

## Pengaruh Penambahan Sari Buah Sirsak (*Annona muricata L.*) dalam Pengencer Sitrat Kuning-Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Persilangan Landrace × Duroc

*The Effect of Adding Soursop Juice (*Annona muricata L.*) in Citrate-Egg yolk Diluent on the Quality of Spermatozoa in Crossbred Landrace × Duroc Boars*

Gracella Sahania Ndaumanu<sup>1\*</sup>, Petrus Kune<sup>1</sup>, Alvrado Bire Lawa<sup>1</sup>, Thomas Mata Hine<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan - Universitas Nusa Cendana

Jln. Adisucipto, Penfui, Kupang 85001

\*Email koresponden: [gracellandaumanu20@gmail.com](mailto:gracellandaumanu20@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan guna mengevaluasi efek penambahan sari buah sirsak (SBS) pada pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) pada mutu spermatozoa babi hasil persilangan Landrace x Duroc. Materi yang dipakai ialah semen segar dari satu ekor pejantan Landrace x Duroc berusia 1,5 tahun, sehat juga sudah terbiasa dilakukan penampungan semen. Rancangan penelitian yang diterapkan ialah RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan enam perlakuan, lima ulangan: P0 (S-KT), P1 (S-KT + 2% SBS), P2 (S-KT + 4% SBS), P3 (S-KT + 6% SBS), P4 (S-KT + 8% SBS), dan P5 (S-KT + 10% SBS). Semen yang diencerkan disimpan di *coolbox* dengan suhu 15-20°C serta dievaluasi setiap 12 jam. Parameter yang ditinjau meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas, serta daya tahan hidup spermatozoa. Data dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil menunjukkan bahwa hingga 48 jam masa penyimpanan, perlakuan P2 memberikan hasil terbaik dibandingkan perlakuan lainnya, dengan motilitas sebesar  $52,00 \pm 4,47\%$ , viabilitas  $61,90 \pm 4,04\%$ , abnormalitas  $4,90 \pm 0,82\%$ , dan daya tahan hidup spermatozoa selama 53,60 jam. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa penambahan 4% sari buah sirsak dalam pengencer S-KT merupakan dosis optimal dalam menjaga mutu spermatozoa babi persilangan Landrace x Duroc sampai 48 jam penyimpanan.

*Kata Kunci:* Babi Landrace x Duroc, sari buah sirsak, sitrat-kuning telur, spermatozoa

### ABSTRACT

This study aims to evaluate the effect of the addition of soursop fruit juice (SJ) in citrate-yolk diluent (C-EY) on the quality of boars spermatozoa from Landrace x Duroc crosses. The material used was in the form of fresh cement from a 1.5-year-old Landrace x Duroc male in healthy condition and was used to cement storage. The research design applied was RAL with six treatments and five replicates, namely: T0 (C-EY), T1 (C-EY + 2% SJ), T2 (C-EY + 4% SJ), T3 (C-EY + 6% SJ), T4 (C-EY + 8% SJ), and T5 (C-EY + 10% SJ). The diluted cement is stored in a *coolbox* at 15-20°C and evaluated every 12 hours. The observed parameters included spermatozoa motility, viability, abnormalities, and longevity. Data were analysed using analysis of variance (ANOVA) and continued with the Duncan test. The results showed that up to 48 hours of storage period, the P2 treatment gave the best results compared to other treatments, with a motility of  $52.00 \pm 4.47\%$ , viability of  $61.90 \pm 4.04\%$ , abnormality of  $4.90 \pm 0.82\%$ , and spermatozoa survival of 53.60 hours. Thus, it can be concluded that the addition of 4% soursop juice in S-KT diluent is the optimal dose in maintaining the quality of Landrace x Duroc cross boars spermatozoa for up to 48 hours of storage.

*Key words:* Crossbred Landrace x Duroc boars, citrate-egg yolk, soursop juice, spermatozoa.

### PENDAHULUAN

Peningkatan efisiensi produksi dan kualitas genetik ternak babi dapat dilakukan dengan penerapan teknologi di sektor reproduksi ternak ialah IB (inseminasi buatan). IB ialah teknik reproduksi yang melibatkan proses memasukkan semen dari pejantan pada saluran reproduksi betina, memakai alat yakni “*insemination gun*” (Pratiwi dan Ulum, 2024).

Keberhasilan pelaksanaan inseminasi buatan sangat dipengaruhi oleh mutu semen yang digunakan. Semen segar memiliki daya simpan yang terbatas, sehingga apabila tidak segera digunakan, dapat menyebabkan penurunan kualitas semen yang pada akhirnya berdampak negatif terhadap proses fertilisasi (Dwitarizki, 2021). Guna memperoleh hasil maksimal,

dibutuhkan pengenceran untuk menjaga motilitas dan fertilitas spermatozoa pada jangka waktu lama. Spermatozoa sangat sensitif terhadap kerusakan selama penanganan dan penyimpanan. Oleh sebab itu diperlukan penambahan komponen-komponen yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa.

Proses pengenceran semen melibatkan penambahan komponen-komponen tertentu yang berperan selaku sumber nutrisi untuk spermatozoa sehingga bisa menunjang daya tahan hidup spermatozoa dan dapat bertahan pada saat preservasi. Satu di antara bahan yang biasa digunakan sebagai pengencer ialah natrium sitrat. Natrium sitrat berperan sebagai *buffer* (penyangga) yang mampu menjaga pH pengencer dan juga mempunyai peran dalam pemecahan butiran lemak kuning telur (Jelita *et al.*, 2024). Natrium sitrat umumnya dikombinasikan dengan kuning telur sebagai bahan pengencer semen. Kuning telur mengandung lesitin dan lipoprotein yang berperan dalam melindungi spermatozoa dari kejut dingin (*cold shock*) selama proses penyimpanan dan preservasi (Nugroho *et al.*, 2014).

