

KUALITAS SEMEN CAIR BABI PERSILANGAN DENGAN PENGECER BTS BERSUPLEMEN MADU PADA BERBAGAI KONSENTRASI

(Effects of Different Honey Concentrations in BTS Diluent on Liquid Semen Quality of Crossbred Boars)

Yoachim Seplin Jas¹, Ni Luh Gde Sumardani^{2*}, I Gede Mahardika²

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Jln. Raya Bukit Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia, 80361

²Laboratorium 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

Madu merupakan salah satu zat organik yang dapat digunakan sebagai bahan pengencer semen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan madu pada pengencer BTS (*Beltsville Thawing Solution*) terhadap kualitas semen cair babi persilangan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah: P₀ (semen diencerkan dengan BTS tanpa madu), P₁ (BTS + 1% madu), P₂ (BTS + 3% madu), dan P₃ (BTS + 5% madu). Variabel yang diamati adalah motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, dan pH semen setelah penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semen pada perlakuan P₀ menghasilkan motilitas dan viabilitas spermatozoa tertinggi, masing-masing 62,5% dan 80,5%, sedangkan semua perlakuan dengan suplementasi madu (P₁, P₂, P₃) menunjukkan penurunan kualitas yang signifikan ($P < 0,05$), dengan motilitas spermatozoa hingga 21,5% dan viabilitas spermatozoa hingga 48,5%. Nilai pH tidak berbeda nyata antar perlakuan ($P > 0,05$). Secara biologis, hal ini menunjukkan bahwa penambahan madu pada pengencer BTS belum mampu mempertahankan kualitas semen cair. Kesimpulannya, kualitas semen cair babi persilangan terbaik diperoleh pada pengencer BTS tanpa madu.

Kata-kata kunci: babi persilangan, motilitas spermatozoa, semen cair, suplementasi madu, viabilitas spermatozoa

ABSTRACT

Honey is an organic substance that can be used as a semen extender supplement. This study aimed to evaluate the effect of honey supplementation in BTS (*Beltsville Thawing Solution*) diluent on the quality of liquid semen from crossbred boars. A completely randomized design (CRD) with four treatments and four replications was used. The treatments were: P₀ = semen diluted with BTS without honey, P₁ = BTS + 1% honey, P₂ = BTS + 3% honey, and P₃ = BTS + 5% honey. The observed variables were sperm motility, sperm viability, and semen pH after storage. Results showed that semen in P₀ had the highest sperm motility and viability (62.5% and 80.5%, respectively), whereas all honey-supplemented treatments (P₁, P₂, P₃) exhibited a significant decrease in semen quality ($P < 0.05$), with motility as low as 21.5% and viability as low as 48.5%. Semen pH did not differ significantly among treatments ($P > 0.05$). Biologically, these results indicate that honey supplementation in BTS diluent was unable to maintain semen quality. In conclusion, the highest quality liquid semen from crossbred boars was obtained using BTS diluent without honey.

Keywords: crossbred boars, honey supplementation, liquid semen, sperm motility, sperm viability

PENDAHULUAN

Keberhasilan penerapan inseminasi buatan (IB) sangat dipengaruhi oleh kualitas semen, sehingga perlu dilakukan pengolahan semen yang meliputi pengenceran dan penyimpanan

semen secara tepat. Semen babi bersifat voluminous, memiliki volume tinggi dalam sekali ejakulat, mencapai 150-200 mL dengan konsentrasi spermatozoa mencapai 200-300 x

10^6 sel/ML. Walaupun demikian, Sumardani *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa semen segar pada ternak babi tidak dapat bertahan lebih lama dan mudah mengalami *cold shock* jika disimpan pada suhu rendah karena membran plasma semen babi mengandung *Phosphatidylethanolamine* dan *Sphingomyelin* sangat tinggi hingga mencapai 24% dan 14%. Hal ini menyebabkan membran spermatozoa menjadi kaku dan mudah rusak saat penyimpanan dalam suhu rendah (Chun dan Zeng, 2000), dan dapat mengurangi terjadinya keberhasilan fertilisasi.

