



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

EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN DALAM PENGENCER SEMEN BABI LANDRACE BERBASIS AIR BUAH LONTAR

Maria Gisela G. Gena¹, Nancy D. F. K. Foeh², Cynthia D. Gaina²

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang

²Laboratorium klinik, Reproduksi, Patologi dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana, Kupang.

Abstract

Riwayat Artikel:

Diterima:

14 Juli 2019

Direvisi:

7 Juli 2020

Disetujui:

28 November 2020

Keywords:

antioxidants,
Moringa oleifera,
spermatozoa motility,
spermatozoa viability,
water palm fruit

Korespondensi:

shelagena@gmail.com

*This study aims to determine the antioxidant effect of the ethanol extract of the leaves of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) In water diluent palm fruit of the quality of landrace pig spermatozoa. This study uses a Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments, 1 control dan 4 repetitions and observation of the motility and viability of spermatozoa performed every 2 hours until a decline in the percentage motility of at least 40%. The cement used in the Laboratory of Technical Services Unit for Breeding and Forage at Tarus, Kupang. Escrow done every two weeks from the male landrace pigs who have experienced sexual maturity. Landrace pig semen storage results were evaluated macroscopically and microscopically. Good quality cement had $\geq 70\%$ motility, concentration $\geq 200 \times 10^6$ sel spermatozoa/ml and abnormalities of $\leq 20\%$. Cement is added to the water diluent palm fruit then added with antioxidants. Antioxidants should be added during the storage process, sperm metabolic activity produces free radicals that can degrade the quality of spermatozoa. Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.) Is one of the antioxidants that can be used to counteract free radicals. Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.) Is added to the water diluent palm fruit with graded doses are 1% (P1), 2% (P2), 3% (P3), 4% (P4) and 5% (P5). The results of this study indicate a dose of 1% (P1) is the best dosage to maintain the quality of the landrace pig spermatozoa of 66.25 ± 2.39 motility and viability of spermatozoa sebesar $78.00\% \pm 1.82\%$, which is stored at room temperature 22°C .*

PENDAHULUAN

Ternak babi memiliki semen yang berbeda dengan semen ruminansia lainnya seperti sapi dan kambing, karena spermatozoa semen babi mempunyai komposisi membran plasma yaitu phosphatidylethanolamine dan sphingomyelin mencapai 24% dan 14%, sehingga mudah mengalami cold shock saat proses preservasi (Paulenz et al., 2000). Semen babi dapat bertahan pada suhu 15-20 °C serta daya penyimpanan semen babi yang relatif singkat yaitu kisaran 3-7 hari tergantung pada bahan pengencer yang digunakan (Gadea, 2003; Paulenz et al., 2000; Robert, 2006). Pemilihan bahan pengencer sangat perlu diperhatikan untuk meningkatkan kualitas spermatozoa babi.

Salah satu bahan pengencer yang dapat digunakan untuk pengenceran semen babi adalah air buah lontar sebagai bahan pengencer alami dan mudah didapatkan di wilayah Nusa Tenggara Timur (NTT). Air buah lontar mengandung karbohidrat yang cukup tinggi dengan hasil analisis komposisi kimia air buah lontar menunjukkan bahwa kadar karbohidrat mencapai 4.19 % (MataHine, 1991 dalam MataHine, 2014). Karbohidrat yang tinggi dalam air buah lontar menghasilkan energi yang tinggi pula dengan kandungan glukosa, fruktosa dan sukrosa yang mampu dimetabolisir oleh spermatozoa menjadi energi yang siap digunakan berupa adenosine triphosphate (ATP). Adenosine triphosphate (ATP) merupakan energi hasil metabolisme karbohidrat yang akan dirombak menjadi adenosine monophosphate (AMP) dan adenosine diphosphate (ADP) (Ford, 2006) sehingga menghasilkan energi yang akan dipakai untuk pergerakan dan kelangsungan hidup spermatozoa (Mata Hine, 2014).

Metabolisme spermatozoa selama masa preservasi akan menghasilkan radikal bebas atau Reactive Oksigen Spesies (ROS) yang dapat menurunkan kualitas dari spermatozoa. Hal ini terjadi karena membran plasma spermatozoa memiliki kadar asam lemak tak jenuh yang tinggi pada phospholipid sehingga menyebabkan spermatozoa rentan terhadap bahaya ROS. Meningkatnya ROS dapat menyebabkan tingginya kadar malondialdehid (MDA). Malondialdehid merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid yang digunakan sebagai sumber biomarker peroksidasi lipid yang menggambarkan derajat stress oksidatif (Shofia et al., 2013).

