

## Penambahan Filtrat Kelopak Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur pada Semen Beku Kambing Kaligesing

### *The Addition of Rosella Petal Filtrate (*Hibiscus sabdariffa*) in Egg Yolk Tris Diluent in Kaligesing Goat Frozen Semen*

Dwi Rosyidatu Fuadatin\*, Dyah Hariani

Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya

\*e-mail: [dwirosyidatu23@gmail.com](mailto:dwirosyidatu23@gmail.com)

**Abstrak.** Pelestarian genetik kambing unggul dapat dilakukan dengan penyimpanan spermatozoa pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$ . Kualitas spermatozoa kambing dipertahankan melalui penambahan antioksidan dalam media pengencernya. Tujuan dari penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan filtrat kelopak rosella (FR) dalam pengencer tris kuning telur (TKT) terhadap kualitas spermatozoa kambing Kaligesing. Jenis penelitian ekperimental yang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) terdapat 4 perlakuan (FR 0,0%, 1,5%, 3,0% dan 4,5%) dengan 5 ulangan. Parameter yang diamati meliputi motilitas, viabilitas dan integritas membran sel spermatozoa. Analisis data secara statistik menggunakan uji Anova satu arah dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil uji Anova menunjukkan penambahan filtrat kelopak dalam pengencer TKT berpengaruh signifikan terhadap kualitas spermatozoa kambing Kaligesing ( $P < 0,05$ ). Penambahan filtrat FR 3% merupakan konsentrasi terbaik yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa kambing Kaligesing pada suhu penyimpanan  $-196^{\circ}\text{C}$  dengan rata-rata nilai motilitas sperma  $40,10 \pm 4,93\%$ , viabilitas  $57,82 \pm 5,71\%$ , dan integritas membran sel spermatozoa  $51,78 \pm 5,15\%$  dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

**Kata kunci:** genetik; kambing Kaligesing; rosella; kualitas spermatozoa

**Abstract.** The genetic preservation of superior goat breeds can be done by storing spermatozoa at  $-196^{\circ}\text{C}$ . The quality of goat spermatozoa can be maintained by adding antioxidants in their diluting medium. The purpose was to determine the effect of rosella petal filtrate (FR) in egg yolk tris diluent (TKT) on the quality of Kaligesing goat spermatozoa. The type of experimental study using a complete randomized design (RAL) had 4 treatments (FR 0.0%, 1.5%, 3.0%, and 4.5%) with 5 repeats. The parameters observed include motility, viability, and integrity of spermatozoa cell membranes. The data was analyzed statistically using one-way ANOVA test continued with Duncan test. The ANOVA test showed a significant effect on the quality of Kaligesing goat spermatozoa ( $P < 0.05$ ) by administration of petal filtrate in the TKT diluent. The concentration of 3% FR filtrate was found to be the best concentration to maintain the quality of Kaligesing goat spermatozoa at storage temperature of  $-196^{\circ}\text{C}$ , with sperm motility recorded at  $40,10 \pm 4,93\%$ , viability at  $57,82 \pm 5,71\%$ , and membrane integrity at  $51,78 \pm 5,15\%$  compared to other concentrations.

**Key words:** genetic; Kaligesing goat; rosella; sperm quality

## PENDAHULUAN

Kambing Peranakan Etawa (PE) dinyatakan menjadi salah satu aset sumber daya genetik (SDGT) lokal Indonesia, sehingga perlu dilestarikan dan dikembangkan (Endrawati *et al.*, 2022). Salah satu komoditas kambing PE adalah kambing Kaligesing yang merupakan komoditas unggulan di Provinsi Jawa Tengah (Guntoro *et al.*, 2023). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) populasi kambing tahun 2020 - 2021 nilainya 18,6 juta ekor dan 19,2 juta ekor. Peningkatan populasi kambing diperlukan untuk pemenuhan kebutuhan protein hewani (BPS, 2022). Produksi protein kambing di Indonesia pada tahun 2019 hingga 2021 menunjukkan adanya penurunan, produksi daging pada 2019 sebanyak 72.85 ton, 2020 sebanyak 61.71 ton, dan 2021 sebanyak 61.72 ton (BPS, 2023). Upaya yang digunakan untuk menyeimbangkan kebutuhan protein kambing dan populasi kambing dapat melalui teknik inseminasi buatan (IB).

Teknik IB dapat menunjang pemeliharaan genetik, peningkatan kualitas ternak serta mengurangi risiko penularan penyakit kelamin pada ternak (Manehat, *et al.*, 2021). Keberhasilan IB tercapai jika penunjang kehidupan spermatozoa dapat dipenuhi secara optimal. Kualitas semen pejantan dapat dipertahankan melalui proses pengenceran yang mengandung bahan-bahan yang

menunjang kehidupan spermatozoa dalam lingkungan *in vitro* (Djita *et al.*, 2021). Pengencer berfungsi untuk memperbanyak volume serta mempertahankan kualitas spermatozoa yang ditunjang oleh bahan penyusun dalam larutan pengencer (Ramadhan *et al.*, 2023).

Pembekuan semen pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  dapat menghambat kecepatan reaksi metabolisme, sehingga proses respirasi menurun (Yulviani *et al.*, 2022) dan dapat merusak membran sel (Hitit *et al.*, 2021) serta produksi radikal bebas (*Radical Oxygen Spesies*, ROS). Keberadaan ROS dapat mengakibatkan fragmentasi *deoxyribonucleid acid* (DNA) pada spermatozoa (Lusignan *et al.*, 2019). Pembekuan spermatozoa kambing Kaligesing pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  dapat menyimpan spermatozoa selama 10 tahun (Pariz *et al.*, 2021). Namun, pembekuan dengan suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel spermatozoa yang berkaitan dengan kecepatan pendinginan karena terjadinya stress osmotik dan pembentukan kristal es (Grotter *et al.*, 2019). Proses pembekuan  $-196^{\circ}\text{C}$  dengan tingkat *supercooling* dapat meningkatkan kelangsungan hidup sel spermatozoa karena laju pendinginan yang cepat dapat menyebabkan sel tidak banyak mengalami dehidrasi serta pembentukan kristal es kecil-kecil dengan cepat (Daily *et al.*, 2020), sehingga dapat menekan kerusakan sel spermatozoa.

Metabolisme spermatozoa selama proses penyimpanan dapat menghasilkan radikal bebas (Barek *et al.*, 2020) dan residu berupa *malondialdehyde* (MDA) dari hasil oksidasi lipid pada membran sel spermatozoa (Zuhdi dan Duchu, 2022). Produksi ROS berlebihan dan antioksidan yang tidak dapat menyeimbangkan ROS dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid yang menyebabkan kerusakan pada membran sel spermatozoa (Iskandar *et al.*, 2023) dan kematian spermatozoa (Amtiran *et al.*, 2020). Peroksidasi lipid dapat terjadi akibat ROS dalam konsentrasi tinggi menyerang membran sel spermatozoa (Amida *et al.*, 2021). Membran sel spermatozoa yang terdiri dari asam lemak tak jenuh rentan terhadap ROS. Kerusakan membran sel spermatozoa akibat peroksidasi lipid menyebabkan terganggunya transport ion yang ada dalam membran sel spermatozoa (Barek *et al.*, 2020). Kerusakan membran sel spermatozoa akibat radikal bebas dapat dihambat oleh senyawa antioksidan (Sitepu *et al.*, 2017). Penambahan bahan alam yang mengandung antioksidan dapat dijadikan bahan alternatif dalam optimalisasi media pengencer (Mere *et al.*, 2019) salah satunya yakni kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa*).

