

## **PENGENCER SEMEN YANG DIPERKAYA MINYAK IKAN MENJAGA KUALITAS SPERMATOZOA BABI (*Sus scrofa domesticus*) SELAMA PENYIMPANAN JANGKA PENDEK**

### ***Fish Oil Enriched Semen Extender Protect Boar (*Sus scrofa domesticus*) Spermatozoa Quality During Short Term Storage***

**Parsaoran Silalahi\*, Pohan Panjaitan, Imelda Tafonao**

Fakultas Peternakan, Universitas HKBP Nommensen, Medan, Sumatera Utara, 20234, Indonesia

\*Correspondent author email: [parsaoran.silalahi@uhn.ac.id](mailto:parsaoran.silalahi@uhn.ac.id)

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan minyak ikan dalam pengencer semen terhadap kualitas spermatozoa babi selama penyimpanan 24 jam pada suhu 15°C. Semen segar dikoleksi dari satu ekor babi jantan dewasa dengan motilitas awal  $\geq 70\%$ , kemudian diencerkan menggunakan pengencer glukosa–sitrat–EDTA dengan penambahan minyak ikan sebanyak 0 g (P<sub>0</sub>), 0,15 g (P<sub>1</sub>), 0,30 g (P<sub>2</sub>), dan 0,45 g (P<sub>3</sub>) per 1.000 mL. Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan empat ulangan. Parameter yang diamati meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan pH semen setelah penyimpanan 24 jam. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan minyak ikan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap viabilitas spermatozoa, tetapi tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap motilitas, abnormalitas, dan pH semen. Perlakuan P<sub>1</sub> menghasilkan viabilitas tertinggi (93,25%), sedangkan P<sub>3</sub> terendah (82,00%). Motilitas dan abnormalitas menunjukkan pola perbaikan pada dosis rendah, namun menurun pada dosis tinggi. Nilai pH stabil (6,7–7,2) pada semua perlakuan. Kesimpulannya, penambahan minyak ikan dosis rendah (0,15 g/1.000 mL) efektif mempertahankan kualitas spermatozoa tanpa mengubah kondisi kimia pengencer, sehingga berpotensi digunakan dalam formulasi pengencer alami untuk program inseminasi buatan di daerah tropis.

**Kata-kata kunci:** kualitas semen, inseminasi buatan, minyak ikan, pengencer semen, spermatozoa

### **ABSTRACT**

This study aimed to evaluate the effect of fish oil addition to semen extender on the quality of boar spermatozoa during 24-hour storage at 15°C. Fresh semen was collected from a healthy adult boar with initial motility  $\geq 70\%$  and diluted using a glukosa–sitrat–EDTA extender supplemented with 0 g (P<sub>0</sub>), 0.15 g (P<sub>1</sub>), 0.30 g (P<sub>2</sub>), and 0.45 g (P<sub>3</sub>) of fish oil per 1.000 mL. The experiment was arranged in a completely randomized design (CRD) with four treatments and four replications. Parameters observed included motility, viability, abnormality, and semen pH after 24-hour storage. Analysis of variance showed that fish oil addition had a highly significant effect ( $P < 0.01$ ) on sperm viability, but no significant effects ( $P > 0.05$ ) on motility, abnormality, or pH. The highest viability was found in P<sub>1</sub> (93.25%) and the lowest in P<sub>3</sub> (82.00%). Motility and abnormality improved at low doses but declined at higher concentrations. The pH values remained stable (6.7–7.2) across all treatments. In conclusion, adding a low dose of fish oil (0.15 g/1.000 mL) effectively maintained spermatozoa quality without altering extender chemistry, suggesting its potential as a natural additive for semen extender formulations in tropical artificial insemination programs.