Meskipun pengenceran semen dengan natrium sitrat dan kuning telur mampu melindungi spermatozoa dari kejut dingin, proses penyimpanan semen tetap tidak sepenuhnya menghentikan aktivitas metabolisme sel. Kondisi tersebut dapat menyebabkan kerusakan struktur membran sel spermatozoa akibat reaksi antara peroksidasi lipid dan radikal bebas (Fernandez *et al.*, 2022). Selain itu, kerusakan akibat

peroksidasi lipid juga dapat menurunkan kemampuan motilitas spermatozoa sehingga mempercepat terjadinya kematian sel (Saputra *et al.*, 2024). Oleh karena itu, untuk mengatasi kerusakan oksidatif selama penyimpanan, pengencer semen perlu ditambahkan zat antioksidan. Penambahan bahan antioksidan diharapkan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa dalam jangka waktu lebih lama serta bersifat mudah diperoleh dan ekonomis.

Salah satu bahan alami yang berpotensi digunakan sebagai sumber antioksidan dalam pengencer semen adalah buah sirsak (*Annona muricata L.*). Buah sirsak mengandung berbagai senyawa antioksidan, seperti polifenol dan flavonoid dalam kadar tinggi, serta vitamin C (Wulandari dan Fidyasari, 2017). Selain itu, buah sirsak juga mengandung nutrisi yang dapat berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa, yaitu glukosa sebesar 0,41 g/100 g, fruktosa 0,46 g/100 g, dan sukrosa 1,86 g/100 g (Afzaal *et al.*, 2022). Kandungan polifenol, flavonoid, dan vitamin C pada buah sirsak berperan dalam mencegah kerusakan membran plasma spermatozoa akibat pembentukan radikal bebas yang berlebihan selama proses pengenceran dan preservasi semen.

Berdasarkan penjabaran sebelumnya, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sari buah sirsak (*Annona muricata L.*) dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc”.

## MATERI DAN METODE

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, Desa Penfui Timur, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Waktu penelitian dilakukan selama enam minggu terbagi dalam periode persiapan dan pengumpulan data.

### Materi Penelitian

Semen segar, berasal dari seekor babi jantan hasil persilangan landrace x duroc, berusia 1,5 tahun, dengan keadaan sehat mempunyai alat reproduksi yang normal serta terlatih dalam proses pengambilan semen. Pengencer yang dipakai pada penelitian ini berupa sitrat-kuning telur dengan tambahan sari buah sirsak.

### Metode Penelitian

Penelitian ini ialah penelitian eksperimental, memakai metode RAL (rancangan acak lengkap), tersusun atas enam jenis perlakuan, lima ulangan yaitu: P0 = S-KT (sitrat kuning telur), P1 = S-KT + sari buah sirsak (SBS) 2%, P2 = S-KT + sari buah sirsak (SBS) 4%, P3 = S-KT + sari buah sirsak (SBS) 6%, P4 = S-KT + sari buah sirsak (SBS) 8%, P5 = S-KT + sari buah sirsak (SBS) 10%

### Penyiapan Bahan Pengencer

#### Kuning Telur

Cangkang telur ayam ras dibersihkan terlebih dahulu memakai alkohol 70% kemudian dikeringkan dengan tissue. Selanjutnya, telur dipecahkan di bagian ujung lancipnya. Bagian

putih telur dipisahkan secara hati-hati agar kuning telur tetap dalam keadaan utuh. Kuning telur yang masih dilapisi oleh selaput vitelin ditempatkan pada kertas saring dan dimiringkan supaya sisa putih telur terserap sepenuhnya. Sayatlah Selaput vitelin kuning telur menggunakan pinset steril kemudian kuning telur dimasukkan pada gelas ukur dan ditutup menggunakan alumunium foil.

### Penyiapan Sitrat

Sebanyak 2,9 gram natrium sitrat ditimbang dan dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Setelah itu, ditambahkan sebanyak 1000 IU/mL antibiotik penisilin dan 1 mg/mL streptomisin ke dalam larutan sitrat, kemudian campuran tersebut dihomogenkan menggunakan *stirrer* selama 15 menit.

### Penyiapan Sitrat-Kuning Telur

Larutan sitrat diambil sebanyak 80% dan di tambahkan kuning telur 20% selanjutnya di homogenkan secara merata menggunakan *magnetic stirrer* dan spin bar, lalu dimasukkan kedalam tabung perlakuan sesuai dengan kebutuhan menggunakan mikropipet serta ditutup dengan *aluminium foil*.

### Pembuatan Sari Buah Sirsak

Buah sirsak segar dan matang dicuci menggunakan air bersih setelah itu dibelah lalu dipisahkan kulit sirsak, biji dan ambil daging buahnya setelah itu ditimbang sebanyak 100 gr. Tambahkan 150 mL aquades dan dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya larutan buah sirsak disentrifugasi selama 10 menit berkecepatan 3000 RPM guna memisahkan endapan serta supernatant. Hasil sentrifugasi sari buah sirsak siap digunakan sesuai dengan kebutuhan. Sari buah sirsak (SBS) disiapkan sehari sebelum proses pengenceran dan disimpan di dalam kulkas. Setelah itu larutan S-KT yang sudah dibuat dibagi menjadi enam bagian sesuai kebutuhan pada setiap perlakuan lalu masukan sari buah sirsak (SBS) yang telah disiapkan sebelumnya sesuai perlakuan, selanjutnya diaduk menggunakan mikropipet hingga merata.

### Evaluasi Semen

Semen segar dievaluasi dengan dua cara yakni makroskopis serta mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis mencakup penilaian volume, konsistensi, pH, bau, serta Warna. Adapun evaluasi secara mikroskopis melengkapi pengamatan terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas juga konsentrasi spermatozoa.