Rosella (*H. sabdariffa*) merupakan tanaman yang dianggap dapat digunakan sebagai bahan obat (Rakasiwi *et al.*, 2019). Rosella memiliki kandungan vitamin C sebanyak 123-2.033 mg/100 g dan antosianin 0,003-14,697 mg/100 g berat kelopak kering (Siregar dan Hanafiah, 2019). Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan serta dapat meningkatkan laju fruktolisis. Peningkatan fruktolisis dapat memenuhi kebutuhan energi spermatozoa (Laos, 2021). Semakin tinggi kandungan vitamin C maka akan semakin kuat dalam menangani radikal bebas (Lestiana *et al.*, 2019). Selain itu, rosella juga mengandung senyawa potensial, antara lain zat aktif berupa fenol, tannin, flavonoid, asam organik, saponin, antosianin dan polisakarida (Sari *et al.*, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Papituan *et al.* (2021) menunjukkan suplementasi filtrat rosella (FR) pada pengencer Tris kuning telur (TKT) yang diberikan pada sapi Bali dengan konsentrasi filtrat rosella (FR), 0%, 1%, 2%, 3%, 4% dan 5% memberikan pengaruh cukup baik pada kualitas spermatozoa sapi Bali. Hasil paling optimal pada semen sapi Bali yang telah diencerkan dan disimpan pada suhu  $3-5^{\circ}\text{C}$  pada penambahan 3% FR dengan nilai motilitasnya ( $48.05 \pm 1.54\%$ ), viabilitas ( $56.21 \pm 0.93\%$ ), dan abnormalitas ( $4.13 \pm 0.45\%$ ) serta terjadi penurunan pada penambahan filtrat rosella dengan konsentrasi 4% dan 5%. Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas, maka perlu dilaksanakan penelitian eksperimen dengan penambahan filtrat kelopak rosella pada konsentrasi yang berbeda dalam pengencer tris kuning telur untuk mengetahui potensinya dalam mempertahankan kualitas spermatozoa kambing Kaligesing di suhu penyimpanan  $-196^{\circ}\text{C}$ .

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan obyek spermatozoa kambing Kaligesing. Perlakuan yang diberikan dengan penambahan FR sebagai berikut; P0 Pengencer Tris kuning telur (TKT) 100% + Filtrat (FR) 0%; P1 TKT 98,5% +FR 1,5%; P2 TKT 97%+ FR 3%; P3 TKT 95,5% + FR 4,5% dengan 5 ulangan.

Pembuatan filtrat kelopak rosella dilakukan dengan menghomogenkan 100mg serbuk kelopak rosella dalam 10mL aquades dalam tabung sentrifuge, kemudian meletakkan tabung sentrifuge ke dalam sentrifuge dengan kecepatan 3000rpm selama 15 menit. Filtrat rosella yang didapatkan merupakan supernatan yang terpisah setelah disentrifuge (Papituan *et al.*, 2021).

Penampungan semen dilakukan dengan mengarahkan pejantan ke tempat penampungan semen yang sudah tersedia *teaser*. Pengambilan semen kambing Kaligesing dilakukan dengan bantuan

AV. Semen yang telah ditampung segera diamati secara makroskopis (volume, warna, pH dan konsistensi) dan mikroskopis (konsentrasi, motilitas massa, motilitas individu, viabilitas dan integritas membran sel spermatozoa) pengamatan volume dilakukan dengan melihat skala pada tabung ejakulasi pada AV. Penentuan pH dilakukan dengan meneteskan semen pada kertas pH, kemudian dicocokkan dengan indikator skala pH yang sesuai dengan warna kertas pH tersebut. Konsentrasi semen diukur menggunakan alat bantu spektrofotometer (Prastowo *et al.*, 2018).

Pengamatan motilitas massa spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan 10  $\mu$ L semen di atas *object glass* dan diamati menggunakan mikroskop untuk mengamati gelombang-gelombang yang ditimbulkan oleh gerakan spermatozoa (Rosnizar *et al.*, 2021). Pengamatan motilitas individu spermatozoa dilakukan dengan meneteskan 10  $\mu$ L semen pada *object glass* dan ditutup dengan *cover glass* serta diamati menggunakan mikroskop. Data motilitas individu spermatozoa didapatkan dari pergerakan individu spermatozoa yang bergerak progresif (Setiadi *et al.*, 2019). Pengamatan viabilitas dilakukan dengan pewarnaan eosin negrosin yang dihomogenkan dengan semen pada *object glass*. Apusan spermatozoa dari pewarnaan dibuat di atas *object glass* kemudian diamati dengan mikroskop. Persentase viabilitas didapatkan dengan melihat bagian kepala spermatozoa yang tidak terwarnai menandakan spermatozoa hidup dibagi dengan jumlah spermatozoa yang terhitung dalam bentuk persen (Malinda *et al.*, 2021). Pengamatan integritas membran sel spermatozoa menggunakan metode *hypoosmotic swelling (Host) test*. Semen diteteskan pada *object glass* kemudian dihomogenkan dengan larutan Host yang sudah diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C dan ditutup *cover glass*. Semen pada *object glass* diamati menggunakan mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan melihat bentuk ekor spermatozoa. Spermatozoa dengan membran utuh ditandai dengan ekor melengkung. Persentase integritas membran sel spermatozoa didapatkan dari hasil perhitungan spermatozoa dengan bentuk ekor melengkung dibagi dengan jumlah spermatozoa yang terhitung dalam bentuk persen (Hidayat dan Nugroho, 2021).