**Keywords:** semen quality, artificial insemination, fish oil, semen extender, spermatozoa

## PENDAHULUAN

Babi (*Sus scrofa domestica*) merupakan salah satu ternak penghasil protein hewani penting, terutama di wilayah Sumatera Utara yang dikenal sebagai sentra utama produksi dan konsumsi daging babi nasional. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS, 2024), produksi daging babi di Sumatera Utara mencapai  $\pm 11.180$  ton, menjadikannya provinsi dengan produksi tertinggi di Indonesia. Namun, populasi babi di daerah ini menunjukkan fluktuasi tajam dalam beberapa tahun terakhir. Sebelum wabah *African Swine Fever* (ASF), populasi babi di Sumatera Utara dilaporkan mencapai lebih dari 1 juta ekor (2019), menurun drastis menjadi sekitar 211 ribu ekor pada 2022 akibat dampak penyakit tersebut dan penurunan daya reproduksi (CNBC Indonesia, 2024; BPS, 2024). Kondisi ini menegaskan pentingnya peningkatan efisiensi reproduksi, khususnya melalui penerapan inseminasi buatan (IB) dengan kualitas semen unggul untuk mempercepat pemulihan populasi ternak babi di wilayah ini.

Keberhasilan program inseminasi buatan sangat ditentukan oleh kualitas semen yang digunakan, sementara semen babi dikenal memiliki daya simpan yang relatif rendah akibat tingginya kandungan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) pada membran spermatozoa. Kondisi ini membuat spermatozoa mudah mengalami peroksidasi lipid (Yuan *et al.*, 2023; Collodel *et al.*, 2020). Proses oksidasi tersebut dapat menurunkan motilitas, viabilitas, dan integritas membran spermatozoa, terutama di lingkungan tropis dengan suhu dan kelembapan tinggi (Aitken dan Curry, 2011). Oleh karena itu, strategi pengawetan semen babi di daerah tropis perlu diarahkan pada penggunaan bahan alami yang

mampu menekan stres oksidatif dan menjaga stabilitas struktur membran.

Upaya peningkatan stabilitas dan daya hidup spermatozoa dapat dilakukan dengan menambahkan bahan alami yang kaya antioksidan seperti Vitamin C, (tokoferol), Selenium, Zinc dan senyawa alami seperti Glutathione, Astaxanthin, serta ekstrak tumbuhan (seperti bawang dayak, kelor) ke dalam pengencer semen. Minyak ikan diketahui mengandung *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA) yang berfungsi memperkuat struktur membran, menjaga fluiditas, dan menghambat stres oksidatif Blagojević *et al.* (2024) serta meningkatkan aktivitas mitokondria spermatozoa (Liu *et al.*, 2017; Hsu *et al.*, 2025). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa suplementasi minyak ikan dalam pakan atau pengencer dapat menjaga kualitas spermatozoa Galić *et al.*, (2022), meskipun efektivitasnya bergantung pada dosis dan kondisi penyimpanan.

Namun, kajian mengenai penambahan minyak ikan langsung ke dalam pengencer semen babi di daerah tropis masih terbatas. Suhu lingkungan yang tinggi berpotensi mempercepat oksidasi lipid, sehingga diperlukan penelitian untuk menentukan dosis optimal minyak ikan yang dapat mempertahankan kualitas semen selama penyimpanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan minyak ikan pada berbagai dosis terhadap kualitas spermatozoa babi selama penyimpanan 24 jam pada suhu 15°C. Hasil penelitian diharapkan menjadi dasar dalam pengembangan pengencer alami berbasis lipid untuk mendukung program IB di wilayah tropis.

## METODE PENELITIAN

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Lapang, Fakultas Peternakan Universitas HKBP Nommensen, Medan, Sumatera Utara, selama bulan Maret hingga Mei 2025. Analisis kualitas semen dilakukan di

Laboratorium Reproduksi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas HKBP Nommensen menggunakan peralatan analisis motilitas berbasis digital (CASA) dan instrumen pengukuran laboratorium standar.

## Hewan dan Koleksi Semen

Semen dikoleksi dari seekor babi jantan dewasa sehat berumur sekitar 2 tahun dengan berat badan  $\pm 250$  kg dan motilitas awal minimal 70%. Pengambilan semen dilakukan menggunakan metode tangan (*hand-glove method*) dua kali per minggu. Hanya fraksi semen bagian tengah (*sperm-rich fraction*) yang digunakan untuk penelitian. Semen yang telah dikoleksi segera dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis untuk memastikan kualitas awal sebelum perlakuan.

