

MOTILITAS DAN VIABILITAS SPERMATOZOA BABI DENGAN HOLDING TIME DAN LAMA THAWING BERBEDA

(Sperm motility and viability of boars in different holding and thawing time)

N. L. M. Sugiantini¹, N. L. G. Sumardani^{2*}, I. W. Suberata²

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana

²Lab Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana ,
Jln. Raya Bukit Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia, 80361

*Correspondent author, email: nlg_sumardani@unud.ac.id

ABSTRAK

Motilitas dan viabilitas spermatozoa merupakan faktor utama dalam penentuan kualitas semen. Perlakuan semen sebelum dan setelah pengenceran menjadi faktor penentu layak atau tidak semen tersebut digunakan dalam inseminasi buatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh holding time dan lama thawing terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa babi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Reproduksi Ternak Kampus Bukit Jimbaran selama 1 bulan, menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial. Faktor pertama adalah holding time yang terdiri 3 taraf yaitu 0 jam (HT0), 2 jam (HT2), dan 3 jam (HT3). Faktor kedua adalah lama thawing yang terdiri dari 3 taraf yaitu selama 2 menit (T2), 3 menit (T3), dan 5 menit (T5). Terdapat 9 kombinasi dan 5 kelompok berdasarkan waktu penampungan semen. Variabel yang diamati meliputi motilitas dan viabilitas spermatozoa babi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan HT3 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan motilitas spermatozoa mencapai 22% dan viabilitas spermatozoa mencapai 41,55%. Thawing selama 5 menit (T5) memberikan hasil motilitas spermatozoa mencapai 18,50% dan viabilitas spermatozoa mencapai 38,45%. Dalam penelitian ini tidak terjadi interaksi antara holding time dan lama thawing. Kesimpulan dari penelitian ini adalah spermatozoa babi menunjukkan hasil terbaik pada holding time 3 jam dengan lama thawing selama 5 menit.

Kata-kata kunci: spermatozoa babi, holding time, thawing, motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa

ABSTRACT

The motility and viability of sperm are the main factors in determining semen quality. The treatment of semen before and after dilution is a determining factor whether or not the semen is suitable for use in artificial insemination. This study aims to determine the effect of holding time and thawing time on the motility and viability of boars sperm. This research was conducted at the Livestock Reproduction Laboratory, Bukit Jimbaran for 1 month, using a factorial randomized block design. The first factor is the holding time which consists of 3 levels: 0 hours (HT0), 2 hours (HT2), and 3 hours (HT3). The second factor is the thawing time which consists of 3 levels: for 2 minutes (T2), 3 minutes (T3), and 5 minutes (T5). There are 9 combinations and 5 groups based on sperm storage time. The observed variables included the motility and viability of boars sperm. The results showed that the HT3 treatment was significantly different ($P < 0.05$) with 22% sperm motility and 41.55% sperm viability. Thawing for 5 minutes (T5) gave the best results with sperm motility 18.50% and sperm viability 38.45%. There was no interaction between holding time and thawing time. The conclusion of this study is that boars sperm shows the best results at holding time of 3 hours with a thawing time of 5 minutes.

Keywords: boars sperm, holding time, thawing, sperm motility, sperm viability

PENDAHULUAN

Penggunaan semen cair pada inseminasi buatan (IB) babi lumrah ditemukan di Indonesia, sedangkan penggunaan semen beku masih sangat terbatas (Tuty et al., 2017). Preservasi yang tepat dalam penggunaan semen cair untuk

periode waktu yang relatif lebih lama diharapkan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa yang terkandung pada semen. Hal ini dikarenakan kualitas spermatozoa (motilitas

dan viabilitas spermatozoa) menjadi salah satu faktor krusial dalam keberhasilan fertilisasi.

