

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN KELOR DAN
MINYAK ZAITUN DALAM PENGECER SARI BUAH SEMANGKA-
KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BABI
LANDRACE**

Maria Trisna Yanti Ngole¹, W. Marlene Nalley², Kirenus Uly³
[trisnangole492@gmail.com¹](mailto:trisnangole492@gmail.com)
Universitas Nusa Cendana Kupang

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek penambahan ekstrak daun kelor (EDK) dan minyak zaitun (MZ) pada pengencer sari buah semangka yang mengandung kuning telur (SBS-KT) terhadap mutu spermatozoa babi Landrace. Penelitian ini menggunakan bahan berupa semen segar dari babi Landrace yang diencerkan dengan berbagai perlakuan, meliputi: P0 (SBS-KT), P1 (SBS-KT dengan penambahan EDK 3%), P2 (SBS-KT dengan EDK 3% dan MZ 3%), P3 (SBS-KT dengan EDK 6%), serta P4 (SBS-KT dengan EDK 6% dan MZ 6%). Sampel semen yang telah diencerkan ditempatkan dalam cool box dengan suhu berkisar antara 15–20°C dan dilakukan evaluasi setiap 8 jam untuk mengamati motilitas, viabilitas, abnormalitas, serta ketahanan hidup spermatozoa. Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) diperoleh bahwa penambahan EDK dan MZ dalam pengencer SBS-KT, terhadap spermatozoa babi landrace memberikan pengaruh yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($P > 0,05$) baik terhadap motilitas $41,25 \pm 2,50a$, viabilitas $45,62 \pm 3,15a$, abnormalitas $4,12 \pm 0,48a$, serta daya tahan hidup spermatozoa $32,20 \pm 0,40a$. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa penambahan EDK 3% dan MZ 3% dalam pengencer sari buah semangka dengan kuning telur efektif dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi Landrace.

Kata Kunci: Ekstrak Daun Kelor, Minyak Zaitun, Sari Buah Semangka Kuning Telur, Spermatozoa Babi Landrace.

Abstract

This study aims to determine the effect of adding moringa leaf extract (MLE) and olive oil (Oo) in watermelon yolk juice diluent (W-EY) on landrace boars spermatozoa. The materials used in this study were fresh landrace boar semen with P0: W-EY, P1: W-EY + MLE 3%, P2: W-EY + MLE 3% + OO 3%, P3: W-EY + MLE 6%, P4: W-EY + MLE 6% + OO 6%. The diluted semen was stored in a cool box at a temperature of 15-20°C and evaluated every 8 hours for motility, viability, abnormalities, and spermatozoa survival until the motility 40%. The results of the analysis of variance (Anova) showed that the addition of MLE and OO in W-EY diluent, to landrace boars spermatozoa gave a significant effect on motility $41,25 \pm 2,50$, viability $45,62 \pm 3,15$, abnormality $4,12 \pm 0,48$, and survival of spermatozoa. Based on the results of the study, it was concluded that the addition of 3% MLE and 3% Oo in the watermelon yolk juice diluent was effective in maintaining the quality of landrace boars spermatozoa.

Keywords: Moringa Leaf Extract, Olive Oil, Watermelon Juice, Egg Yolk, Landrace Boars Spermatozoa.

PENDAHULUAN

Salah satu cara untuk meningkatkan produktivitas ternak babi adalah dengan memanfaatkan teknologi reproduksi, seperti inseminasi buatan (IB). Metode ini penting dalam memperbaiki kualitas genetik dan meningkatkan hasil produksi. Meski demikian, keberhasilan IB dipengaruhi oleh sejumlah faktor, terutama kualitas semen yang digunakan harus optimal dan memiliki daya tahan hidup yang baik. Upaya untuk menjaga kualitas semen dapat dilakukan melalui proses pengawetan (preservasi) yang efektif. Selama proses tersebut, penambahan nutrisi sangat diperlukan agar semen tetap bertahan dan kualitasnya terjaga untuk

keperluan reproduksi. Bahan pengencer yang dipilih wajib memenuhi beberapa persyaratan, di antaranya punya kemampuan sebagai buffer, bersifat isotonik, mampu menciptakan lingkungan yang ideal bagi spermatozoa, serta berfungsi untuk menambah volume dan meningkatkan jumlah dosis inseminasi dari setiap pengambilan semen (Susilawati, 2011).

Sari buah semangka (SBS) mengandung sejumlah nutrisi penting seperti karbohidrat, asam amino sitrulin, likopen, β -karoten, vitamin, dan mineral. Kandungan karbohidratnya, khususnya glukosa dan fruktosa, menjadi sumber energi bagi spermatozoa. Selain itu, buah semangka juga kaya akan vitamin C dan β -karoten (Azohnson, 2013). Sejumlah penelitian terdahulu mengungkapkan bahwa penambahan vitamin C atau β -karoten dalam bahan pengencer semen dapat meningkatkan daya tahan serta mutu spermatozoa selama proses penyimpanan (Rizal, 2005; Sahfitri, 2014; Siahaan, 2012). Kandungan mineral seperti kalium, magnesium, dan natrium dalam sari semangka juga bersifat isotonik serta berperan dalam menjaga motilitas spermatozoa (Rodriguez et al., 2013).