Pengenceran semen diperlukan untuk mengurangi penurunan motilitas spermatozoa karena perubahan suhu dan tekanan osmotik yang dapat merusak komposisi lipid membran plasma selama proses preservasi. Bahan pengencer yang digunakan mengandung komponen pelindung seperti penyangga, sumber energi, dan lipoprotein sehingga mampu melindungi membran spermatozoa selama penyimpanan, menambah daya simpan, dan memperbanyak jumlah semen yang dapat diinseminasikan (Toelihere, 1993). Selama preservasi, terjadi penurunan motilitas spermatozoa karena perubahan suhu dan tekanan osmotik yang ekstrim dapat merusak komposisi lipid membran plasma (Parks dan Graham, 1992). Oleh karena itu, perlu dilakukannya pengenceran semen yang mengandung komponen pelindung seperti penyangga, sumber energi, dan lipoprotein sehingga mampu melindungi membran spermatozoa selama penyimpanan, menambah daya simpan, dan memperbanyak jumlah semen yang dapat diinseminasikan (Toelihere, 1993).

Beltsville Thawing Solution® mengandung glukosa, NaHCO_3 , dan EDTA yang berperan

mempertahankan energi, kestabilan pH, serta mencegah stres oksidatif pada spermatozoa selama penyimpanan (Knox, 2011). Hasil penelitian (Nahak *et al.*, 2022) menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa berbeda dalam pengencer semen sitrat kuning telur menunjukan kualitas yang baik yaitu dengan konsentrasi glukosa 15% rata-rata persentase motilitas spermatozoa 64%, persentase spermatozoa hidup 93,5%, persentase abnormalitas spermatozoa 8,1%, dan rata-rata pH semen 7,68. Hasil penelitian Foeh *et al.*, (2019) menyatakan bahwa pengencer air buah lontar merupakan pengencer yang paling baik diantara pengencer air buah lontar-madu, air kelapa, dan air kelapa-madu pada suhu 32°C yang mempertahankan viabilitas selama 18 jam penyimpanan.

Madu merupakan salah satu bahan pengencer alternatif yang bisa digunakan dalam pengenceran semen. Beberapa penelitian yang menggunakan kombinasi madu dengan jus buah tomat dan nanas sebesar 1-2% mampu mempertahankan kualitas semen Babi Landrace persilangan (Akandi *et al.*, 2014). Penambahan madu juga mampu sebagai antibakteri dan anti-oxidant dalam preservasi semen babi (Lan *et al.*, 2021). Spermatozoa sangat rentan terhadap serangan radikal bebas (*Reactive Oxygen Species/ROS*), yang berpotensi menurunkan motilitas, integritas membran, dan kemampuan fertilisasi, kondisi ini berdampak langsung pada tingkat kebuntingan setelah inseminasi (Lan *et al.*, 2021). Berbagai penelitian telah menggunakan madu dan kombinasinya sebagai bahan pengencer semen babi, namun informasi penggunaan campuran BTS dan madu dalam konsentrasi yang berbeda masih sangat terbatas.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan satu ekor pejantan Babi Landrace persilangan (Landrace \times Yorkshire) dengan umur produktif 16 bulan dan bobot mencapai 170 kg. Pejantan yang digunakan dipelihara secara intensif oleh peternak yang berlokasi di Banjar Demulih, Desa Demulih, Kecamatan Susut, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali. Penilaian semen secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan di Laboratorium reproduksi ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan: P_0 (semen yang diencerkan dengan BTS tanpa madu); P_1 (semen yang diencerkan dengan BTS mengandung 1% madu); P_2 (semen yang diencerkan dengan BTS mengandung 3% madu); dan P_3 (semen yang diencerkan dengan BTS mengandung 5% madu).