Kerusakan membran spermatozoa akibat ROS dapat dicegah dengan senyawa antioksidan yang akan melengkapi kekurangan elektron oleh radikal bebas sehingga reaksi berupa 4 peroksidasi lipid dapat terhambat (Winarsi, 2007 dalam Fajrilah et al., 2013). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya reaksi autooksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Shui et al., 2004).

Salah satu bahan alami yang banyak mengandung antioksidan ditemukan dalam tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terutama pada bagian daun. Hasil penelitian Oka et al., (2016) menunjukkan bahwa daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki kandungan antioksidan 1014.51 mg/L dan kaya akan phytochemicals, protein, karoten, vitamin C, mineral, asam amino, senyawa flavonoid dan phenolic (Anwar, et al., 2007). Menurut Winarsi (2007) kandungan vitamin C dalam daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) lebih tinggi dibandingkan dengan jeruk dan daun jambu biji. Vitamin C yang berada di daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

mempunyai kemampuan sebagai antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas dan melindungi biomembran dari radikal bebas (Siregar, 2009).

Penelitian sebelumnya tentang uji efektivitas daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) secara *in vivo* pernah dilakukan oleh Ghasani (2016) dengan judul uji efektivitas ekstrak etanol 90% daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap konsentrasi spermatozoa, morfologi spermatozoa dan diameter tubulus seminiferus pada tikus jantan galur Sprague-Dawley. Uji efektivitas daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam semen belum pernah dilakukan untuk melihat kualitas spermatozoa pada ternak babi secara *in vitro*. Berdasarkan pemikiran diatas, peneliti tertarik melakukan penelitian dengan judul “penggunaan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai antioksidan dalam bahan pengencer air buah lontar terhadap kualitas spermatozoa babi landrace”.

METODOLOGI

Lokasi dan Waktu Penelitian Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2017 yang bertempat di Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Bioscience Universitas Nusa Cendana sebagai tempat pembuatan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan Laboratorium UPT Pembibitan dan Pakan Ternak Tarus, sebagai tempat penampungan semen. Materi Penelitian Materi penelitian ini terdiri dari bahan dan alat yang digunakan. Bahan penelitian yang digunakan adalah semen babi, daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) 5 air buah lontar, larutan etanol 96%, eosin 1% dan eosin 2%.

Peralatan yang digunakan adalah thermometer, erlenmeyer, aluminium

foil, hot plate, kertas saring, blender, batang pengaduk, rotary evaporator, object glass, cover glass, cold box, mikroskop, mikropipet, pH analitik, tabung reaksi, spoit, gelas ukur, kamar hitung, rak tabung, bunsen dan kertas label. Tahapan Penelitian Pembuatan Ekstak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Sampel daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) diambil dan dibersihkan dari kotoran yang melekat pada daun menggunakan air mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering diblender, lalu siap untuk diekstraksi dengan metode maserasi. Sebanyak 250 gram serbuk simplisia daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian direndam dengan larutan etanol 96% sebanyak 500 ml, ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 48 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 48 jam, sampel yang direndam tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat lalu dievaporasi menggunakan rotary evaporator selama 24 jam, sehingga diperoleh ekstrak kental daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) (Anonim, 1986). Penampungan dan Evaluasi semen

Pengambilan sampel dilakukan dua kali dalam seminggu dengan waktu pengambilannya pada pagi hari pukul 08.30-09.30 WITA. Semen segar babi memiliki fraksi gelatin sehingga pada saat penampungan semen segar babi, fraksi gelatin disaring dengan menggunakan kain kasa diatas tabung penampung. Semen hasil koleksi dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi makroskopis semen babi meliputi: a) Volume semen (ml) Volume semen segar babi diukur langsung dengan melihat skala pada gelas ukur, volume normal semen segar

babi tanpa gelatin adalah 150-400 ml (Garner dan Hafez, 2000) b)Warna Warna semen segar babi dapat dilihat secara visual, warna normal semen segar babi adalah putih susu (Gadea, 2003) c) Derajat keasamaan (pH) Pengukuran derajat keasamaan (pH) diukur dengan menggunakan pH meter, untuk memperoleh data yang akurat, sebelum pH meter digunakan maka dapat dilakukan kalibrasi terlebih dahulu. pH normal semen segar babi berkisar 7.3-7.8 (Garner dan Hafez, 2000). d) Konsistensi Untuk menilai konsistensi semen segar babi dilakukan dengan cara memiringkan tabung 6 yang berisi semen segar babi dan mengembalikan pada posisi semula. Konsistensi normal semen segar babi adalah encer (Foeh et al., 2015).

