



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

KUALITAS SPERMATOZOA BABI LANDRACE YANG DIBERI EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA SUHU PENYIMPANAN BERBEDA

Marisa Aplugi¹, Cynthia D. Gaina², Nancy D. F. K. Foeh²

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, NTT

²Departemen Klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, NTT

Abstract

Riwayat Artikel:

Diterima:
3 Februari 2019
Direvisi:
27 Oktober 2019
Disetujui:
8 Januari 2020

Keywords:

Lontar fruit juice,
Moringa leaf,
Sperm motility,
Sperm viability,
Landrace boar

Korespondensi:

marisaaplugi@gmail.com

*This study aims to determine the quality of Landrace pork spermatozoa with the addition of natural thinners of lontar fruit juice and *Moringa oleifera* Lam. Leaf extract as antioxidants stored at different storage temperatures, namely 5°C (freezer), 15°C (refrigerator) and 22°C (air-conditioned room). Semen was collected six times and evaluated both macroscopically and microscopically. The best quality of semen was semen with spermatozoa motility > 70%, concentration > 200x10⁶ cells/ml and abnormal spermatozoa < 20%. In this study, there were three treatments, in which the cement with antioxidant diluents was stored at 15°C. (treatment I), 22°C (treatment II) and 5 oC (treatment III). The results showed at the 36th hour of storage the temperature was 22°C with a motility of 55.00 ± 0.20% and a viability of 72.50 ± 0.27%, a temperature of 15°C with a motility of 55.00 ± 0.28% and a viability of 64.50 ± 0.20%, and a temperature of 5°C with a motility of 50.00 ± 0.50 % and viability 57.50 ± 0.33%. It was concluded that the water thinner of lontar fruit and the antioxidant of *Moringa oleifera* Lam. Leaf extract were able to maintain the quality of the liquid Landrace pig semen at different storage temperatures. A significant difference ($P \leq 0.05$) occurred between the 5°C and 22°C treatment, while the 15°C temperature was not significantly different ($P \geq 0.05$) with the 5°C and 22°C temperatures.*

PENDAHULUAN

Peternakan babi di Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan usaha peternakan yang tergolong masih berskala kecil karena kebanyakan dalam skala rumah tangga, sehingga perhatian dan upaya untuk meningkatkan mutu genetiknya masih kurang. Adapun upaya peningkatan mutu genetik yang termasuk didalamnya adalah dengan penerapan program inseminasi buatan (IB). Melalui IB peternak memiliki kemungkinan untuk mengawinkan pejantan unggul dari suatu wilayah dengan betina di wilayah lain (Toelihere, 1993; Ardana dan Putra, 2008).

Semen babi biasanya dapat disimpan dengan tetap mempertahankan kualitasnya pada suhu $\pm 15 - 22$ °C (Althouse dan Casas, 2013), sedangkan menurut Yi *et al.*, (2008) semen babi dapat disimpan pada suhu 5 oC dengan penambahan krioprotektan. Krioprotektan merupakan zat yang digunakan untuk melindungi sel dari rusaknya permeabilitas membran spermatozoa selama masa penyimpanan (Foeh, 2015). Semen babi memiliki daya simpan yang relatif cepat yaitu $\pm 3 - 7$ hari dengan pengencer komersial berupa BTS (Johnson *et al.*, 2000; Gadea 2003; Robert 2006).

Menurut Sumardani (2007) untuk mempertahankan kualitas dari spermatozoa dan dapat disimpan dalam periode waktu yang lama, maka untuk mencapainya semen perlu ditambahkan pengencer untuk menjaga kebutuhan fisik dan kimiawinya. Salah satunya yaitu air buah lontar sebagai pengencer alam, dimana air buah lontar memiliki kandungan karbohidrat dan menghasilkan energi yang terdapat glukosa, fruktosa dan sukrosa yang dapat dimetabolisir menjadi energi berupa adenosine triphosphate (ATP) oleh spermatozoa (MataHine, 2014).