Kualitas spermatozoa dipengaruhi oleh struktur phospholipid pada membran plasma semen babi. Struktur phospholipid ini mengalami perubahan dari fase cair menjadi fase gel pada saat suhu rendah (Stradivari *et al.*, 2019) dan perubahan ini dapat menyebabkan kerusakan komposisi lipid membran plasma sehingga motilitas spermatozoa akan mengalami penurunan bahkan kerusakan secara permanen. Upaya mempertahankan kualitas spermatozoa serta memperbanyak volume semen, maka semen perlu dicampur dengan bahan pengencer yang mampu memberi kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa. Namun, semen babi yang telah diencerkan tidak dapat langsung disimpan. Hal ini sangat berpengaruh pada kerentanan spermatozoa terhadap cold shock. Maka dari itu, diperlukan rentang waktu sebelum dan setelah penyimpanan. Rentang waktu sebelum penyimpanan dikenal dengan istilah holding time (Rienprayoon *et al.*, 2012). Hasil penelitian

dari Wasilewska dan Fraser (2017) menyatakan bahwa holding time yang terbaik adalah selama dua jam. Namun terdapat perbedaan hasil penelitian Tuty *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa holding time tidak diperlukan dalam mempertahankan kualitas semen dari segi motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Semen babi perlu diberikan waktu pemulihan setelah penyimpanan yang lebih dikenal sebagai thawing. Bearden, *et al.* (2004) menyatakan thawing bertujuan membuat semen kembali motil dengan suhu yang ideal. Hasil penelitian Simarmata *et al.* (2018) thawing terbaik untuk daerah dingin seperti di UPT BIBD Baturiti Provinsi Bali adalah selama lima menit dan tiga menit untuk daerah panas seperti di UPT BIBD Buruan Provinsi Bali. Mengingat masih adanya perbedaan hasil penelitian mengenai rentang waktu holding time dan lama thawing, sehingga belum ada dasar kuat yang membuktikan berapa lama waktu yang ideal untuk melakukan holding time dan thawing, maka penelitian penting untuk dilakukan.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Semen berasal dari dua ekor pejantan babi ras landrace dengan umur produktif (1-1,5 tahun) dengan bobot mencapai 100-200 kg. Pejantan yang digunakan dalam penelitian ini dipelihara oleh inseminator berlokasi di Kecamatan Manggis, Kabupaten Karangasem. Penampungan, pengenceran, dan penilaian semen secara makroskopis dilakukan di lokasi pemeliharaan pejantan, sedangkan penilaian semen secara mikroskopis dilakukan di Laboratorium Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Udayana.

Metode Penelitian

Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial. Faktor pertama adalah holding time yang terdiri dari 3 taraf yaitu 0 jam (HT0), 2 jam (HT2), dan 3 jam (HT3). Faktor kedua adalah lama thawing yang terdiri dari 3 taraf yaitu selama 2 menit (T2), 3 menit (T3), dan 5 menit (T5). Terdapat 9 kombinasi dan 5 kelompok berdasarkan atas waktu penampungan semen.

Persiapan Bahan Pengencer

Penelitian ini menggunakan Beltsville Thawing Solution (BTS) sebagai bahan pengencer, merupakan bahan pengencer tipe

short term. Pengencer BTS sebanyak 50 gr dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Bahan pengencer ini dihangatkan secara konstan pada suhu 35-37°C. Pengencer digunakan dengan perbandingan antara semen dan pengencer sebesar 1:2 atau 1:3 berdasarkan persentase motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa 65% menggunakan bahan pengencer dengan perbandingan 1:2 sedangkan motilitas spermatozoa di atas 70% menggunakan bahan pengencer dengan perbandingan 1:3.

Penampungan dan Evaluasi Semen

Semen ditampung setiap tiga hari sekali pada pagi hari, dengan menggunakan metode manual (glove hand method). Semen dikoleksi dengan tabung yang dilapisi kain kassa pada mulut tabung. Hal ini dilakukan untuk memisahkan fraksi gelatin semen yang ditampung. Setelah itu dilakukan evaluasi secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, kekentalan, dan pH, serta evaluasi secara mikroskopis meliputi motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa, dan viabilitas spermatozoa. Semen yang memenuhi syarat dengan konsentrasi spermatozoa mencapai 150-300 x 10⁶ sel/mL (Garner dan Hafez, 2000) dan motilitas spermatozoa di atas 65%, dapat dilanjutkan ke proses pengenceran.

Holding Time

Semen yang telah diencerkan dengan pengencer BTS dan dikemas dalam ampul dengan volume 80 mL/dosis kemudian di-holding time sesuai perlakuan. Holding time dilakukan pada suhu kamar (20-25oC) sebelum dilanjutkan pada tahap penyimpanan semen dengan suhu lemari es (16oC). Holding time bertujuan untuk memberikan waktu penyesuaian spermatozoa dengan pengencer.