Evaluasi semen secara mikroskopis meliputi: a) Motilitas spermatozoa Persentase motilitas spermatozoa dihitung dengan cara meneteskan semen segar babi pada objek glass lalu ditutup menggunakan cover glass setelah itu diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x dan 40x. Persentase motilitas dinilai secara subjektif kuantitatif dengan membandingkan spermatozoa bergerak maju ke depan (progresif) dan yang tidak progresif. Penilaian diberikan dari angka 0% (tidak motil) sampai 100% (motil semua) (Ax et al., 2000). b) Viabilitas spermatozoa Persentase viabilitas spermatozoa dihitung menggunakan pewarnaan differensial menggunakan zat warna eosin 1%. Pemeriksaan dilakukan dengan cara meneteskan semen babi segar pada objek glass setelah itu ditetaskan zat warna eosin 1% lalu dihomogenkan, setelah dihomogenkan dibuat ulasan dengan cepat dan tipis pada objek glass, kemudian preparat ulas tersebut dikeringkan diatas hot plate lalu diamati dibawah mikroskop dengan

perbesaran 10x dan 40x. Spermatozoa dihitung minimal 200 sel spermatozoa dari 10 lapang pandang. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna (transparan) dan yang mati akan menyerap warna merah pada bagian kepala (Johnson et al., 2000). c) Konsentrasi spermatozoa Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan Neubauer Chamber dengan pengenceran 10 μ L semen dalam 990 μ L eosin 1% dan diamati dibawah mikroskop. Konsentrasi spermatozoa babi berkisar antara 150-300 juta/ml. Presentasi konsentrasi spermatozoa babi dapat dihitung dengan menggunakan rumus : Keterangan: • K1 (kamar Hitung 1) = 5 (A+B+C+D+E) x10⁶ sel spermatozoa/ml. • K2 (kamar Hitung 2) = 5 (A+B+C+D+E) x10⁶ sel spermatozoa/ml. • Kotak A, B, C, D dan E adalah kotak besar yang terdapat dalam Neubauer Chamber Gambar Kamar Hitung Neubauer chamber d) Abnormalitas Spermatozoa Abnormal spermatozoa diklasifikasi berdasarkan kelainan pada bagian kepala Jumlah spermatozoa hidup Total spermatozoa yang dihitung $K1 + K2 \times 10^6$ spermatozoa/ml (%) viabilitas = $\frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{total spermatozoa}} \times 100\%$ 7 (abnormalitas primer), bagian leher dan ekor (abnormalitas sekunder), Spermatozoa dihitung minimal 200 sel spermatozoa dari 10 lapang pandang, dihitung dengan rumus:

Jumlah spermatozoa abnormal Total spermatozoa yang dihitung Analisis Data Data hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis dianalisis secara deskriptif dengan Standar Error Mean (SEM) sedangkan rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan menggunakan uji Analysis of Variance (ANOVA) dan apabila terdapat perbedaan nyata antar

perlakuan, maka analisis dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar Babi Landrace Hasil pemeriksaan karakteristik semen segar babi landrace dalam penelitian ini yang meliputi makroskopis dan mikroskopis menunjukkan hasil yang baik. Pemeriksaan karakteristik semen segar babi landrace secara makroskopis menunjukkan rerata volume semen 308.75 ± 9.65 ml, berwarna putih susu dengan konsistensi yang encer dan pH 7.37 ± 0.02 . Pemeriksaan karakteristik semen segar babi landrace secara mikroskopis menunjukkan rerata motilitas spermatozoa 81.25 ± 1.25 %, viabilitas spermatozoa 90.50 ± 1.25 % dan konsentrasi $226.25 \pm 8.98 \times 10^6$ sel/ml. Hasil Evaluasi Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi Landrace dengan Penambahan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) pada Suhu Ruangan 22° C Presentase motilitas dan viabilitas spermatozoa babi landrace pada kontrol dan ke-5 perlakuan menunjukkan perbedaan nyata. Penurunan presentase motilitas dan viabilitas terjadi pada kontrol dan ke-5 perlakuan selama masa preservasi yang diamati tiap dua jam sekali selama 48 jam pada suhu ruangan 22° C. Hasil uji statistik menunjukkan penurunan presentase motilitas dan viabilitas selama 48 jam pada setiap perlakuan dan terjadi perbedaan yang nyata pada jam ke-40 begitu pula dengan kontrol terjadi penurunan secara berturut-turut namun hanya dapat bertahan selama 36 jam dalam suhu ruangan 22° C. Lamanya waktu penyimpanan berpengaruh terhadap penurunan presentase motilitas dan viabilitas spermatozoa babi landrace. Semakin lama waktu penyimpanan maka motilitas dan viabilitas spermatozoa juga

menurun. Hal ini disebabkan karena selama proses preservasi spermatozoa tetap abnormal (%) = $x100\%$