Kuning telur adalah salah satu komponen penting yang sering ditambahkan ke dalam bahan pengencer untuk menjaga kualitas sperma selama proses penyimpanan. Penyimpanan pada suhu rendah dapat menimbulkan stres akibat perubahan suhu mendadak atau yang dikenal sebagai cool shock. Kondisi ini dapat menurunkan motilitas sperma karena terjadi penyusutan pada membran lipoprotein sel, yang ukuran selnya lebih besar daripada medium semen saat terkena suhu rendah, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada membran tersebut dan berakibat pada keluarnya zat-zat penting dari dalam sel. Kuning telur sendiri kaya akan nutrisi, seperti asam amino, karbohidrat, glukosa, berbagai vitamin, serta protein yang larut dalam air dan lemak. Selain itu, sifat kental (viskositas) kuning telur juga membantu melindungi spermatozoa (Djanuar, 1985).

Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) diketahui mengandung berbagai komponen alami yang bermanfaat, termasuk antioksidan, protein, karoten, vitamin A, C, E, serta sejumlah senyawa bioaktif lainnya (Anwar et al., 2007). Vitamin C dan E berperan penting dalam melindungi membran plasma spermatozoa. Hal ini bertujuan untuk melindungi spermatozoa dari kerusakan yang disebabkan oleh meningkatnya radikal bebas selama proses pengenceran dan penyimpanan semen (Kurniasih, 2013).

Sementara itu, minyak zaitun (*olive oil*) dihasilkan melalui ekstraksi buah matang dari tanaman *Olea europaea*. Minyak ini kaya akan senyawa fenolik yang memiliki senyawa ini memiliki struktur cincin aromatik dan satu atau lebih gugus hidroksil. Jumlah gugus hidroksil yang lebih banyak dalam senyawa fenol tersebut, semakin kuat pula aktivitas antioksidannya (Vissers, 2004). Minyak zaitun hasil pemerasan pertama, yang dikenal sebagai virgin olive oil, mempertahankan kandungan gizi dan polifenol lebih tinggi dibandingkan minyak zaitun yang telah mengalami proses penyulingan lanjutan (*refined olive oil*).

Minyak zaitun mengandung berbagai senyawa polifenol, seperti oleuropein, tirosol, dan hidroksitirosol. Oleuropein dan tirosol diketahui memiliki sifat antioksidan, sementara hidroksitirosol berperan dalam menjaga integritas membran sel dari kerusakan akibat oksidasi. Dengan komposisi nutrisi tersebut, minyak zaitun sangat berpotensi dalam melindungi spermatozoa dari efek merusak radikal bebas.

Diharapkan bahwa kombinasi bahan-bahan tersebut mampu menciptakan lingkungan yang lebih optimal bagi kehidupan spermatozoa, yang ditandai dengan adanya peningkatan kualitas spermatozoa selama proses penyimpanan secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh penambahan ekstrak daun kelor dan minyak zaitun pada bahan pengencer berbasis sari buah semangka dan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi jenis Landrace.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL), terdiri atas empat perlakuan yang masing-masing diulang sebanyak lima kali. Perlakuan yang diberikan meliputi: P0 = SBS-KT (kontrol), P1 = SBS-KT ditambah EDK 3%, P2 = SBS-KT dengan penambahan EDK 3% dan MZ 3%, P3 = SBS-KT dengan EDK 6%, serta P4 = SBS-KT diperkaya EDK 6% dan MZ 6%.

PEMBAHASAN

Pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa

Motilitas merupakan salah satu parameter penting yang mencerminkan kemampuan gerak spermatozoa serta menjadi indikator utama dalam menilai kualitas sperma pada proses inseminasi buatan (Bintara, 2011). Kecepatan gerak ini berbeda pada setiap spesies dan dipengaruhi oleh faktor seperti media dan suhu lingkungan. Rerata persentase motilitas spermatozoa babi Landrace setelah disimpan dalam pengencer sari buah semangka yang telah diperkaya minyak zaitun disajikan pada Tabel berikut:

Tabel 1. Rataan persentase motilitas spermatozoa dalam pengencer perlakuan

JP	P0	P1	P2	P3	P4	P-Value
0	83,75±2,50	83,75±2,50	83,75±2,50	83,75±2,50	83,75±2,50	1,00
8	75,00±4,08 ^{bc}	78,75±2,50 ^{ab}	81,25±2,50 ^a	76,25±2,50 ^b	71,25±2,50 ^c	0,00
16	63,75±7,50 ^{ab}	68,75±4,79 ^{ab}	71,25±2,50 ^a	65,00±4,08 ^{ab}	61,25±2,50 ^b	0,06
24	48,75±2,50 ^b	51,25±6,29 ^b	60,00±4,08 ^a	50,00±4,08 ^b	51,25±4,79 ^b	0,02
32	31,25±4,79 ^b	32,50±5,00 ^b	41,25±2,50 ^a	33,75±2,50 ^b	33,75±2,50 ^b	0,01

Keterangan: Superskip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) P0= SBS-KT, P1=SBS-KT +EDK 3%, P2= SBS-KT + EDK 3% +MZ 3%, P3= SBS-KT + EDK 6%, P4= SBS-KT + EDK 6% + MZ 6%.

JP: Jam Pengamatan

Fafo et al. (2006) menyatakan bahwa penambahan ekstrak daun kelor (EDKS) ke dalam pengencer sitrat kuning telur dapat mempertahankan kualitas spermatozoa babi Landrace selama penyimpanan, dengan konsentrasi optimal ekstrak mencapai 5%. Antioksidan yang terkandung dalam daun kelor berperan melindungi membran spermatozoa dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Khaki et al. (2014) menambahkan bahwa antioksidan memiliki efek positif terhadap fungsi biologis spermatozoa dan mampu melawan stres oksidatif. Selain itu, Pandey et al. (2020) melaporkan bahwa daun kelor mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk flavonoid, saponin, alkaloid, karotenoid (lutein dan β -karoten), quercetin, dan senyawa fenolik. Senyawa fenolik tersebut berfungsi sebagai penangkal radikal bebas, sementara fraksi etanolnya mampu melindungi DNA dari kerusakan. Daun kelor juga menyediakan makronutrien yang mendukung motilitas spermatozoa (Johnson et al., 2000).

