

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH DALAM PENGECER BELTSVILLE THAWING SOLUTION KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR BABI LANDRACE

Marsela Lotu¹, Aloysius Marawali², Yustiani Yuliana Bette³, W. Marlene Nalley⁴

Abstrak: Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh penambahan ekstrak kulit buah naga merah (eKBNM) yang ditambahkan dalam pengencer beltsville thawing solution (BTS) kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi landrace. Materi yang digunakan adalah semen segar yang diperoleh dari 2 ekor pejantan babi landrace berumur 2-3 tahun dengan kondisi sehat. P0: BTS KT 0%, P1: BTS-KT+eKBNM 2,5%, P2: BTS KT+eKBNM 5%, P3: BTS-KT+eKBNM 7,5% dan P4: BTS-KT+eKBNM 10%. Semen yang telah diencerkan sesuai perlakuan dan disimpan pada suhu 18-20oC. Evaluasi semen dilakukan setiap 8 jam pengamatan meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa. Seluruh data yang dianalisis menggunakan analisis of variance dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan P1 dengan level 2,5% pada penyimpanan jam ke 40 memberikan hasil terbaik ($P<0,05$) dibandingkan perlakuan lainnya, dengan nilai motilitas $44,00\pm 4,18\%$, viabilitas $52,71\pm 3,68\%$, abnormalitas $4,29\pm 0,96\%$ dan nilai daya tahan hidup $41,86\pm 12,1$ jam. Disimpulkan bahwa penambahan eKBNM dengan level 2,5% ke dalam pengencer BTS-KT memberikan respon yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace.

Kata Kunci: – BTS, ekstrak kulit buah naga merah, kuning telur dan semen babi landrace.

Abstract: This study was aim to determine the influence of the addition of extra red dragon fruit peel (Erdj) added in diluent beltsville thawing solution (BTS) egg yolk on landrace boars spermatozoa. The material used was fresh semen obtained from two male two-three-year-old landrace boars in good health. Semen was diluted with diluent BTS-EY 0% (P0), BTS-EY+ERDF 0.25% (P1), BTS-EY+ERDF 5% (P2), BTS-EY+ERDF 7.5% (P3) and BTS-EY+ERDF 10% (P4). Semen diluted according to the treatment stored at a temperature of 18-20 oC. Evaluation of post-dilution semen was carried out every eight hours of observation including motility, viability, abnormality and survival of spermatozoa. This research method used a completely randomized design. The data were analyzed by analysis of variance and continued with Duncan's test. The results showed that the T1 treatment with a level of 0.25% at the 40th hour of storage gave the best results ($P<0.05$) compared to other treatments, with values of mortality ($44.00\pm 4.18\%$), viability ($52.71\pm 3.68\%$), abnormality ($4.29\pm 0.96\%$), and survival values ($41.86\pm 12.17\%$). It was concluded that the addition of eRDF at the level of 0.25% into BTS-EY diluent gave a good response in maintaining the quality of landrace boars spermatozoa.

Keywords: Red dragon fruit peel extract, egg yolk, BTS and landrace boars.

PENDAHULUAN

Ternak babi merupakan ternak dengan perkembangbiakan yang relatif lebih cepat dari pada ternak lainnya, sehingga ternak babi termasuk ternak penghasil daging yang berpotensi untuk dikembangkan. Usaha ternak babi sudah dilakukan dalam kurun waktu cukup lama di Nusa Tenggara Timur (NTT). Ternak yang dipelihara umumnya jenis lokal, dipelihara secara tradisional atau semi internatif pakan pakan yang diberikan berupa limbah dapur dan limbah pertanian, sehingga produktivitasnya belum sesuai dengan yang diharapkan. Produk olahan ternak babi di NTT sangat potensial sebagai salah satu faktor yang berpengaruh terhadap produktivitas ternak babi. Upaya pengembangbiakan ternak babi di NTT saat ini dilakukan secara teknologi inseminasi buatan (IB) yang efektif dan efisien untuk memperbaiki mutu genetik ternak.