## Pengenceran dan Perlakuan

Semen segar diencerkan menggunakan pengencer dasar glukosa-sitrat-EDTA, bahan pengencer dipersiapkan satu jam sebelum penampungan semen dengan melarutkan 20 gram glukosa, 1,2 gram natrium bikarbonat, 3,6 gram natrium sitrat, dan 2 gram EDTA ke dalam 1 liter aquades steril. Larutan dihomogenkan secara perlahan hingga semua bahan terlarut sempurna, kemudian ditempatkan dalam *water bath* bersuhu 37°C untuk menjaga kestabilan suhu dan osmolalitas pengencer. Setelah pengencer dasar siap, dilakukan penambahan minyak ikan murni sesuai perlakuan, yaitu:  $P_0 = 0$  g (kontrol),  $P_1 = 0,15$  g,  $P_2 = 0,30$  g, dan  $P_3 = 0,45$  g minyak ikan per 1.000 mL pengencer dasar. Setiap campuran dihomogenkan secara perlahan-lahan menggunakan pengaduk magnetik spinbar selama 5 menit untuk memastikan distribusi minyak ikan merata di dalam pengencer. Semen yang telah ditampung dibagi ke dalam 4 bagian kemudian diencerkan dengan pengencer perlakuan dengan perbandingan 1:3. Setiap perlakuan dibagi dalam empat ulangan yang dikemas dalam botol semen berukuran 80 mL kemudian disimpan dalam *coll box* bersuhu 15-18°C selama 24 jam untuk evaluasi kualitas spermatozoa.

## Evaluasi Kualitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa dianalisis menggunakan AndroScope® (Minitube, Germany) yang bekerja berdasarkan prinsip *Computer Assisted Sperm Analysis* (CASA). Sistem ini merekam dan menganalisis gerakan spermatozoa secara digital menggunakan

kamera CMOS berkecepatan tinggi dan perangkat lunak bawaan. Sampel semen sebanyak 5  $\mu$ L ditempatkan pada kaca objek hangat (37°C) dengan perbesaran 200 $\times$ . AndroScope menghitung persentase spermatozoa progresif berdasarkan parameter kecepatan lintasan (VCL), kecepatan rata-rata lintasan (VAP), dan kecepatan langsung (VSL). Nilai motilitas total (%) dihitung sebagai proporsi spermatozoa progresif terhadap total spermatozoa yang diamati.

Viabilitas spermatozoa ditentukan dengan metode pewarnaan eosin-nigrosin. Sampel semen dicampur dengan larutan pewarna (1:1), kemudian dibuat preparat ulas, dikeringkan, dan diamati di bawah mikroskop Olympus CX-23 dengan perbesaran 400 $\times$ . Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna, sedangkan yang mati berwarna merah muda. Hasil pengamatan dinyatakan sebagai persentase spermatozoa hidup dari total 200 sel yang diamati.

Persentase abnormalitas spermatozoa diamati dengan mikroskop Olympus CX-23 pada perbesaran 400 $\times$ . Sampel semen diencerkan dengan larutan eosin-nigrosin kemudian dibuat preparat ulas kemudian dikeringkan diatas bunsen. Abnormalitas morfologis dibedakan menjadi kelainan kepala, leher, ekor, atau kombinasi. Persentase dihitung dari 200 spermatozoa yang diamati.

Nilai pH semen diukur menggunakan kertas pH indikator khusus (Merck®, Germany) dengan rentang sensitivitas 6,4–8,0 dan ketelitian 0,2 unit. Sebanyak 20  $\mu$ L semen diteteskan pada kertas pH, kemudian warna yang muncul setelah 15 detik dibandingkan dengan skala standar Merck untuk menentukan nilai pH aktual. Pengukuran dilakukan segera setelah penyimpanan 24 jam. Metode ini memberikan hasil cepat dan akurat dalam kisaran fisiologis semen babi.