### Pengenceran dan Preservasi Semen

Semen segar yang sudah dinilai kualitasnya dibagi ke dalam 6 tabung yang telah mengandung bahan pengencer selaras setiap perlakuan lalu dihomogenkan memakai mikropipet dan dibagi ke dalam *eppendorf* berukuran 1,5 mL. Setelah itu simpan semen yang telah di isi dalam *eppendorf* pada *coolbox* dengan suhu diatur antara 15-20°C yang dikontrol menggunakan thermometer dan pengamatan dilakukan setiap 12 jam sekali.

### Variabel Penelitian

- Motilitas ialah kemampuan sel spermatozoa guna bergerak maju progresif. Tujuan dari perhitungan motilitas spermatozoa adalah untuk mengamati pergerakan spermatozoa yang maju secara progresif serta membedakannya dari spermatozoa yang tidak bergerak atau diam ditempat. Penilaian terhadap pergerakan progresif spermatozoa dilakukan secara subjektif dengan pemberian nilai antara 0%-100% dengan skala 5% (Nabilla *et al.*, 2018).
- Viabilitas spermatozoa mengacu kemampuan spermatozoa guna tetap hidup. Salah satu faktor yang mempengaruhi viabilitas adalah nutrisi, jika asupan nutrisi spermatozoa berkurang, maka viabilitasnya juga akan menurun. Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara membuat preparat ulas dari campuran semen dan larutan eosin, lalu diamati dibawah mikroskop (Butta *et al.*, 2021). Nilai viabilitas dapat dihitung memakai rumus berikut

Viabilitas

$$= \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total spermatozoa terhitung}} \times 100\%$$

- Abnormalitas spermatozoa merupakan kondisi dimana terjadi atau kerusakan secara fisik pada sel spermatozoa. Abnormalitas di bagi dalam 2 jenis yakni abnormalitas primer serta abnormalitas sekunder. Batas maksimum abnormalitas spermatozoa harus kurang dari 20% (SNI, 2023). Persentase abnormalitas spermatozoa bisa dinilai dengan memakai rumus berikut:

Abnormalitas

$$= \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa terhitung}} \times 100\%$$

- Daya tahan hidup mengacu pada kemampuan spermatozoa guna tetap

bertahan hidup selama periode penyimpanan. Daya tahan hidup ditandai dengan adanya motilitas dan viabilitas spermatozoa. Persentase spermatozoa dibawa 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik juga berkaitan dengan infertilitas karena kebanyakan pejantan fertil memiliki 50-80% semen yang motil dan progresif (Butta *et al.*, 2021). Rumus perhitungan daya tahan hidup spermatozoa:

$$DTH = \frac{MAS - MS}{MAS - MBS} \times RWE$$

JPT = Jam pengamatan terakhir (dengan motilitas spermatozoa masih memenuhi standar IB)

MAS = Motilitas spermatozoa yang berada persis diatas standar IB

MS = motilitas spermatozoa standar IB

MBS = Motilitas spermatozoa yang berada persis dibawah standar IB

RWE = Rentang waktu evaluasi/pengamatan spermatozoa

### Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan dianalisis memakai uji ANOVA (*analysis of variance*), serta uji lanjutan menggunakan metode Duncan. Seluruh data dianalisis menggunakan software SPPS.27 for windows.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan kemampuan spermatozoa bergerak progresif atau bergerak maju ke depan. Kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif sangat berkaitan dengan keberhasilan fertilitas sehingga, penilaian motilitas menjadi tolak ukur kesanggupan spermatozoa untuk membuahi ovum (sel telur) (Fafo *et al.*, 2016). Rerata persentase motilitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc disajikan dalam tabel 1 berikut ini

Nilai motilitas spermatozoa pada tabel 1 memperlihatkan terjadinya penurunan seiring lamanya waktu penyimpanan pada semua perlakuan. Hal ini terjadi akibat semakin berkurang energi yang tersedia pada setiap pengencer. Secara umum, penurunan motilitas disebabkan karena berkurangnya zat-zat makanan bagi spermatozoa juga dampak zat toksik hasil sampingan dari tahapan metabolisme spermatozoa (Jegau, 2024). Motilitas spermatozoa sangat dipengaruhi oleh ketersedian energi dalam bentuk *adenosin trifosfat* (ATP) yang dihasilkan dari proses metabolisme sel.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc

Jam ke	Percentase motilitas (%)						P- Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	81,00±4,18 <sup>a</sup>	81,00±4,18 <sup>a</sup>	81,00±4,18 <sup>a</sup>	81,00±4,18 <sup>a</sup>	81,00±4,18 <sup>a</sup>	81,00±4,18 <sup>a</sup>	1,000
12	68,00±2,74 <sup>bc</sup>	70,00±6,12 <sup>b</sup>	78,00±5,70 <sup>a</sup>	72,00±4,47 <sup>b</sup>	71,00±4,18 <sup>b</sup>	63,00±2,74 <sup>c</sup>	0,001
24	60,00±3,54 <sup>bc</sup>	64,00±4,18 <sup>b</sup>	72,00±5,70 <sup>a</sup>	63,00±4,47 <sup>bc</sup>	62,00±4,47 <sup>bc</sup>	57,00±2,74 <sup>c</sup>	0,000
36	51,00±4,18 <sup>bc</sup>	54,00±4,18 <sup>b</sup>	60,00±3,54 <sup>a</sup>	56,00±4,18 <sup>ab</sup>	52,00±3,74 <sup>bc</sup>	48,00±4,47 <sup>c</sup>	0,001
48	36,00±6,52 <sup>d</sup>	42,00±4,47 <sup>bcd</sup>	52,00±4,47 <sup>a</sup>	47,00±2,74 <sup>ab</sup>	43,00±2,74 <sup>bc</sup>	38,00±6,71 <sup>cd</sup>	0,000
60	20,00±5,00 <sup>bc</sup>	23,00±2,74 <sup>b</sup>	28,00±2,74 <sup>a</sup>	23,00±2,74 <sup>b</sup>	18,00±2,74 <sup>cd</sup>	14,00±4,18 <sup>d</sup>	0,000