Semen segar yang telah diamati kualitasnya dan sudah memenuhi standar kelayakan untuk diproses menjadi semen beku dalam 3 tahap pengenceran. Pengenceran A1 (TKT+FR+semen) dilakukan semen di dalam *waterbath* pada suhu 37°C. Penambahan pengencer A2 (TKT+FR+ larutan A1) dilakukan dengan perhitungan melalui rumus untuk mengetahui volumenya. Pengencer A2 dilakukan setelah suhu *cooltop* turun hingga 5°C. Volume yang digunakan sebagai pengencer dalam A2 berdasarkan rumus berikut (Rozi dan Ducha, 2022).

$$\text{Vol A2} = V_{\text{total}} - (V_{\text{A1}} + V_{\text{semen}} + V_{\text{B}}) \quad (1)$$

Sebelum mendapatkan volume A2 perlu dihitung volume total dengan formula sebagai berikut:

$$V_{\text{total}} = \frac{V_{\text{semen}} \times \text{konsentrasi spermatozoa} \times 0,25 \text{ml}}{50 \times 10^6} \quad (2)$$

Setelah suhu *cooltop* turun pada suhu 4-5°C, pengencer B (TKT 93% + gliserol 7%) ditambahkan dalam larutan A2, kemudian didiamkan dalam *cooltop* 1-2 jam untuk tahapan *equilibrasi*. Volume pengencer B yang ditambahkan dalam A2 didapatkan dari hasil perhitungan berikut (Rahayu dan Ducha, 2022):

$$\text{Vol B} = \frac{V_{\text{total}}}{2} \quad (3)$$

Parameter yang digunakan dalam pemeriksaan semen *prefreezing* meliputi motilitas individu, viabilitas dan integritas membran sel spermatozoa. Semen dibekukan, kemudian semen beku diuapi dengan N<sub>2</sub> cair hingga mencapai suhu -196°C (Alhuur *et al.*, 2020). Pengamatan kualitas spermatozoa *post thawing* meliputi motilitas, viabilitas dan integritas membran sel spermatozoa. *Thawing* dilakukan pada suhu 37°C dalam *waterbath* selama 30 detik (Malinda *et al.*, 2021)

Data persentase motilitas, viabilitas, dan integritas membran sel spermatozoa yang diperoleh ditransformasikan dalam *arcsin*. Data statistik diuji normalitas dan homogenitas yang dilanjutkan dengan uji *Analysis of Varian* (ANOVA). Selanjutnya, hasil yang signifikan diuji menggunakan uji Duncan untuk mengetahui perlakuan terbaik. Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software SPSS 23.0 for windows*.

## HASIL

Hasil pengamatan kualitas semen segar kambing Kaligesing dengan usia  $\pm 2$  tahun yang didapatkan sebelum perlakuan meliputi uji makroskopis dan mikroskopis. Tabel 1 menunjukkan

bahwa semen segar layak untuk diproses pengenceran dan pembekuan, sesuai dengan Standar SNI 4869-2:2017 yang menyebutkan bahwa standar minimal semen segar dengan nilai motilitas  $\geq 70\%$  dan semen setelah pengenceran  $\geq 50\%$  dan pembekuan  $\geq 40\%$ .

**Tabel 1.** Kualitas semen segar kambing Kaligesing yang digunakan dalam penelitian

Parameter	Nilai
Volume (ml)	1,4
Warna	Putih kekuningan
pH	6,7
Konsistensi	Kental
Konsentrasi	$3503 \times 10^6$
Motilitas massa	+++
Motilitas individu	70,00%
Viabilitas	82,84%
Integritas membran sel spermatozoa	78,10%

Hasil pengamatan motilitas sperma kambing Kaligesing *pre-freezing* dan *post-thawing* tersaji pada Tabel 2. Hasil uji statistika menunjukkan perbedaan signifikan antara penambahan konsentrasi FR yang berbeda. Perlakuan P2 (FR 3%) diamati memiliki kemampuan terbaik dalam mempertahankan motilitas, baik pada tahap *pre-freezing* ( $53,52 \pm 1,59\%$ ) maupun *post-thawing* ( $40,10 \pm 4,93\%$ ), dengan penurunan motilitas sebesar 13,42%. Tren motilitas spermatozoa pada *post-thawing* menunjukkan peningkatan kualitas dengan penambahan filtrat kelopak rosella 1,5% dan 3%, tetapi mengalami penurunan motilitas pada konsentrasi 4,5% dengan nilai berturut turut  $29,42 \pm 1,43\%$ ;  $40,10 \pm 4,93\%$ ; dan  $17,09 \pm 2,78\%$ .

**Tabel 2.** Motilitas spermatozoa kambing Kaligesing dengan penambahan filtrat FR dalam pengencer TKT

Penambahan FR	Motilitas spermatozoa kambing Kaligesing (%) <sup>*</sup>		Penurunan motilitas (%)
	<i>Pre-freezing</i>	<i>Post-thawing</i>	
P0 (FR 0%)	$49,50 \pm 2,01^b$	$26,30 \pm 1,42^b$	23,20
P1 (FR 1,5%)	$51,25 \pm 4,30^{ab}$	$29,42 \pm 1,43^b$	21,83
P2 (FR 3%)	$53,52 \pm 1,59^a$	$40,10 \pm 4,93^a$	13,42
P3 (FR 4,5%)	$41,70 \pm 1,23^c$	$17,09 \pm 2,78^c$	24,61

Keterangan: <sup>\*</sup>)Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan uji statistik ( $P < 0,05$ ).

Pengamatan viabilitas spermatozoa setelah penambahan FR dalam pengencer TKT dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil uji Anova, penambahan FR dengan konsentrasi yang berbeda dalam pengencer TKT berpengaruh signifikan terhadap viabilitas spermatozoa kambing Kaligesing baik *pre-freezing* maupun *post-thawing* ( $P < 0,05$ ). Sebagaimana pada variabel motilitas, perlakuan P2 (FR 3%) juga merupakan konsentrasi terbaik untuk mempertahankan viabilitas, diindikasikan dari penurunan viabilitas paling rendah dibandingkan perlakuan lain (16,45%).

**Tabel 3.** Rata-rata viabilitas spermatozoa kambing Kaligesing dengan penambahan filtrat FR dalam pengencer TKT

Penambahan FR	Viabilitas spermatozoa kambing Kaligesing (%) <sup>*</sup>		Penurunan viabilitas (%)
	<i>Pre-freezing</i>	<i>Post-thawing</i>	
P0 (FR 0%)	$59,81 \pm 1,06^c$	$38,05 \pm 5,06^c$	21,76
P1 (FR 1,5%)	$64,83 \pm 3,36^b$	$45,13 \pm 3,60^b$	19,70
P2 (FR 3%)	$74,27 \pm 2,96^a$	$57,82 \pm 5,71^a$	16,45
P3 (FR 4,5%)	$51,53 \pm 2,62^d$	$28,89 \pm 2,68^d$	22,64

Keterangan: <sup>\*</sup>)Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan uji statistik ( $P < 0,05$ ).

Rata-rata integritas membran sel spermatozoa setelah penambahan FR dalam pengencer TKT dapat dilihat pada Tabel 4. Sebagaimana variabel sebelumnya, penambahan FR dengan konsentrasi berbeda dalam pengencer TKT juga berpengaruh signifikan terhadap integritas membran sel spermatozoa, baik *pre-freezing* maupun *post-thawing* ( $P < 0,05$ ). Tren Integritas membran sel spermatozoa pada *post thawing* menunjukkan peningkatan kualitas pada penambahan filtrat kelopak rosella 1,5% dan 3% dengan nilai  $36,71 \pm 5,43\%$  dan  $70,30 \pm 1,65\%$ , kemudian mengalami penurunan integritas membran sel spermatozoa pada konsentrasi 4,5% dengan nilai  $26,62 \pm 4,14\%$ . Berdasarkan integritas



membran *post-thawing*, FR 3% merupakan konsentrasi terbaik untuk mempertahankan integritas membran sel spermatozoa.