Keberhasilan pelaksanaan IB sangat bergantung dari kualitas dan kuantitas semen yang digunakan. Pelaksanaan IB pada umum menggunakan semen beku pada ternak sapi dan semen cair pada ternak babi. Pengencer yang sering digunakan yaitu beltsville thawing solution (BTS), memiliki daya simpan yang singkat dengan periode pertahanan 1-3 hari (Zhou et al., 2014). Komposisi bahan pengencer BTS tersusun atas ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) yang berperan dalam melindungi membran plasma dan glukosa yang menyediakan nutrisi bagi spermatozoa. Dilihat dari komposisinya BTS belum memiliki kandungan bahan yang mampu memproteksi sel spermatozoa terhadap serangan radikal bebas yang sangat berbahaya bagi kehidupan spermatozoa.

Bahan pengencer yang selalu dikombinasikan dalam pengencer adalah kuning telur, kuning telur mengandung lipoprotein dan lecithin yang berfungsi untuk mempertahankan dan melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (cold shock). Salah satu bahan yang mengandung kandungan antioksidan adalah kulit buah naga merah. Kulit buah naga merah mengandung berbagai antioksidan, seperti flavonoid (Fitri et al., 2016). Kulit buah naga lebih banyak mengandung antioksidan jenis antosianin Noor et al. (2016). Antosianin berfungsi sebagai penetralisir atau penangkal radikal bebas Wulandari. (2016). Kulit buah naga juga mengandung vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6, vitamin B12, vitamin C, protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, flavonoid, glukosa, fenol, betasianin, polifenol, karaton, fosfor, zat besi dan fitoalbumin, yang beberapa diantaranya berperan sebagai antioksidan, dan lainnya berperan sebagai sumber energi dan metabolisme energi. Penelitian bertujuan untuk menguji pengaruh penambahan ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer BTS-KT terhadap kualitas semen babi landrace.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan metode penelitian rancangan acak lengkap yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 kali ulangan. Adapun rancangan disusun yaitu: P0 = BTS KT+0% eKBNM, P1 = BTS KT+0,25% eKBNM, P2 = BTS KT+5% eKBNM, P3 = BTS KT+7,5% eKBNM dan P4 = BTS KT+10% eKBNM.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Kemampuan spermatozoa bergerak progresif mampu menentukan kualitas spermatozoa dalam hubungannya terhadap fertilitas spermatozoa. Motilitas merupakan kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif maju kedepan menuju ke tempat ampula tuba fallopi untuk membuahi sel telur. Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan setiap delapan jam hingga kualitas spermatozoa menjadi 40% (BSN, 2017). Rataan motilitas spermatozoa babi landrace, selama penyimpanan pada suhu 18-20°C dalam pengencer perlakuan ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata persentase motilitas spermatozoa babi landrace.

Jam Ke-	Perlakuan %					P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	80,00±3,53 ^a	1,000
8	75,00±3,53 ^a	75,00±3,53 ^a	76,00±2,23 ^a	75,00±3,53 ^a	75,00±3,53 ^a	0,999
16	63,00±7,58 ^a	70,00±3,53 ^a	66,00±7,41 ^a	66,00±7,41 ^a	64,00±8,94 ^a	0,748
24	50,00±7,90 ^a	65,00±3,53 ^c	60,00±3,53 ^{bc}	59,00±4,18 ^{bc}	53,00±9,08 ^{ab}	0,195
32	37,00±7,58 ^a	55,00±5,00 ^c	49,00±5,47 ^{bc}	47,00±8,36 ^{abc}	40,00±10,0 ^{ab}	0,348
40	23,00±9,74 ^a	44,00±4,18 ^c	36,00±7,41 ^{bc}	34,00±9,61 ^{abc}	27,00±10,0 ^{ab}	0,359
48	11,00±6,51 ^a	25,00±9,35 ^c	22,00±5,70 ^{bc}	20,00±7,90 ^{abc}	14,00±8,21 ^{ab}	0,912