Selama masa penyimpanan, metabolisme spermatozoa akan menghasilkan radikal bebas yang dapat merusak permeabilitas membran spermatozoa sehingga dibutuhkannya penambahan antioksidan atau senyawa yang digunakan untuk mengatasi kerusakan oksidatif oleh radikal bebas atau Reactive Oksigen Spesies (ROS) dan menurunkan kecepatan autooksidasi (Suhartono, 2016). Autooksidasi merupakan oksidasi oleh ROS yang disebabkan karena faktor cahaya, panas, enzim, peroksida lemak

atau hidroperoksida, dan logam yang dapat mempercepat reaksi (Winarno, 1992).

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) merupakan antioksidan bahan alam yang banyak mengandung protein, karoten, vitamin C, mineral, asam amino, serta senyawa flavonoid dan phenolic dengan total kandungan 1014.51 mg/L (Anwar *et al.*, 2007). Gena (2017) melakukan penelitian menggunakan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai antioksidan dalam pengencer air buah lontar pada spermatozoa babi landrace dengan hasil spermatozoa dapat dipertahankan hingga 40 jam pada suhu ruangan 22 oC. Berdasarkan latar belakang dan hasil data tersebut, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lanjutan dengan judul “kualitas spermatozoa babi Landrace yang diberi ekstrak daun kelor (*moringa oleifera lam.*) sebagai antioksidan pada suhu penyimpanan berbeda”.

METODOLOGI

Semen segar berasal dari UPT. Pembibitan dan Pakan Ternak Tarus, Kupang. Evaluasi kemudian dilakukan di Laboratorium Klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi FKH Undana Kupang dan UPT. Veteriner Oesapa. Bahan pengencer yang digunakan adalah pengencer alami yaitu air buah lontar dengan penambahan antioksidan dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.).

Semen segar dievaluasi secara makroskopik (volume, warna, pH, konsistensi, dan bau) dan mikroskopik (motilitas, viabilitas, konsentrasi dan abnormalitas). Semen yang telah memenuhi syarat sesuai standar maka akan ditambahkan antibiotik, pengencer air buah lontar dan antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.).

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari tiga perlakuan dan enam kali ulangan. Semen cair kemudian disimpan pada suhu 15 oC (lemari es), suhu 22 oC (ruangan ber-AC), dan suhu 5 oC (freezer). Waktu pengamatan dilaksanakan setiap dua jam, mulai dari jam ke-0 hingga jam ke-36 masa penyimpanan. Data kemudian dianalisis dengan analysis of variance (ANOVA) dan bila terdapat perbedaan nyata ($P \leq 0.05$) dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Hasil pemeriksaan semen segar pada penelitian ini merupakan hasil yang digunakan sebagai penentu untuk selanjutnya diproses menjadi semen cair dan diberi perlakuan. Pemeriksaan semen segar dilakukan di laboratorium dengan suhu 22 oC, 15 oC, dan 5 oC. Penampungan semen dilakukan sebanyak enam kali. Semen yang diperoleh bersifat voluminous dengan motilitas spermatozoa lebih dari atau sama dengan 70 % dan konsentrasi spermatozoa 200-300 x 10⁶ sel/mL (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai Karakteristik Semen Babi

	Karakteristik Semen	Nilai Rataan (Mean±SEM)	Standar*
Makroskopis	Volume (mL)	286.66±8.33	200-250
	Warna	Putih Susu	Putih Susu
	Konsistensi	Encer	Encer
	pH	7.08±0.02	7.40±0.2
Mikroskopis	Motilitas spermatozoa (%)	80.00±0.70	≥ 70
	Viabilitas spermatozoa (%)	90.66±0.36	≥ 80
	Konsentrasi spermatozoa (10 ⁶ sel/mL)	233.00±0.64	200-300
	Abnormalitas spermatozoa (%)	9.83±0.69	≤ 20

Keterangan: *Garner dan Hafez (2000); Robert (2006); Gadea (2003); Johnson et al. (2000)

Frekuensi ejakulasi yang sering dalam waktu dekat (lebih dari dua kali dalam satu minggu) berpengaruh juga terhadap kualitas semen. Pakan dengan kualitas rendah akan memperlambat pertumbuhan pejantan dan penurunan spermatozoa per ejakulat, sedangkan tingkat kualitas pakan yang tinggi menyebabkan infertilitas (Toelihere, 1993).