## Rancangan Percobaan dan Analisis Statistik

Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan empat ulangan. Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan apabila terdapat perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ), dilanjutkan dengan uji pembeda nyata terkecil *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT). Analisis dilakukan

menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25.0 (IBM Corp., USA). Nilai rata-rata disajikan bersama *Standard Error of Mean* (SEM).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata hasil pengamatan terhadap kualitas spermatozoa babi setelah penambahan minyak ikan dengan berbagai dosis selama penyimpanan 24 jam pada suhu 15°C disajikan pada Tabel 1. Secara umum, penambahan minyak ikan berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa, sedangkan motilitas, abnormalitas, dan pH semen tidak

menunjukkan perbedaan nyata ( $P > 0,05$ ). Nilai motilitas spermatozoa berkisar antara 45,85–53,45%, viabilitas 82,00–93,25%, abnormalitas 16,0–20,0%, dan pH semen 6,7–7,2. Perlakuan P<sub>1</sub> (0,15 g/1000 mL minyak ikan) menunjukkan nilai viabilitas tertinggi dan motilitas yang relatif lebih baik dibandingkan perlakuan lain.

Tabel 1. Hasil Penelitian Kualitas Spermatozoa Babi Setelah Penambahan Minyak Ikan

Parameter	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	SEM	P-Value
Motilitas (%)	45.85	53.45	49.6	47.36	2.74	0.234
Viabilitas (%)	86.38 <sup>AB</sup>	93.25 <sup>A</sup>	89.5 <sup>A</sup>	82.0 <sup>B</sup>	1.5	0.003
Abnormalitas (%)	19.0	16.0	18.5	20.0	0.85	0.218
pH Semen	7.1	6.7	7.0	7.0	0.12	0.451

Keterangan: Nilai merupakan rataan dari empat ulangan per perlakuan. P<sub>0</sub> = kontrol tanpa minyak ikan, P<sub>1</sub> = 0,15 g minyak ikan/1000 mL, P<sub>2</sub> = 0,30 g/1000 mL, P<sub>3</sub> = 0,45 g/1000 mL. SEM = *Standard Error of Mean*. Huruf superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan sangat nyata ( $P < 0,01$ ).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan minyak ikan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap viabilitas spermatozoa, namun tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap motilitas, abnormalitas, dan pH semen. Hal ini mengindikasikan bahwa

minyak ikan berperan penting dalam mempertahankan integritas membran spermatozoa, namun tidak cukup kuat untuk memodifikasi aktivitas metabolik yang memengaruhi gerakan atau struktur morfologinya.

### Motilitas Spermatozoa

Nilai motilitas spermatozoa dalam penelitian ini tergolong sedang (45–53%), dan masih dalam kisaran yang dilaporkan oleh penelitian tropis lainnya. Sugiantini *et al.*, (2023) yang melaporkan bahwa motilitas semen segar babi lokal mencapai 80% namun menurun signifikan setelah penyimpanan lebih dari 12 jam, hal ini menunjukkan sensitivitas spermatozoa babi terhadap kondisi tropis, dimana suhu tinggi di daerah tropis dan kelembapan yang tinggi mempercepat kerusakan spermatozoa. Hasil ini juga sejalan dengan Arsadana *et al.*, (2025) yang melaporkan motilitas 59–62% setelah 24 jam penyimpanan menggunakan pengencer berbasis air buah lontar dengan tambahan kuning telur dan ekstrak daun kelor.

Kecenderungan daya tahan motilitas pada perlakuan P<sub>1</sub> (16,5% lebih tinggi dari kontrol) menunjukkan bahwa dosis rendah minyak ikan membantu mempertahankan fluiditas membran melalui suplai asam lemak tak jenuh ganda (DHA dan EPA) yang menjaga stabilitas struktur fosfolipid (Alvarez dan Aitken 2012). Namun, dosis tinggi justru dapat meningkatkan peroksidasi lipid, menurunkan fungsi mitokondria dan aktivitas gerak spermatozoa (Galić *et al.*, 2022; Khophloiklang *et al.*, 2024).