SIMPULAN

melakukan metabolisme yang menyebabkan reaksi oksidasi juga tetap berlangsung (Bebas, 2015). Hasil Evaluasi Uji Lanjut Duncan Evaluasi semen segar babi landrace yang telah diencerkan bertujuan untuk mengetahui perbandingan presentase motilitas dan viabilitas setiap perlakuan yang diberi antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Hasil evaluasi uji lanjut Duncan semen babi landrace yang dilakukan setiap 2 jam dalam bahan pengencer air buah lontar, yang ditambah dengan antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), menunjukkan bahwa P3, P4 dan P5 tidak ada perbedaan nyata ($P \geq 0.05$), namun terjadi perbedaan yang nyata ($P \leq 0.05$) pada P1, P2, P3, P4 dan P5. Presentase Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Air Buah Lontar dengan Penambahan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Perlakuan Parameter Motilitas Spermatozoa Rerata (Mean \pm SEM) % Viabilitas Spermatozoa Rerata (Mean \pm SEM) % K0 (36 jam) 40.00 ± 0.00 57.50 \pm 2.62 P1 (40 jam) $66.25 \pm 2.39a$ 78.00 \pm 1.82a P2 (40 jam) $50.00 \pm 2.04b$ 62.00 \pm 2.16b P3 (40 jam) $42.50 \pm 1.44c$ 53.50 \pm 1.50c P4 (40 jam) $41.25 \pm 1.25c$ 51.00 \pm 2.64c P5 (40 jam) $40.00 \pm 0.00c$ 52.50 \pm 2.21c Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata ($P \leq 0.05$) pada taraf 5% uji Duncan Hasil penelitian motilitas dan viabilitas spermatozoa menunjukkan lama penyimpanan setiap perlakuan selama 40 jam dan lama penyimpanan kontrol selama 36 jam. Presentase motilitas spermatozoa perlakuan I (P1)

66.25±2.39%, lebih baik dibandingkan perlakuan II (P2), perlakuan III (P3), perlakuan IV (P4) dan perlakuan V (P5). Hal ini karena pemberian dosis yang tepat pada P1 dibandingkan perlakuan lainnya. Hasil penelitian viabilitas spermatozoa setelah dilakukan uji lanjut Duncan sama dengan motilitas spermatozoa bahwa P1 berbeda nyata ($P \leq 0.05$) dengan P2, P3, P4 dan P5, sedangkan tidak terjadi perbedaan nyata ($P \geq 0.05$) pada P3, P4 dan P5. Hal ini dibuktikan dengan hasil presentase viabilitas spermatozoa P1 78.00±1.82%, lebih baik dibandingkan P2, P3, P4 dan P5, sedangkan viabilitas spermatozoa kontrol sebesar 57.50±2.62 bertahan selama 36 jam pada suhu ruangan 22° C.

Grafik Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Air Buah Lontar yang Diberi Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.).

Perlakuan	Presentase Viabilitas Spermatozoa (%)	Presentase Motilitas Spermatozoa (%)
P1	78.00±1.82	9.00
P2	57.50±2.62	9.00
P3	57.50±2.62	9.00
P4	57.50±2.62	9.00
P5	57.50±2.62	9.00