Pemakaian hewan jantan yang terlampau sering untuk keperluan penampungan semen dan berkelanjutan dapat menurunkan jumlah dan konsentrasi spermatozoa. Selain itu, frekuensi ejakulasi juga berpengaruh terhadap suhu, dimana suhu berpengaruh pada struktur fosfolipid membran plasma spermatozoa (Sumardani *et al.*, 2008).

Persentase motilitas spermatozoa babi *Landrace* yang telah diberi pengencer air buah

Menurut Sumardani et al., (2008) bahwa semen babi memiliki volume berkisar 200 - 250 mL, dengan warna putih susu dan memiliki konsistensi encer, serta pH 7.40±0.2. Adapun faktor yang mempengaruhi karakteristik semen segar adalah variasi umur, frekuensi ejakulasi dan kualitas pakan (Johnson et al., 2000). Variasi umur, frekuensi ejakulasi dan kualitas pakan saling berhubungan, dimana penggunaan pejantan muda (5 - 6 bulan) dan pejantan tua (8 - 10 bulan) memiliki efisiensi reproduksi yang berbeda dan dipengaruhi oleh frekuensi ejakulasi dan kualitas pakan.

lontar dan antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dari hasil penelitian memiliki rata-rata motilitas spermatozoa 77.50±1.44 % dengan standar menurut SNI yaitu ≥70 %. Setelah itu semen cair disimpan dalam ruang ber-AC (22 °C), lemari es (15 °C) dan freezer (5 °C), semen cair hasil pengenceran dapat bertahan selama 36 jam dengan rata-rata motilitas spermatozoa ruang ber-AC (22 °C) yaitu 57.50±3.22 %, sedangkan motilitas spermatozoa yang disimpan didalam lemari es (15 °C) memiliki rata-rata 53.33±1.66 %, dan perbedaan juga ditunjukkan dengan penyimpanan di freezer (5 °C) dengan rata-rata motilitas spermatozoa 46.66±3.33 %.

Hasil pengamatan yang dilakukan tiap dua jam sesuai dengan Tabel 2 menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada ketiga suhu tersebut masih berada diatas standar SNI untuk motilitas spermatozoa babi *Landrace* (40 %). Suhu

penyimpanan semen cair terbaik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa babi *Landrace* adalah pada suhu 22 °C dimana penyimpanan dapat bertahan hingga jam ke-36. Hal ini sesuai dengan penelitian Johnson *et al.*, (2000) yang menyatakan bahwa suhu 15 °C – 20 °C merupakan suhu ideal dalam menyimpan semen babi (*holding time*).

Tabel 2. Persentase Motilitas spermatozoa Babi *Landrace* dengan Pengencer Air Buah Lontar dan Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Waktu Pengamatan (Jam)	Motilitas spermatozoa Rataan Mean±SEM (%)		
	22 °C	15 °C	5 °C
	0	77.50±1.44	77.50±1.44
2	78.75±1.25	73.75±4.73	77.50±1.44
4	78.75±1.25	71.25±7.18	73.75±4.73
6	78.75±1.25	71.25±7.18	72.50±5.95
8	75.00±0.00	71.25±7.18	70.00±5.00
10	75.00±0.00	70.00±8.41	68.75±6.25
12	72.50±1.44	67.50±7.50	68.75±6.25
14	71.25±2.39	67.50±7.50	65.00±5.40
16	70.00±3.53	71.66±1.66	70.00±2.88
18	67.50±4.33	71.66±1.66	68.33±3.33
20	66.25±3.75	70.00±0.00	66.66±1.66
22	65.00±3.53	70.00±0.00	66.66±1.66
24	62.50±3.22	66.66±3.33	66.66±1.66
26	62.50±3.22	66.66±3.33	65.00±0.00
28	60.00±4.56	61.66±6.00	60.00±5.00
30	60.00±4.56	61.66±6.00	56.66±8.33
32	58.75±3.75	60.00±5.00	55.00±7.63
34	58.75±3.75	60.00±5.00	51.66±6.00
36	57.50±3.22	53.33±1.66	46.66±3.33