Keterangan: a,b,c Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). BTS-KT= BTS-kuning telur, eKBNM= ekstrak kulit buah naga merah. P0= BTS-KT 0%, P1= BTS-KT + 2,5% eKBNM, P2=BTS-KT + 5% eKBNM, P3= BTS-KT + 7,5% eKBNM, P4= BTS-KT + 10% eKBNM.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa babi landrace setelah pengenceran (jam ke-0 sampai jam ke-16) pada setiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$). Namun mulai jam pengamatan ke-24 sampai jam ke-40 penyimpanan menunjukkan persentase motilitas spermatozoa berbeda secara nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan secara umum P1 mampu mempertahankan rata-rata motilitas spermatozoa lebih tinggi (motilitas diatas 40%) antara lain pada jam ke-8 ($75,00 \pm 3,53\%$), jam ke-16 ($70,00 \pm 3,53\%$), jam ke-24 ($65,00 \pm 3,53\%$), jam ke-32 ($55,00 \pm 5,00\%$), dan jam ke-40 ($44,00 \pm 4,18\%$), dibandingkan dengan P0 (kontrol) yang tidak ditambahkan ekstrak kulit buah naga merah.

Hal ini menunjukkan bahwa setelah penambahan EKBNM ke dalam medium BTS KT memberikan nilai motilitas lebih baik dibandingkan tanpa penambahan EKBNM. Kandungan antioksidan pada EKBNM mampu mempertahankan motilitas spermatozoa lebih baik dibandingkan tanpa penambahan EKBNM (Imansih, 2014). Penambahan EKBNM pada pengencer BTS KT mampu memberikan motilitas lebih tinggi serta meningkatkan gerak progresif spermatozoa (Munawaroh, 2014). Sehingga penambahan antioksidan berperan penting dalam menghambat reaksi peroksida lipid yang mampu merusak membran spermatozoa akibat penyimpanan.

Hasil penelitian menunjukkan rerata persentase motilitas spermatozoa sebesar $44,00 \pm 4,18\%$ lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Siswandoko et al. (2017) yaitu $41 \pm 4,18\%$ dan Anunut et al. (2023) yaitu $43,20 \pm 2,94\%$. Hal ini disebabkan oleh perbedaan level EKBNM yang digunakan yang selanjutnya akan berkorelasi dengan konsentrasi antioksidan serta zat nutrisi yang terkandung di dalamnya.

Berdasarkan tingkat kelayakan maka dapat diketahui bahwa penambahan eKBNM ke dalam pengencer BTS KT memberikan nilai motilitas lebih baik dibandingkan tanpa penambahan eKBNM. Membran plasma spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh oleh karena itu rentan terhadap kerusakan peroksida (Rizal dan Herdis, 2010). Antioksidan juga berperan mencegah kerusakan membran plasma spermatozoa yang disebabkan oleh cekaman dingin (cold shock) dan memberikan perlindungan terhadap spermatozoa. Beberapa faktor mungkin mempengaruhi motilitas spermatozoa termasuk ras, umur, volume ejakulasi, dan fluktuasi suhu. Rata-rata motilitas spermatozoa babi landrace adalah 78% Tamoos et al. (2014).

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa yang diketahui dengan mengamati jumlah spermatozoa hidup dan mati dengan pewarnaan eosin negrosin Agarwal et al. (2016). Spermatozoa yang mati akan menyerap larutan eosin menjadi merah muda sedangkan spermatozoa yang hidup tampak transparan atau tidak berwarna (Lubis dan Arifiantini, 2014; Bebas et al., 2015). Persentase viabilitas spermatozoa babi landrace dalam penelitian ini ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata persentase viabilitas spermatozoa babi landrace.

Jam Ke-	Perlakuan %					P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	88,97 \pm 2,39 ^a	90,87 \pm 3,54 ^a	90,63 \pm 3,84 ^a	89,77 \pm 3,41 ^a	89,21 \pm 3,51 ^a	0,971
8	82,06 \pm 2,63 ^a	86,52 \pm 3,60 ^a	84,30 \pm 3,14 ^a	84,04 \pm 3,20 ^a	82,28 \pm 3,06 ^a	0,985
16	72,11 \pm 3,38 ^a	79,53 \pm 3,89 ^b	77,00 \pm 4,03 ^{ab}	75,31 \pm 3,27 ^{ab}	73,14 \pm 4,76 ^a	0,954