Penyimpanan Semen

Semen yang telah diencerkan dan dikemas dalam ampul 80 mL, kemudian di-holding time sesuai perlakuan. Setelah itu semen kemudian ditaruh di lemari es, yang sebelumnya sudah diatur pada suhu 16oC. Semen diletakkan pada rak bagian bawah selama pengamatan, dan lemari es tidak dibuka selama penyimpanan agar tidak mempengaruhi suhu.

Thawing dan Evaluasi Semen

Setelah waktu penyimpanan berakhir, semen kemudian di-thawing pada suhu 37°C. dengan lama thawing sesuai perlakuan. Semen yang telah di-thawing kemudian dievaluasi secara mikroskopis kembali diantaranya motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini meliputi: a) kualitas semen segar yaitu 1) volume semen; 2) warna semen; 3) konsistensi semen, konsistensi dinilai dari kecepatan semen kembali ke dasar tabung yaitu encer, sedang, kental; 4) derajat keasaman (pH) semen; 5) konsentrasi spermatozoa (jumlah spermatozoa per ml semen), penilaiannya menggunakan bantuan

haemositometer dan kamar hitung Neubauer dan cairan NaCl 3% dengan perbandingan 1:1; 6) motilitas spermatozoa, dihitung menggunakan mikroskop pada perbesaran 10x40. Motilitas dinilai dengan membandingkan spermatozoa yang bergerak maju (progresif) dengan yang tidak progresif (linear). Rentang nilai dari 0-100%; dan 7) viabilitas spermatozoa (persentase spermatozoa hidup), penilaian dilakukan dengan menggunakan pewarna eosin nigrosin yang dihomogenkan dengan semen dengan perbandingan 1:1 atau 1:2 kemudian dihomogenkan secara cepat. Setelah dihomogenkan, obyek gelas kedua diambil dan disinggungkan, lalu diulas pada obyek gelas ketiga. Obyek gelas dikeringkan dengan heating table selama 10-15 detik. Kemudian dilihat dengan mikroskop. Dilakukan perhitungan dari 10 lapang pandang dengan jumlah sel minimal 200 sel. Spermatozoa yang hidup/viable tidak menyerap warna (transparan). Sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah pada bagian kepala, dihitung dengan rumus (Arifiantini, 2012) sebagai berikut:
$$\text{Spermatozoa hidup} = \frac{\Sigma \text{Sperma hidup}}{\Sigma \text{Spermax}} 100\%$$

b) Motiltas spermatozoa pada holding time berbeda sebelum thawing, dan c) Motilitas dan viabilitas spermatozoa pada holding time berbeda setelah thawing, dan d) Motilitas dan viabilitas spermatozoa pada thawing berbeda.

Analisis Statistika

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (Anova) dan apabila pengaruh perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$) maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar

Hasil evaluasi semen segar babi landrace dari lima kali penampungan menunjukkan kualitas semen yang baik (Tabel 1) dan memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut.

Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Pada Holding Time Berbeda

Motilitas dan viabilitas spermatozoa menjadi dua variabel penentu krusial dalam penilaian kualitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa adalah penilaian daya gerak

spermatozoa secara progresif (pergerakan aktif dan lincah). Viabilitas spsrmatzoa adalah penilaian spermatozoa berdasarkan total jumlah spermatozoa yang hidup dalam satuan persen. Rataan motilitas spermatozoa (Tabel 2) pada holding time berbeda sebelum thawing pada perlakuan HT0 menghasilkan rata-rata tertinggi sebesar $67\% \pm 0,28$, berbeda nyata ($P < 0,5$) dibandingkan dengan HT2 dan HT3 sebesar $60\% \pm 0,28$.