Hasil uji statistik (ANOVA) terhadap motilitas spermatozoa pada jam ke-36 sesuai dengan tabel diatas (Tabel 3) menunjukkan bahwa suhu 5 °C dengan 22 °C berbeda nyata ($P \leq 0.05$), dan suhu 15 °C tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P \geq 0.05$) dengan suhu 5 °C dan 22 °C. Hasil ini menunjukkan bahwa suhu *holding time terbaik* adalah pada suhu 22 °C. hal

ini sesuai dengan penelitian Johnson *et al.*, (2000) yang menyatakan bahwa suhu *holding time* untuk penyimpanan semen terbaik dalam pengencer komersial adalah suhu 15 °C - 20 °C

Tabel 3. Persentase Motilitas spermatozoa spermatozoa Babi *Landrace* dalam Pengencer Air Buah lontar dan Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) pada penyimpanan berbeda.

Perlakuan suhu (°C)	Parameter
	Motilitas spermatozoa Rataan (Mean±SEM) %
P22 °C (36 jam)	57.50±3.22 ^a
P15 °C (36 jam)	53.33±1.66 ^{ab}
P5 °C (36 jam)	46.66±3.33 ^b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P \leq 0.05$)

Semen yang disimpan haruslah dipertahankan kualitasnya. Selama masa penyimpanan, motilitas spermatozoa akan menurun sehingga diperlukan pengencer untuk mempertahankan motilitas spermatozoa. Selama proses penyimpanan, paparan suhu menyebabkan terjadinya oksidasi oleh *Reactive Oksigen Spesies* (ROS). Bahaya ROS dapat dihambat dengan adanya antioksidan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sehingga waktu penyimpanan dapat dipertahankan selama 36 jam.

Nilai rataan viabilitas spermatozoa menurut standar SNI lebih dari 80 %, dan dalam penelitian ini persentase rataan viabilitas spermatozoa yang telah diberi antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam pengencer air buah lontar adalah 88.75±0.18 %. Penyimpanan semen cair pada suhu 22 °C, 15 °C, dan 5 °C dapat bertahan hingga jam ke 36 dengan rataan suhu 22 °C (ruang ber-AC) 72.50±0.27 %, rataan suhu 15 °C (lemari es) 64.50±0.20 % dan rataan suhu 5 °C (freezer) 57.50±0.33 %.

Tabel 4. Persentase Viabilitas spermatozoa Babi *Landrace* dengan Pengencer Air Buah Lontar dan Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Waktu Pengamatan (Jam)	Viabilitas spermatozoa Rataan Mean±SEM (%)		
	22 °C	15 °C	5 °C
0	88.75±0.18	88.62±0.18	88.62±0.18
2	91.62±0.19	93.00±0.12	92.37±0.21
4	93.50±0.18	93.50±0.12	93.50±0.25
6	91.62±0.19	92.50±0.15	91.50±0.12
8	89.00±0.19	87.50±0.41	87.50±0.05
10	86.50±0.34	89.00±0.31	85.50±0.18
12	84.00±0.42	86.00±0.27	82.00±0.24
14	82.50±0.33	84.00±0.18	82.00±0.18
16	81.50±0.35	83.00±0.25	79.50±0.20
18	80.50±0.38	80.50±0.26	75.50±0.38
20	83.50±0.20	80.50±0.26	74.50±0.26
22	81.00±0.45	77.50±0.18	73.00±0.34
24	80.50±0.27	78.50±0.22	74.00±0.35
26	81.00±0.17	74.50±0.12	72.00±0.21
28	81.50±0.17	75.00±0.10	65.00±0.43
30	80.00±0.14	74.00±0.23	64.50±0.65
32	79.50±0.28	74.00±0.29	66.00±0.70
34	75.00±0.17	69.00±0.17	60.00±0.14
36	72.50±0.27	64.50±0.20	57.50±0.33

Hasil pengamatan sesuai tabel diatas (Tabel 4) menunjukkan bahwa semen cair babi *Landrace* dapat bertahan hingga jam ke-36 dengan suhu penyimpanan semen cair babi *Landrace* masih sesuai dengan standar SNI (). Penyimpanan semen cair pada suhu 5 °C dapat dilakukan hingga 36 jam (Tabel 4), namun penambahan krioprotektan dibutuhkan untuk mencegah percepatan kematian spermatozoa. Penyimpanan semen cair terbaik pada suhu 22 °C dan 15 °C merupakan suhu penyimpanan terbaik (*holding time*) (Paulenz *et al.*, 2000).