**Tabel 4.** Rata-rata integritas membran sel spermatozoa kambing Kaligesing dengan penambahan filtrat FR dalam pengencer TKT

Penambahan FR	Integritas membran sel spermatozoa kambing Kaligesing (%) <sup>*</sup>		Penurunan integritas membran (%)
	<i>Pre-freezing</i>	<i>Post-thawing</i>	
P0 (FR 0%)	53,41± 2,33 <sup>b</sup>	29,07±1,39 <sup>c</sup>	24,34
P1 (FR 1,5%)	54,56±3,15 <sup>b</sup>	36,71± 5,43 <sup>b</sup>	17,85
P2 (FR 3%)	70,30±1,65 <sup>a</sup>	51,84±5,15 <sup>a</sup>	18,64
P3 (FR 4,5%)	41,42±3,84 <sup>c</sup>	26,62±4,14 <sup>c</sup>	14,80

Keterangan: <sup>\*</sup>)Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan uji statistik ( $P < 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Semen segar yang didapatkan di Balai Inseminasi Buatan (BIB) Ungaran dalam penelitian ini sudah sesuai dengan standar SNI 2017. Hal ini didukung dengan Peraturan Menteri Pertanian nomor 12 tahun 2023 yakni pembinaan teknis BIB dilaksanakan oleh Direktorat Jendral Peternakan guna pelaksanaan pemeliharaan pejantan ternak unggul. Proses manajemen yang diterapkan di BIB Ungaran mengenai pakan, sanitasi dan manajemen untuk pemeliharaan pejantan sudah sesuai dengan standar operasional prosedur (SOP) dari Dirjen Peternakan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan FR dalam pengencer TKT mempengaruhi motilitas spermatozoa pada *pre-freezing* dan *post thawing* (Tabel 2). Pada pengamatan motilitas *pre-freezing* dan *post thawing* didapatkan persentase rata-rata motilitas terendah pada penambahan FR konsentrasi 4,5% (P3) dengan rerata berturut-turut 41,70±1,23% dan 17,08±2,78%. Nilai tertinggi didapatkan dari konsentrasi 3% (P2) dengan rerata 53,52±1,59% dan 40,06±4,93%. Berdasarkan hasil tersebut, nilai motilitas semen segar mengalami penurunan selama proses pendinginan dan pembekuan. Hal ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Laos *et al.* (2021) bahwa penambahan FR dengan konsentrasi 3% dalam pengencer tris kuning telur dapat mempertahankan motilitas kambing kacang dengan nilai 42,99±2,19 saat hari ke 5 dengan penyimpanan suhu 4-5°C. Mukhlis *et al.* (2017) menyebutkan motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh pergerakan ekor spermatozoa. Membran sel spermatozoa yang mengalami kerusakan akibat peroksidasi lipid dapat menghambat pergerakan ekor karena peningkatan ion  $Ca^{2+}$  yang masuk dalam membran. Ion  $Ca^{2+}$  berfungsi untuk mengatur pergerakan spermatozoa. Peningkatan konsentrasi ion  $K^{+}$  dan  $Ca^{2+}$  dapat menurunkan sintesis Adenosin trifosfat (ATP).

Ambarsari dan Ducha (2021) menyatakan penyimpanan spermatozoa dalam suhu rendah dapat menurunkan motilitas spermatozoa karena kerusakan membrane sel, menurunkan struktur dan fungsinya serta dapat memproduksi *Radical Oxygen Spesific* (ROS). Parera dan Lendah (2023) menambahkan bahwa ROS terbentuk dari aktivitas metabolisme sel selama *processing* semen mulai pada saat penampungan, pengenceran dan penyimpanan. Zakiyah *et al.* (2022) menegaskan ROS yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada mitokondria sehingga tidak dapat menghasilkan *adenosine triphosphate* (ATP) untuk kehidupan spermatozoa.

Kerusakan pada membran sel spermatozoa dapat mengakibatkan enzim *aspartat-aminotrasferase* (AspAT) sehingga produksi ATP menurun dan persentase motilitas menurun (Ximanes *et al.*, 2022). Energi spermatozoa berupa ATP di dalam selubung mitokondria teraktifkan oleh enzim tertentu sehingga ikatan fosfat yang mengandung energi terurai dan melepaskan energi (Dongkat *et al.*, 2022). Namun, penyimpanan spermatozoa pada suhu 4-5°C dan -196°C yang terlalu lama membuat membran spermatozoa rusak dan menyebabkan enzim untuk merombak ATP menjadi energi terdenaturasi, sehingga motilitas spermatozoa mengalami penurunan (Setyawan, *et al.*, 2019).

Penambahan filtrat rosella dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Hal ini ditunjang oleh Dewi *et al.* (2017) yang menyebutkan bahwa antioksidan yang terkandung dalam 100 mg kelopak rosella kering yakni vitamin C 14.40 mg, vitamin E 4,9 mg, flavonoid 0,23 mg dan tannin 0,17mg. Laos *et al.* (2021) menyebutkan kandungan vitamin C dan E dapat meningkatkan laju fruktolisis untuk sumber energi dan juga dapat menangkal radikal bebas. Carita *et al.* (2021) menyatakan bahwa vitamin C mampu mendonasikan elektron untuk menstabilkan stress oksidatif. Flavonoid dapat menstabilkan radikal peroksidasi lemak (Karundeng *et al.*, 2019)

Penambahan FR 4,5% dalam TKT menunjukkan hasil motilitas dengan nilai terendah. Penambahan antioksidan dalam jumlah yang tinggi dapat mengakibatkan larutan pengencer menjadi hipertonic. Zuhdi dan Ducha (2022) menyatakan bahwa media pengencer yang bersifat hipertonic dapat mengganggu osmolalitas membran sel spermatozoa. Dipertegas oleh Kusumawati (2022) bahwa kondisi hipertonic dapat menyebabkan osmolalitas konsentrasi  $K^+$  dalam media aktivasi menekan motilitas spermatozoa.

Blegur *et al.* (2020) dan Djita *et al.* (2021) menyatakan bahwa tingginya spermatozoa yang mati dapat menjadi toksik bagi spermatozoa yang masih hidup serta peningkatan konsentrasi asam laktat pada seminal plasma sehingga derajat keasaman (pH) meningkat dapat menyebabkan kematian pada spermatozoa. Nahak *et al.* (2022) menambahkan bahwa peningkatan pH yang terjadi dalam media pengencer dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Hal ini diduga akibat penambahan FR dengan konsentrasi tinggi menyebabkan vitamin C dalam FR dapat mempengaruhi pH. Namun, dalam hal ini peneliti tidak melakukan pengukuran terkait pH.