VIABILITAS MOTILITAS 9

Berdasarkan data grafik diatas hasil evaluasi motilitas dan viabilitas spermatozoa P1 berbeda nyata ($P \leq 0.05$) dari P2, P3, P4 dan P5 akan tetapi tidak terjadi perbedaan nyata ($P \geq 0.05$) pada P3, P4 dan P5. Perlakuan 1 dan 2 memberikan daya hidup yang baik namun P1 lebih unggul dari perlakuan lainnya, hal ini dikarenakan pemberian dosis ekstrak etanol daun kelor (*moringa oleifera* Lam.) yang tepat sebagai antioksidan. Penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa pada P2, P3, P4 dan P5 dapat disebabkan oleh efek pemberian antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang kurang tepat, dimana kandungan terbesar antioksidan dalam daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) adalah vitamin C. Hal ini

sesuai dengan pendapat Rizal dan Herdis, (2010) bahwa Penambahan vitamin C pada pengencer semen dapat menyebabkan perubahan pH karena vitamin C bersifat asam. Spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH medium dari keadaan netral, terutama terhadap pH rendah, penambahan yang berlebihan dapat menurunkan kualitas semen. Penurunan persentase motilitas maupun viabilitas spermatozoa selama pengamatan diakibatkan juga oleh pengaruh metabolisme spermatozoa selama masa preservasi. Proses metabolisme spermatozoa akan memproduksi energi dan asam laktat sebagai sisa metabolisme. Penimbunan asam laktat menyebabkan spermatozoa mengalami kematian, hal ini sesuai dengan pendapat Setiadi dan Julizar (2001) yang menyatakan bahwa penurunan motilitas spermatozoa setelah penyimpanan yang lama lebih diakibatkan oleh pengaruh toksik hasil sampingan dari proses metabolisme spermatozoa. Knox (2006) juga menegaskan bahwa sisa metabolisme selama masa preservasi menghasilkan jumlah asam laktat yang tinggi sehingga dapat menurunkan kadar pH dan menyebabkan spermatozoa mati. Selama kelangsungan hidup spermatozoa, sumber energi juga mempengaruhi presentase motilitas maupun viabilitas spermatozoa babi landrace. Salah satu sumber energi yang digunakan dalam penelitian ini adalah air buah lontar yang memiliki karbohidrat cukup tinggi yaitu 4.19%. Karbohidrat yang terkandung di dalam air buah lontar berupa fruktosa, glukosa dan sukrosa yang dapat dimetabolisir oleh spermatozoa menjadi energi yang siap digunakan dalam bentuk adenosine triphosphate (ATP) (MataHine, 2014), sehingga mampu mempertahankan kualitas spermatozoa.

Penelitian ini membuktikan bahwa penambahan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dalam pengencer air buah lontar dapat mempertahankan kualitas 10 spermatozoa selama 40 jam sedangkan kontrol semen yang ditambah pengencer air buah lontar hanya dapat mempertahankan kualitas spermatozoa selama 36 jam. Hal ini membuktikan bahwa penambahan antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) kedalam pengencer air buah lontar sangat baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa. Penambahan antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) kedalam pengencer air buah lontar membuktikan bahwa antioksidan mampu meredam radikal bebas atau Reactive Oxygen Species (ROS). Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu bahan yang mengandung antioksidan untuk bisa meredam senyawa radikal bebas yang ada disekitarnya. Antioksidan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang kaya akan vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan dapat menghentikan proses perusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan untuk mengambil elektron dari sel spermatozoa. Mekanisme kerja antioksidan sendiri adalah dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkap radikal bebas (free radical scavenger), akibatnya radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler, sehingga dengan demikian penambahan antioksidan ekstrak etanol daun kelor

(*Moringa oleifera* Lam.) dapat membantu mempertahankan kualitas spermatozoa dengan mempertahankan membran spermatozoa babi landrace.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelman M.M, Cahil E.M. 1989. Atlas Sperm Morphology. Chicago, IL: ASCP Press. Anonim. 1986. Sediaan Galenik. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., Gilani, A.H., 2007, *Moringa oleifera* Lam.: a food plant with multiple medicinal uses. *J. Phy. Res*, 21:17-25.
- Arifiantini, RI. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. IPB press: Bogor. PP 69-71.
- Ax, R.L, Dally M, Didion B.A, Lenz R.W, Love C.C, Varner D.D, Hafez B, Bellin M.E. 2000. Semen evaluation. In: Hafez B. Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Journal Philadelphia (US): Lippincott Williams dan Wilkins. PP 365-389.
- Badan Pusat Statistika. 2013. *Populasi Ternak Kecil Menurut Jenis Ternak Menurut Kabupaten/Kota 2004-2013*. Nusa Tenggara Timur Badan Pusat Statistika.
2015. *Populasi Babi Menurut Provinsi 2009-2015*. Indonesia
- Bebas, W., Made Kota Budiasa, Ika Yuni Astutik. 2015. Penambahan Vitamin pada Pengencer Spermatozoa Babi Landrace yang Disimpan pada Suhu 15°C. *Laboratorium Reproduksi Veteriner Universitas Udayana*. Denpasar-Bali. *J. Buletin Veteriner Udayana*. 7 (2): 179-185

