

**MOTILITAS SPERMATOZOA BABI DALAM BERBAGAI MODIFIKASI PENGECER
YANG DISIMPAN PADA SUHU 13°C SELAMA 4 HARI**

Hermilinda Parera¹, Victor Lenda²

^{1,2}Program Studi Kesehatan Hewan Politeknik Pertanian Negeri Kupang
e-mail: milindaparera81@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas modifikasi bahan pengencer semen babi Beltsville Thawing Solution (BTS) dan Tris Citrat Fruktosa (TCF) yang disuplementasi kuning telur (KT) 5% dan Ekstrak Mesocarp (EM) *Borassus flabellifer* linn (EM) 0,01% yang dipreservasi pada suhu 13°C selama 4 hari terhadap motilitas spermatozoa babi. Semen segar diperoleh dari pejantan peranakan Duroc berusia dua tahun. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan empat kelompok perlakuan, yaitu Kelompok A:semen segar+BTS+KT5%+EM0,01%; Kelompok A2:semen segar+BTS+EM0,01%; Kelompok B:semen segar+TCF+KT5%+EM0,01%, dan Kelompok B2:semen segar+TCF+EM0,01%. Pemeriksaan motilitas dan viabilitas spermatozoa dilakukan selama masa preservasi pada suhu 13°C selama 4 hari. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA, dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil menunjukkan rata-rata persentase motilitas spermatozoa selama masa penyimpanan pada kelompok B1 ($67,81 \pm 13,53$), A1($62,50 \pm 15,16$), dan B2 ($66,44 \pm 14,43$) lebih tinggi dibandingkan kelompok A2 ($58,94 \pm 12,30$), namun pada hari ke-4 keempat kelompok perlakuan tidak menunjukkan beda nyata terhadap motilitas spermatozoa. Disimpulkan bahwa modifikasi pengencer semen BTS/TCF yang disuplementasi kuning telur 5% dan ekstrak mesocarp 0.01%, atau BTS/TCF yang disuplementasi ekstrak mesocarp 0.01% dalam semen yang disimpan pada suhu 13°C selama 4 hari dapat digunakan sebagai pengencer semen babi. Penggunaan modifikasi pengencer TCF+kuning telur 5%+ekstrak mesocarp 0.01% memberikan motilitas terbaik selama masa penyimpanan.

Kata Kunci: Motilitas, Tris Citrate Fructose, Beltsville Thawing Solution, Kuning Telur, Antioksidan

PENDAHULUAN

Pada pelayanan kawin suntik atau inseminasi buatan pada babi, rata-rata inseminator Babi di Kupang masih menggunakan semen cair yaitu semen yang ditampung dari pejantan dan dikemas dalam botol dan dibawa ke lapangan untuk langsung digunakan dalam pelayanan inseminasi buatan. Produksi semen segar babi sering dihadapkan pada kendala penyimpanannya, khususnya saat pendistribusian kepada konsumen. Hal ini disebabkan semen babi memiliki sifat voluminous, yakni volume yang tinggi yaitu 150-200 ml dan konsentrasi spermatozoa yang rendah yaitu $200-300 \times 10^6$ sel/ml (Garner, 2000)

Semen segar babi tidak dapat bertahan lebih dari 24 jam, sehingga setiap akan melakukan pelayanan IB maksimal 1 jam sebelumnya dilakukan penampungan semen. Semen babi berbeda dengan semen ternak lain karena semen babi sangat sensitif terhadap cold shock sehingga kualitas semen babi akan menurun paska penampungan bila tidak ditangani dengan baik. Semen babi mempunyai keistimewaan karena diproduksi dalam volume yang besar dan sangat sensitif terhadap cekaman dingin (*cold shock*), membuat daya hidup sel spermatozoa akan berkurang apabila terjadi perubahan pada suhu (Sumardani dkk., 2019). Penggunaan semen segar dalam waktu yang lama memerlukan preservasi dengan pengencer dan temperatur tertentu agar motilitas spermatozoa tetap terjaga yaitu dengan penambahan bahan pengencer yang mengandung sumber nutrisi, buffer, bahan anti cekaman perubahan temperatur, dan antibiotik, serta dapat melindungi spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan.