Penambahan FR 3% dalam pengencer TKT menunjukkan bahwa FR dengan konsentrasi optimal yang dapat mempertahankan motilitas spermatozoa kambing Kaligesing. Penambahan bahan antioksidan dalam pengencer mampu menekan reaksi oksidatif yang dapat menyebabkan radikal bebas pada spermatozoa (Lawa *et al.*, 2021) dan dapat menurunkan permeabilitas membran sel spermatozoa (Morrell, 2020). Senyawa flavonoid sebagai antioksidan memiliki gugus hidroksil yang terikat dalam cincin aromatik yang dapat mengikat atom radikal bebas, karena dapat menyumbangkan satu atom hidrogen yang dapat menstabilkan radikal peroksida lemak (Rokana *et al.*, 2022). Antioksidan yang larut dalam lemak berperan dalam menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan aktivitas antioksidan dalam mengikat radikal bebas yang dihasilkan selama reduksi molekul oksigen serta selama aktivitas oksidatif enzim (Barek *et al.*, 2021). Semakin tinggi konsentrasi filtrat yang ditambahkan dalam media pengencer menunjukkan semakin rendahnya persentase motilitas yang didapatkan selama proses penyimpanan pada suhu  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Tren viabilitas spermatozoa *pre-freezing* pada suhu  $4-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  yang didapatkan dalam penelitian ini menunjukkan peningkatan nilai viabilitas pada penambahan FR 1,5% dan 3% dan penurunan pada penambahan 4,5%. Penurunan yang terjadi selama proses pendinginan berkisar 8,57- 31,31% (Tabel 3). Penurunan dengan nilai terendah 8,57% didapatkan dari penambahan FR 3% dengan nilai motilitas  $74,27\pm 2,96\%$  yang merupakan nilai viabilitas tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Senyawa ROS yang dihasilkan dari metabolisme spermatozoa akan menyebabkan peroksidasi lipid, kerusakan DNA kerusakan axonema dan terjadi denaturasi enzim, hal tersebut dapat menurunkan viabilitas spermatozoa (Sabeti *et al.*, 2016).

Tren viabilitas spermatozoa *post thawing* pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  menunjukkan peningkatan nilai viabilitas pada penambahan FR 1,5% dan 3% dan penurunan pada 4,5%. Penambahan FR 3% dengan nilai viabilitas  $57,82\pm 5,71\%$  dan merupakan nilai viabilitas *post thawing* tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Ximanes *et al.* (2022) menyatakan bahwa penurunan persentase viabilitas terjadi karena aktivitas metabolisme spermatozoa yang menghasilkan ROS. Dipertegas oleh Oktaviani *et al.* (2021) bahwa ROS dapat merusak membran sel spermatozoa yang mengganggu proses  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dan proses  $\text{Ca}^{2+}$ . Wagner *et al.* (2017) menyatakan terganggunya permeabilitas membran plasma sel spermatozoa yang menyebabkan sumber nutrisi spermatozoa berkurang. Barek *et al.* (2020) menambahkan bahwa peningkatan konsentrasi ion  $\text{K}^+$  dalam sel dapat menyebabkan kematian sel, karena keberadaan  $\text{K}^+$  ini akan mengaktifkan enzim-enzim penyebab kematian spermatozoa. Enzim *endonuklease* dapat menghancurkan DNA dalam inti spermatozoa dan transglutaminase yang berikatan secara kovalen dengan protein membran melalui pembentukan ikatan isopeptida yang mematikan sel.

Penambahan FR 3% menunjukkan konsentrasi yang optimal dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa kambing Kaligesing. Hasil dari penambahan FR 3% (P2) dengan nilai  $57,82 \pm 5,71\%$ . Hal ini didukung oleh Amida *et al.* (2023) bahwa flavonoid dapat secara langsung mendonasikan atom hidrogen kepada radikal bebas, ataupun melakukan transfer elektron tunggal. Unitly *et al.* (2022) menambahkan bahwa vitamin C memiliki peran protektif terhadap kerusakan DNA oksidatif dengan cara memasuki mitokondria melalui *transporter* glukosa terfasilitasi (GLUT 1) dan melindungi spermatozoa dari stress oksidatif. Anwar dan Jiyanto (2019) keutuhan membran sel berperan mempertahankan kualitas spermatozoa. Hasil yang didapatkan menunjukkan hasil *post thawing* dari spermatozoa kambing Kaligesing masih dalam kategori layak untuk IB. Apriliana *et al.* (2021) menyatakan semen yang layak digunakan untuk IB bila viabilitasnya  $\geq 45\%$ .

Penambahan FR 4,5% menunjukkan persentase viabilitas terendah, hal ini dapat dikaitkan dengan larutan yang hipertonik. Larutan media pengencer yang bersifat hipertonik dapat menyebabkan osmolaritas meningkat. Osmolaritas yang lebih tinggi dari normal dapat menyebabkan penurunan viabilitas (Kusumawati, 2022). Viabilitas yang didapatkan lebih tinggi dari penelitian sebelumnya, nilai viabilitas dengan penambahan FR dengan konsentrasi 3% (P2) sebesar  $49,30 \pm 2,24\%$  pada hari kelima dengan suhu penyimpanan 4-5°C (Laos *et al.*, 2020). Hasil yang berbeda persentase viabilitas spermatozoa pada *post thawing* yang didapatkan dari pengenceran tris kuning telur dengan nilai  $47,00 \pm 1,41\%$  (Rizal *et al.*, 2021). Persentase viabilitas lebih tinggi dibandingkan persentase motilitas dapat terjadi karena jumlah spermatozoa yang hidup tidak semuanya memiliki pergerakan yang motil atau progresif (Parera dan Lendah, 2021).

Tabel 4 menunjukkan tren integritas membran sel spermatozoa *pre-freezing* pada suhu 4-5°C menunjukkan penurunan terkecil nilai integritas membran sel spermatozoa pada penambahan FR 1,5% dan 3%, selanjutnya mengalami penurunan pada penambahan 4,5%. Penambahan antioksidan berupa FR diduga dapat mempertahankan integritas membran sel dengan antioksidan untuk penyeimbangan radikal bebas dan antioksidan. Saputra *et al.* (2021) menyatakan bahwa kandungan flavonoid dalam FR dapat mengambat timbulnya peroksidasi lipid, sehingga meminimalisir kerusakan membran sel spermatozoa. Kune *et al.* (2021) mekanisme flavonoid dalam dalam menangkai radikal bebas dengan kemampuan perpindahan elektron dari cincin B menuju radikal bebas serta pemecahan radikal bebas.

Vitamin C memiliki kemampuan untuk menstabilkan membran plasma terhadap peroksidasi lipid selama *processing* dan penyimpanan semen beku. Vitamin C berperan penting dalam melindungi lipid spermatozoa yang mudah teroksidasi (Dewi *et al.*, 2017). Yahaq *et al.* (2019) menambahkan bahwa mekanisme vitamin C melindungi lipid dengan mengikat radikal bebas pada sperma, sehingga mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang dapat merusak membran sel spermatozoa.