Johnson et al. (2000) menyatakan bahwa salah satu faktor utama yang memengaruhi motilitas spermatozoa selama penyimpanan in vitro adalah ketersediaan nutrisi yang memadai dalam pengencer. Penelitian ini menggunakan pengencer SBS yang kaya akan berbagai nutrisi, termasuk karbohidrat, asam amino sitrulin, likopen, β -karoten, vitamin, dan mineral. Tingginya motilitas spermatozoa diduga berkaitan dengan kandungan karbohidrat dalam SBS, khususnya glukosa dan fruktosa, yang berperan sebagai sumber energi utama untuk pergerakan spermatozoa (Yohana et al., 2014). Aktivitas motilitas spermatozoa sangat bergantung pada energi tersebut. Selain itu, adanya antioksidan seperti likopen, vitamin C, dan vitamin A juga membantu melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat radikal bebas selama penyimpanan, sehingga turut mendukung peningkatan motilitas spermatozoa.

Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan, pada awal penyimpanan (jam ke-0), tidak ditemukan perbedaan signifikan pada motilitas spermatozoa di antara semua perlakuan ($P > 0,05$). Ketika memasuki jam ke-8 pengamatan, motilitas pada perlakuan P2 tidak berbeda secara signifikan dengan P1 ($P > 0,05$), namun berbeda secara signifikan dengan P0, P3, dan P4 ($P < 0,05$). Selama periode penyimpanan antara jam ke-16 hingga jam ke-32, perlakuan P2 menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan semua perlakuan lainnya ($P < 0,05$). Hasil ini mengindikasikan bahwa penambahan kombinasi EDK dan minyak zaitun (MZ) sebesar 6% dalam pengencer SBS lebih efektif dalam mempertahankan motilitas spermatozoa babi Landrace dibandingkan penambahan MZ 3%. Efektivitas tersebut diduga terkait dengan kandungan polifenol dalam minyak zaitun, termasuk oleuropein, tirosol, dan hidroksitirosol. Oleuropein dan tirosol berperan sebagai antioksidan, sedangkan hidroksitirosol kemungkinan melindungi membran sel karena struktur kimianya yang mirip dengan komponen membran, sehingga mudah berinteraksi dengan membran sel untuk mencegah kerusakan.

Hsieh et al. (2006) menyatakan bahwa kualitas fertilitas spermatozoa dapat dipertahankan dalam waktu tertentu setelah penampungan dengan bantuan pengencer yang mampu memenuhi kebutuhan fisik dan kimia semen. Penambahan antioksidan yang sesuai terbukti efektif dalam menghambat peroksidasi lipid pada membran plasma spermatozoa, karena antioksidan dapat memutus rantai reaksi oksidatif tersebut. Hal ini membantu menjaga integritas membran sel, sehingga proses metabolisme dan produksi energi tetap berjalan dengan baik.

Penurunan motilitas spermatozoa biasanya disebabkan oleh terjadinya peroksidasi lipid yang menimbulkan kerusakan pada sel. Hal ini dikarenakan membran spermatozoa kaya akan asam lemak tak jenuh yang rentan terhadap oksidasi (Maxwell & Watson, 1996). White (1993) dan Maldjian et al. (2005) juga menyebutkan bahwa tingginya kadar asam lemak tidak jenuh pada spermatozoa mamalia membuatnya mudah terserang Reactive Oxygen Species (ROS). Paparan ROS dapat menurunkan kemampuan bergerak, merusak morfologi, serta mengganggu proses kapasitasi dan reaksi akrosom. Kerusakan ini berpotensi menyebabkan gangguan permanen pada fungsi membran sel.

Temuan penelitian ini berbeda dengan laporan Waluwaja et al. (2019), yang menemukan bahwa tingkat optimal penambahan minyak zaitun dalam pengencer sitrat-kuning telur adalah 12%. Perbedaan hasil tersebut menunjukkan bahwa efektivitas minyak zaitun dalam mempertahankan motilitas spermatozoa sangat bergantung pada jenis pengencer yang digunakan.

Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa menggambarkan kemampuan sel sperma untuk tetap hidup dan bertahan dalam larutan pengencer. Spermatozoa yang masih hidup tidak akan mengambil zat pewarna, sementara sel yang telah mati akan menyerapnya. Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa ditampilkan pada:

Tabel 2. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa

JP	Perlakuan%					P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	88,50±1,00 ^a	88,50±1,00 ^a	88,50±1,00 ^a	88,50±1,00 ^a	88,50±1,00 ^a	1,00
8	81,00±3,37 ^{bc}	82,75±1,71 ^b	86,50±1,73 ^a	81,50±2,38 ^{bc}	78,50±1,00 ^c	0,00
16	67,75±4,99 ^b	70,25±3,59 ^{ab}	75,75±2,87 ^a	70,25±5,12 ^{ab}	67,25±4,50 ^b	0,11
24	55,50±6,35 ^a	55,50±6,61 ^a	65,75±6,18 ^a	56,00±7,07 ^a	56,00±6,06 ^a	0,16
32	35,75±4,35 ^a	39,75±3,50 ^b	45,62±3,15 ^a	37,75±3,20 ^b	36,50±3,42 ^b	0,01

Keterangan: Superskip dengan huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) P0= SBS-KT, P1= SBS-KT + EDK 3%, P2= SBS-KT + EDK 3% + MZ 3%, P3= SBS-KT + EDK 6%, P4= SBS-KT + EDK 6% + MZ 6%.