Spermatozoa tidak bisa hidup untuk waktu yang lama kecuali bila ke dalam semen ditambahkan

berbagai unsur yang memiliki fungsi menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, melindungi spermatozoa dari cold shock, menyediakan suatu penyangga untuk mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa, mempertahankan tekanan osmotik, dan keseimbangan elektrolit yang sesuai, mencegah perkembangan kuman, dan memperbanyak volume semen (Toelihere, 1993).

Pembuatan bahan pengencer hendaknya memenuhi beberapa persyaratan agar tujuan pengenceran serta fungsi dilakukan pengenceran bisa terpenuhi untuk tujuan dilakukan inseminasi buatan (IB). Syarat-syarat bahan pengencer menurut Toelihere (1993) adalah sebagai berikut: murah, sederhana praktis dibuat serta mempunyai daya preservasi tinggi. Bahan pengencer harus mengandung unsur-unsur yang hampir sama dengan sifat-sifat fisik dan kimia dari semen. Beberapa bahan pengencer komersil yang sering digunakan untuk penyimpanan pada suhu rendah adalah *Beltville Thawing Solution* (BTS) dan Life Semen®. Selain itu juga ada beberapa bahan pengencer yang umum digunakan yaitu tris, citrate, fruktosa, dan kuning telur. Tris dan asam sitrat memiliki peranan utama mempertahankan pH (buffer), komponen gula seperti laktosa dan fruktosa berfungsi sebagai sumber energi, serta antibiotik sebagai pengendali pertumbuhan bakteri (Sulistyowati dkk., 2018). Kuning telur juga mengandung senyawa lipoprotein dan lesitin yang terkandung di dalamnya untuk melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Tarig et al., 2017). Penambahan ekstrak mesocarp *Borassus flabellifer* Linn 0,01% pada semen babi asal cauda epididymis dapat mempertahankan persentase viabilitas sampai 55,50% pada hari ke 4 penyimpanan di suhu 13°C (Parera dkk., 2019).

Penelitian ini membuat pengencer yang dimodifikasi dengan berbagai komposisi bahan yang mampu mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa pada suhu 13°C selama empat hari, seperti pengencer BTS, *Tris hydroxymethyl aminomethane*, *Citrat acid* dan Fruktosa, serta bahan-bahan alami lainnya, seperti kuning telur dan ekstrak mesocarp *Borassus flabellifer* Linn.

METODE PENELITIAN

Koleksi Sampel dan Pemeriksaan Semen Segar

Penelitian ini menggunakan semen dari pejantan babi Peranakan Duroc asal pembibitan rakyat yang ada di dusun Kaniti, kabupaten Kupang. Sampel semen segar diperoleh dengan metode masase, dibawa segera ke laboratorium Anatomi Patologi Politani Kupang untuk dilakukan evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis, meliputi pemeriksaan volume (mL), warna, pH konsistensi, konsentrasi, gerakan massa, motilitas individu, dan viabilitas spermatozoa. Semen yang memenuhi syarat dilanjutkan pengenceran dan diberi perlakuan.

Pengenceran dan Perlakuan Semen

Semen yang memenuhi syarat diencerkan dengan bahan pengencer hingga konsentrasi spermatozoa sebesar $200-300 \times 10^6/80$ mL, selanjutnya sampel semen dibagi ke dalam kelompok perlakuan.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari empat kelompok dengan lima kali ulangan. Semen dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu: Kelompok A1(semen segar+BTS+EM 0.01%+kuning telur5%), Kelompok A2(semen segar+BTS+EM 0.01%), Kelompok B1(semen segar+TCF+EM 0.01%+kuning telur 5%) dan kelompok IV(semen segar+TCG+EM 0.01%). Keempat kelompok perlakuan ini disimpan selama empat hari pada suhu 13°C. Evaluasi motilitas spermatozoa dilakukan setiap hari selama masa penyimpanan (hari ke 1-4).