Persiapan Bahan Pengencer

Bahan pengencer yang digunakan adalah BTS (*Beltsville Thawing Solution*) dan madu hutan. Bahan pengencer yang digunakan adalah *Beltsville Thawing Solution*® (BTS) dan madu dengan konsentrasi berbeda (1%, 3%, dan 5%). Madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu hutan yang telah diolah minimal (penyaringan dan pemanasan ringan) sehingga bisa dimanfaatkan dengan tetap mempertahankan nutrisi dan sifat antibakterinya. Semen segar yang telah dikoleksi dan dievaluasi dibagi menjadi empat bagian kemudian dicampur dengan pengencer BTS (*Beltsville Thawing Solution*) dan madu dengan konsentrasi berbeda (1%, 3%, dan 5%). Bahan pengencer dihangatkan secara konstan dengan suhu 37°C. Pengencer digunakan dengan rasio sebanyak 1:2, atau 1:3 berdasarkan presentase motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa 65% menggunakan bahan pengencer dengan rasio 1:2 sedangkan motilitas diatas 70% menggunakan bahan pengencer dengan rasio 1:3. Semen dimasukkan pada tabung pengencer melalui dinding tabung secara perlahan. Hal ini bertujuan agar spermatozoa mampu menyesuaikan dengan pengencer.

Penampungan, Penyimpanan, dan Evaluasi Semen

Pengambilan sampel dilakukan dua kali dalam seminggu dengan waktu pengambilannya pada pagi hari pukul 08.30-09.30 WITA. Metode penampungan semen menggunakan metode manual (*glove hand method*). Penampungan menggunakan tabung penampungan yang ditutupi menggunakan kain kassa pada bagian mulut tabung, yang bertujuan untuk memisahkan fraksi gelatin. Semen segar yang ditampung (fraksi kaya sperma) dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Semen yang memenuhi syarat dilanjutkan ke proses pengenceran. Semen yang telah diencerkan sesuai perlakuan kemudian disimpan dalam lemari es, dengan suhu 20°C dan semen diletakkan dibagian rak paling bawah, selama 24 jam. Evaluasi semen dilakukan setelah 24 jam penyimpanan. Semen dihangatkan terlebih dahulu dalam *waterbath* suhu 30-37°C selama 5-10 menit, sebelum dievaluasi untuk mengamati persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa dan pH semen.

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi variabel semen segar dan semen setelah pengenceran dan penyimpanan. Variabel semen setelah penyimpanan, meliputi: motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, dan derajat keasaman (pH) semen. Variabel semen segar meliputi:

- 1) Volume semen, diukur dengan tabung erlenmeyer dengan tabung penampungan berskala 100-500 ml.
- 2) Derajat keasaman (pH) semen, diukur menggunakan kertas indikator.
- 3) Konsistensi semen, diukur dengan cara semen dimasukkan pada tabung kemudian dimiringkan dan dikembalikan pada posisi semula. Konsistensi semen ditentukan dari kecepatan semen kembali ke dasar tabung yaitu encer, sedang, dan kental.
- 4) Warna semen, diukur berdasarkan interpretasi inseminator yang berpengalaman. Secara umum semen berwarna putih susu, putih keruh, krem, krem kekuningan atau putih keabuan.
- 5) Motilitas spermatozoa, dinilai dengan cara meneteskan semen pada objek gelas yang bersih di bawah mikroskop cahaya pembesaran 10×45. Persentase motilitas dapat dinilai secara subyektif dengan membandingkan spermatozoa motil bergerak kedepan (progresif) dengan yang tidak progresif (linear). Penilaian yang diberikan dari angka 0% (tidak motil) sampai 100% (motil semua).
- 6) Konsentrasi spermatozoa (total spermatozoa per mL semen), dinilai dengan bantuan haemositometer dan kamar hitung (Neubaer dan cairan NaCl 3%).
- 7) Viabilitas spermatozoa (persentase spermatozoa hidup), penilaian ini menggunakan pewarna eosin-nigrosin (Johnson dan Weitze, 2001). Eosin diteteskan dan dicampur dengan semen dengan perbandingan 1:1 atau 1:2 lalu dicampurkan dengan cepat. Setelah dicampurkan, objek gelas kedua diambil dan disinggungkan, kemudian diulas pada objek gelas ketiga. Objek gelas dikeringkan menggunakan *heating table* selama 10-15 detik. Diamati menggunakan mikroskop. Hitung dari 10 lapang pandang dengan jumlah sel minimal 200 sel. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna atau transparan. Sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna. Dihitung dengan rumus (Arifiantini, 2012) sebagai berikut:

$$\text{Spermatozoa Hidup} = \frac{\sum \text{sperma hidup}}{\sum \text{total sperma}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *Analysis of Variance*

(ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan, dianalisis menggunakan *software* SPSS 26.0 for *windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil evaluasi terhadap kualitas semen segar Babi Landrace persilangan (Landrace × Yorkshire) yang ditampung cukup baik dan memenuhi syarat untuk proses pengenceran dan penyimpanan. Kualitas semen segar dan

semen setelah pengenceran dan penyimpanan pada Babi Landrace persilangan (Landrace × Yorkshire) dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Kualitas semen segar Babi Landrace persilangan (Landrace × Yorkshire).

Kualitas Semen	Rata-Rata ±SD	Standar
Volume (ml)	207,5 ± 8,29	150-200**
Warna	Putih Susu	Putih Susu**
Konsistensi	Encer	Encer**
Derajat Keasaman (pH)	7,425 ± 0,08	7,3-7,8*
Motilitas Spermatozoa (%)	70 ± 5,0	70***
Konsentrasi (×10 ⁶)	275-300 ± 39,1	200-300**
Viabilitas Spermatozoa (%)	82,5 ± 5,6	80***

Sumber: *Johnson *et al.*, (2000); ** Garner dan Hafez (2010), *** SNI 8034:2023

Tabel 2. Kualitas semen Babi Landrace persilangan (Landrace × Yorkshire) setelah pengenceran dan penyimpanan selama 24 jam.

Variabel	Perlakuan				SEM
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	
Motilitas Spermatozoa (%)	62,5±5,0 ^a	45±4,1 ^b	32,5±6,5 ^c	21,25±6,3 ^d	2,77
Viabilitas Spermatozoa (%)	80,5±7,6 ^a	68,75±13,1 ^{ab}	54,5±10,2 ^{bc}	48,5±13,2 ^c	5,64
Derajat Keasamaan (pH)	7,2±0,4 ^a	7,2±0,5 ^a	7,1±0,4 ^a	7,0±0,4 ^a	0,19

Keterangan:

- 1) Semen yang diencerkan dengan BTS tanpa madu sebagai kontrol (P₀), semen yang diencerkan dengan BTS mengandung 1% madu (P₁), semen yang diencerkan dengan BTS mengandung 3% madu (P₂), dan semen yang diencerkan dengan BTS mengandung 5% madu (P₃).
- 2) Nilai dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama yaitu menunjukkan berbeda nyata (P<0,05), sedangkan huruf yang sama pada baris yang sama yaitu menunjukkan berbeda tidak nyata (P>0,05).

Hasil evaluasi kualitas semen segar Babi Landrace persilangan (Landrace × Yorkshire) menunjukkan bahwa parameter kualitas semen seperti volume, warna, konsistensi, pH, motilitas, konsentrasi, dan viabilitas spermatozoa sesuai dengan standar yang direkomendasikan (Johnson *et al.*, 2000; Garner dan Hafez, 2010; SNI 8034:2023). Volume semen rata-rata 207,5 mL dan konsentrasi spermatozoa 275-300 × 10⁶ sel/mL menunjukkan kualitas semen segar yang baik dan memenuhi syarat untuk inseminasi buatan (Waberski *et al.*, 2019). Motilitas dan viabilitas spermatozoa yang tinggi juga menandakan fertilitas potensial yang optimal (Gadea, 2003). Setelah pengenceran dengan BTS dan madu

dengan konsentrasi berbeda (1%, 3%, dan 5%), serta penyimpanan selama 24 jam, penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa terjadi secara signifikan terutama pada perlakuan dengan penambahan madu. Semen tanpa madu (P₀) mempertahankan motilitas dan viabilitas tertinggi, sementara perlakuan dengan madu (P₁, P₂, P₃) menurun secara nyata (P < 0,05). Penurunan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa penambahan gula atau bahan organik dalam pengencer semen harus diatur secara ketat, karena konsentrasi berlebih dapat menyebabkan stres osmotik yang merusak spermatozoa (Johnson *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2018).