### Viabilitas Spermatozoa

Perlakuan P<sub>1</sub> menghasilkan viabilitas tertinggi (93,25%) dan berbeda nyata dibanding perlakuan lain ( $P < 0,01$ ). Penambahan minyak ikan dalam jumlah kecil meningkatkan integritas membran melalui

perlindungan terhadap stres oksidatif. Hasil ini sejalan dengan penelitian Naibina *et al.*, (2025) yang melaporkan peningkatan viabilitas semen Babi Landrace pada penggunaan pengencer air kelapa dan madu hutan (*Apis dorsata*) yang mengandung senyawa antioksidan alami. Demikian pula, Tako *et al.*, (2025) menemukan bahwa peningkatan komponen lipid alami dalam pengencer meningkatkan viabilitas spermatozoa hingga 85–90% pada penyimpanan 24 jam. Temuan ini menegaskan bahwa di lingkungan tropis, sumber lipid alami seperti minyak ikan berperan sebagai pelindung terhadap kerusakan membran plasma akibat oksidasi, yang umumnya mempercepat kematian spermatozoa. Penelitian serupa oleh Sutriana *et al.*, (2021) juga melaporkan bahwa pemberian ekstrak tanaman kaya antioksidan mampu meningkatkan viabilitas dan daya hidup spermatozoa Domba Garut selama penyimpanan.

### **Abnormalitas Spermatozoa**

Persentase abnormalitas spermatozoa berkisar antara 16,0–20,0%, masih dalam batas fisiologis untuk semen babi yang layak digunakan pada inseminasi buatan (Waberski *et al.*, 2019). Tingginya abnormalitas pada penelitian ini mungkin terjadi karena penyimpanan sampel masih menggunakan *cool box*, dimana suhu belum bisa dipertahankan pada suhu yang tetap selama 24 jam sehingga mengakibatkan kerusakan spermatozoa. Hasil ini sejalan dengan laporan Sumardani *et al.*, (2019) yang menemukan nilai abnormalitas 10–18% pada semen babi landrace di Balai Inseminasi Buatan Baturiti, Bali. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan, penambahan minyak ikan tidak menimbulkan efek toksik terhadap struktur morfologis spermatozoa. Kondisi ini menunjukkan bahwa senyawa lipid dari minyak ikan tidak menyebabkan deformasi struktural pada kepala, leher, maupun ekor spermatozoa, asalkan digunakan pada dosis yang seimbang. Hal ini berbeda dengan penggunaan lipid sintetik atau surfaktan yang

sering menyebabkan perubahan osmotik pada membran sel (Aitken dan Curry, 2011).

### **Derajat Keasaman Semen**

Nilai pH semen pada seluruh perlakuan berkisar antara 6,7–7,2 dan berada dalam kisaran fisiologis yang optimal untuk aktivitas enzimatis spermatozoa. Hasil ini sejalan dengan laporan penelitian Sugiantini *et al.*, (2023) yang menunjukkan stabilitas pH semen babi lokal dalam kisaran 6,8–7,4 selama penyimpanan pendek. Stabilitas pH menunjukkan bahwa minyak ikan tidak bereaksi secara kimiawi dengan buffer glukosa–sitrat–EDTA dan tidak mengubah keseimbangan ionik dalam pengencer. Hasil ini mendukung laporan Jensen *et al.*, (2020) bahwa penambahan minyak ikan pada sistem biologis tidak menyebabkan perubahan pH apabila emulsifikasi dilakukan dengan homogenisasi ringan.