- Bebas, W., Geovany Larastiyani Buyona, Made Kota Budiasa. 2016. Penambahan Vitamin E Pada Pengencer BTS® Terhadap Daya Hidup Dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace Pada Penyimpanan 15°C. Reproduksi Veteriner Universitas Udayana. Denpasar-Bali. J. Buletin Veteriner Udayana. 8 (1): 1-7
- Breining E, Beorlegui NB, OFlaherty CM. 2004. Alpha-Tocopherol Improves Biochemical And Dynamic Parameters In Cryopreserved Boar Semen. J. Therio. 63: 2126-2135.
- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivtongngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Pongrapeeporn, K., 2008. The In Vitro and Ex Vivo Antioxidant 12 Properties, Hypolipidaemic And Antiatherosclerotic Activities of Water Extract of Moringa oleifera Lam Leaves. J. Ethnophar. 116: 439- 446
- Dima, L.L.R.H., Fatimawali, Widya Astuty Lolo. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.) terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus. Program Studi Farmasi FMIPA Unsrat Manado. J. Ilmiah Farmasi-Unsrat. 5 (2)
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2013. Statistik peternakan dan kesehatan hewan 2013. Jakarta (Indonesia): Ditjen Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2016. Populasi Babi Menurut Provinsi. Ditjen.
- Fajrilah, B.R., Indrayani U.D., Djam'an Q. 2013. Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Plasma Darah pada Tikus yang Diinduksi Alloxan Studi Experimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. J. Sains Medika. 5 (2).
- FAO. 2009. The State of The World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Rischkowsky B, Pilling D, editors. Rome (Italy): Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Foeh, N. D. F. K., Raden Iis Arifiantini, Tuty Laswardy Yusuf. 2015a. Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Babi Duroc Dalam Extender Beltsville Thawing Solution Menggunakan Krioprotektan Gliserol Dan Dimetilacetamida. Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana: Kupang. J. Kajian Vet. 4.
- Foeh, N. D. F. K. 2015b. Kualitas Semen Beku Babi Dalam Pengencer Bts Dan Miii Menggunakan Krioprotektan Dimethylacetamide Dan Gliserol Dengan Sodium Dedocyl Sulphate. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ford, WCL. 2006. Glycolysis and sperm motility: does a spoonful of sugar help the flagellum go round. J. Hum. Repro. Update 12(3):269-274.
- Frangez R, Gider T, Kosec M. 2005. Frequency of boar ejaculate

- collection and its influence on semen quality, pregnancy rate and litter size. *J. Acta Vet. BRNO*. 74:265-273.
- Gadea, J. 2003. Semen extenders used in the artificial insemination of Swine. *J. of Agric.* 1(2): 17-27
- Garner, D.L and Hafez, E.S.E. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Hafez ESE, Hafez B, editor. *Reproduction in farm Animals*. 7th Ed. USA: Williams dan Wilkins.
- Geong, M. dan Johanis, L. 2010. Budidaya Ternak Babi Komersial oleh Peternak Kecil di NTT - Peluang untuk Integrasi Pasar yang Lebih Baik. *Australian Centre for International Res. Australia Indonesia Partnership. ACIAR. Australia*. PP 9-11
- Ghazani. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 90% Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) Terhadap Konsentrasi Spermatozoa, Morfologi Spermatozoa dan Diameter Tubulus Seminiferous pada Tikus Jantan Galur Sprague-Dawley. *Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Farmasi, UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta*
- Graham, L.H, Bando J, Gray C, Buhr MM. 2004. Liquid storage of asian (*Elephas Maximus*) sperm at 4° C. *J. Ani. Repro. Sci.* 80: 329-340. 13
- Hafez, B. and E.S.E Hafez. 2000. *Reproductive Behavior*. In: Hafez ESE, Hafez B, editor. *Reproduction in farmachology Animals*. 7th Ed. USA: Williams dan Wilkins. Philadelphia.
- Holden, PJ, Ensminger, ME. 2006. *Swine Science*. 7th ed. Iowa: Iowa State University Press.
- Indriani, Susilawati, T. dan Wahyuningsih, H. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousinyang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. *J. Vet.* 14(3):379-380
- Ishlahiyah. 2006. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Jantan Strain Balb/C Yang Diberi Paparan Asap Rokok. *Artikel Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang*.
- Johnson, L. A., K. F. Weitze, P. Fiser and W. M. C. Maxwell. 2000. Storage of Boar Semen. *J. Anim.Sci.* 62:143- 172
- Kristina, Natalini nova dan sitti Fatimah Syahisusetyd. 2014. Pemanfaatan Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) untuk Meningkatkan Produksi Air Susu Ibu. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 20 (3)
- Leone, Alessandro, Alberto Spada, Alberto Battezzatti, Alberto Schiaraldi, Junior Aristil dan Simona Bertoli. 2015. *Cultivation, Genetic, ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of Moringa oleifera leaves: An Overview*. *Int. J. Mol. Sci.* 16:PP.12791-12835
- MataHine, T. 1991. Pengaruh Penambahan Beberapa Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. *J. Kupang. Fakultas Peternakan Universitas Nusa Cendana*.
- MataHine, T. 2014. Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas, Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi

- Bali. Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Ternak, Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana. Kupang. *J. Vet.* 15 (2): 263- 273.
- Mere, 2016. Air Kelapa dan air Buah Lontar Sebagai Modifikasi Pengencer Alternatif pada Semen Babi Landrace. Skripsi. Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran hewan, Universitas Nusa Cendana, kupang.
- Mishra, Garima et al., 2011. Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Properties of Moringa oleifera plant: An Overview. *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre.* 3 (2): PP. 141- 164.
- Neno, 2016. Pengaruh Pengencer Komersial dengan Metode Water Jacket dan Non Water Jacket terhadap Kualitas Spermatozoa. Skripsi. Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran hewan, Universitas Nusa Cendana, kupang.
- Novia D. D., Ismaya, dan Widya A. 2015. Pengaruh Pengenceran Sperma dengan Air Kelapa dan Aras Kuning Telur Itik Serta Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba Garut pada Penyimpanan 5° C. Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. *Buletin Peternakan.* 39 (3): 149-156.
- Oka, Wiyana, Sugith, Miwada. 2016. Identifikasi Sifat Fungsional dari Daun Jati, Kelor dan Kayu Manis dan Potensinya sebagai Sumber Antioksidan pada Edible Film. Fakultas Peternakan dan Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Bali.
- Owalabi, J.O. dan Ogunnaiko P.O. 2014. Histological Evaluation of the Effect of Moringa Leaf Extract Treatment on Vital Organ of Murine Models. *Merit Research J. of Medic and Sci.* 2: PP 245-257.
- Pandey, A., R.D. Pandey., P. Tripathi., P.P. Gupta., J. Haider., S. Bhatt., A.V Singh. 2012. Moringa oleifera Lam. (Sahijan) – A Plant with Plethora of Diverse Therapeutic Benefits: An Updated Resrospection.
- Patel Pinal, Patel Nivedita, Patel Dhara, Desi Sharav dan Meshram Dhananjay. 2014. Phytochemical Anilysis and Antifungal Activity of Moringa oleifera. *Inter. J. of pharma and Pharma Sci.* 6:PP 1-4.
- Paulenz, H, Kommsrud E, Hofmof PO. 2000. Effect of long-term storage at different temperatures on the quality of liquid boar semen. *J. Anim. Repro.* 35: 83-85.
- Payung, R. 2015. Pengaruh Perbedaan Komposisi Kuning Telur Itik Dan Air Kelapa Muda Sebagai Pengencer Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Pasca Thawing Di Unit Pelaksana Teknis Daerah Inseminasi Buatan Pucak Kabupaten Maros. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Hassanuddin Makasar.
- Prastowo, A. 2008. ‘Morfologi dan Morfometri Spermatozoa Babi Yorkshire dalam Nilai Ejakulat dengan Pewarnaan Williams’. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. pp 11-14
- Robert, V.K. 2006. Semen Processing, Extending dan Storage for