Analisis Data

Data evaluasi makroskopik dan mikroskopik semen segar dideskripsikan, sedangkan data persentase motilitas dianalisis dengan metode ANOVA, dilanjutkan dengan Uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Semen segar yang digunakan pada penelitian ini adalah semen segar yang diperoleh dari pejantan Peranakan Duroc berumur ± 2 tahun. Penilaian kualitas semen segar yang dilakukan dalam penelitian ini dilakukan dengan cara evaluasi secara makroskopis, yang meliputi pengukuran volume, warna, konsistensi, serta pH semen, dan evaluasi secara mikroskopis, berupa perhitungan gerakan massa, konsentrasi, persentase motilitas, spermatozoa hidup dan abnormalitas. Hasil penilaian semen segar tersebut digunakan untuk menentukan kelayakannya untuk diproses lebih lanjut.

Semen babi dengan kualitas yang baik menentukan tingkat fertilisasi sehingga diperlukan uji standar untuk menentukan kualitas semen yang digunakan yaitu evaluasi motilitas, daya hidup dan konsentrasi (Gary et al., 2006). Data hasil pemeriksaan semen yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kualitas Semen segar Babi Peranakan Duroc

Pemeriksaan	Hasil
Makroskopis	
Volume	203,33 $\pm$ 24,73 ml
Warna	Putih Susu
pH	± 7
Konsistensi	Cair
Bau	Khas Babi
Mikroskopis	
Gerakan Massa	+++
Motilitas	90%
Konsentrasi	300 X 10 ⁶ sel/mL
Abnormalitas	4,38 $\pm$ 0.719%
Viabilitas	98%

Keterangan: +++ = Sangat baik; terlihat seperti gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif

Berdasarkan Tabel 1, terlihat volume semen babi sebesar 203,33 $\pm$ 24,73 ml, dengan rerata

motilitas 90%, tidak jauh berbeda dengan beberapa hasil penelitian lainnya. Semen babi bersifat voluminous, dengan volume semen tinggi mencapai 150- 200 mL, dan motilitas spermatozoa diatas 60%, dengan konsentrasi spermatozoa yang rendah yaitu 200-300 x 10⁶ sel/mL (Garner, 2000). Knox (2011) dan Axet al., (2000) menyebutkan volume semen babi tanpa gelatin berkisar 200- 250 ml, dengan warna putih susu dan konsistensi encer, serta pH rata-rata 7,40±0,2 (Gadea, 2003).

Pada penelitian ini warna sampel semen teramati normal berwarna putih susu, sesuai dengan laporan Frunză et al., (2008) bahwa warna normal semen babi hasil ejakulasi berwarna putih kebiruan. Warna semen babi menggambarkan tingkat kekentalan semen. Dalam kondisi normal semakin pekat warna semen yang terlihat, maka semakin kental konsistensi semen tersebut. Penurunan konsentrasi spermatozoa menyebabkan warna semen menjadi terlihat jernih.

Derajat keasaman (pH) semen sangat menentukan status kehidupan spermatozoa di dalam semen. Semakin rendah atau semakin tinggi pH semen dari pH normal akan membuat spermatozoa lebih cepat mati. Derajat keasaman (pH) semen bervariasi tergantung spesies ternak. Pada penelitian ini pH rata-rata 7, sedikit lebih rendah dari yang dilaporkan dalam penelitian Johnson et al., (2000) bahwa semen segar babi memiliki pH 7,2-7,5. Menurut Shylesh et al., (2019) produksi sekret glandula asesoria sistem reproduksi yang cukup tinggi ke dalam ejakulat seminal plasma berdampak terhadap peningkatan alkalinitas semen.