### **Interpretasi Biologis dan Relevansi Tropis**

Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan minyak ikan pada dosis rendah (0,15 g/1000 mL) mampu meningkatkan viabilitas spermatozoa tanpa menurunkan motilitas dan morfologi sel. Temuan ini konsisten dengan hasil penelitian di Indonesia yang sama-sama menunjukkan bahwa penggunaan bahan alami lokal yang mengandung antioksidan atau lipid esensial efektif mempertahankan kualitas semen babi di lingkungan tropis. Kondisi iklim tropis seperti di Sumatera Utara, dengan suhu rata-rata 28–32°C dan kelembapan tinggi, mempercepat proses oksidasi lipid pada spermatozoa sehingga memperpendek umur simpan semen (Waberski *et al.*, 2019). Temuan ini sejalan dengan laporan Sutriana *et al.*, (2021), yang menegaskan efektivitas bahan alami berantioksidan dalam mempertahankan kualitas semen domba di daerah tropis. Dengan demikian, penggunaan minyak ikan sebagai bahan tambahan dalam pengencer non-lipid dapat menjadi strategi alternatif yang ramah lingkungan untuk meningkatkan keberhasilan inseminasi buatan di daerah tropis seperti Indonesia.

## KESIMPULAN

Penambahan minyak ikan dalam pengencer semen babi berpengaruh positif terhadap kualitas spermatozoa selama penyimpanan 24 jam pada suhu 15°C. Dosis 0,15 g minyak ikan per 1000 mL pengencer glukosa–sitrat–EDTA (P<sub>1</sub>) meningkatkan viabilitas spermatozoa secara sangat nyata (P<0,01), dengan kecenderungan menjaga motilitas dan penurunan abnormalitas, tanpa mempengaruhi pH semen secara signifikan. Temuan ini menunjukkan bahwa konsentrasi rendah minyak ikan efektif mempertahankan

integritas membran dan memperpanjang daya hidup spermatozoa melalui peran asam lemak omega-3 (EPA dan DHA) sebagai pelindung terhadap stres oksidatif. Seluruh parameter kualitas semen berada dalam kisaran fisiologis normal dan layak digunakan untuk inseminasi buatan pada kondisi tropis. Implementasi penggunaan minyak ikan sebagai bahan pengencer alami diharapkan dapat mendukung efisiensi program inseminasi buatan serta mengurangi ketergantungan pada bahan impor yang lebih mahal.

## SARAN

Penelitian lanjutan disarankan untuk menguji daya fertilitas semen hasil perlakuan minyak ikan secara *in vivo* dan mengevaluasi

stabilitas pengencer alami berbasis lipid pada penyimpanan lebih dari 24 jam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aitken, R.J., & Curry, B.J. (2011). Redox regulation of human sperm function: From the physiological control of sperm capacitation to the etiology of infertility and DNA damage in the germ line. *Antioxidants dan Redox Signaling*, 14(3), 367–381. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3186>
- Alvarez, J.G. and Aitken, R.J., (2012). Lipid peroxidation in human spermatozoa. In *Studies on Men's Health and Fertility* (pp. 119-130). Totowa, NJ: Humana Press.
- Arsadana, I.K.A., Sumardani, N.L.G., Trilaksana, I.G.N.B., & Bebas, W. (2025). Motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa Babi Landrace yang diencerkan menggunakan pengencer berbasis air buah lontar dengan tambahan kuning telur dan ekstrak daun kelor. *Buletin Veteriner Udayana*, 17(2), 463–474. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i02.p24>
- Badan Pusat Statistik Republik Indonesia. (2024). *Produksi Daging Babi Menurut Provinsi Tahun 2024*. Jakarta: BPS RI.
- Blagojević, J., Petrović, A., & Stanković, B. (2024). Impact of supplemented nutrition on semen quality in boars: Antioxidant-based improvements in sperm kinetics and morphology. *Animals (MDPI)*, 14(1), 115–128. <https://doi.org/10.3390/ani14010115>
- CNBC Indonesia. (2024). *Populasi Babi di Indonesia Turun Signifikan Akibat African Swine Fever*.
- Collodel, G., Castellini, C., Lee, J.C., & Signorini, C. (2020). Relevance of Fatty Acids to Sperm Maturation and Quality. *Oxid Med Cell Longev.*, 5:2020:7038124. <https://doi.org/10.3390/ijms21124359>
- FAO. (2021). *Guidelines for Animal Welfare in Research and Education*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Galić, I., Dragin, S., Stančić, I., Maletić, M., Apić, J., Kladar, N., Spasojević, J., Grba, J., & Kovačević, Z., (2022).