24	58,62±6,13 ^a	72,53±4,51 ^c	67,56±5,08 ^{bc}	64,98±4,42 ^{ab}	62,27±5,38 ^{ab}	0,984
32	45,84±8,52 ^a	66,21±5,11 ^c	52,93±7,76 ^{bc}	55,60±5,93 ^{ab}	49,76±9,52 ^{ab}	0,355
40	32,04±7,17 ^a	52,71±3,68 ^c	46,71±5,10 ^{bc}	46,17±12,9 ^{bc}	36,99±6,29 ^{ab}	0,224
48	17,64±5,85 ^a	45,71±15,9 ^c	33,31±4,16 ^b	28,57±6,83 ^{ab}	17,64±5,85 ^a	0,170

Keterangan: a,b,c Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). BTS-KT= BTS-kuning telur, eKBNM= ekstrak kulit buah naga merah. P0= BTS-KT 0%, P1= BTS-KT + 2,5% eKBNM, P2=BTS-KT + 5% eKBNM, P3= BTS-KT + 7,5% eKBNM, P4= BTS-KT + 10% eKBNM.

Rerata viabilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada perlakuan P1 (52,71±3,68%), dan diikuti P2 (46,71±5,10%), P3 (46,17±12,9%), P4 (36,99±6,29%), dan terendah pada P0 (32,04±7,17%). Hasil uji statistik pada jam 16-40, P1 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P0 dan pada jam ke-40 P1 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P2, P3, dan P4. Hasil penelitian ini adalah 45,71±15,9% lebih rendah dari pada hasil penelitian Siswandoko et al. (2017) yaitu 74,6%, Leyn et al. (2021) yaitu 50,16±2,71% dan lebih tinggi dari hasil Anunut et al. (2023) yaitu 43,92±2,24%.

Hal ini disebabkan oleh kemampuan dari setiap pengecer yang berbeda dalam menyumbangkan zat-zat nutrisi yang dibutuhkan untuk mempertahankan spermatozoa dan mampu memperlambat penurunan derajat keasaman yang ditimbulkan karena adanya aktivitas metabolisme spermatozoa (Fafu et al., 2016). Penurunan viabilitas juga dapat disebabkan stress oksidatif yang dialami spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati, (2011) bahwa proses pendinginan mengakibatkan stress fisik dan kimia pada membran sel yang dapat menurunkan viabilitas spermatozoa.

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan indikasi penurunan kesuburan karena mengurangi kapasitas spermatozoa pada saat fertilisasi dan mempengaruhi perkembangan dan pemeliharaan kebuntingan (Banaszewska dan Andraszek, 2021). Rataan abnormalitas spermatozoa babi landrace, dalam pengecer perlakuan ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata persentase abnormalitas spermatozoa babi landrace dalam perlakuan

Jam Ke-	Perlakuan %					P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	3,49±0,88 ^a	3,22±0,98 ^a	3,30±1,08 ^a	3,50±1,00 ^a	3,54±1,07 ^a	0,973
8	3,68±0,91 ^a	3,37±0,98 ^a	3,47±1,04 ^a	3,62±1,03 ^a	3,75±1,09 ^a	0,994
16	3,92±0,92 ^a	3,57±1,01 ^a	3,67±1,02 ^a	3,85±1,04 ^a	3,99±1,04 ^a	0,997
24	4,20±0,94 ^a	3,82±0,96 ^a	3,91±0,97 ^a	4,11±1,03 ^a	4,05±1,36 ^a	0,650
32	4,48±0,95 ^a	4,06±0,93 ^a	4,13±0,93 ^a	4,34±1,00 ^a	4,50±1,06 ^a	0,987
40	4,76±0,93 ^a	4,29±0,96 ^a	4,46±0,96 ^a	4,64±1,00 ^a	4,74±1,02 ^a	0,986
48	5,06±0,93 ^a	4,59±0,97 ^a	4,50±0,82 ^a	4,28±1,19 ^a	4,51±1,18 ^a	0,999

Keterangan: a Superskrip dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$). BTS-KT= BTS-kuning telur, eKBNM= ekstrak kulit buah naga merah. P0= BTS-KT 0%, P1= BTS-KT + 2,5% eKBNM, P2=BTS-KT + 5% eKBNM, P3= BTS-KT + 7,5% eKBNM, P4= BTS-KT + 10% eKBNM.