Gerakan massa spermatozoa merupakan gambaran dari motilitas atau gerakan individu spermatozoa. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa bergerak kedepan, maka gerakan massa akan semakin baik (semakin tebal dan pergerakannya semakin cepat). Hasil penelitian ini menunjukkan gerakan massa spermatozoa teramati sangat baik (+++). Arifiantini, (2012) menyatakan ciri utama spermatozoa yang baik adalah motilitas atau daya geraknya yang dijadikan patokan atau cara yang paling sederhana dalam penilaian semen untuk IB. Gelombang-gelombang pergerakan semen yang bergerak dalam arah yang sama dapat terlihat dengan bantuan mikroskop cahaya pada semen yang belum diencerkan.

Secara umum, kualitas semen segar yang dihasilkan tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian (Stradivari dkk., 2019) bahwa syarat agar semen dapat di proses lebih lanjut yaitu memiliki volume lebih dari 150 ml, motilitas lebih dari 60%, presentase spermatozoa hidup 65% dan presentase abnormal spermatozoa tidak lebih dari 20%, sehingga sampel yang diperoleh layak untuk diproses lebih lanjut.

Motilitas Spermatozoa dalam berbagai pengencer yang disuplementasi dengan Kuning Telur dan Ekstrak mesocarp *Borassus flabellifer* Linn 0,01% yang dipreservasi pada suhu 13 °C selama 4 hari

Motilitas spermatozoa adalah penilaian pergerakan spermatozoa yang bergerak progresif secara visual dengan mikroskop atau menggunakan sistem otomasi dengan bantuan komputer (*computer assisted semen analysis/CASA*) (Dominiek et al., 2011). Hasil evaluasi motilitas spermatozoa secara

visual menunjukkan rata-rata persentase motilitas spermatozoa dalam berbagai pengencer disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata Persentase motilitas spermatozoa dalam berbagai pengencer yang dipreservasi pada suhu 13°C selama 4 hari

Peubah (%)	Lama Simpan (Hari)	A1 (BTS+ KT%+EM0,015)	A2 (BTS+ EM0,01%)	B1 (TCF+ KT5%+EM0,01%)	B2 (TCF+EM0,01%)
Motilitas	1	75±9,13 ^a	75±7,07 ^a	80±7,07 ^a	80±7,07 ^a
	2	72,50±2,887 ^a	61,25±4,78 ^b	72,5±6,45 ^b	72,5±8,66 ^b
	3	60±8,16 ^b	55 ±408 ^b	71,25±4,78 ^{4b}	67,50±4,08 ^b
	4	44,5±4,203 ^c	42,50±10,40 ^c	47,5±2,89 ^c	45,75±2,99 ^c
Rataan		63±13,83^a	58,44±13,62^b	67,81±13,53^a	66,44±14,43^a

Keterangan: Superskrip huruf besar yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0,05$). Superskrip huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p<0,05$)

Hasil analisis statistik menunjukkan rata-rata persentase motilitas spermatozoa pada kelompok A2 berbeda nyata ($P<0,05$) lebih rendah dibandingkan kelompok A1, B1 dan B2. Rata-rata persentase motilitas kelompok A2: 58,44±13,62% dan A1: 63±13,83%, B1: 67,81±13,53%, B2: 66,44±14,43%. Demikian pula, persentase motilitas pada hari ke-4 dari kelompok A2 (42,5±10,40%) lebih rendah ($P<0,05$) dibandingkan dengan kelompok A1 (44,50±4,20); B1 (47,5±2,89) dan B2 (45,75±2,99%)

Penurunan motilitas pada kelompok perlakuan A2 dengan pengencer BTS+ekstrak mesocarp disebabkan oleh adanya penurunan suhu selama proses penyimpanan, seperti yang dilaporkan oleh Radomil et al., (2011), bahwa membran plasma spermatozoa babi sangat sensitif terhadap perubahan temperatur selama proses penyimpanan pada suhu dingin yang merusak struktur, fungsi dan integritas membran, menurunkan motilitas dan angka fertilitas.

Menurut Pryor, et al., (2000) β karoten merupakan salah satu senyawa mampu bekerja sebagai antioksidan yang mengikat radikal bebas hidroksil yang sangat reaktif dan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipida pada membran plasma sel, sehingga memungkinkan digunakan dalam pengencer semen. Oleh karena itu, penambahan antioksidan dalam pengencer dapat meminimalisir pembentukan ROS dan melindungi fungsi membran plasma spermatozoa. Idayati dkk., (2014) melaporkan kandungan anti oksidan di dalam ekstrak mesocarp *Borassus flabellifer* Linn berupa senyawa β karoten mencapai 6217,48 $\mu\text{g}/100\text{g}$ memiliki potensi tinggi sebagai sumber anti oksidan.

Beltsville Thawing Solution (BTS) merupakan jenis pengencer yang bersifat *short term*, sehingga semen hanya dapat disimpan selama 1-3 hari pada suhu 17°C (Johnson et al., 2000). Komposisi BTS belum memiliki kandungan yang mampu melindungi sel spermatozoa dari serangan radikal bebas yang sering juga disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS). Senyawa ROS terbentuk dari aktivitas metabolisme sel selama prosesing semen selama penampungan, pengenceran dan penyimpanan (Chatterjee et al., 2001). Penambahan ekstrak mesocarp *Borassus flabellifer* Linn 0,01%

sebagai sumber antioksidan pada pengencer BTS dalam penelitian ini, terbukti mampu memperpanjang masa penyimpanan hingga 4 hari pada suhu 13°C, karena mampu menghambat reaksi peroksidasi lipid pada membrane plasma spermatozoa.

Spermatozoa merupakan sel yang sangat peka terhadap oksidasi. Umumnya sel dilindungi dari kerusakan oksidatif oleh adanya antioksidan dalam sitoplasma (Ochsendorf, 1998). Pada membran plasma spermatozoa mudah terjadi peroksidasi lipid karena kandungan asam lemak tak jenuh tinggi sehingga menyebabkan hilangnya asam lemak tak jenuh yang berperan dalam fluiditas membran plasma untuk motilitas (Baumer et al., 2000). Pada spermatozoa, sitoplasma tidak terdistribusi menyebar tetapi terlokasi pada bagian mid piece, oleh karena itu spermatozoa mengandalkan antioksidan yang ada pada cairan seminal plasma (Ochsendorf, 1998).

Membran plasma spermatozoa babi yang sangat sensitif sangat terkait dengan komposisi lipidnya dengan kandungan asam lemak tak jenuh yang mudah menurun drastis selama proses penyimpanan dingin. Hal ini terjadi akibat proses peroksidasi lipid menyebabkan penumpukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan struktur, fungsi dan integritas membran dan berpengaruh terhadap penurunan motilitas.

Pada sel spermatozoa, sumber ROS berasal dari kontaminasi leukosit dalam semen, spermatozoa immature dan abnormalitas spermatozoa (Sukarjati, 2012). Tingginya kadar ROS menyebabkan terganggunya fungsi mitokondria sebagai sintesis ATP berdampak menurunnya ATP yang menjadi sumber energi bagi spermatozoa sehingga berdampak pada fosforilasi aksonemal yang tidak mencukupi, peroksidasi lipid dan penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa (Bansal and Bilaspuri, 2010; Baumer et al., 2000).