Keterangan: a, b,c, d. Superskrib yang berbeda pada baris yang sama menandakan adanya perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ). P0= S-KT, P1= S-KT+SBS 2%, P2= S-KT+SBS 4%, P3= S-KT+SBS 6%, P4= S-KT+ SBS 8%, P5= S-KT+SBS 10%

Temuan dari penelitian ini memperlihatkan persentase motilitas spermatozoa seusai pengenceran pada jam ke-0 tidak memperlihatkan perbedaan nyata ( $P>0,05$ ) setiap perlakuan. Hal ini, memperlihatkan kualitas spermatozoa belum mengalami perubahan

setelah pengenceran. Namun sejak jam ke-12 sampai jam ke-24 penyimpanan, perlakuan P2 memperlihatkan tingkat motilitas terbesar juga berbeda signifikan ( $P<0,05$ ) dari kelima perlakuan lain. Hasil analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa jam ke-36 hingga jam ke-48

perlakuan P2 tetap memperlihatkan motilitas terbesar juga berbeda signifikan ( $P<0,05$ ) dengan perlakuan P5, P4, P1 dan P0 namun tidak memperlihatkan perbedaan signifikan dengan perlakuan P3 ( $P>0,05$ ).

Pada perlakuan P0 terjadi penurunan persentase motilitas kian cepat dibandingkan perlakuan lain, sebab tidak ada sari buah sirsak (SBS) sebagai antioksidan. Hal ini terkait dengan adanya efek radikal peroksida berupa *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menyebabkan kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif menurun. Selanjutnya, Safira *et al.*, (2025) *cold shock* (kejut dingin) dapat menurunkan aktivitas gerak dan ketahanan hidup spermatozoa, serta menyebabkan perubahan sifat permeabel dan unsur lipid pada membran sel spermatozoa. Perlakuan P2 menghasilkan tingkat motilitas tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Kondisi ini diduga disebabkan karena dampak dosis penambahan sari buah sirsak (SBS) dalam pengencer S-KT. Penambahan sari buah sirsak (SBS) sebanyak 4% kedalam pengencer S-KT pada perlakuan P2, merupakan dosis terbaik juga bisa melengkapi keperluan nutrisi untuk spermatozoa selama penyimpanan. Ini sejalan dengan peryataan Bebas *et al.*, (2015) menjelaskan pemilihan dosis senyawa tepat selaku sumber nutrisi juga antioksidan pada pengencer dapat menghasilkan hasil optimal.

Kandungan vitamin C, flavonoid dan polifenol dalam sari buah sirsak (SBS) sangat penting sebagai antioksidan yang berperan untuk dampak negatif radikal bebas yang dihasilkan secara berlebihan selama penyimpanan spermatozoa. Keberadaan radikal bebas yang berlebihan bisa merusak struktur membran spermatozoa. Hal ini memberi pengaruh terhadap penurunan motilitas juga kelangsungan hidup spermatozoa. Sari buah sirsak (SBS) juga mengandung karbohidrat sebagai sumber energi dalam jumlah yang tidak banyak berupa glukosa 0,41 gr/100 gr, fruktosa 0,46 gr/ 100 gr dan sukrosa 1,86/100 gr (Afzaal *et al.*, 2022). Nutrisi tersebut akan diolah oleh spermatozoa melalui proses metabolisme menjadi *adenosin trifosfat* (ATP) yang digunakan untuk pergerakan spermatozoa. Glukosa dan fruktosa ialah jenis karbohidrat yang digemari spermatozoa sebab mempunyai karakter gugus atom sederhana. Fruktosa juga glukosa akan dipecah (dihidrolisis)

lebih lanjut guna menghasilkan energi bagi pergerakan pergerakan spermatozoa (Banamtuhan *et al.*, 2021).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan sari buah sirsak (SBS) 4% dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) menghasilkan persentase motilitas spermatozoa tertinggi sebesar  $52,00 \pm 4,47\%$  hingga jam ke-48. Berdasarkan SNI (2023) tentang kualitas semen untuk inseminasi buatan, semen dinyatakan layak digunakan secara teknis apabila memiliki persentase motilitas progresif minimal 40%. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan SBS 4% memenuhi standar kelayakan teknis IB, karena memiliki persentase motilitas progresif diatas 40%. Temuan ini memperlihatkan persentase motilitas diperoleh lebih rendah dibandingkan temuan Waluwanja *et al.*, (2019) Efektivitas Berbagai Konsentrasi Minyak Zaitun Ekstra Virgin (*Oleum Olivae*) dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur, yang menghasilkan motilitas sebesar  $41,50 \pm 2,24\%$  hingga jam ke-64. Selain itu temuan ini juga masih lebih tinggi dari Elni *et al.*, (2024) Pengaruh Level Etilen Glikol dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace dengan nilai motilitas hingga jam ke-36 yaitu  $45,00 \pm 6,12\%$  dengan perlakuan Sitrat-kuning telur yang ditambahkan etilen glikol 0,5%. Wawang *et al.*, (2024) dengan nilai motilitas tertinggi  $45,00 \pm 1,76\%$  dan hanya bertahan hingga jam ke-40 dengan perlakuan Sitrat-kuning telur substitusi sari buah melon.

### **Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa**

Viabilitas spermatozoa ialah salah satu parameter yang menggambarkan mutu semen yang erat kaitannya dengan motilitas spermatozoa. Secara umum, persentase viabilitas lebih tinggi dibandingkan persentase motilitas spermatozoa, sebab viabilitas mencakup seluruh spermatozoa hidup (progresif, melingkar juga di tempat), sedangkan motilitas hanya menghitung spermatozoa yang bergerak maju secara progresif. Nilai viabilitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc bisa dilihat dalam tabel 2.