Penurunan integritas membran terjadi karena kerusakan pada membran sel spermatozoa. ROS dapat merusak selubung lipoprotein pada membran sel spermatozoa (Marlize *et al.*, 2021). ROS berlebihan dapat mempengaruhi asam lemak tak jenuh pada membran sel yang dapat terjadinya peroksidasi lipid (Arvioges *et al.*, 2021). Kerusakan pada selubung lipoprotein dan membran sel spermatozoa dapat mengganggu metabolisme spermatozoa (Saputro *et al.* 2022).

Tren integritas membran sel spermatozoa *post thawing* pada suhu 37°C menunjukkan nilai integritas membran sel spermatozoa pada penambahan FR 1,5% ( $36,71 \pm 5,43\%$ ) dan 3% ( $51,84 \pm 5,15\%$ ) lebih tinggi dari P0 ( $29,07 \pm 1,39\%$ ), sedangkan FR 4,5% ( $26,62 \pm 4,14\%$ ) lebih rendah dari P0. Penambahan FR hingga 3% mampu mempertahankan integritas membran sel karena kandungan antioksidannya dapat melakukan *scavenging* radikal bebas. Di sisi lain, penambahan FR pada konsentrasi tertinggi menunjukkan persentase integritas terendah. Hal ini menunjukkan larutan hipertonik dapat menurunkan integritas membran sel spermatozoa. Membran sel yang bersifat *semipermeable* berhubungan dengan larutan pengencer baik yang bersifat hipotonik maupun hipertonik, sehingga dipengaruhi oleh transfer air melalui metabolisme sel. Larutan yang terlalu hipertonik atau hipotonik menyebabkan rusaknya integritas membran sel yang kemudian menyebabkan kematian sel (Sabile *et al.*, 2016). Integritas membran sel spermatozoa yang didapatkan berbeda dengan penelitian spermatozoa domba Sapudi dengan penambahan teh hijau pada pengencer tris kuning telur mendapatkan nilai sebesar P0 28,30%, P1 32,00%, dan P3 35,00% pada preservasi hari ke-5 (Swari *et al.*, 2019). Namun, penelitian yang dilakukan oleh Mubaraq, *et al.* (2023) mendapatkan hasil yang lebih tinggi pada spermatozoa kambing PE yang diberi air kelapa dalam pengencer tris kuning telur pada suhu 4-5°C mendapatkan nilai 84,00% pada hari ke-1.

## SIMPULAN

Penambahan filtrat kelopak rosella dalam pengencer tris kuning telur mampu mempertahankan kualitas spermatozoa kambing Kaligesing pada suhu penyimpanan -196°C. Penambahan filtrat kelopak rosella dengan konsentrasi 3% dalam pengencer tris kuning telur menunjukkan konsentrasi optimal untuk mempertahankan spermatozoa kambing Kaligesing. Persentase kualitas spermatozoa *post thawing* dengan nilai motilitas  $40,10 \pm 4,93\%$ , viabilitas  $57,82 \pm 5,71\%$  dan integritas membran sel spermatozoa  $51,84 \pm 5,15\%$  yang memenuhi standar untuk semen beku.

## DAFTAR PUSTAKA

Alhuur KRG, Soeparna S, dan Darodjah RDS. 2020. Efek Interaksi Masa Ekuilibrasi dan Laju Penurunan Suhu terhadap Peningkatan Keutuhan Membran Plasma Sperma Domba Priangan Pasca Thawing. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Vol. 8 (2): 73-78.*

- Ambarsari EV, dan Ducha N. 2021. Pengaruh Albumin Telur dari Berbagai Jenis Unggas Sebagai Pengganti BSA (Bovine Serum Albumin) dalam Pengencer CEP Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (PE) Pada Suhu Penyimpanan 4-5° C. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi Vol.10* (2): 207-212.
- Amida N, Lisdiana L, Christijanti W, dan Iswari RS. 2021. Efek Ekstrak Black Garlic Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Setelah Dipapar Asap Rokok. *In Seminar Nasional Biologi Vol. 9*: 298-303.
- Amtiran DE, Hine TM, dan Uly K. 2020. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc. *Jurnal Peternakan Lahan Kering Vol. 2* (4): 1111- 1118.
- Anwar P, dan Jiyanto J. 2019. Efektivitas Sukrosa sebagai Proteksi Aktif Membran Ekstraseluler Spermatozoa Sapi Bali pada Zona Pre-Freezing. *Jurnal Agripet Vol. 19* (1): 77-84.
- Apriliana KS, Bebas W, dan Trilaksana IGNB. 2021. Mempertahankan Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Kelapa Kuning Telur Bebek dengan Pengimbuhan Sari Wortel. *Indonesia Medicus Veterinus Vol. 10* (3): 409-419.
- Arvioges, Anwar P, dan Jiyanto. 2021. Efektivitas Suhu Thawing terhadap Keadaan Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Green Swadipa Vol. 10* (2): 1-9.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2023. Produksi Daging Kambing di Indonesia. Website. BPS. Badan Pusat Statistik (bps.go.id). (diakses 19 Januari 2023).
- Badan Pusat Statistika (BPS). 2022. Populasi Ternak Kambing (ekor) 2020-2021. <https://www.bps.go.id/indicator/24/472/1/populasi-kambing-menurut-provinsi.html>. (diakses 16 Januari 2023).
- Barek ME, Uly K, Hine TM, Nalley WM, dan Belli HLL. 2020. Pengaruh Penambahan Sari Wortel dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Bligon. *Jurnal Nukleus Peternakan Vol.7* (2): 109-117.
- Blegur J, Nalley WM, Hine TM. 2020. Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Selama Preservasi. *Jurnal Nukleus Peternakan Vol. 7* (2): 130-138.
- Carita ACC, Foncesa B, Daniela J, Muchniak B, Chorilli M, dan Leonardi GC. 2020. Vitamin C: Ine compound, several Uses Advances for Delivery, Efficiency and Stability. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine Vol.24* (4): 102-117.
- Daily MI, Whale TF, Partanen R, Harrison AD, Kilbride P, Lamb S, Morris GJ, Picton HM, dan Murray BJ. 2020. Cryopreservation of Primary Cultures of Mammalian Somatic Cells in 96 Well Plates Benefits from Control of Ice Nucleation. *Cryobiologi Vol. 93*: 62-69.
- Dewi KH, Efendi, Z. dan Yanti IP. 2017. Hubungan Penambahan Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) dengan Sifat Fisik dan Kimia Serbuk Sari Buah Jeruk Kalamansi Sebagai Minuman. *Jurnal AgroIndustri Vol.7* (2): 63-71.
- Djita FK, Nalley WM, Hine TM, dan Marawali A. 2021. Pengaruh Penambahan Ekstrak Bawang Merah (*Allium cepa*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali pada Penyimpanan In Vitro. *Jurnal Nukleus Peternakan Vol. 8* (2): 92-100.
- Dongkat S, Marawali A, Hine TM, dan Nalley WM. 2022. Kualitas Semen Beku Babi Duroc dalam Pengencer Tris Modifikasi dengan Waktu Ekuilibrasi yang Berbeda. *Jurnal Nukleus Peternakan Vol.9* (1): 72-84.
- Endrawati E, Lestari S, dan Hariyono DWH. 2022. Identifikasi Karakter Fisik Ternak Kambing di Pulau Tidore. *Agriwet: Jurnal Ilmu Ilmu Pertanian dan Peternakan Vol. 10* (1): 71-75.
- Grotter LG, Cattaneo L, Marini PE, Kjelland ME, Dan Feree LB. 2019. Recent Advances in Bovine Sperm Cryopreservation Techniques with a Focus on Sperm Post-Thaw Quality Optimization. *Wiley Reproduction in Domestic Animals Vol. 54*: 655-665.
- Guntoro A, Setiawan A, dan Haryadi FT. 2023. Development of Kaligesing Etawah Crossbreed Goat in Purworejo Central Java Province. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science Vol. 1183* (012104): 1-7.
- Hidayat N, dan Nugroho AP. 2021. Suplementasi Ekstrak Kurmaa dalam Pengencer Ringer Laktat Kuning Telur Terhadap Motilitas Viabilitas Spermatozoa Ayam Pelung Pasca Ekuilibrasi dalam Proses Kriopreservasi. *Prosiding Seminar Nasional*. Fakultas Peternakan. Universitas Jendral Soedirman.
- Hitit M, Ugur MR, Dinh TTN, Sajeev D, Kaya A, Topper E, Tan W dan Memili E. 2020. Cellular and Functional Physiopathology of Bull Sperm with Altered Sperm Freezability. *Frontline Veteriner Science Vol.7* (581137): 1-10.
- Iskandar, Yuziani, dan Ula A. 2023. Pengaruh Pemberian Suplemen Vitamin D terhadap Jumlah dan Morfologi Sperma Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang dipapari Asap Rokok. *Averrous: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh Vol.9* (1): 75-86.
- Karundeng GW, Simbala HE, dan Jayanto I. 2019. Identifikasi Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), dan Toksisitas dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Ekstrak Etanol Tangkai Buah Pinang Yaki (*Areca Vestitaria Giseke*). *Pharomacon Vol. 8* (3): 619-627.
- Kune P, Uly K, dan Nalley WM. 2021. Pengaruh Penambahan Filtrat Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*) dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Peternakan Lahan Kering Vol. 3*(1): 1309-1323.
- Kusumawati ED. 2022. *Sexing Spermatozoa Pada Kambing*. Media Nusa Creative (MNC Publishing).



- Laos R, Marawali A, Kune P, Hendriana L, dan Uly K. 2021. Pengaruh Penambahan Filtrat Rosella (*Hibiscus Sabdariffa Linn*) ke Dalam Pengencer Tris-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Kacang. *Jurnal Nukleus Peternakan Vol. 8 (2)*: 124-135.
- Lawa A, Hine TM, dan Nalley WM. 2021. Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil, Mintak Ikan dan Minyak Zaitun dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia Vol. 16 (2)*: 135-141.
- Lestiana MD, Suryani S, dan Libri O. 2019. Analisis Kandungan Vitamin C, Serat Kasar dan Daya Terima Jus Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Sebagai Minuman Kesehatan Penderita Diabetes Melitus. *Jurnal Kesehatan Indonesia Vol.10 (1)*: 23-28.
- Lusignan MF, Li X, Herrero B, Delbes G, Chan PTK. 2018. Effects of Different Cryopreservation Methods on DNA Integrity And Sperm Chromatin Quality in Men. *Andrology Vol.6*: 829-35.
- Malinda D, Santoso H, dan Latuconsina H. 2021. Analisis Viabilitas Spermatozoa Sapi Friesian Holstein (*Bos taurus*) Post Thawing Semen Beku dengan Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Thawing Berbeda. *Biosainstropis Vol. 6(2)*: 46-51.
- Manehat XF, Dethan AA, dan Tahuk PK. 2021. Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas Spermatozoa dan pH Semen Sapi Bali dalam Pengencer Sari Air Tebu Kuning Telur yang Disimpan dalam Waktu yang Berbeda. *Journal of Tropical Animal Science and Technology Vol. 3(2)*: 76-90.
- Marlize S, Hine TM, dan Nalley WM. 2021. Pengaruh Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Babi Landrace dalam Pengencer Durasoerm Termodifikasi. *Jurnal Nukleus Peternakan Vol.8 (2)*: 150-160.
- Mere CY, Gaina CD, dan Foeh ND. 2019. Air Kelapa dan Air Buah Lontar Sebagai Modifikasi Pengencer Alternatif Pada Semen Babi Landrace. *Jurnal Veteriner Nusantara Vol. 2(2)*: 20-29.
- Morrell JM. 2020. Heat Stress And Bull Fertility. *Theriogenology 153*: 62-7.
- Mubaraq ZAA, Foeg NDFK, dan Gaina CD. 2023. Studi Literatur Efektivitas Penggunaan Berbagai Jenis Pengencer yang Ditambahkan Antioksidan Terhadap Kualitas Semen Kambing (*Capra aegagrus hircus*). *Jurnal Veteriner Nusantara Vol. 6(1)*: 41-55.
- Mukhlis M, Dasrul D, dan Sugito S. 2017. Analisis Motilitas Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan dalam Berbagai Konsentrasi Andromed. *Jurnal Agripet Vol 17 (2)*: 112-120.
- Nahak PL, Dethan AA, dan Kia KW. 2022. Kualitas Semen Babi Landrace Dalam Pengencer Semen Sitrat-Kuning Telur Yang Ditambah Glukosa Dengan Konsentrasi Berbeda. *JAS Vol. 7(1)*: 12-15.
- Oktaviani NAA, Utomo B, Sunarso A, Hamid IS, Madyawati SP, Suprayogi TW. 2021. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*) terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Paparan Panas. *Ovozoa Vol. 10 (3)*: 65-71.
- Papituan ML, Kune P, Uly K, dan Nalley WM. 2021. Pengaruh Penambahan Filtrat Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*) dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Peternakan Lahan Kering Vol. 3(1)*: 1309-1323.
- Parera H, dan Lendah V. 2023. Evaluasi Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Babi Dalam Berbagai Modifikasi Pengencer. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu Vol.11 (1)*: 13-33.
- Pariz JR, Monteiro R, dan Hallak J. 2020. Long-Term Sperm Cryopreservation Does Not Affect Post-Thaw Survival Rates. *JBRA Assisted Reproduction Vol.24 (1)*: 3-8.
- Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia. 2023. Organisasi dan Tata Kerja Unit Pelaksana Teknis Lingkup Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan. Menteri Pertanian Republik Indonesia.
- Rahayu DJ, dan Ducha N. 2022. The Effect of Sugarcane Water Substitution as a Candidate Substitute for Fructose in CEP Diluent on Spermatozoa Quality of Friesian Holstein Bull during Frozen Storage. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu Vol. 10 (2)*: 209-231.
- Rakasiwi G, Sofia D, dan Rosmayati. 2019. Karakter Komponen Hasil dan Parameter Genetik pada Generasi M3 Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Jurnal Agroekoteknologi FP USU Vol. 7 (2)*: 324-329.
- Ramadhan J, Riyadhhi M, Syarifuddin N, Wahdi A, dan Rizal M. 2023. Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah yang Dipreservasi dengan Pengencer air Tebu. *Agrinimal Jurnal Ilmu Ternak dan Tanaman Vol. 11 (1)*: 45-50.
- Rizal M, Nisa C, dan Norliani R. 2021. Kualitas Semen Beku Kambing Peranakan Boer yang Dikriopreservasi dengan Pengencer Tris Kuning Telur dan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor. *Jurnal Veteriner Vol. 22 (3)*: 309-316.
- Rokana E, Srigati S, Lisnanti EF, dan Samudi S. 2022. Pengaruh Pemberian Tepung Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamm*) dan Lama Penyimpanan pada Suhu Dingin 4-5 C terhadap Kualitas Semen Cair (*Liquid Semen*) Kambing Kacang. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science) Vol.24 (1)*: 43-54.
- Rosnizar R, Nurfajri, Dasrul D, Amalisa dan Eriana K. 2021. Evaluasi Kualitas Spermatozoa pada Beberapa Frekuensi Ejakulasi terhadap Kerbau Lokal. *Jurnal Bioleuser Vol.5 (1)*: 1-7.
- Rozi MFF dan Ducha N. 2021. Pengaruh Konsentrasi Gliserol dalam Pengencer Tris Soya terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Boer Sebelum dan Sesudah Pembekuan. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi Vol.9 (1)*: 12-16.
- Sabeti P, Pourmasumi S, Rahiminia T, Akyash F, dan Talebi AR. 2016. Etiologies of sperm oxidative stress. *International Journal of Reproductive Biomedicine Vol.14 (4)*: 231-240.

- Sabile S, Toleng AL, Yusuf M, Firmiaty S, dan Idrus M. 2016. Pengaruh Penambahan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* Linn) dalam Pengencer Terhadap Motilitas Spermatozoa Pada Semen cair Sapi Bali. *Aves. Jurnal Ilmu Peternakan* Vol. 10(2): 12-22.
- Saputra IKA, Ermayanti NGAM, dan Sukmaningsih AASA. 2021. Pengaruh Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Terpapar Asap Rokok. *Biosainstropis* Vol. 7 (1): 74-84.
- Saputro AL, Prastiya RA, Ulinuha MZ, dan Widayani P. 2022. Efektifitas Waktu Ekuilibrasi Sebelum Pembekuan Kambing Saper Pasca Electric Separating Sperm. *Jurnal Medik Veteriner* Vol. 5 (1): 1-8.
- Sari F, Aryanti D, Lukman, dan Wiayu, D. 2018. Kadar Senyawa Flavonoid Total Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L.) dan Aktivitas Antihiperqlikemi. Prosiding Seminar Nasional Sains, Teknologi dan Analisis ke 1.
- Setiadi DR, Hasibuan H, Indriasturi R, Arif AA, Rosyada ZNA, Arifiantini RA, dan Sumantri. 2019. Karakteristik Semen Ayam IPB D1. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* Vol.7 (2): 57-61.
- Siregar MR, dan Hanafiah DS. 2019. Pengamatan Karakter Agronomi dan Parameter Genetik Populasi 150 Gy pada Generasi M3 Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Jurnal Online Agroekoteknologi* Vol. 7 (3): 492-496.
- Sitepu SA, dan Putra A, 2017. Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis Pada Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Post-Thawing Sapi Simmental. *Jurnal Peternakan Indonesia*; 19(3): 149-155.
- Standar Nasional Indonesia. 2017. Semen Beku-Bagian 1: Sapi. Diakses melalui <http://bibit.ditjenpkh.pertanian.go.id/sites/default/files/SNI> (diakses, 29 Januari 2022)
- Swari WR, Sabdoningrum EK, Wurlina, Susilowati S, Kurnijasant IR dan Safitri E. 2019. Pengaruh Penambahan Ekstrak Teh Hijau (*Camelia sinensis*) dalam Bahan Pengencer Susu Skim Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Sapudi yang Disimpan pada Suhu Dingin. *Ovozoa* Vol. 8 (2): 122-126.
- Unitly AJA, Eddy L, Nindatu M, dan Reasoja J. 2022. Peningkatan Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Rattus norvegicus Terpapar Asap Rokok Pasca Diterapi Sirup Cengkeh. *Biologi Edukasi: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi* Vol. 14(1): 14-20.
- Wagner H, Cheng JW, Ko EY. 2017. Role Of Reactive Oxygen Species In Male Infertility:An Updated Review Of Literature. *Arab Journal Urol* Vol.16: 35-43.
- Ximanes A, Telnoni SP, dan Pietherson EH. 2022. Kualitas Semen Cair Sapi Bali (*Bos sandaicus*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur dengan Penambahan Astraxanthin. *Flobamaro Biological Jurnal (FLOBIJO)* Vol. 1 (1): 35-44.
- Yahaq MA, Ondho YS, dan Sutiyono, 2019. Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Semen Sapi Limousin yang Dibekukan Terhadap Kualitas Post Thawing. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* Vol. 14(4): 380-386.
- Yulviani TS, Junaedi EC, dan Lubis N. 2022. Potensi Nitrogen Cair dalam Mempertahankan Kualitas Vitamin C dan Kadar Air pada Buah Beku. *Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.)* Vol. 4 (5): 534-539.
- Zakiyah A, Sukarjati S, dan Andriani V. 2022. Sari Buah Stroberi (*Fragaria vesca* L.), Sari Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*), dan Kombinasi antara Kedua Sari Buah untuk Meningkatkan Kualitas Spermatozoa Mencit yang Terpapar Asap Rokok Elektrik. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi* Vol.10 (1): 141-155.
- Zuhdi MN, dan Ducha N. 2022. Pengaruh Penambahan Albumin Telur dalam Pengencer Dasar Tris Soya terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) pada Penyimpanan Refrigerator (4-5°C). *LenteraBio* Vol. 11 (1): 26-35.

#### Article History:

Received: 31 July 2023

Revised: 24 May 2024

Available online: 29 May 2024

Published: 31 May 2024

#### Authors:

Dwi Rosyidatu Fuadatin, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: [dwirosyidatu23@gmail.com](mailto:dwirosyidatu23@gmail.com)

Dyah Hariani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: [dyahhariani@unesa.ac.id](mailto:dyahhariani@unesa.ac.id)

#### How to cite this article:

Fuadatin DR, Hariani D, 2024. Penambahan Filtrat Kelopak Rosella (*Hibiscus Sabdariffa*) dalam Pengencer Tris Kuning Telur pada Semen Beku Kambing Kaligesing. *LenteraBio*; 13(2): 308-317.