Madu mengandung fruktosa dan glukosa yang bertindak sebagai sumber energi bagi spermatozoa, namun konsentrasi tinggi meningkatkan osmolaritas medium sehingga menyebabkan dehidrasi dan disfungsi membran sel spermatozoa, serta stress osmotik pada spermatozoa (Yeste *et al.*, 2010). Stres osmotik ini mengakibatkan gangguan homeostasis sel dan kehilangan air dari spermatozoa, yang pada gilirannya menurunkan kemampuan gerak dan kelangsungan hidup sel (Johnson *et al.*, 2000), sehingga menyebabkan penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Selain faktor osmotik, madu mengandung berbagai komponen bioaktif seperti flavonoid, asam fenolat, dan enzim yang memiliki efek antioksidan, dan pada dosis tinggi dapat memicu stres oksidatif, mengurangi viabilitas spermatozoa (Esteves and Zini, 2020). Dalam konsentrasi tinggi, komponen tersebut juga berpotensi menghasilkan radikal bebas melalui proses oksidasi yang tidak terkontrol, yang dapat merusak membran lipid spermatozoa dan DNA (Zanella *et al.*, 2016). Hal ini berpotensi mempercepat kematian sel dan menurunkan kualitas semen secara keseluruhan.

Kestabilan pH pada semua perlakuan menunjukkan bahwa buffering dari BTS cukup efektif menjaga lingkungan semen tetap optimal, menjaga motilitas dan viabilitas spermatozoa

selama penyimpanan dengan menyediakan elektrolit, buffer, dan sumber energi yang sesuai, sehingga perubahan kualitas semen lebih banyak dipengaruhi oleh interaksi kimia dan fisik antara madu dan spermatozoa, bukan karena perubahan pH medium (Hunter, 2004). Nilai pH semen yang stabil antar perlakuan (7,0–7,2) menegaskan bahwa penurunan kualitas semen bukan karena perubahan keasaman, melainkan efek langsung madu pada sel sperma. Oleh karena itu, penggunaan BTS tanpa madu tetap direkomendasikan untuk inseminasi buatan pada Babi Landrace persilangan.

Penelitian sebelumnya oleh Ponglowhapan *et al.*, (2004) menunjukkan bahwa penggunaan pengencer yang mengandung zat organik harus dioptimalkan konsentrasinya agar manfaat antioksidan dan nutrisi dapat dimanfaatkan tanpa menimbulkan efek toksik. Selain itu, faktor penyimpanan semen selama 24 jam pada suhu tertentu juga dapat memengaruhi kualitas semen. Penyimpanan pada suhu suboptimal atau terlalu lama akan mempercepat penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa (Waberski *et al.*, 2019). Oleh karena itu, perlakuan pengenceran dan penyimpanan harus disesuaikan untuk mempertahankan kualitas semen pada tingkat yang optimal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, penggunaan pengencer BTS tanpa suplementasi madu lebih efektif

dalam mempertahankan kualitas semen cair Babi Landrace persilangan selama penyimpanan.

SARAN

Penelitian lebih lanjut dapat mengeksplorasi perlakuan awal madu untuk mengurangi efek osmotik dan stres oksidatif. Studi molekuler juga diperlukan untuk

memahami mekanisme interaksi madu dengan membran spermatozoa guna mengoptimalkan penggunaannya sebagai suplementasi pengencer semen.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R.I. (2012). Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen Pada Hewan. Penerbit: IPB Press.
- Arkandi, A., Ugwu, S.O., & Machebe, N.S. 2015. Survivability of boar sperm stored under room temperature in extenders containing some natural products. *Open Access Animal Physiology*, (7), 57–64. <https://doi.org/10.2147/OAAP.S71360>
- Chun, X.,Z., & Zeng M., Y. (2000). Evaluation on sperm quality of freshly ejaculated boar semen during in vitro storage under different temperatures. *Theriogenology*, 53(7), 1477-1488. <https://doi.org/10.1016/S0093->

- [691X\(00\)00290-9](#)
- Esteves, S.C., & Zini, A. (2020). Impact of natural antioxidants on sperm quality and fertility outcomes: a review. *Theriogenology*, *150*, 155–161.
- Foeh, N. D., Mere, C.Y., & Gaina, S.D. (2019). Air kelapa dan air buah lontar sebagai modifikasi pengencer alternative pada semen babi landrace. *Jurnal Veteriner Nusantara*, *2*(2), 20–29. <https://doi.org/10.35508/jvn.v6i2.2459>
- Garner, D.L., & Hafez, E.S.E. (2010). Spermatozoa: Production, Morphology, Pathology, and Preservation. CRC Press.
- Gadea, J. (2003). Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology*, *59*(2), 571–583. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.023>
- Hunter, R.H.F. (2004). The Reproduction of Pigs. Wiley-Blackwell. New Jersey.
- Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P., & Maxwell, W.M.C. (2000). Storage of Boar Semen. *Animal Reproduction Science*, *62*, 143–172. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00157-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00157-3)
- Johnson, L.A., & Weitze, K.F. (2001). Manual of Boar Semen Handling and Evaluation. Iowa State University Press.
- Knox RV. (2011). The current value of frozen-thawed boar semen for commercial companies. *Reproduction in Domestic Animals*, *46*(2), 4-6. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01822.x>
- Lan, Q., Xie, L., Pan, J., Chen, Q., Xiao, T., & Fang, S. (2021). The Antibacterial and Antioxidant Roles of Buckwheat Honey (BH) in Liquid Preservation of Boar Semen. *BioMed Research International*: <https://doi.org/10.1155/2021/5573237>
- Nahak, P.L., Dethan, A.A., & Kia, K.W. (2022). Kualitas semen Babi Landrace dalam pengencer semen sitrat-kuning telur yang ditambah glukosa dengan konsentrasi berbeda. *Journal of Animal Science*, *7*(1), 12–15. <https://doi.org/10.32938/ja.v7i1.1593>
- Ponglowhapan, S., Techakumphu, M., Chanapiwat, P., Pinyopummin, A., Korpaiboon, J., & Kaeoket, K. (2004). Effects of antioxidant supplementation on boar semen quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *17*(7), 1006-1011.
- Standar Nasional Indonesia. (2023). SNI 8034:2023 Tentang Semen Cair Babi. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Smith, R.D., Johnson, L.A., & Reed, M.L. (2018). Sugar and cryopreservation: effects on sperm viability. *Cryobiology*, *81*, 1–7.
- Sumardani, N.L.G., Tuty, L.Y., & Siagian, P.H. (2008). Viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer BTS (*Beltsville Thawing Solution*) yang dimodifikasi pada penyimpanan berbeda. *Media Peternakan – Journal of Animal Science and Technology*, *31*(2), 81–86. <https://doi.org/10.5398/medpet.v31i2.1085>
- Toelihere, M.R. (1993). Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Waberski, D., Schäfer, J., Henning, H., & Weitze, K.F. (2019). Advances in boar semen preservation. *Reproduction in Domestic Animals*, *54*(1), 24–30.
- Yeste, M., Briz, M., Pinart, E., Sancho, S., Bussalleu, E., & Bonet, S. (2010). The osmotic tolerance of boar spermatozoa and its usefulness as sperm quality parameter. *Animal Reproduction Science*, *119*(3-4), 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.02.011>
- Zanella, E., Zanella, R., Poetini, M.R., Marques, M.G., Soares, J.C.M., & Bondan, C. (2016). Oxidative status of boar semen during storage. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, *12*(2), 95–101. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2016.95.101>