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc

Jam-ke	Percentase·viabilitas·(%)						P- Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	92,10±4,39 <sup>a</sup>	92,10±4,39 <sup>a</sup>	92,10±4,39 <sup>a</sup>	92,10±4,39 <sup>a</sup>	92,10±4,39 <sup>a</sup>	92,10±4,39 <sup>a</sup>	1,000 <sup>ns</sup>
12	76,80±2,11 <sup>c</sup>	82,00±2,37 <sup>b</sup>	87,40±4,48 <sup>ac</sup>	81,70±4,15 <sup>b</sup>	80,00±3,04 <sup>b</sup>	72,20±3,19 <sup>d</sup>	0,000 <sup>ns</sup>
24	70,00±3,64 <sup>bcc</sup>	73,70±3,96 <sup>b</sup>	81,80±6,02 <sup>ac</sup>	72,70±3,77 <sup>b</sup>	72,00±4,09 <sup>b</sup>	66,00±3,32 <sup>c</sup>	0,000 <sup>ns</sup>
36	59,70±4,88 <sup>bcc</sup>	62,70±4,44 <sup>b</sup>	69,60±4,31 <sup>ac</sup>	63,90±4,72 <sup>ab</sup>	60,00±3,67 <sup>b</sup>	56,80±4,75 <sup>c</sup>	0,003 <sup>ns</sup>
48	45,30±6,41 <sup>d</sup>	51,60±4,62 <sup>bcd</sup>	61,90±4,04 <sup>ac</sup>	56,10±2,70 <sup>ab</sup>	52,50±2,91 <sup>b</sup>	46,90±6,58 <sup>cde</sup>	0,000 <sup>ns</sup>
60	26,20±3,78 <sup>cde</sup>	31,80±2,66 <sup>ab</sup>	35,20±3,49 <sup>ac</sup>	30,80±3,72 <sup>abc</sup>	27,18±4,10 <sup>bcd</sup>	22,10±4,87 <sup>d</sup>	0,000 <sup>ns</sup>

Keterangan: a, b, c, d. Superskrib yang berbeda pada baris yang sama menandakan adanya perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ). P0= S-KT, P1= S-KT+SBS 2%, P2= S-KT+SBS 4%, P3= S-KT+SBS 6%, P4= S-KT+ SBS 8%, P5= S-KT+SBS 10%

Berdasarkan temuan analisis statistik, viabilitas spermatozoa pasca pengenceran mengindikasikan perbedaan yang tidak signifikan ( $P>0,05$ ) antar seluruh perlakuan. Tetapi seiring dengan lamanya waktu penyimpanan mulai dari jam ke-12 hingga jam ke-48 semua perlakuan memperlihatkan pengaruh yang nyata ( $P<0,05$ ). Temuan pengujian lanjut Duncan mengungkapkan bahwa perlakuan P2 dengan penambahan sari buah sirsak (SBS) 4% menghasilkan viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya juga berbeda signifikan ( $P<0,05$ ) dengan perlakuan P5, P4, P1 dan P0 tetapi tidak berbeda signifikan ( $P>0,05$ ) dengan perlakuan P3. Hasil penelitian ini memperlihatkan penambahan sari buah sirsak (SBS) dengan level yang tepat pada pengencer mampu menjaga kondisi fisiologis pengencer, sehingga spermatozoa mampu bertahan selama masa penyimpanan. Ini disebabkan oleh kandungan antioksidan dalam sari buah sirsak (SBS) yang dapat melindungi spermatozoa dari kerusakan radikal bebas. Temuan dalam penelitian ini menunjukkan nilai viabilitas yang lebih tinggi dari temuan studi Wawang *et al.*, (2024) menggunakan sitrat-kuning telur dengan substitusi sari buah melon pada babi landrace memiliki nilai  $43,39\pm4,90\%$  dan bertahan hingga jam ke-48. Hal yang sama juga tergambar dalam penelitian Harbin *et al.*, (2016) berjudul Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat Kuning telur dengan Penambahan Level Sari Buah Mengkudu yang Berbeda menjabarkan penambahan 3% sari mengkudu pada pengencer sitrat-kuning telur hanya bisa menjaga viabilitas spermatozoa sampai jam ke-32 dengan rata-rata sebesar  $49,45\pm5,08\%$ .

Data pada tabel 2 memperlihatkan rataan persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan sejalan dengan lamanya periode penyimpanan. Semakin lama penyimpanan, menyebabkan persediaan energi akan semakin terbatas sehingga menyebabkan viabilitas menurun. Penurunan viabilitas juga dipengaruhi stres oksidatif yang terjadi pada spermatozoa selama penyimpanan suhu rendah. Peryataan ini sejalan dengan Pasyah *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa proses penyimpanan pada suhu rendah dapat menimbulkan perubahan struktural membran fosfolipid plasma dan stres oksidatif pada membran sel spermatozoa, yang pada akhirnya berdampak pada penurunan viabilitas. Selama masa penyimpanan, sel spermatozoa tergolong sangat sensitif terhadap *cold shock* (kejut dingin) karena memiliki membran sel dengan lapisan lipid yang tipis. Kondisi ini menyebabkan spermatozoa mudah terpengaruh oleh perubahan suhu yang umum terjadi selama penyimpanan. selain itu, aktivitas metabolisme yang terjadi selama proses pengenceran dan penyimpanan dapat memicu pembentukan radikal bebas (ROS), yang dapat berdampak negatif terhadap viabilitas spermatozoa (Dede *et al.*, 2025). ROS (*Reactive Oxygen Species*) merupakan radikal bebas yang tercipta sebab terdapat kontak oksigen dengan semen. Terciptanya ROS pada tahapan pengolahan dan penyimpanan yang bisa mengembangkan kerusakan morfologi, memberi pengaruh pada menurunnya kualitas spermatozoa (Adinda *et al.*, 2016).

#### Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa mengacu pada penyimpangan struktur spermatozoa yang bisa menyebabkan penurunan fertilitas atau kemampuan semen untuk membuahi ovum.

Spermatozoa yang abnormal dapat terbentuk selama tahap pembentukan di dalam *tubuli seminiferi*, akibat gangguan saat transportasi spermatozoa melalui saluran reproduksi jantan, maupun selama proses penanganan atau proses semen (Dengi *et al.*, 2024). Abnormalitas spermatozoa terbagi dua bentuk yakni abnormalitas primer serta sekunder.

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc

Jam ke	Percentase abnormalitas (%)						P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	
0	3,20±0,84 <sup>a</sup>	3,20±0,84 <sup>a</sup>	3,20±0,84 <sup>a</sup>	3,20±0,84 <sup>a</sup>	3,20±0,84 <sup>a</sup>	3,20±0,84 <sup>a</sup>	1,000
12	4,30±0,57 <sup>ab</sup>	4,20±0,84 <sup>ab</sup>	3,50±0,79 <sup>a</sup>	4,20±0,76 <sup>ab</sup>	4,70±0,76 <sup>b</sup>	4,90±0,82 <sup>b</sup>	0,109
24	5,20±0,84 <sup>b</sup>	4,70±0,57 <sup>ab</sup>	4,00±0,79 <sup>a</sup>	4,70±0,76 <sup>ab</sup>	5,20±0,76 <sup>b</sup>	5,50±0,94 <sup>b</sup>	0,073
36	6,10±1,08 <sup>b</sup>	5,60±1,34 <sup>ab</sup>	4,40±0,82 <sup>a</sup>	5,70±1,04 <sup>ab</sup>	6,10±0,89 <sup>b</sup>	6,50±1,00 <sup>b</sup>	0,064
48	7,10±1,34 <sup>b</sup>	6,30±1,57 <sup>ab</sup>	4,90±0,82 <sup>a</sup>	6,60±1,34 <sup>ab</sup>	6,90±1,29 <sup>b</sup>	7,50±1,22 <sup>b</sup>	0,059
60	7,80±1,44 <sup>b</sup>	6,90±1,47 <sup>ab</sup>	5,30±0,91 <sup>a</sup>	7,00±1,46 <sup>ab</sup>	7,60±1,56 <sup>b</sup>	8,00±1,22 <sup>b</sup>	0,051

Keterangan: a, b, c, d. Superskrib yang berbeda pada baris yang sama menandakan adanya perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ). P0= SKT, P1= SKT+SBS 2%, P2= SKT+SBS 4%, P3= SKT+SBS 6%, P4= SKT+ SBS 8%, P5= SKT+SBS 10%.

Berdasarkan data pada tabel 3, persentase abnormalitas pada awal penyimpanan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) di antara seluruh perlakuan. Namun, setelah jam ke-48 penyimpanan, perlakuan P2 menunjukkan abnormalitas terendah sebesar  $4,90\pm0,82\%$  sedangkan perlakuan P5 menghasilkan abnormalitas tertinggi sebesar  $7,50\pm1,22\%$  dan berbeda tidak signifikan ( $P>0,05$ ). Memperlihatkan penambahan sari buah sirsak (SBS) pada level optimal dapat mengurangi peningkatan abnormalitas yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Sebagian besar abnormalitas yang teramat pada penelitian ini termasuk dalam kategori abnormalitas sekunder misalnya ekor terputus, terlipat dan ekor melingkar. Secara umum berbagai faktor seperti stres, penyakit, suhu lingkungan, genetik ternak dan bahkan kurangnya penanganan yang baik selama pengambilan semen merupakan faktor penyebab terjadinya abnormalitas pada spermatozoa (Susilawati *et al.*, 2022).

Penelitian ini menunjukkan bahwa persentase spermatozoa abnormal cenderung meningkat seiring lamanya waktu penyimpanan dalam setiap perlakuan. Temuan ini selaras Kusumawati *et al.*, (2016), tingkat abnormalitas akan terus bertambah seiring dengan bertambahnya durasi penyimpanan. Peningkatan abnormalitas juga dapat disebabkan oleh proses peroksidasi lipid, yakni kerusakan

Abnormalitas primer muncul akibat kelainan saat proses spermatogenesis pada *tubuli seminiferi*, abnormalitas sekunder muncul seusai spermatozoa meninggalkan testis, baik selama ejakulasi maupun selesai ejakulasi, juga selama tahapan pemanasan berlebih saat pembuatan preparat ulas (Padalani *et al.*, 2025). Rataan nilai abnormalitas bisa dilihat dalam tabel 3.

yang terjadi akibat reaksi antara asam lemak tak jenuh dengan radikal bebas. Penambahan sari buah sirsak dalam pengencer S-KT dapat membantu menekan abnormalitas spermatozoa. Buah sirsak merupakan salah satu antioksidan alami yang efektif menangkal radikal bebas karena memiliki kandungan flavonoid dan polifenol sehingga mampu mencegah terjadinya peroksidasi lipid (Wulandari dan Fidyasari, 2017).

Persentase abnormalitas pada penelitian ini masih lebih rendah dari temuan Fafo *et al.* (2016) tentang Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace dengan persentase rerata abnormalitas sebesar  $9,50\pm2,72\%$ . Temuan ini masih lebih tinggi dibandingkan temuan Amtiran *et al.*, (2020) Pengaruh Penambahan Vitamin E Dalam Pengencer Tris-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc yang memiliki rata-rata  $6,11\pm1,14\%$ . Walaupun masih terjadi peningkatan jumlah spermatozoa abnormal hingga jam ke-48 namun hasil penelitian ini masih memenuhi standar inseminasi buatan (IB) karena batas maksimum abnormalitas spermatozoa yang dapat digunakan untuk IB harus kurang dari 20% (SNI, 2023).

#### Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Menurut Pandahuki *et al.*, (2024), daya tahan hidup adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap menunjukkan aktivitas gerak dalam media penyimpanan hingga waktu tertentu yang diukur berdasarkan persentase motilitas. Pada penelitian ini, pengamatan daya tahan hidup dilakukan untuk menilai kemampuan

spermatozoa dalam mempertahankan gerakan progresifnya selama penyimpanan, di mana spermatozoa dianggap masih bertahan hidup apabila memiliki motilitas minimal 40%. Hasil perhitungan daya tahan hidup spermatozoa disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Daya tahan hidup spermatozoa babi persilangan landrace x duroc

Perlakuan <sup>a</sup>	Daya tahan hidup (jam) <sup>a</sup>
P0 <sup>a</sup>	44,80±4,15 <sup>a</sup>
P1 <sup>a</sup>	48,80±2,95 <sup>bcd</sup>
P2 <sup>a</sup>	53,60±1,95 <sup>a</sup>
P3 <sup>a</sup>	51,00±1,00 <sup>ab</sup>
P4 <sup>a</sup>	49,20±1,09 <sup>b</sup>
P5 <sup>a</sup>	44,80±4,82 <sup>a</sup>
p-value <sup>a</sup>	.....0,001 <sup>a</sup>

Keterangan: a, b, c. Superskrib yang berbeda pada baris yang sama menandakan adanya perbedaan yang nyata ( $P<0,05$ ). P0= SKT, P1= SKT+SBS 2%, P2= SKT+SBS 4%, P3= SKT+SBS 6%, P4= SKT+ SBS 8%, P5= SKT+SBS 10%

Hasil analisis statistik terhadap daya tahan hidup spermatozoa memperlihatkan perlakuan P2 berbeda signifikan ( $P<0,05$ ) dengan perlakuan P5, P4, P1 dan P0 namun tidak berbeda signifikan ( $P>0,05$ ) dengan perlakuan P3. Dari fakta ini menunjukkan bahwa perlakuan P2 dengan tambahan sari buah sirsak (SBS) sebanyak 4% kedalam pengencer S-KT terbukti dalam memperpanjang daya tahan hidup spermatozoa dibandingkan perlakuan lainnya. Pemberian dosis sari buah sirsak (SBS) yang berbeda dalam setiap perlakuan menghasilkan dampak yang tidak sama terhadap daya tahan hidup spermatozoa selama proses preservasi semen.

Daya tahan hidup pada perlakuan P0 yang berperan sebagai kontrol menunjukkan tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah, disebabkan karena spermatozoa tidak mendapatkan antioksidan yang berfungsi sebagai pelindung dari efek radikal bebas, sehingga menyebabkan spermatozoa akan cepat mengalami kematian. Perlakuan P5 yang ditambahkan sari buah sirsak (SBS) 10% juga menunjukkan daya tahan hidup spermatozoa yang sama rendah dengan perlakuan P0, disebabkan tingginya level sari buah sirsak (SBS) dalam pengencer sehingga mengakibatkan

terjadinya toksik. Efek toksik menyebabkan gangguan pada respirasi sel di dalam mitokondria. Hal ini menyebabkan kerusakan pada organel sel sehingga mengakibatkan metabolisme energi sel terganggu, yang kemudian berdampak pada penurunan pergerakan sel spermatozoa (Setiono *et al.*, 2015). Konsentrasi sari buah sirsak (SBS) yang tinggi mengakibatkan perubahan tekanan osmotik terhadap pengencer ke arah hipertonik sehingga dapat merusak membran sel spermatozoa.

Temuan dalam penelitian ini memperlihatkan hasil yang lebih tinggi dari laporan Wawang *et al.*, (2024) tentang Kualitas Spermatozoa babi Landrace dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur dengan Substitusi Sari Buah Melon (*Cucumis melo L*) yang sekedar bisa bertahan selama 45 jam. Tetapi, temuan ini lebih rendah yang dilaporkan Waluwanja *et al.*, (2019) dengan waktu penyimpanan hingga jam 65,60. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh variasi dalam kandungan nutrisi pada masing-masing jenis pengencer yang digunakan. Perbedaan komposisi nutrisi tersebut menyebabkan efek perlindungan terhadap spermatozoa juga berbeda antar pengencer yang satu dengan yang lain.

## KESIMPULAN

Temuan dalam penelitian ini memperlihatkan penambahan sari buah sirsak (SBS) sebanyak 4% kedalam pengencer sitrat-

kuning telur (S-KT) adalah dosis yang paling tepat dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi persilangan landrace x duroc

secara optimal hingga jam ke-48 penyimpanan. Perlu dilakukan penelitian lanjutan guna menguji tingkat keberhasilan inseminasi buatan