- Artificial Insemination in Swine. Department of Animal Science University of Illinois.
- Rothschild, M.F, Ruvinsky A, Larson G, Gongora J, Cucchi T, Dobney K, Andersson L, Plastow G, Nicholas FW, Moran C, et al., 2011. The genetics of the pig. 2nd ed. Rothschild MF, Ruvinsky A, editors. London: CAB International. Salmah, N. 2014. Motilitas, Persentase Hidup Dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali Pada Pengencer Andromed Dan Tris Kuning Telur. Skripsi. Fakultas Peternakan, Universitas Hasanudin Makassar.
- Sayuti, Kesuma dan Yenrina Rina. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press. Padang.
- Setiadi, M.A, Julizar. 2001. Prediksi Kesuburan Spermatozoa Domba Melalui Uji Penembusan Lendir Estrus. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Shipley, C.F. 1997. Breeding Soundness Examination of the Boar Swine Health. J. 7 (3): 117-120
- Shofia, V., Aulanni'am, Mahdi, C., 2013, Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (Sargassum Prismaticum) terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal pada Tikus (Rattus Norvegicus) Diabetes Melitus Tipe 1, Kimia. Studentjournal. 1. PP. 119-125.
- Shui G, Wong SP, Leong L P. 2004. Characterization of antioxidants and change of antioxidant levels during storage of Manilkara zapota L. Agriculture Food Chemi, 52: 7834- 7841.
- Siregar, H. J. 2009. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Sel Leydig Dan Jumlah Sperma Mencit Jantan Dewasa Yang Dipapari MSG. M. Biomed Tesis. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Sihombing, D.T.H. 2006. Ilmu Ternak Babi. Gajah Mada University Press Yogyakarta. PP 19.
- Soluhati, Nurholiday dan Kune, Petrus. 2009. Pengaruh Jenis Pengencer terhadap Motilitas dan Daya Tahan hidup Spermatozoa Semen Cair Simmental. Fakultas Peternakan, Universitas Padjajaran : Bandung.
- Standar Nasional Indonesia. 2013. Bibit Babi-Bagian 1: Landrace. Badan Standardisasi Nasional.
- Standar Nasional Indonesia. 2014. Semen cair babi. Badan Standardisasi Nasional.
- Sumardani NLG. 2007. Viabilitas dan Fertilitas Spermatozoa dalam Modifikasi Pengencer BTS Dan Zorlesco dengan Penyimpanan Berbeda dalam Rangkaian Inseminasi Buatan pada Babi. Tesis. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Sukmawati, E., Arifiantini RI, Purwantara B. 2014. Daya Tahan Spermatozoa terhadap Proses Pembekuan pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. Skripsi. Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. 19 (3): 168-175.
- Sulistiyowati, Y., 2006. Pengaruh Pemberian Likopen terhadap Status Antioksidan (Vitamin C,

- Vitamin E dan Gluthathion Peroksidase) Tikus (*Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley) Hiperkolesterolemik. Tesis. Program Studi Magister Ilmu Biomedik. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Sumardani, N.L.G., Tuty L.Y. dan Pollung, H.S. 2008. Viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer Beltsville Thawing Solution (BTS) pada tiga tempat penyimpanan berbeda.
- Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2008. Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Bali. PP 612-615. Soewandi, B.D.P., Sumadi, dan Hartatik, T. 2013. Estimasi Output Babi di Kabupaten Tabanan Provinsi Bali. *Buletin Peternakan* 37(3): 167-169.
- Tahir, M., Hikmah, N. dan Rahmawati. 2015. Analisis Kandungan Vitamin C Dan β -Karoten Dalam Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia. J. Fitofarma. Indonesia.* 3 (1)
- Tamoes, J. A., W. M. Nalley dan T. M. Hine. 2014. Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco dengan Susu Kacang Kedelai. *Fakultas Peternakan Universitas Nusa Cendana Kupang. J. Sains Peternakan.* 12 (1).
- Ugwu SOC, Onyimonyi AE, Foleng H. 2009. Testicular development and relationship between body weight, testis size and sperm output in tropical boars. *Af. J. Biotech.* 8(6):1165-1169. United States Departemen of Agriculture n.d. Plant database of *Moringa oleifera*. Diakses melalui <http://plants.usda.gov>
- Vyt, P. 2007. Examination and storage of liquid porcine semen. Thesis. Ghent University. Belgia.
- Wolf J, Smital J. 2009. Effects in Genetic Evaluation For Semen Traits In Czech Large White And Czech Landrace Boars. *J. Anim. Sci.* 54(8):349-358
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*, Cetakan I, Kanisius, Yogyakarta. PP 12-53.
- Winarsi, H., 2010, *Protein Kedelai dan Kecambah, Manfaatnya bagi 16 Kesehatan*, Cetakan I, Kanisius, Yogyakarta. PP 170-171.
- Zhou JB, Yuek KZ, Luo MJ, Chang ZL, Liang H, Wang ZY, Tan JH. 2004. Effect of extender and temperatures on sperm viability and fertility capacity of harbin white boar semen during long-term liquid storage. *J. As-Aus. Anim. Sci.* 17(11): 1501- 1508.