Tingkat penurunan viabilitas spermatozoa pada tiap perlakuan menunjukkan variasi. Seperti halnya motilitas, penurunan viabilitas ini terjadi akibat lamanya waktu penyimpanan yang berdampak pada berkurangnya pasokan nutrisi yang diperlukan untuk menghasilkan energi melalui proses metabolisme, di mana viabilitas dan motilitas sangat bergantung pada energi tersebut (Audi et al., 2017). Pada jam ke-32, persentase viabilitas tertinggi dicapai oleh perlakuan P2, yaitu sebesar 45,62%. Besarnya nilai ini diduga disebabkan oleh kecocokan dosis kombinasi EDKS dan minyak zaitun dengan kebutuhan spermatozoa, serta diperkuat oleh kandungan senyawa antioksidan seperti flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun kelor. Senyawa bioaktif dalam daun kelor, seperti flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenol, diketahui memiliki aktivitas antioksidan (Putra et al., 2016).

Sebaliknya, rendahnya viabilitas pada perlakuan P0 diperkirakan disebabkan oleh stres oksidatif yang menyebabkan ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan. El-Tantawy (2016) menjelaskan bahwa stres oksidatif merupakan kondisi ketika radikal bebas melebihi kemampuan sistem antioksidan. Flavonoid dalam daun kelor berperan dalam meningkatkan kualitas spermatozoa, termasuk konsentrasi, motilitas, dan viabilitas (Waterman et al., 2020). Flavonoid juga dapat menurunkan aktivitas Reactive Oxygen Species (ROS) dengan cara mendonorkan elektron untuk menghentikan rantai peroksidasi lipid, sehingga melindungi integritas membran plasma sel (Pizzino et al., 2017; Cahyadi et al., 2016). Mekanisme ini berkontribusi pada peningkatan jumlah spermatozoa hidup dan perbaikan motilitas.

Berdasarkan hasil analisis statistik, pada waktu 0 jam setelah pengenceran, Perlakuan tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap viabilitas spermatozoa ($P > 0,05$). Namun, mulai dari jam ke-8 hingga jam ke-32 penyimpanan, pengaruh tersebut menjadi signifikan ($P < 0,05$). Analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa pada jam ke-0, viabilitas spermatozoa pada perlakuan P2 tidak berbeda secara signifikan dibandingkan perlakuan lainnya ($P > 0,05$). Akan tetapi, dari pengamatan jam ke-8 hingga jam ke-32, perlakuan P2 memperlihatkan viabilitas yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain ($P < 0,05$). Hal ini diduga disebabkan oleh penambahan minyak zaitun (MZ) ke dalam pengencer SBS memberikan perlindungan terhadap kerusakan oksidatif, sehingga mengurangi penurunan viabilitas selama masa penyimpanan.

Temuan ini berbeda dengan hasil dari kajian Waluwanja et al. (2019), yang menunjukkan bahwa penambahan 12% minyak zaitun dalam pengencer sitrat-kuning telur mampu menjaga viabilitas spermatozoa babi Duroc secara lebih baik dibandingkan kontrol. Sumarti et al. (2016) juga melaporkan bahwa penggunaan minyak zaitun pada konsentrasi 8–10% menghasilkan viabilitas spermatozoa ayam lokal yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan minyak zaitun.

Minyak zaitun mengandung senyawa fenolik dengan sifat antioksidan (Kampa et al., 2009), sehingga penggunaannya sebagai bahan tambahan dalam pengencer dapat memberikan perlindungan terhadap stres oksidatif dan menjaga viabilitas spermatozoa (Waluwanja et al., 2019). Berbagai jenis senyawa fenolik telah diidentifikasi dalam minyak zaitun murni, antara lain phenolic alcohols, secoiridoid derivatives, phenolic acids, lignans, dan flavonoids (Artajo et al., 2007).

Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa ialah kelainan pada bentuk sel sperma yang dapat timbul karena berbagai faktor, seperti gangguan genetik, stres fisiologis, suhu lingkungan yang ekstrem, kesalahan dalam proses preparasi, atau prosedur pembekuan semen (Arfiantini et al.,

2006). Selain itu, kelainan bisa diakibatkan oleh penyakit yang memengaruhi organ reproduksi, terutama pada bagian tubulus seminiferus di testis, sehingga menghambat produksi spermatozoa. Kelainan morfologi yang umum dijumpai mencakup ukuran kepala yang terlalu besar atau kecil, bentuk kepala tidak normal, atau kerusakan pada ekor seperti ekor terputus atau bengkok. Kondisi ini berdampak negatif terhadap kualitas sperma dan kemampuannya dalam melakukan fertilisasi.

Dalam penelitian ini, persentase abnormalitas spermatozoa yang ditemukan berkisar sekitar 4,10%, dan masih termasuk dalam batas toleransi untuk dijadikan sampel penelitian. Menurut Ismaya (2014), jika tingkat abnormalitas melebihi 20%, maka kualitas spermatozoa dianggap rendah dan berpotensi menyebabkan rendahnya keberhasilan fertilisasi. Abnormalitas tersebut dibagi menjadi dua jenis, yaitu abnormalitas primer yang terjadi selama proses pembentukan sperma di tubulus seminiferus, dan abnormalitas sekunder yang muncul setelah proses tersebut, yaitu selama spermatozoa bergerak melalui epididimis, saat ejakulasi, atau akibat paparan zat kimia, urin, kesalahan teknis dalam preparasi, dan kerusakan sel akibat radikal bebas. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa dari setiap perlakuan ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan nilai abnormalitas spermatozoa dalam pengencer

JP	Perlakuan%						P-value
	P0	P1	P2	P3	P4		
0	2,13±0,25 ^a	2,13±0,25 ^a	2,13±0,25 ^a	2,13±0,25 ^a	2,13±0,25 ^a	2,13±0,25 ^a	1,00
8	8,24±11,18 ^a	13,75±13,00 ^a	7,75±11,50 ^a	14,00±12,70 ^a	14,00±12,70 ^a	14,00±12,70 ^a	0,89
16	18,75±18,77 ^a	10,75±16,17 ^a	14,00±12,70 ^a	24,50±15,09 ^a	3,25±0,50 ^a	3,25±0,50 ^a	0,32
24	3,75±0,50 ^b	19,25±18,19 ^{ab}	19,25±17,90 ^{ab}	19,50±17,90 ^{ab}	37,50±5,00 ^a	37,50±5,00 ^a	0,06
32	4,25±0,29 ^a	3,62±1,11 ^a	4,12±0,48 ^a	4,25±0,29 ^a	4,12±0,25 ^a	4,12±0,25 ^a	0,55

Keterangan: Superskip huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) P0= SBS-KT, P1= SBS-KT + EDK 3%, P2= SBS-KT + EDK 3% + MZ 3%, P3= SBS-KT + EDK 6%, P4= SBS-KT + EDK 6% + MZ 6%.

Berdasarkan hasil pengamatan, perbedaan tingkat abnormalitas spermatozoa sudah terlihat sejak awal penyimpanan, dengan persentase tertinggi mencapai 4,25% dan terendah sebesar 3,62%. Hasil analisis statistik mengindikasikan bahwa pada jam ke-0, ke-8, ke-16, dan ke-32 penyimpanan, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antarperlakuan ($P > 0,05$). Namun, pada pengamatan jam ke-24, perlakuan memberikan efek yang signifikan terhadap tingkat abnormalitas spermatozoa ($P < 0,05$). Berdasarkan uji lanjut Duncan, perlakuan P4 menunjukkan perbedaan yang dengan nilai abnormalitas yang secara konsisten lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena kombinasi EDK dan minyak zaitun (MZ) pada perlakuan P4 tidak mampu mempertahankan proporsi spermatozoa normal secara optimal.

Menurut Suryadi et al. (2012), peningkatan angka abnormalitas tidak hanya bisa terjadi akibat kesalahan teknis saat preparasi sampel, tetapi juga dapat hal ini terjadi akibat peroksidasi lipid, yaitu kerusakan pada membran sel yang disebabkan oleh reaksi antara asam lemak tak jenuh dan radikal bebas, yang memicu akumulasi Reactive Oxygen Species (ROS). ROS ini dapat merusak struktur dan fungsi membran, sehingga berdampak pada penurunan motilitas dan kualitas spermatozoa secara keseluruhan.

Kelainan pada spermatozoa dapat muncul akibat ketidaksesuaian kondisi osmotik di sekelilingnya (Damayanti, 1991). Hal ini didukung oleh temuan Kamal et al. (2005) dan Arifiantini et al. (2005) yang menjelaskan bahwa peningkatan jumlah spermatozoa abnormal berkaitan dengan ketidakseimbangan nutrisi, penurunan pH pada bahan pengencer, ketidakstabilan tekanan osmotik, serta efek stres dingin selama penyimpanan. Solihati et al.

(2008) juga menambahkan bahwa perubahan suhu yang drastis dan tekanan osmotik yang tidak seimbang akibat metabolisme yang tetap berlangsung selama penyimpanan pada suhu 4–5°C turut berkontribusi terhadap munculnya abnormalitas. Semakin lama periode penyimpanan, semakin besar kemungkinan terjadi peningkatan persentase spermatozoa yang abnormal.

Berdasarkan uji lanjut Duncan pada jam ke-32 penyimpanan, terlihat bahwa perlakuan P2 memberikan persentase abnormalitas spermatozoa terendah dan menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan P5 ($P < 0,05$), namun tidak berbeda signifikan dengan P0, P1, P3, dan P4 ($P > 0,05$). Abnormalitas yang tinggi dapat disebabkan oleh meningkatnya kadar dalam pengencer, yang memicu tekanan osmotik menjadi berlebihan sehingga merusak spermatozoa. Selain itu, penambahan minyak zaitun (MZ) dalam konsentrasi terlalu tinggi juga berpotensi mengubah sifat antioksidannya menjadi prooksidan, yang dapat memberikan dampak negatif pada sel sperma (Lee-Hilz et al., 2006).

Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan Khaerudin et al. (2015) yang menyatakan bahwa penggunaan minyak zaitun dalam konsentrasi tinggi dapat mengganggu mobilitas spermatozoa karena tingginya kandungan molekul lemak, sehingga berdampak negatif terhadap kualitas sel sperma. Namun demikian, temuan ini tidak sepenuhnya konsisten dengan penelitian yang sama, di mana Khaerudin et al. (2015) melaporkan bahwa penggunaan minyak zaitun pada konsentrasi 8% dianggap optimal untuk mempertahankan kualitas semen ayam lokal. Di sisi lain, Waluwanja et al. (2019) menemukan bahwa pemberian minyak zaitun sebesar 12% lebih efektif dalam menjaga kualitas semen cair babi Duroc selama penyimpanan.

Jenis abnormalitas yang ditemukan dalam penelitian ini tergolong sebagai abnormalitas sekunder, yang ditandai dengan terpisahnya kepala dan ekor serta kemunculan ekor yang melingkar. Firdausi et al. (2014) menjelaskan bahwa kerusakan spermatozoa dapat terjadi selama proses pembuatan preparat pada kaca objek, sehingga menyebabkan timbulnya bentuk-bentuk abnormal, misalnya ekor yang patah atau kepala yang terpisah dari ekornya.

Berdasarkan hasil penelitian, tingkat abnormalitas spermatozoa yang diperoleh masih berada di bawah angka 20%, sehingga masih memenuhi standar minimum untuk digunakan dalam inseminasi pada babi betina. Hal ini sesuai dengan pendapat Johson et al. (2000), yang menyarankan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa pada babi sebaiknya tidak melebihi 20% per ejakulat. Persentase yang ditemukan dalam penelitian ini juga lebih rendah dibandingkan hasil studi Barek et al. (2000), yang melaporkan angka abnormalitas masing-masing sebesar 49,04% dan 55,70%.

Pengaruh perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya hidup spermatozoa merujuk pada kemampuan sel sperma untuk tetap hidup dan bergerak maju secara progresif selama jangka waktu tertentu saat disimpan secara *in vitro* (Hine et al., 2014). Pada penelitian ini, parameter yang diukur adalah lamanya spermatozoa dapat bertahan dengan motilitas di atas ambang batas yang dianggap layak untuk digunakan dalam inseminasi buatan (IB), yaitu minimal 40%. Ketentuan ini sejalan dengan standar yang menyebutkan bahwa motilitas spermatozoa untuk keperluan IB tidak boleh berada di bawah 40%. Nilai rata-rata daya tahan hidup spermatozoa untuk setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan daya tahan hidup spermatozoa dalam pengencer

PERLAKUAN	DTH (Jam)
P0	28,10±1,41 ^b
P1	29,72±2,02 ^b
P2	32,20±0,40 ^a
P3	2,80±1,50 ^b
P4	29,65±0,40 ^b
P-value	0,01

Keterangan: Superskip huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) P0= SBS-KT, P1=SBS-KT +EDK 3%, P2= SBS-KT + EDK 3% +MZ 3%, P3= SBS-KT + EDK 6%, P4= SBS-KT + EDK 6% + MZ 6%.

Berdasarkan hasil analisis statistik, perlakuan P2 menunjukkan durasi daya hidup spermatozoa yang secara signifikan lebih lama ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan P0, P1, P3, dan P4. Pada perlakuan P2, spermatozoa mampu mempertahankan kehidupannya hingga 32,20 jam, sementara pada perlakuan lainnya berturut-turut adalah P1 sebesar 28,10 jam, P3 sebesar 29,80 jam, P4 sebesar 29,65 jam, dan P0 sebagai yang terendah dengan 28,10 jam. Walaupun perbandingan antara P0 dan P2 tidak menunjukkan perbedaan signifikan secara statistik ($P > 0,05$), namun P2 tetap menunjukkan kecenderungan daya tahan hidup yang lebih baik. Hal ini mengisyaratkan bahwa penambahan EDKS berkontribusi positif terhadap peningkatan viabilitas spermatozoa.

KE SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi penambahan 3% EDK dan 3% penambahan minyak zaitun (MZ) ke dalam pengencer yang terbuat dari sari buah semangka dan kuning telur dapat mempertahankan kualitas spermatozoa babi Landrace secara optimal.

Saran

Penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mengevaluasi efek kombinasi ekstrak daun kelor dan Peran minyak zaitun dalam pengencer yang dibuat dari sari buah semangka dan kuning telur dengan level di atas 3%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agri, F. (2011). *Cara Mudah Usaha Ternak*. Yogyakarta: Cahaya Atma.
- Al-Daraji, H. J. (2012). Adding olive oil to rooster semen diluents for improving semen quality and storage ability during liquid storage. *Baltic Journal of Comparative & Clinical Systems Biology*, 2(1), 3–11.
- Anwar, F., Latif, S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2006). *Moringa oleifera : A Food Plant with Multiple Medicinal Uses*. *Phytotherapy Research*, 21(1), 17–25.
- Aoetpah, M., Uly, K., & Kune, P. (2024). Pengaruh Penambahan Minyak Zaitun dalam Pengencer KObinasi Tris Sari Buah Semangka-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *Jurnal HUMANIORA Revolusioner*, 8(10), 23–31.
- Ardana, I. B., & Putra, D. H. (2008). *Ternak Babi Manajemen Reproduksi, Produksi dan Penyakit*. Denpasar: Udayana University Press.
- Arifianti, I., Yusuf, T. L., & D, Y. (2005). Kaji Banding Kualitas Semen Beku Sapi Friesian Holstein menggunakan Pengencer dari Berbagai Balai Inseminasi Buatan di Indonesia. *Animal Production*, 7(3), 168–176.
- Arifianti, R., Wresdiyati, T., & Retnani, E. (2006). Kaji Banding Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (Bos Sondaicus) menggunakan Pewarnaan Williams, Eosin, Eosin Nigrosin dan Formol-Saline. *Jurnal Sains Veteriner*, 24(1), 65–70.
- Artika, I. D., Arifiantini, R., & NAlley, W. (2014). Penentuan Waktu Optimal Pengujian Integritas Membran Plasma Spermatozoa Babi menggunakan Hypo-Osmotie Swelling (HOS) Test. *Fakultas Peternakan Universitas Udayana*.

- Artojo, L.-S., Romero, M.-P., Suarez, M., & Motilva, M.-J. (2007). Partition of Phenolic Compounds During the Virgin Olive Oil Industrial Extraction Process. *Eur Food Res Technol*, 225, 617–625.
- Audia, R. P., Salim, M. A., Isnaini, N., & Susilawati, T. (2017). Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau sebagai Bahan Pengecer yang Ditambah 10% Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika*, 18(1), 58–68.
- Barek, M. E., Uly, K., Nalley, W. M., Belli, H. L. ., & Hine, T. M. (2020). Pengaruh Penambahan Sari Wortel dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Bligon. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), 109–117.
- Bintara, S. (2011). Rasio Spermatozoa X:Y dan Kualitas Sperma pada Kambing Kacang dan Peranakan Ettawa. *Sains Peternakan*, 9(2), 65–71.
- Cahyadi, T. R. T., Christiyanto, M., & Setiatin, E. T. (2016). Persentase Hidup dan Abnormalitas Sel Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah (PE) dengan Pakan yang Disuplementasi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Animal Agriculture Journal*, 5(3), 23–32.
- Damayanti, Y. (1991). Pengaruh Kadar Fruktosa dalam Pengencer Air Kelapa Muda, Air Siwalan dan Kombinasinya dengan Kuning Telur terhadap Kualitas Air Mani Ayam Buras. In *Skripsi*.
- Dongkot, S., Marawali, A., Hine, T. M., & Nalley, W. M. (2022). Kualitas Semen Beku Babi Duroc dalam Pengencer Tris Modifikasi dengan Waktu Ekuilibrasi yang Berbeda. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), 72–84.
- El-Tantawy, W. hamdy. (2016). Antioxidant effects of Spirulina supplement against lead acetate-induced hepatic injury in rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(4), 327–331.
- Fafo, M., Hine, T. M., & Nalley, W. M. (2016). Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), 184–195.
- Feradis. (2010). *Bioteknologi reproduksi pada ternak*. Bandung: Alfabeta.
- Firdausi, P. A., Susilawati, T., & Wahyuningsih, S. (2014). Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer Cep-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Santan. *Jurnal Ternak Tropika*, 15(1), 21–30.
- Foeh, N., Gaina, C., & Tophianong, T. (2022). Kualitas Semen Segar dan Semen Cair Babi Landrace Asal Naioni Kabupaten Kupan dengan Sistem Pemeliharaan Insentif. *Jurnal Kajian Veteriner*, 10(1), 61–66.
- Frangez, R., Gider, T., & Kosec, M. (2005). Frequency of Boar Ejaculate Collection and its Influence on Semen Quality , Pregnancy Rate and Litter Size. *Acta Vet BRNO*, 74, 265–273.
- Garner, D. L., & Hafez, E. S. E. (2000). *Reproduction in farm Animals* (7th ed.). USA: Williams & Wilkins.
- Gubartallah, K. A., Ahmed, A., Bakhiet, A. O., & Babiker, A. (2005). Comparative Studies on Reproductive performance of Nubian and saanen bucks Under the Climatic Conditions of Khartoum. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(11), 942–944.
- Hikmah, I. A. (2012). *81 Macam Buah Berkhasiat Istimewa* (1st ed.). Yogyakarta: INaZNa Books.
- Hine, T. M., Burhanuddin, & Marawali, A. (2014). Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas , Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Veteriner*, 15(2), 263–273.
- Hsieh, Y.-Y., Chang, C.-C., & Lin, C.-S. (2006). Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility. *National Library of Medicine*, 2(1), 23–29.
- Iswara, A. (2009). Pengaruh Pemberian Antioksidan Vitamin C dan E terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Putih Terpapar Allethrin [Universitas Negeri Semarang].
- Jhonson, J. T., Lennon, J. A., Ujong, U. P., Odey, M. O., Fila, W. O., Eddem, P. N., & Dasofunjo, K. (2013). Comparative Vitamins Content of Pulp , Seed and Rind of Fresh and Dried Watermelon (*Citrullus Lanatus*). *International Journal of Science and Technology*, 2(1), 99–103.
- Johnson, L. A., Weitze, K. F., Fiser, P., & Maxwell, W. M. C. (2000). Storage of Boar Semen. *Animal Reproduction Science*, 62(3), 143–172.