menggunakan semen yang sudah diencerkan dengan pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) dan tambahan sari buah sirsak (SBS) sebanyak 4%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adinda, L. P. 2016. Pengaruh Level Glutathione Dalam Pengencer Tris-Sitrat Kuning Telur Terhadap Motilitas Dan Abnormalitas Sperma Kambing Peranakan Etawah Post Thawing. *Students e-Journal*, 5(4).
- Afzaal, M., Saeed, F., Asghar, A., Shah, Y. A., Ikram, A., Ateeq, H., Hussain, M., Ofoedu, C. E., & Chacha, J. S. 2022. Nutritional and therapeutic potential of soursop. *Journal of Food Quality*, 2022(1), 8828358.
- Amtilan, D. E., Hine, T. M., dan 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.
- Banamtuhan, A. N., Nalley, W. M., dan 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.
- Bebas, W., Budiasa, M. K., dan Astutik, I. Y. 2015. Penambahan Vitamin C pada Pengencer Spermatozoa Babi Landrace yang disimpan pada Suhu 15 oC. *Buletin Veteriner Udayana*, 7(2), 179–185.
- Butta, C. A., Gaina, C. D., dan Foeh, N. D. F. K. 2021. Motilitas dan viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer air kelapa-kuning telur ayam kampung. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 4(1), 3.
- Dede, M. S., Nalley, W. M., Marawali, A., dan Setyani, N. M. P. 2025. Kualitas Spermatozoa Beku Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur dengan Konsentrasi Gliserol yang Berbeda. *Jurnal Sains Peternakan*, 13(1), 52–62.
- Dengi, D. D., Hine, T. M., dan Kune, P. 2024. Pengaruh kombinasi pengencer Air Kelapa Muda dan Beltsville Thawing Solution Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *COMSERVA: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 4(3), 519–529.
- Dwitarizki, N. D. 2021. *Bioteknologi Inseminasi Buatan Pada Domba Dan Kambing*. Ugm Press.
- Elni, M. Y., Kune, P., Riwu, A. R., dan 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).
- Fafo, M., Hine, T. M., dan Nalley, W. M. 2016. Pengujian efektivitas ekstrak daun kelor dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), 184–195.
- Fernandez, M. E. E., Nalley, W. M., Telupere, F. M. S., dan Hine, T. M. 2022. Pengaruh Kombinasi Susu Kacang Kedelai Dan Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Sapi Bali. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(2), 136–146.
- Harbin, A., Belli, H. L. L., dan Nalley, W. M. 2016. Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Babi Landrace Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Dengan Penambahan Level Sari Buah Mengkudu Yang Berbeda. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), 177–183.
- Jegau, R. 2024. Pengaruh Kombinasi Pengencer Susu Kacang Kedelai Sangrai Dan Air Kelapa Muda Termodifikasi Ekstrak Etanol Daun Kelor Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *Jurnal Penelitian Ilmu Humaniora*, 7(6).
- Jelita, M. Y., Uly, K., Agustinus, A., Riwu, R. R., dan Kune, P. 2024. Pengaruh Kombinasi Pengencer Modifikasi Air Kelapa Muda-Sitrat Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *COMSERVA: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 4(1), 54–65.
- Kusumawati, E. D., Leondro, H., Krisnaningsih, A. T. N., Susilawati, T., Isnaini, N., dan Widhad, R. 2016. Pengaruh suhu dan lama simpan semen segar terhadap motilitas dan abnormalitas spermatozoa kambing peranakan etawa (PE). *Seminar Nasional Hasil Penelitian*. Hal, 199–208.
- Nabilla, A., Arifiantini, R. I., dan Purwantara, B.

2018. Kualitas semen segar sapi bali umur produktif dan non-produktif serta penentuan konsentrasi krioprotektan dalam pengencer tris kuning telur. *Jurnal Veteriner*, 19(2), 242–250.
- Nugroho, Y., T. Susilawati, dan S. warjuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer Cep-2 Dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Kuning Telur Dan Sari Buah Jambu Biji (*Psidium guajava*). *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 15(1), 31–42.
- Padalani, D., Marawali, A., Kune, P., dan Uly, K. 2025. Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil dan Vitamin C dalam Pengencer Sari Buah Semangka Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *Animal Agricultura*, 3(1), 923–933.
- Pandahuki, F. O., Nalley, W. M., Uly, K., dan Hine, T. M. 2024. Pengaruh Penambahan Ekstrak Biji Kelor Kering (*Moringa oleifera Lam*) dalam Pengencer Beltsville Thawing Solution terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Animal Agricultura*, 2(1), 488–498.
- Pasyah, B. I., Rosadi, B., dan Darmawan, D. 2022. Pengaruh Penyimpanan Pada Suhu 5°C Terhadap Motilitas, Persentase Hidup (Viabilitas) Dan Abnormalitas Semen Sapi Simmental. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(1), 11–18.
- Pratiwi, T. N., dan Ulum, F. 2024. Substantive Test pada Dinas Peternakan Lampung Selatan menggunakan Framework Cobit 5 DSS03 (Inseminasi Buatan). *Jurnal Tekno Kompak*, 18(2), 344–354.
- Safira, A. I., Susilowati, S., Heruprodoto, E. B. A., Rachmawati, K., dan Hernawati, T. 2025. Suplementasi Ekstrak Teh Hijau dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Sapudi Yang disimpan pada Suhu Dingin (5° C). *Ranah Research: Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 7(5), 3366–3382.
- Saputra, M. Y., Suharyati, S., Hartono, M., dan Siswanto, S. 2024. Pengaruh Penambahan L-Carnitine Dengan Dosis Yang Berbeda Dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Ekor Tipis. *Jurnal Riset Dan Inovasi Peternakan*, 8(3), 531–537.
- Setiono, N., Suharyati, S., dan Santosa, P. E. 2015. Kualitas semen beku sapi Brahman dengan dosis krioprotektan gliserol yang berbeda dalam bahan pengencer tris sitrat kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 3(2).
- Standar Nasional Indonesia. 2023. *Semen cair babi*. Badan Standardisasi Nasional.
- Susilawati, T., Ihsan, M. N., Wahjuningsih, S., Isnaini, N., Rachmawati, A., Yekti, A. P. A., dan Utami, P. 2022. Manajemen Reproduksi dan Inseminasi Buatan. Universitas Brawijaya Press.
- Waluwanja, Y. U. D., Nalley, W. M., Hine, T. M., dan Uly, K. 2019. Efektivitas Berbagai Konsentrasi Minyak Zaitun Ekstra Virgin (*Oleum Olivae*) Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 6(2), 55–62.
- Wawang, S. K., Nalley, M., dan Hine, T. M. 2024. Kualitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur dengan Substitusi Sari Buah Melon (*Cucumis melo L*). *COMSERVA: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 3(11), 4689–4699.
- Wulandari, S., dan Fidyasari, A. 2017. Senyawa Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Buah Sirsak Gunung (*Annona montana*). Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang.