

Kualitas Semen Beku Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur dengan Waktu Pre Freezing yang Berbeda

*Helena Reslina Nduang, Agustinus R. Riwu, Petrus Kune, Thomas Mata Hine

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Kelautan Dan Perikanan,

Universitas Nusa Cendana

Jln. Adisucipto Penfui, Kupang 85001

*Email: Lelynnena791@Gmail.Com

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk menemukan lama waktu pre freezing sperma dalam pengencer sitrat kuning telur (S-KT). Penelitian ini menggunakan semen segar dari 4 ekor ternak babi jantan landrace yang telah mencapai dewasa kelamin dengan umur ternak babi adalah 2-3 tahun dan dalam keadaan sehat. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan dan empat ulangan dengan waktu pre freezing yakni: P1 = Sitrat kuning telur + gliserol 6% (3 menit), P2 = S-KT 6% (6 menit), P3 = S-KT 6% (9 menit), P4 = S-KT 6% (12 menit). Semen yang telah diencerkan dalam pengencer sitrat kuning telur disimpan pada suhu ruang 27-28°C selama 2 jam (*holding time*). Selanjutnya disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 RPM, supernatan dibuang dan pelet diencerkan kembali menggunakan pengencer S-KT. Kemudian semen dikemas dalam straw 0,5 ml dilanjutkan dengan packing dan disusun dalam rak pembekuan dan diekuilibrasikan dalam suhu 3-5°C selama 2 jam. Setelah itu pembekuan semen di atas permukaan uap N₂ cair dengan waktu pre freezing 3, 6, 9, dan 12 menit dan disimpan dalam kontainer N₂ cair (-196°C). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa lama waktu pre freezing tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas dan recovery rate (RR). Dapat disimpulkan bahwa waktu pre freezing yang dilakukan selama 3 hingga 12 menit tidak memberikan dampak terhadap kualitas semen beku babi landrace.

Kata kunci: babi landrace; sitrat; kuning telur; gliserol; waktu pre freezing

Abstract: This research aimed to determine the optimal pre-freezing time for boar sperm in egg yolk citrate (EYC) extender. The study utilized fresh semen from four sexually mature landrace boars, aged 2-3 years, and in healthy condition. A completely randomized design (CRD) was employed, consisting of four treatments and four replicates with varying pre-freezing times: T1 = Egg Yolk Citrate + 6% glycerol (3 minutes), T2 = EYC 6% (6 minutes), T3 = EYC 6% (9 minutes), T4 = EYC 6% (12 minutes). Semen diluted in the egg yolk citrate extender was stored at room temperature (27-28°C) for 2 hours (*holding time*). Subsequently, it was centrifuged for 15 minutes at 3000 RPM, the supernatant was discarded, and the pellet was re-diluted using EYC extender. The semen was then packaged into 0.5 ml straws, followed by packing and arranging on a freezing rack, and equilibrated at 3-5°C for 2 hours. After that, semen freezing was performed above the surface of liquid N₂ vapor with pre-freezing times of 3, 6, 9, and 12 minutes, and then stored in a liquid N₂ container (-196°C). The results of this study showed that the duration of pre-freezing time had no significant effect ($P > 0.05$) on motility, viability, abnormality, and recovery rate (RR). It can be concluded that pre-freezing times ranging from 3 to 12 minutes did not impact the quality of frozen Landrace boar semen.

Keywords: Landrace boar; citrate; egg yolk; glycerol; pre-freezing time

1. Pendahuluan

Pembekuan semen babi mempunyai peranan penting dalam industri peternakan babi, selain dapat memperoleh genetik yang unggul, juga dapat meningkatkan efisiensi peningkatan produksi daging khususnya daging babi. Semen babi mengandung spermatozoa yang mempunyai komposisi membran plasma yang berbeda jika dibanding ternak lainnya yaitu memiliki *phosphatidylethanolamine* dan *sphingomyelin* sangat tinggi hingga mencapai 24% dan 14%, sehingga mudah mengalami *cold shock* saat proses

preservasi, menurut Yusuf *et al.*, 2017 untuk mengurangi efek *cold shock* akibat preservasi ini dilakukan *holding time* pada suhu ruang (20-22°C) agar spermatozoa dapat beradaptasi pada saat preservasi dan kriopreservasi. Preservasi semen cair babi hanya bisa dilakukan pada suhu 20-22°C. Menurut Abu alga dan Terasa (2004) untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas beberapa hal yang perlu diperhatikan adalah teknik yang tepat dalam pembekuan semen, jenis dan konsentrasi krioprotektan yang ditambahkan dan bahan pengencer yang digunakan.