- Kartasudjana, R. (2001). *Teknik Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.
- Katsiki, M., Chondrogianni, N., Chinou, L., Rivett, A. J., & Gonos, E. S. (2007). The Olive Constituent Oleuropein Exhibits proteasome Stimulatory Properties in Vitro and Confers Life Span Extension of human embryonic Fibroblasts. *National Library of Medicine*, 10(2), 157–172.
- Khaeruddin, Sumantri, C., Darwati, S., & Arifianti, R. I. (2015). Penggunaan Minyak Zaitun Ekstra Virgin ke dalam Bahan Pengencer Semen terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Lokal. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 03(1), 46–51.
- Khaki, A., Khaki, A. A., Hajhosseini, L., Golzar, F. S., & Ainehchi, N. (2014). The Anti-Oxidant Effects of Ginger and Cinnamon on Spermatogenesis Dys-Function of Diabetes Rats. *AJOL (African Journals Online)*, 11(4), 1–8.
- Maldjian, A., Pizzi, F., Gliozzi, T., Erolini, S., Penny, P., & Noble, R. (2005). Changes in Sperm Quality and Lipid Composition During Crypreservation of Boar Semen. *National Library of Medicine*, 63(2), 411–421.
- Maxwell, W. M. C., & Watson, P. F. (1996). Recent Progress in the Preservation of Ram Semen. *Animal Production Science*, 42(1–4), 55–65.
- Nahak, S., Dethan, A. A., & Tahuk, P. K. (2021). Pengaruh Penggunaan Level Pengencer Minyak Zaitun (Extra Virgin Olive Oil) yang Berbeda terhadap Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa serta pH Semen Pejantan Babi Duroc. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 3(2), 55–66.
- Notas, G., Pelekanou, V., Castanas, E., & Kampa, M. (2009). Olive Oil Phenols, basic cell Mechanisms, and Cancer. *ResearchGate*, 129–171.
- Octarya, Z., & Ramadhani, A. (2014). Ekstraksi dan Karakteristik Pektin dari Limbah Kulit Semangka menggunakan Ekstrak Enzim *Aspergillus Niger*. *Jurnal Agroteknologi*, 4(2), 27–31.
- Paiva-Martins, F., Fernandes, J., Rocha, S., Nascimento, H., Vitorino, R., Amado, F., Borges, F., Belo, L., & Santos-Silva, A. (2009). Effects of olive oil polyphenols on erythrocyte oxidative damage. *National Library of Medicine*, 53(5), 609–616.
- Pandey, A., Pandey, R. D., Tripathi, P., Gupta, P. P., Haider, J., Bhatt, S., & Singh, A. V. (2012). *Moringa Oleifera Lam. (Sahijan) - A Plant with a Plethora of Diverse Therapeutic Benefits: An Updated Retrospection*. *Medicinal Aromatic Plants*, 1(1), 1–8.
- Parker, J. (2000). *Reproductive Physiology in Poultr*. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1–13.
- Putra, I. W. D. P., Dharmayudha, A. A. G. O., & Sudimartini, L. M. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), 464–473.
- Rice-Evans, C. (2004). Flavonoids and Isoflavones: Absorption, Metabolism, and Bioactivity. *National Library of Medicine*, 36(7), 827–828.
- Ridwan. (2009). Pengaruh Pengencer Semen terhadap Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Kambing Lokal pada Penyimpanan Suhu 5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 16(2), 187–192.
- Rizal, M., & Herdis. (2005). Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Domba Garut yang Dikriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris. *HAYATI*, 12(2), 61–66.
- Rodriguez, A. L., Rijsselaere, T., Beek, J., Vyt, P., Soom, A. Van, & Maes, D. (2013). Boar Seminal Plasma Components and Their Relation with Semen Quality. *System Biology in Reproductive Medicine*, 59(1), 5–12.
- Salisbury, G. W., L, V. D. N., & R, D. (1985). *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Savitri, F. K., Suharyati, S., & Siswanto. (2014). Kualitas Semen Beku Sapi Bali dengan Penambahan Berbagai Dosis Vitamin C pada Bahan Pengencer Skim Kuning Telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan*

- Terpadu, 2(3), 30–36.
- Siahaan, E. A., Laksmi, D. N. D. I., & Bebas, W. (2012). Efektivitas Penambahan berbagai Konsentrasi B-Karoten terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Sapi Bali Post Thawing. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(2), 239–251.
- Siallagan, N. G. T. (2024). Pengaruh Penambahan Gentamisin dalam Pengenceran Semen terhadap Kualitas Spermatozoa babi Duroc [Skripsi, Universitas HKBP Nommensen].
- Sihombing, D. T. . (2006). *Ilmu Ternak Babi* (2nd ed.). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Situmorang, P. (2002). Pengaruh Kolesterol Terhadap Daya Hidup dan Fertilitas Spermatozoa Sapi. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*, 7(4), 251–258.
- Solihati, N., Idi, R., Rasad, S. D., Rizal, M., & Fitriati, M. (2005). Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongol (PO) dalam Pengecer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada penyimpanan 4-5°C. *Animal Production*, 10(1), 22–29.
- Suharyati, S., & Hartono, M. (2011). Preservasi Dan Kriopreservasi Semen Sapi Limousin dalam Berbagai Bahan Pengencer. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 5(2), 53–58.
- Susilawati. (2011). Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*, 12(2), 15–24.
- Suyadi, Rachamawati, A., & Iswanto, N. (2012). Pengaruh α -Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane - Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 22(3), 1–8.
- Tarigan, A. C. B. (2023). Pengaruh Penambahan penisilin terhadap Kualitas Semen Babi. [Skripsi, Universitas HKBP Nommensen].
- Tolihere, M. R. (1993). *Inseminasi Buatan pada Ternak* (3rd ed.). Bandung: Bandung Angkasa.
- Ugwu, S. O. C., Onyimonyi, A. E., & Foleng, H. (2009). Testicular development and relationship between body weight , testis size and sperm output in tropical boars. *African Journal of Biotechnology*, 8(6), 1165–1169.
- Vierman, Nababan, M. S., Daulay, A. H., & Hamdan. (2016). Pendugaan Parameter Genetik dan Komponen Ragam Sifat Pertumbuhan pada Bangsa Babi Landrace. *Jurnal Peternakan Integratif*, 4(3), 276–290.
- Vissers, M. N., Zock, P. L., & Katan, M. B. (2004). Bioavailability and Antioxidant Effect of olive Oil Phenols in Humans: a Review. *Eur J Clin Nutr. Pubmed*, 58(6), 55–65.
- Waluwanja, Y. U. D., Nalley, W. M., Hine, T. M., & Uly, K. (2019). Efektivitas Berbagai Konsentrasi Minyak Zaitun Ekstra Virgin (Oleum Olivae) dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Babi Duroc. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 6(2), 55–62.
- Waterman, C., Graham, J. L., Arnold, C. D., Stanhope, K. L., Tong, J. H., Jaja-Chimedza, A., & Havel, P. J. (2020). Moringa Isothiocyanate-rich Seed Extract Delays the Onset of Diabetes in UC Davis Type-2 Diabetes Mellitus Rats. *Scientific Reports*, 10(1), 1–8.
- White, I. G. (1993). Lipids and Calcium Uptake of Sperm in Relation to Cold Shock and preservation: a review. *Reprod Fertil Dev*, 5(6), 639–658.
- Yohana, T., Ducho, N., & Raharjo. (2014). Pengaruh Pengencer Sintetis dan Alami Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman Selama Penyimpanan dalam Suhu Dingin. *Lentera Bio*, 3(3), 261–265.