Rerata abnormalitas terendah terdapat pada perlakuan P1 yaitu sebesar 4,29±0,96% dan diikuti oleh perlakuan P2 sebesar 4,46±0,96%, P3 sebesar 4,64±1,00%, P4 sebesar 4,74±1,02% dan perlakuan P0 sebesar 4,76±0,93%. Persentase abnormalitas spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini berkisar 4,29±0,96% lebih rendah dari hasil penelitian Anunut et al. (2023) yaitu 6,34±0,64% dan lebih tinggi dari penelitian Leyn et al. (2021)

yaitu 4,23%. Hasil penelitian ini masih baik dan layak karena, menurut Foeh et al. (2015) persentase abnormalitas spermatozoa babi hanya boleh mencapai 11,1%.

Penambahan eKBNM dalam pengencer BTS-KT sangat berpengaruh dalam menjaga spermatozoa selama masa penyimpanan dikarenakan kandungan dari kulit buah naga yang banyak mengandung antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas sebesar $83,48=5,03\%$ sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan spermatozoa. Rezal dan Herdiss, (2010) menyatakan bahwa penambahan antioksidan mampu menghentikan reaksi yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Siswandoko et al. (2017) menambahkan bahwa pemberian antioksidan dengan dosis yang tepat memberikan hasil maksimal untuk mencegah dan mengurangi reaksi peroksida lipid akibat aktivitas radikal bebas pada membran plasma spermatozoa dimana bagian tersebut kaya akan asam lemak tak jenuh sehingga rentan terhadap reaksi peroksidasi lipid. Berkurangnya reaksi peroksida lipid akan berdampak pada rendahnya pada nilai abnormalitas spermatozoa. Penambahan EKBNM berguna sebagai antioksidan yang akan menetralkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan pada spermatozoa (Khaku et al., 2011).

Secara umum, abnormalitas pada spermatozoa dapat disebabkan oleh berbagai faktor diantaranya yaitu faktor genetika, stres, suhu lingkungan, penyakit dan bahkan perlakuan pada saat prosesing semen. Semakin lama waktu penyimpanan maka semakin tinggi persentase abnormalitas yang disebabkan oleh stres, dingin dan ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama penyimpanan Szymanowicz et al. (2019).

Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup merupakan kemampuan spermatozoa untuk mempertahankan kelangsungan hidup dalam waktu tertentu yang dapat diukur berdasarkan motilitas. Rataan daya tahan hidup spermatozoa babi landrace dapat ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan daya tahan hidup spermatozoa babi landrace dalam pengencer perlakuan

Perlakuan	Daya Tahan Hidup (Jam)
P0	$30,13\pm 5,12\%^a$
P1	$41,86\pm 2,17\%^c$
P2	$38,13\pm 3,07\%^{bc}$
P3	$36,66\pm 4,89\%^{bc}$
P4	$35,81\pm 6,01\%^{ab}$
P-value	0,005

Pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$) antara perlakuan.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa P1 berbeda nyata ($P<0,05$) dengan P0, P2, P3 dan P4. Daya tahan hidup yang diperoleh penelitian ini sebesar $41,86\pm 2,17\%$ lebih rendah dari hasil penelitian Anunut et al. (2023) yaitu $44,18\pm 1,80\%$ dan lebih tinggi dari hasil penelitian Nahak et al. (2023) yaitu $27,72\pm 2,48\%$. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah dalam pengencer BTS KT memberikan efek positif terhadap kualitas spermatozoa, bahkan pada level yang lebih tinggi menyebabkan penurunan daya tahan hidup spermatozoa. Hasil ini bertentangan dengan penelitian Wahyuningsi et al. (2018) yang menyatakan bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah dapat mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa.