- Effect of an antioxidant supplement combination on boar sperm. *Animals*, 12(10), p.1301. <https://doi.org/10.3390/ani12101301>
- Hsu, W., Lin, T., Chang, S., Lin, M., Huang, C., Shen, P., Chou, C., & Peng, S., (2025). Optimization of Black Boar Sperm Cryopreservation Efficiency with Antioxidant-Rich Plant Extracts from Djulis (*Chenopodium formosanum*). *Animals*, 15(12), p.1798. <https://doi.org/10.3390/ani15121798>
- Jensen, T.K., Priskorn, L., Holmboe, S.A., Nassan, F.L., Andersson, A.M., Dalgård, C., Petersen, J.H., Chavarro, J.E., & Jørgensen, N. (2020). Associations of fish oil supplement use with testicular function in young men. *JAMA Network Open*, 3(1), pp.e1919462-e1919462. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.19462>
- Khophloiklang, V., Chanapiwat, P., & Kaeoket, K. (2024). Crude Garden Cress Seed Oil (*Lepidium sativum* Linn.) Enhances Post-Thawed Boar Sperm Quality. *Animals*, 14(22), 3178. <https://doi.org/10.3390/ani14223178>
- Liu, Q., Duan, R.J., Zhou, Y.F., Wei, H.K., Peng, J., & Li, J.L., (2017). Supplementing oregano essential oil to boar diet with strengthened fish oil: Effects on semen antioxidant status and semen quality parameters. *Andrologia*, 49(10), p.e12764. <https://doi.org/10.1111/and.12764>
- Naibina, M.P., Bebas, W., Trilaksana, I.G.N.B., Pemayun, T.G.O., & Laksmi, D. N. (2025). Quality of boar semen extended in palm water-egg yolk diluent supplemented with *A. dorsata* and *Trigona sp. honey*. *Buletin Veteriner Udayana*, 17(3), 811–823. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i03.p27>
- Sugiantini, N.L.M., Sumardani, N.L.G., & Suberata, I.W. (2023). Motilitas dan viabilitas spermatozoa babi dengan holding time dan lama thawing berbeda. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 10(2), 9–16. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v10i2.11175>
- Sumardani, N.L.G., Bebas, W., Trilaksana, I.G.N.B., & Pemayun, T.G.O. (2019). Umur memengaruhi volume semen dan motilitas spermatozoa Babi Landrace di Balai Inseminasi Buatan Baturiti, Tabanan, Bali. *Jurnal Veteriner*, 20(3), 324–329. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2019.20.3.324>
- Sutriana, A., Hasibuan, M.A.L., Armansyah, T., Siregar, T.N., Panjaitan, B., Sayuti, A., & Aliza, D. (2021). Pemberian Ekstrak Akar Pasak Bumi Meningkatkan Kualitas Spermatozoa Domba Waringin. *Jurnal Veteriner*, 22(3), 317-323. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2021.22.3.317>
- Tako, A.I., Nalley, W.M., Setyani, N.M.P., & Hine, T.M. (2025). Efek Penambahan Kuning Telur Pada Level yang Berbeda Dalam Pengencer Spermax Terhadap Kualitas Semen Beku Babi Landrace. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 28(2), 199-210. <https://doi.org/10.22437/jiip.v28i2.44806>
- Waberski, D., Riesenbeck, A., Schulze, M., Weitze, K.F., & Johnson, L., (2019). Application of preserved boar semen for artificial insemination: Past, present and future challenges. *Theriogenology*, 137, 2-7. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.030>
- Yuan, C., Wang, J., & Lu, W., (2023). Regulation of semen quality by fatty acids in diets, extender, and semen. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1119153. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1119153>