Penambahan kuning telur dalam pengencer BTS+ekstrak mesocarp (A1) memberikan hasil persentase motilitas yang lebih tinggi (68 ± 13.83), dibandingkan kelompok pengencer BTS+EM 0.01% tanpa kuning telur. Demikian pula, motilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan dengan pengencer TCF+EM 0,01% dan 5% kuning telur lebih tinggi ($67,81 \pm 13,53\%$), namun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan TCF+EM 0.01% tanpa kuning telur ($66,44 \pm 14,43\%$). Penambahan kuning telur dalam pengencer BTS maupun TCF yang disuplementasi EM 0.01% mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa sehingga dapat bertahan dari cekaman dingin, karena kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin. Bustani and Baiee (2021) melaporkan kandungan lesitin (*phosphatidil cholin*) dalam kuning telur berfungsi sebagai membran coating untuk mempertahankan konfigurasi normal phospholipid bilayer sebagai penyusun utama membran sel spermatozoa. Kuning telur juga mengandung fraksi *low-density lipoprotein* (LDL) yang bertanggung jawab untuk perlindungan terhadap *cold shock*.

KESIMPULAN

Penggunaan modifikasi pengencer Tris Citrat Fruktosa yang disuplementasi ekstrak mesocarp

Borassus flabellifer Linn. 0.01% dan kuning telur 5% mampu memperpanjang masa penyimpanan semen babi pada suhu 13°C selama empat hari, dan mempertahankan motilitas hingga 66,44±14,43%. Modifikasi pengencer BTS dengan ekstrak mesocarp *Borassus flabellifer* Linn. 0.01% dan kuning telur lebih baik dibandingkan tanpa kuning telur 5%. Penggunaan modifikasi pengencer BTS dan TCF dengan suplementasi ekstrak mesocarp *Borassus flabellifer* Linn. 0.01% dan kuning telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa hingga >40% pasca penyimpanan pada suhu 13°C selama 4 hari. Persentase motilitas dari keempat kelompok perlakuan dalam penelitian ini masih sangat layak untuk digunakan dalam kegiatan IB, seperti yang dilaporkan oleh Sumardani dkk., (2008) bahwa syarat minimal motilitas spermatozoa dalam semen pasca pengenceran yang masih layak digunakan dalam IB adalah minimal 40%.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R. I. (2012). *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*. Bogor: IPB Press.
- Ax, R. L., M. Dally, B. A. Didion, R. W. Lenz, C. C. Love, D. D. Varner, B. H. & M. E. B. (2000). Semen Evaluation. In E. S. E. Hafez & B. Hafez (Ed.), *Reproduction in farm Animals*. 7th Ed (7th ed.). Williams & Wilkins, USA.
- Bansal, A. K., & Bilaspuri, G. S. (2010). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International*, 2010. <https://doi.org/10.4061/2011/686137>
- BAUMBER, J., Ball, B., Gravance, C., MEDINA, V., & Morel, M. (2000). The Effect of Reactive Oxygen Species on Equine Sperm Motility, Viability, Acrosomal Integrity, Mitochondrial Membrane Potential, and Membrane Lipid Peroxidation. *Journal of Andrology*, 21, 895–902. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2000.tb03420.x>
- Bustani, G. S., & Baice, F. H. (2021). Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Veterinary World*, 14(5), 1220–1233. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233>
- Chatterjee, S., de Lamirande, E., & Gagnon, C. (2001). Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: Protection by oxidized glutathione. *Molecular Reproduction and Development*, 60, 498–506. <https://doi.org/10.1002/mrd.1115>
- Dominiek, M., Alfonso, L. R., Tom, R., Philip, V., & Ann, V. S. (2011). Artificial Insemination in Pigs. In M. Manafi (Ed.), *Artificial Insemination in Farm Animals*. Rijeka: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/16592>
- Frunză, I., Cernescu, H., & Korodi, G. (2008). Physical and Chemical Parameters of Boar Sperm. *Foodbalt, XLI*(119), 634–640. Retrieved from http://usab-tm.ro/vol8MV/101_vol8.pdf
- Gadea, J. (2003). Review: semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 1(2), 17. <https://doi.org/10.5424/sjar/2003012-17>
- Garner, D. L. & E. S. E. H. (2000). Spermatozoa and Seminal Plasma. In *In: E. S. E. Hafez & B. Hafez. Reproduction in farm Animals* (7th ed.). 7th Ed. Williams & Wilkins, USA.
- Idayati, E., Suparmo, S., & Darmadji, P. (2014). Potensi senyawa bioaktif mesocarp buah lontar (*Borassus flabellifer* L.) Sebagai sumber antioksidan alami. *Jurnal Agritech*, 34(03), 277.
- Johnson, L. A., Weitze, K. F., Fiser, P., & Maxwell, W. M. C. (2000). Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1–3), 143–172. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00157-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00157-3)
- Knox, R. V. (2011). Semen processing, extending and storage for artificial insemination in swine. *Departemen of Animal Science. University of Illinois Publications.*, i, 1–7.
- Ochsendorf, F. R. (1998). Infection and reactive oxygen species. *Andrologia*, 30(S1), 81–86. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1998.tb02830.x>
- Parera, H., Ndoen, B., Lenda, V., & Sirat, M. M. P. (2019). Efektivitas Penambahan Ekstrak Mesocarp *Borassus Flabellifer* L pada Pengencer Beltsville Thawing Solution Terhadap Viabilitas Spermatozoa Asal Kauda Epididimis Babi. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 7(1), 212. <https://doi.org/10.23960/jipt.v7i1.p212-216>

- Pryor, W. A., Stahl, W., & Rock, C. L. (2000). Beta Carotene: from Biochemistry to Clinical Trials. *Nutrition Reviews*, 58(2), 39–53. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2000.tb07810.x>
- Radomil, L., Pettitt, M. J., Merkies, K. M., Hickey, K. D., & Buhr, M. M. (2011). Stress and dietary factors modify boar sperm for processing. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(SUPPL. 2), 39–44. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01865.x>
- Shylesh, T., Harshan, H. M., Wilson, M., Promod, K., Usha, A. P., Sunanda, C., & Unnikrishnan, M. P. (2019). Fresh Semen Characteristics of Large white Yorkshire Boar Semen Selected for Liquid Semen Preservation. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(09), 1584–1590. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.809.181>
- Stradivari, M. P. F., N. L.G. Sumardani., N. P. M. (2019). Peternakan Tropika Peternakan Tropika. *Journal of Tropical Animal Science*, Vol. 7 No., 163–168. Retrieved from <https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/download/47298/28395>
- Sulistiyowati, D., Faris, M. A., Yekti, A. P. A., Wahjuningsih, S., & Susilawati, T. (2018). Kualitas Semen Cair Sapi Peranakan Ongole pada Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur tanpa Raffinosa yang Disimpan pada Media yang Berbeda Suhu. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 19(1), 38–45. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2018.019.01.6>
- Sumardani, N. L. G., Budaarsa, K., Putri, T. I., & Puger, A. W. (2019). Umur Memengaruhi Volume Semen dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace di Balai Inseminasi Buatan Baturiti, Tabanan, Bali (AGE AFFECTS SEMEN VOLUME AND MOTILITY OF SPERMATOZOA LANDRACE BOAR'S OF BATURITI ARTIFICIAL INSEMINATION CENTER, TABANAN, BALI). *Jurnal Veteriner*, 20(3), 324. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2019.20.3.324>
- Sumardani, N., Tuty, L., & Siagian, P. (2008). Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda. *Jurnal Media Peternakan*, 31(2), 81–86.
- Tarig, A. A., Wahid, H., Rosnina, Y., Yimer, N., Goh, Y. M., Baiee, F. H., ... Ebrahimi, M. (2017). Effect of different concentrations of soybean lecithin and virgin coconut oil in Tris-based extender on the quality of chilled and frozen-thawed bull semen. *Veterinary World*, 10(6), 672–678. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.672-678>