Penurunan daya tahan hidup spermatozoa ketika ditambahkan EKBNM dengan dosis yang lebih tinggi dapat mempersingkat daya tahan hidup spermatozoa. Hal ini dikarenakan pemberian EKBNM dengan dosis yang lebih besar akan mempertinggi

konsentrasi vitamin C, alkaloid, yang terdapat pada pengencer. Menurut (Sumarsono, 1998) bahwa semakin tinggi konsentrasi vitamin C pada pengencer tris kuning telur akan menyebabkan percepatan laju fruktolisis sehingga akan menyebabkan terjadinya percepatan akumulasi asam laktat dan penurunan pH semen kerbau lumpur. Menurutnya pH semen menyebabkan penurunan aktivitas enzim-enzim metabolisme yang mengakibatkan kebutuhan energi untuk motilitas dan kelangsungan hidup spermatozoa tidak dapat terpenuhi Solihati et al. (2006)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak kulit buah naga merah dengan level 2,5% ke dalam pengencer BTS kuning telur lebih efektif mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., et al., 2016. The Internet of Things – A Survey of topics and trends.
- Anunut, D. I., Nalley, W. M., Hine, T. M., & Uly, K. 2023. Pengaruh penambahan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocerius polyrhizur*) dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi landrace. Prosiding Joint Seminar Nasional.
- Artika, I. N. D. 2014. Penentuan Waktu Optimal Pengujian Integritas Membran Plasma Spermatozoa Babi Menggunakan Hypo-Osmotic Swelling (Hos) Test. FKD. IPB-Bogor.
- Badan Stdanarisasi Nasional, 2017. Semen beku-Bagian 1:Sapi. Badan Stdanarisasi Nas. Jkt. ID.
- Banamtuan, A. N., Nalley, W. M., & Hine, T. M. 2021. Kualitas Semen Cair Babi Duroc dalam Pengencer Durasperm yang Disuplementasikan Air Buah Lontar dan Sari Tebu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(1), pp 41-48.
- Banaszewska, Dorota dan Katarzyna Andraszek. 2021. Assessment of the morphometry of heads of normal sperm and sperm whit the dag defect in the smen of Duroc boars. *J Vet Res*, 23;65(2): 239-244.
- Bebas, W., Buyona, G. L., Budiasa, M. K. (2016). Penambahan Vitamin pada Pengencer BTS Terhadap Daya Hidup dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace pada Penyimpanan 150 0C. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1): 1-7.
- Butta CA, Gaina CD, Foeh ND. 2021. Motilitas dan viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer air kelapa-kuning telur ayam kampung. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 4(1), 3-3.
- Fafo M, Hine TM, Nalley WM. 2016. Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan* 3(2): 184-195.
- Feka, W. V., Dethan, A. A., & Beyleto, V. Y. 2016. Pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas dan ph semen babi landrace yang diencerkan menggunakan bahan pengencer sitrat kuning telur. *JAS*, 1(3), 34-35.
- Fitrik, Supartini N., 2012. Pengaruh suhu dan lama thawing terhadap kualitas spermatozoa kambing Peranakan Etawa. *Buana sains*. 12: 81-866.
- Fitri, N. L., R. E. Susetyarini, & L. Waluyo. 2016. The effect of ciplukan (*Physalis angulata L.*) fruit extract on SGPT and SGOT levels against white male mice (*Mus musculus*) hyperglycemia induced by alloxan as biology learning resources. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(2): 180-187.
- Foeh, Nancy Diana Frederika Katerina, Arifiantini Raden Iis dan Yusuf Tuty Laswardi . 2015. Kualitas semen beku babi dalam pengencer BTS dan MIII menggunakan krioprotektan dimethylacetamide dan gliserol dengan sodium dedocyl sulphate. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Foeh, N., Gaina, C., & Tophianong, T. 2022. Kualitas semen segar dan semen cair babi landrace asal naioni kabupaten kupang dengan sistem pemeliharaan intensif. *Jurnal Kajian Veteriner*, 10(1), pp 61-66.