Tabel 1 Kualitas semen segar babi *landrace*

Kualitas semen	Hasil Pengamatan
Volume (mL)	220±24,08
Warna	Putih susu
Konsistensi	Encer
Derajat keasaman (pH)	7,5±0,19
Konsentrasi (x 10 ⁶ sel/mL)	304,5±44,25
Motilitas spermatozoa (%)	67±1,0
Viabilitas spermatozoa (%)	84,3±2,43

Tabel 2. Motilitas spermatozoa pada *holding time* berbeda sebelum *thawing*

Parameter	<i>Holding Time</i> (Jam)			SEM
	HT0	HT2	HT3	
Motilitas (%)	67 ^b	60 ^a	60 ^a	0,28

Keterangan: Nilai dengan huruf yang berbeda dalam satu baris menunjukkan hasil berbeda nyata (P<0,05)

Penurunan nilai motilitas spermatozoa masih dalam rentangan normal motilitas yaitu 50-80%. Rienprayon *et al.* (2012) menyatakan bahwa semen yang terlebih dahulu di-*holding time* mampu mempertahankan motilitas spermatozoa setelah pengenceran. Hal ini menunjukkan bahwa pengencer BTS dapat secara efektif melindungi kualitas dan motilitas sperma babi pada suhu ruang (27-28°C). Pengencer BTS mampu mengurangi tingkat kematian spermatozoa sebelum dilanjutkan ke

proses penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan *holding time* pasca *thawing* selama 3 jam memiliki hasil terbaik dan secara signifikan berbeda (P<0,05) dari perlakuan *holding time* selama 0 jam dan 2 jam. Motilitas dan viabilitas spermatozoa pada *holding time* berbeda pasca *thawing* (Tabel 3) pada perlakuan HT3 memiliki rata-rata tertinggi sebesar masing-masing 22% dan 41,55%±2,36, berbeda nyata (P<0,05) dengan perlakuan HT2 dan HT0.

Tabel 3. Motilitas dan viabilitas spermatozoa pada *holding time* berbeda setelah *thawing*

Parameter	<i>Holding Time</i> (Jam)			SEM
	HT0	HT2	HT3	
Motilitas (%)	11,17 ^a	15,17 ^a	22,00 ^b	2,06
Viabilitas (%)	28,75 ^a	35,16 ^{ab}	41,55 ^b	2,36

Keterangan: Nilai dengan huruf yang berbeda dalam satu baris menunjukkan hasil berbeda nyata (P<0,05)

Rendahnya nilai motilitas spermatozoa belum sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) yang mengharuskan besar motilitas spermatozoa pasca *thawing* sebelum diinseminasikan sekurang-kurangnya 40%. Rendahnya nilai ini diduga disebabkan oleh kurangnya perlindungan yang diberikan oleh pengencer BTS terhadap dampak cold shock yang menyebabkan tingkat kematian sperma tinggi.

Persentase penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa terendah pada perlakuan *holding time* 3 jam mengindikasikan bahwa pada waktu tersebut spermatozoa telah beradaptasi dengan pengencer dan sudah mampu memanfaatkan salah satu bahan kandungan pengencer yaitu sukrosa. Terdapatnya sukrosa

yang terkandung dalam pengencer BTS menjadi sumber energi bagi spermatozoa. Anwar dan Jiyanto (2019) melaporkan bahwa pada saat proses penyimpanan semen dengan suhu rendah, sukrosa mampu melindungi membran plasma sel dari kerusakan dalam fungsinya sebagai pelindung ekstraseluler.

Persentase motilitas spermatozoa pada *holding time* 0 jam dan 2 jam lebih rendah daripada *holding time* 3 jam, diduga disebabkan oleh waktu yang terlalu singkat untuk spermatozoa menyesuaikan diri dengan kandungan pengencer. Penyimpanan pada suhu yang lebih rendah spermatozoa rentan terhadap cold shock yang mempengaruhi nilai motilitas dan viabilitasnya turun. Selain itu, *holding time* yang terlalu cepat menyebabkan

ketidakseimbangan intraseluler spermatozoa. Hal ini didukung oleh Zhang *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa jika suatu sel didinginkan terlalu cepat akan mengalami ketidakseimbangan intraseluler dikarenakan keluarnya sedikit air yang terkandung di dalam sel. Namun, sel spermatozoa akan mengalami dehidrasi dan pengkerutan yang berakibat pada rendahnya viabilitas apabila mengalami holding time dengan rentang yang lama. Rentang holding time yang kurang tepat mengakibatkan asam laktat sisa metabolisme spermatozoa meningkat dan menyebabkan toksik bagi spermatozoa. Selain itu struktur membran spermatozoa mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh terbentuknya perioksida lipid. Spermatozoa yang mengalami metabolisme yang diakibatkan oleh holding time yang lama akan menghasilkan zat radikal bebas yang

tertumpuk pada semen. Hal ini akan menyebabkan kerusakan pada fosfolipid membran sel spermatozoa (Solihati *et al.*, 2018).

Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Pada Thawing Berbeda

Thawing atau pencairan kembali adalah rentang waktu kritis spermatozoa yang disebabkan oleh perubahan suhu dan sangat menentukan daya fertilitas spermatozoa. Hasil penelitian (Tabel 4) menunjukkan pada variabel motilitas spermatozoa pada perlakuan T5 memiliki rata-rata tertinggi sebesar $18,50\% \pm 2,06$, tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan T2 dan T3. Pada variabel viabilitas spermatozoa perlakuan T5 memiliki rata-rata tertinggi sebesar $38,45\% \pm 2,36$, tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan T2 dan T3.

Tabel 4. Motilitas dan viabilitas spermatozoa pada thawing berbeda

Parameter	Thawing (menit)			SEM
	T2	T3	T5	
Motilitas (%)	12,50 ^a	17,33 ^a	18,50 ^a	2,06
Viabilitas (%)	32,77 ^a	34,24 ^a	38,45 ^a	2,36

Keterangan: Nilai dengan huruf yang berbeda dalam satu baris menunjukkan hasil berbeda nyata ($P < 0,05$)

Selama proses penyimpanan dan thawing, spermatozoa akan melewati suhu kritis yang berdampak pada penurunan viabilitas dan motilitasnya. Spermatozoa yang telah di-thawing dapat dengan mudah mengalami kerusakan karena perubahan tiba-tiba dalam kondisi osmotik (Munazaroh *et al.*, 2013). Turunnya nilai motilitas dan viabilitas spermatozoa diakibatkan oleh turunnya komposisi protein plasma semen babi dan membran spermatozoa akibat penyimpanan pada suhu rendah (Zahn *et al.*, 2006). Selain itu, suhu tinggi pada saat thawing dapat menyebabkan rendahnya persentase membran plasma utuh (MPU) spermatozoa yang dapat mengakibatkan protein dalam semen mengalami denaturasi. Hal ini dapat mengakibatkan perubahan protoplasma kompleks dan tidak dapat diperbaiki kembali, sehingga spermatozoa mengalami kematian (Indriani dan Wahyuningsih, 2013).

Tuty *et al.* (2017) menyatakan setelah proses thawing spermatozoa dapat mengalami kerusakan pada membran plasma semen, terutama pada bagian ekor yang disebut

midpiece. Midpiece berperan penting pada proses metabolisme sebagai penghasil energi melalui mitokondria. Metabolisme perombakan adenosine triphosphat (ATP) menjadi adenosinediphosphat (ADP) ataupun adenosine monophosphat (AMP) mengalami gangguan yang diakibatkan oleh kerusakan membran pada suhu rendah yang mengakibatkan tidak adanya energi digunakan oleh spermatozoa untuk bergerak. Adenosine monophosphat (ATP) hasil metabolisme inilah yang mempunyai peran penting bagi motilitas spermatozoa (Fiqri, 2014).

Dalam penelitian ini, ditemukan bahwa nilai viabilitas spermatozoa lebih tinggi daripada motilitas sperma setelah di-thawing. Hal ini menunjukkan bahwa pada saat suhu rendah kandungan BTS cukup untuk melindungi membran plasma spermatozoa dengan kandungan sukrosa yang menyisip pada membran plasma dan membuatnya lebih lentur sehingga tidak mudah rusak selama proses penyimpanan dengan suhu rendah maupun pada saat thawing (Tuty *et al.*, 2017).

Interaksi Antara Holding Time dan Lama Thawing

Hasil penelitian dari hasil analisis data interaksi perlakuan holding time dan lama thawing tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap nilai motilitas dan viabilitas spermatozoa. Motilitas dan viabilitas spermatozoa pada perlakuan HT3T5 (Tabel 5) memiliki rata-rata tertinggi sebesar masing-masing $29,50\% \pm 2,06$ dan $46,16\% \pm 2,49$ tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan perlakuan lainnya.

Rendahnya nilai motilitas dan viabilitas spermatozoa diduga dikarenakan kandungan bahan BTS yang kurang memproteksi

spermatozoa, lama penyimpanan pada suhu rendah yang terlalu lama, dan aktivitas seluler dari spermatozoa yang terlalu cepat dan optimal sebelum diencerkan. Bahan pengencer BTS tidak mengandung bahan yang dapat melindungi sel spermatozoa dari serangan radikal bebas atau reactive oxygen species (ROS) yang terbentuk selama processing semen (Bebas *et al.*, 2016). Reactive oxygen species (ROS) menyebabkan kerusakan membran plasma sel dan menyebabkan inaktivasi enzim, kerusakan DNA, serta kematian sel. Oleh karena itu, ROS sangat berbahaya bagi kehidupan spermatozoa (Susilowati dan Triana, 2016).

Tabel 5 Tabel interaksi *holding time* dengan lama *thawing*

Variabel	<i>Holding Time</i>	<i>Thawing</i>			Rataan	SEM
		2	3	5		
Motilitas (%)	0	11,00 ^a	14,00 ^a	8,50 ^a	11,16	2,06
	2	11,00 ^a	17,00 ^a	17,50 ^a	15,16	
	3	15,50 ^a	21,00 ^a	29,50 ^a	22,00	
	Rataan	12,50	17,33	18,50		
Viabilitas (%)	0	29,01 ^a	27,27 ^a	30,01 ^a	28,75	2,49
	2	32,40 ^a	33,89 ^a	39,12 ^a	35,16	
	3	36,90 ^a	41,59 ^a	46,16 ^a	41,55	
	Rataan	32,77	34,24	38,45		

Keterangan: Nilai dengan huruf yang berbeda dalam satu baris (huruf kecil) dan dalam satu kolom menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$)

Selain spermatozoa mengalami ROS, suhu rendah yang rendah pada proses penyimpanan mengakibatkan spermatozoa rentang dengan kejutan dingin (cool shock). Hal ini juga menyebabkan ketidakseimbangan intraseluler sebagai akibat dari pengeluaran air yang berlebihan. Pada saat thawing, konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipo protein dinding sel spermatozoa mengakibatkan permeabilitas membran spermatozoa berubah. Semua ini mengakibatkan kerusakan yang berujung pada sel spermatozoa yang rentan mati (Pratiwi *et al.*, 2014).

Terbentuknya peroksida lipid menyebabkan membran plasma spermatozoa rusak, dan hal ini menjadi masalah yang sering muncul pada prosesing semen babi. Terakumulasinya kandungan asam lemak tak jenuh pada membran spermatozoa babi inilah yang menyebabkan rentannya pembentukan peroksida lipid (Fadilah *et al.*, 2016). Menurut Savitri dan Surhayati (2014), semen babi yang

disimpan dengan rentang waktu yang lama dan terbentuknya akan menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa yang mengganggu proses pengawetan semen. Ditambah dengan lamanya penyimpanan dalam suhu yang rendah, menyebabkan spermatozoa mengalami stres yang juga menjadi penyebab penurunan motilitas dan viabilitas (Sades *et al.*, 2016)

Selain kandungan dalam BTS yang belum mampu melindungi sperma serta jangka waktu penyimpanan yang lama, faktor penyebab rendahnya motilitas dan viabilitas pada penelitian ini diduga karena aktivitas seluler dari spermatozoa yang terlalu cepat dan optimal sebelum diencerkan. Dalam penelitian ini, diduga spermatozoa mengalami aktivitas seluler dengan cepat. Hal ini menyebabkan energi, terutama glukosa, cepat habis sehingga asam laktat hasil metabolisme terakumulasi menjadi racun yang bisa menyebabkan kematian bagi spermatozoa.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan holding time 3 jam dan thawing selama 5 menit memberikan hasil terbaik

terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa babi. Dalam penelitian ini tidak terjadi interaksi antara perlakuan holding time dan lama thawing.

SARAN

Berdasarkan data hasil penelitian yang diperoleh dapat disarankan agar dilakukan penelitian lanjutan mengenai holding time dan lama thawing yang terbaik dalam

mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa babi dengan rentang waktu yang lebih beragam.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar P , Jiyanto J. 2019. Efektivitas sukrosa sebagai proteksi aktif membran ekstraseluler spermatozoa Sapi Bali pada zona pre-freezing. *Jurnal Agripet*. 19(1): 77-84. <https://doi.org/10.17969/agripet.v19i1.14468>
- Arifiantini RI. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen Pada Hewan*. PT Penerbit IPB Press. Bogor.
- Bearden HJ, Fuquay F, Willard ST. 2004. *Applied Animal Reproduction*. 6th Ed. Pearson Prentice Hallm. New Jersey. USA.
- Bebas W, Buyona GL, Budiasa MK. 2016. Penambahan vitamin E pada pengencer BTS® terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi landrace pada penyimpanan 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*. 8(1): 1-7. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/buletin/article/download/19665/13056>
- Fadilah ZN, Isnaini N, Ihsan MN. 2016. Kualitas semen cair Sapi Bali selama penyimpanan suhu ruang menggunakan pengencer skim milk dengan penambahan filtrat kecambah kacang hijau. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*. 17(1): 22-30. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2016.017.01.3>
- Fiqri MM. 2014. Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman dengan berbagai konsentrasi dalam engencer CEP-D yang disimpan dalam refrigerator. *Lentera Bio*. 3(3): 181-185. <https://ejournal.unesa.ac.id/index.php/leterabio/article/view/9611>
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In: Hafez B. Hafez ESE, editor. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins.
- Indriani TS, Wahyuningsih S. 2013. Daya hidup spermatozoa Sapi Limousin yang dipreservasi dengan metode water jacket dan free water jacket. *Jurnal Veteriner September*. 14(3): 379-386. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/7276>
- Munazaroh A M, Wahyuningsih S, Ciptadi G. 2013. The quality of boer goat freezing sperms using mr. frosty equipments with different Andromed equilibration. *Jurnal Ternak Tropika*. 14(2): 63-71.
- Pratiwi RI, Suharyati S, Hartono M. 2014. Analisis kualitas semen beku Sapi Simmental menggunakan pengencer Andromed® dengan variasi waktu pre freezing. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2(3): 8-15. <https://jurnal.fp.unila.ac.id/index.php/JIPT/article/view/496>
- Rienprayoon CC, Klangnak S, Onton C, Tretipskul, Tummaruk P. 2012. A comparative study on the efficacy of four semen extenders and thawing by seminal plasma on the quality of frozen thawed boar semen. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 42(2): 195-200. <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol42/iss2/9>
- Sades AM, Isnaini N, Wahjuningsih S. 2016. Pengaruh suplementasi filtrat kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.) terhadap kualitas semen Sapi Simmental

- dalam pengencer skim milk pada suhu dingin. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*. 17(1): 1-10.
<https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2016.017.01.1>
- Savitri FK, Suharyati S. 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.
<https://jurnal.fp.unila.ac.id/index.php/JIPT/article/view/499>
- Simarmata YNS, Sumardani NLG, Artiningsih RN. 2018. Effect of thawing length on quality of boar semen at technical service unit of artificial insemination centre Bali Province. *Jurnal Peternakan Tropik*. 6(2): 501-508.
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/41841>
- Solihati N, Rasad SD, Setiawan R, Nurjanah S. 2018. Pengaruh kadar gliserol terhadap kualitas semen domba lokal. *Jurnal Biodjati*. 3(1): 63-71.
<https://doi.org/10.15575/biodjati.v3i1.2357>
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika* (Pendekatan Biometrik). Penerjemah B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Stradivari MPF, Sumardani NLG, Mariani NP. 2019. Prosesing semen beku di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Balai Inseminasi Buatan Daerah Provinsi Bali. *Jurnal Peternakan Tropika*. 7(1): 163-168.
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/tropika/article/view/47298>
- Susilowati S, Triana IN. 2016. Protein kasar plasma seminalis sapi menurunkan kejadian nekrosis spermatozoa kambing yang disimpan pada suhu dingin. *Jurnal Veteriner*. 17(1): 57-63.
<http://dx.doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.1.57>
- Tuty LY, Arifiantini RI, Dapawole RR, Nalley WMM. 2017. Kualitas semen beku babi dalam pengencer komersial yang disuplementasi dengan Trehalosa. *Jurnal Veteriner*. 18(1): 69-75.
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/29655>
- Wasilewska K, Fraser L. 2017. Boar variability in sperm cryo-tolerance after cooling of semen in different long-term extenders at various temperatures. *Ani Reprod Sci*, 185(-): 161-173.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.08.016>
- Zhang M, Oldenhof H, Sieme H, Wolkers WF. 2016. Freezing-induced uptake of trehalose into mammalian cells facilitates cryopreservation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 1858(6): 1400-1409.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.03.020>