriner* 20(1): 93-100.
- Lee W-H, Kim W-H, Cheong H-T, Yang B-K, Park C-K. 2019. Effect of alpha-linolenic acid with bovine serum albumin or methyl-beta-cyclodextrin on membrane integrity and oxidative stress of frozen-thawed boar sperm. *Dev Reprod* 23(1): 11-19.
- Lee WH, Hwangbo Y, Lee SH, Cheong HT, Yang BK, Park CK. 2016. Effects of α linolenic acid and bovine se-rum albumin on frozen thawed boar sperm quality during cryopreservation. *Reprod Dev Biol* 40: 33-37.
- Marlize S, Hine TM, Nalley WM. 2021. Pengaruh waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen beku babi landrace dalam pengencer durasperm termodifikasi. *Jurnal Nukleus Peternakan*8(2):150-160. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v8i2.4867>
- Mato SI, Nalley WM, Hine TM, Marawali A. 2024. Perbandingan Kualitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Dasar Natrium Chloride Fisiologis dengan Level Kuning Telur yang Berbeda. *Comserva* 4(1): 32-44.
- Moellering ER, Muthan B, Benning C. 2010. Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane. *Science* 330: 226–228.
- Murasing DK, Lalrintluanga K, Ahmed FA, Talukdar DJ, Singh NS, Gali JM, Tolengkomba TC. 2020. Effects of bovine serum albumin during preservation of boar semen at 17 °C. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 8(6): 1575-1577.
- Najafi L, Halvaei I, Movahedin M. 2019. Canthaxanthin protects human sperm parameters during cryopreservation. *Andrologia* 2019;00: e13389. <https://doi.org/10.1111/and.13389>.
- Nang CF, Osman K, Budin SB, Ismail MI, Jaffar FHF, Mohamad SFS, Ibrahim SF. 2012. Bovine serum albumin: Survival and osmolarity effect in bovine spermatozoa stored above freezing point. *Andrologia* 44: 447–453.
- Odrada PMS, Purnamasari L, Cruz JFD. 2023. The effects of water-based coconut extenders on semen preservation : A review. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 18(1): 20-26.
- Pamungkas FA, Batubara A, Anwar. 2014. Kriopreservasi spermatozoa kambing boer: perbandingan dua bahan pengencer terhadap kualitas post-thawing dan kemampuan ferti-

- lisasinya. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 19(2): 130-137.
- Parrilla I, Perez-Patiño C, Li J, Barranco I, Padilla L, Rodriguez-Martinez H, Martinez E, Roca J. 2019. Boar semen proteomics and sperm preservation. *Theriogenology* 137(1): 23-29.
- Pearodwong P, Suwimonterabutr J, Rungruangsak J, Tummaruk P. 2019. Comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of boar semen. *Veterinarska Stanica* 50(6): 531-540.
- Priyanto L, Riswandi, Putranti OD, Gunawan M, Susanda A, Khotimah K. 2022. The effect of centrifugation time on sexing spermatozoa with bovine serum albumin media on the morphology of X-Y spermatozoa in simmental cattle. *Chalaza Journal of Animal Husbandry* 7(1): 6-10.
- Rachmawati A, Ismaya, Widyobroto BP, Bintara S, Susilawati T. 2021. Addition of bovine serum albumin (BSA) in cauda epididymal plasma-2 (CEP-2) extender to Ongole grade bull sperm motility and membrane integrity during the freezing process. *The 3rd International Conference of Animal Science and Technology*. IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science* 788 (2021) 012132.
- Sandal AI, Senlikci H, Baran A, Ozdas OB. 2020. Effects of semen extender supplemented with bovine serum albumin (BSA) on spermatozoological traits of saanen buck semen stored at 4°C. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 26(4): 515-520.
- Sarıözkan S, Türk G, Cantürk F, Yay A, Eken AB, Akçay A. 2013. The effect of bovine serum albumin and fetal calf serum on sperm quality, DNA fragmentation and lipid peroxidation of the liquid stored rabbit semen. *Cryobiology* 67: 1-6.
- Suryanatha IMA, Bebas W, Laksmi DNDI. 2019. Penambahan bovine serum albumin pada pengencer beltsville thawing solution terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa babi landrace. *Buletin Veteriner Udayana* 11(2): 176-181.
- Tello-Mora P, Hernández-Cadena L, Pedraza J, López-Bayghen E, Quintanilla-Vega B. 2018. Acrosome reaction and chromatin integrity as additional parameters of semen analysis to predict fertilization and blastocyst rates. *Reproductive Biology and Endocrinology* 16(1):102
<https://doi.org/10.1186/s12958-018-0408-0>
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Bandung. CV Angkasa.
- Wahana AG, Budiasa MK, Bebas W. 2014. Penambahan bovine serum albumin mempertahankan motilitas progresif spermatozoa kalkun pada penyimpanan suhu 4°C. *Indonesia Medicus Veterinus* 3(4) : 317-322.
- Watson PF. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 60: 481-492.
- Yeste M. 2017. State-of-the-art of boar sperm preservation in liquid and frozen state. *Anim Reprod* 14(1): 69-81.