- Imansih, L. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus undatus*) pada Pengencer Berbasis CEP-1 untuk Pengawetan Spermatozoa Kambing Peranakan Boer pada Suhu 32°C. Publikasi Ilmiah. Fakultas Peternakan. Universitas Mataram.
- Johnson, L. A., Weitze K. F., Fiser P. and Maxwell W. M. C. 2000. Storage of Boar Semen. *Animal Reproduction Science* 62 (1): 143-172.
- Khaku A, Fathiazad F, Nouri M, Amir AK. 2011. Effect of *Ocimum basilicum* on apoptosis in testis if rats after exposure to electromagnetic field. *Afr J Pharm Parmacol.* 5(1): 1534-1537.
- Leyn, F. L., Belli, L. L., Kune, P., & Hine, T. M. 2021. Kualitas spermatozoa kambing bligon dalam pengencer triskuning telur dengan penambahan berbagai level ekstrak kulit buah naga. *Jurnal Nukleus Peternakan* 1: 23-32.
- Nahak, S. C., Nalley, W. M., Hine, T. M., & Uly, K. 2023. Pengaruh penambahan laktosa dalam pengencer natrium klorida fisiologis kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi landrace. *Prosiding Joint Seminar Nasional*.
- Noor MI, Yufita EY, Zufalina. 2016. Identifikasi kandungan ekstrak kulit buah naga merah menggunakan fourier transform infrared (FTIR) dan phytochemistry. *Journal of Aceh Physics Society* 5(1): 14-16.
- Ramadhani, N., Herlina., Pratiwi, A. N. 2018. Perbandingan Kadar Protein pada Telur Ayam dengan Metode Spektrofometer Sinar Tampak. *Jurnal Ilmiah Farmasi.* 6(2): 53-56.
- Rezal, M. dan Herdis. 2010. Peranan antioksidan dalam meningkatkan kualitas semen beku. *Wartazoa.* 20 (13) : 140.
- Siswandoko B, Zaenab S, Husamah. 2017. Penambahan ekstrak kulit buah naga ke dalam pengencer tris kuning telur untuk meningkatkan kualitas semen beku kambing peranakan ettawa. *Jurnal Scripta biologica* 4(4): 247-251.
- Solihati, N., R. Idi, R. Setiawan, I.Y. Asmara, dan B.I. Surjana. 2006. Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5°C terhadap periode fertil dan fertiitas spermatozoa. *Jurnal Ilmu Ternak.* 1 (1): 7-17.
- Suberata, I. W., N. M. Artiningsih., N. L. G. Sumardani., W. A. A. P. Putra, dan A. T. Umiarti. 2014. Pengaruh Bahan Pengencer Biologis terhadap Kualitas Semen Babi Hampshire. *Prosiding Fakultas Peternakan Universitas Udayana-Denpasar*.
- Sumardani, N. L. G., I. G. Suranjaya., I. G. N. A. Manik, dan I. W. Suberata. 2016. Korelasi Ukuran Testis Terhadap Kualitas Semen Babi. *Fakultas Peternakan Universitas Udayana-Bali*.
- Sumarsono, T. 1998. Peningkatan kualitas spermatozoa kerbau lumpur dengan penambahan asam askorbat dalam pengencer semen beku. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Susilawati, T. 2011. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika* Vol. 12, No. 2 Hal: 15-24.
- Szymanowicz, J. S. 2019. Storage of boar semen at 16-18 in the long-term commercial xtender prepared with deionized water of nanowater. *Animal Reproduction*, 16(4), 864-870.
- Tamoes, J.A., W.M. Nalley. T.M Hine. 2014. Fertilitas spermatozoa babi Landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai Sains Peternakan, 12 (1): 20-30.
- Wahyuni Tri Sonya, Dasrul, Hamdan, Juli Melia, Rinidar, Tongku N, Siregar. 2018. Pengaruh penambahan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocerius polyrhizur*) dalam media sitrat kuning telur terhadap daya tahan hidup spermatozoa sapi Aceh yang disimpan pada suhu 4°C. *Jurnal Ilmial Mahasiswa Veterine*, 2(1):102-109.
- Wulandari R, Budiyanta MAK, Waluyo L. (2016). The influence of various concentration of red roses (*Rosa Danascene Mill*) flower extract to anthocyanin color stability jelly as biology learning source. *Jurnal pendidikan Biologi indonesia*, 2(10): 40-48.
- Yusuf, T. L., Arifiantini, R. I. Dapawole, R. R., Nalley W. M. M. 2017. Kualitas Semen Baku Babi Dalam Pengencer Komersial Yang disuplementasi Dengan Trehalos. *Jurnal Veteriner.* 18 (1): 69-75.
- 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. *Asian Austr J Anim Sci* 17(11): 1501-1508.