Hasil uji statistik (ANOVA) diatas (Tabel 5) menunjukkan persentase viabilitas spermatozoa pada jam ke-36, pada suhu 5 °C dan 15 °C tidak

berbeda nyata ($P \geq 0.05$) begitu pula suhu penyimpanan 15 °C dan 22 °C, sedangkan suhu 5 °C menunjukkan perbedaan nyata ($P \leq 0.05$) dengan 22 °C. Lamanya waktu penyimpanan sangat berpengaruh pada viabilitas dari spermatozoa semen babi *Landrace*, dimana semakin lama penyimpanan maka viabilitas spermatozoa akan semakin menurun. Hal ini dikarenakan selama masa penyimpanan spermatozoa tetap melakukan metabolisme sehingga reaksi oksidasi tetap berlangsung (Bebas, 2015).

Tabel 5. Persentase Viabilitas spermatozoa Babi *Landrace* dalam Pengencer Air Buah lontar dan Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) pada Penyimpanan Berbeda

Perlakuan suhu (°C)	Parameter
	Viabilitas spermatozoa Rataan (Mean±SEM) %
P22 °C (36 jam)	72.50±0.27 ^a
P15 °C (36 jam)	64.50±0.20 ^{ab}
P5 °C (36 jam)	57.50±0.33 ^b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P \leq 0.05$)

Akumulasi asam laktat sebagai sisa metabolisme pada spermatozoa semen babi bersifat toksik pada spermatozoa sehingga menyebabkan menurunnya aktivitas seluler spermatozoa (Sumardani *et al.*, 2008). Akan tetapi dengan penggunaan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), motilitas spermatozoa dan viabilitas spermatozoa dapat dipertahankan hingga 36 jam karena antioksidan dari daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menghambat bahaya ROS yang dapat menyebabkan toksik pada spermatozoa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu 22 °C lebih baik dibandingkan dengan suhu 5 °C dan 15 °C. Hal ini dikarenakan suhu 22 °C merupakan suhu penyimpanan penyesuaian spermatozoa terhadap perubahan suasana yang paling baik atau *holding time* (Ax *et al.*, 2000a). Suhu 15 °C dan 5 °C

merupakan suhu preservasi, dimana menurut Yusuf *et al.*, 2016 suhu ini merupakan suhu yang baik untuk penyimpanan semen apabila ditambahkan gliserol sebagai krioprotektan. Adapun jenis-jenis krioprotektan, yaitu: (1) gliserol, (2) etilen glikol, (3) propanoldiol, (4) dietilen glikol, dan (5) golongan Amida (Foeh, 2015).

Penggunaan krioprotektan dapat membantu mengurangi penurunan suhu dan mempertahankan kualitas spermatozoa, jika tidak menggunakan krioprotektan, maka spermatozoa akan mengalami *cold shock* (Kartina, 2014). Kandungan asam lemak dan *phospholipid* yang beda dengan ternak yang lain (komposisi *phosphatidylethanolamine* dan *sphingomyelin* sebanyak 24% dan 14%) menyebabkan semen babi mudah mengalami *cold shock* oleh cekaman dingin (Yusuf *et al.*, 2016). Hal ini membuat permeabilitas membran plasma spermatozoa makin menurun dan mengakibatkan spermatozoa mudah mati.

Menurut Paulenz *et al.*, 2000 penurunan kualitas semen cair selama masa penyimpanan dipengaruhi oleh motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa dan derajat keasaman (pH) spermatozoa. Apabila motilitas spermatozoa dan viabilitas spermatozoa kurang dari 60 % serta konsentrasi spermatozoa kurang dari 200×10^6 sel/mL, spermatozoa memiliki daya tahan yang singkat sedangkan pH semen segar akan mengalami perubahan selama masa penyimpanan dan dapat menyebabkan spermatozoa mengalami kematian (Paulenz *et al.*, 2000). Selama masa penyimpanan, penambahan pengencer air buah lontar dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai antioksidan, diperlukan untuk melindungi spermatozoa dari bahaya radikal bebas sehingga dapat mempertahankan kualitas spermatozoa.

SIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penggunaan pengencer air buah lontar dan

penambahan antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat mempertahankan kualitas spermatozoa babi Landrace hingga jam ke-36 pada suhu terbaik yaitu suhu 22°C (ruang ber-AC).

DAFTAR PUSTAKA

- Althouse, G.C. dan Casas, I. 2013, *The protective effect of a 17 °C holding time on boar sperm plasma membrane fluidity after exposure to 5 °C*. University of Pennsylvania, School of Veterinary Medicine, New Bolton Center, 382 West Street Road, 19348 Kennett Square, PA, USA
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M. and Gilani, A.H., 2007, *Moringa oleifera* Lam. : a Food Plant with Multiple Medicinal Uses. *Phytother Res*, 21:17-25
- Ardana, B. dan Putra, H. 2008, *Manajemen Reproduksi, Produksi Dan Penyakit Ternak Babi*. Udayana University Press. Bali
- Ax, R.L., Dally, M., Didion, B.A., Lenz R.W., Love C.C., Varner D.D., Hafez B., Bellin M.E. 2000a, *Semen Evaluation*. In: Hafez ESE, Hafez B, editor. *Reproduction in farm Animals*. 7th Ed. USA: Williams & Wilkins.
- Bebas, W., Budiasa, M.K. dan Astutik, I.Y. 2016, *Penambahan Vitamin C pada Pengencer Spermatozoa Babi Landrace yang disimpan pada Suhu 15 °C*
- Foeh, N.D.F.K. 2015, *Kualitas Semen Beku Babi dalam Pengencer BTS dan MIII menggunakan Krioprotektan Dimethylacetamide dan Gliserol dengan Sodium Dedocyl Sulphate*. Intitut Pertanian Bogor
- Gadea, J. 2003, *Semen Extenders Used in the Artificial Insemination of Swine*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 1 (2): 17-27.
- Gena, M.G.G. 2017, *Efektivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera Lam) Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana
- Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P. and Maxwell, W.M.C. 2000, *Storage of Boar Semen*. *Journal of Animal Science* 62: 143-172.

- Kartina. 2014, Pengaruh Lama Ekuilibrase terhadap Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah (PE). Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin
- MataHine, T., Burhanuddin dan Marawali, A. 2014, Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas spermatozoa, Viabilitas spermatozoa dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak, Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana. KupangPaulenz H, Kommsrud E, Hofmo PO. 2000. *Effect of Long-Term Storage at Different Tempertures on the Quality of Liquid Boar Semen. Journal of Reproduction Domestic Animals* 35: 83-85
- Robert, V.K. 2006, *Semen Processing, Extending & Storage for Artificial Insemination in Swine. Department of Animal Science University of Illinois.*
- Suhartono, Eko. 2016, Toksisitas Oksigen Reaktif dan Antioksidan di Bidang Kedokteran dan Kesehatan. ISBN 978-602-1107-80-5 p83, 151-156
- Sumardani, N.L.G., Tuty, L.Y. dan Siagian, P.H. 2007, Viabilitas spermatozoa dan Fertilitas Spermatozoa dalam Modifikasi Pengencer BTS dan Zorlesco dengan Penyimpanan Berbeda dalam Rangkaian Inseminasi Buatan pada Babi. Institut Pertanian Bogor
- Sumardani, N.L.G., Tuty, L.Y. dan Siagian, P.H. 2008, Viabilitas spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda. Fakultas Peternakan Udayana
- Toelihere, M.R. 1993, Inseminasi Buatan pada Ternak. Bandung: Angkasa.
- Winarno, F.G. 1992, Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta
- Yi, J.K., Ko, H.J., Lee, H.S., Yang, B.C. and Park, C.S. 2008, *In vitro fertilization and development of pig oocytes inseminated with boar sperm washing media after thawing of the frozen straw. Journal of Asian-Australian Animal Science.* 17(2): 164-167.
- Yusuf, T.L., Arifiantini, R.I., Dapawole, R.R. dan Nalley, W.M.M. 2016, Kualitas Semen Beku Babi dalam Pengencer Komersial yang Disuplementasi dengan Trehalosa. *Jurnal Veteriner.* pISSN: 1411-8327; eISSN: 2477-5665