Teknologi inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu teknologi dalam reproduksi ternak yang sudah dikenal meluas di masyarakat, memiliki manfaat dalam mempercepat peningkatan kualitas genetik ternak (Fitriani *et al.*, 2023). Keberhasilan IB antara lain bergantung pada kualitas spermatozoa yang digunakan, dimana semakin tinggi kualitas spermatozoa maka tingkat keberhasilan IB akan semakin tinggi. Pejantan penghasil spermatozoa perlu diseleksi, dan selanjutnya spermatozoa yang diperoleh dipreservasi dalam medium pengencer yang dapat menyediakan kebutuhan zat-zat nutrisi bagi kebutuhan fisik dan kimiawi spermatozoa selama penyimpanan (Tambing *et al.*, 2003).

Menurut Toelihere (1993) bahan pengencer yang baik harus berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa, berfungsi sebagai larutan penyangga atau *buffer* serta mampu mempertahankan pH dari semen tersebut. pengencer semen babi yang sering digunakan dilapangan adalah fosfat kuning telur, sitrat kuning telur, tris kuning telur dan pengencer laktosa (Hirotada *et al.*, 2006). Pengencer sitrat kuning telur memiliki kandungan yang relatif lengkap seperti lesitin dan lipoprotein yang dapat digunakan sebagai bahan penyangga (*buffer*). Salah satu bahan Pengenceran semen adalah tris kuning telur yang berfungsi sebagai sumber energi, melindungi dari kejutan dingin serta melindungi spermatozoa dalam proses pengenceran semen (Nilawati, 2011). Fungsi sitrat kuning telur sebagai penyangga atau *buffer*, menstabilkan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*Cold shock*) yang merupakan larutan yang mengandung fruktosa dan asam sitrat (Hoesni, 1997).

Selain pengencer, waktu *pre freezing* juga berpengaruh terhadap kualitas semen beku. *Pre freezing* merupakan proses pembekuan semen dengan suhu tertentu sampai mencapai suhu yang diinginkan. *Pre freezing* akan mempengaruhi kualitas semen yang dibekukan, seperti motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa (Toelihere, 1985). Masalah yang sering menyebabkan kualitas semen adalah pada proses pengolahan terutama pada tahap pembekuan. Pembekuan merupakan pengeringan fisik yang meliputi dua tahap, yaitu *pre freezing* dan *freezing*. Pada proses pembekuan semen akan mengakibatkan terjadinya *cold shock* dan perubahan intraseluler yang berkaitan dengan pembentukan kristal-kristal es. Menurut Parrish (2003). Semen akan mengalami penurunan kualitas sekitar 10-40% pada saat pembekuan. Derajat pendinginan merupakan problem penting dalam proses pembekuan semen. Derajat kecepatan pendinginan untuk mempertahankan fertilitas spermatozoa belum diketahui pasti, proses pembekuan pada tahap *pre freezing* dilakukan selama 5-9 menit di atas N₂ cair, menurut Nilna (2010), pembekuan berlangsung selama 9 menit.

2. Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan semen segar ternak babi jantan yang telah mencapai dewasa kelamin dengan kisaran umur ternak babi adalah 2-3 tahun dan dalam keadaan sehat. Babi tersebut dipelihara pada kandang individu yang dilengkapi dengan tempat pakan dan minum.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan metode penelitian rancangan acak lengkap, terdiri atas empat perlakuan waktu *pre freezing* dan empat kali ulangan dengan perlakuan menggunakan pengencer sitrat-kuning telur dan gliserol 6% dan waktu *pre freezing* P1: 3 menit, P2: 6 menit, P3: 9 menit, dan P4: 12 menit.

Variabel Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan recovery rate.

1. Motilitas spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa dalam melakukan gerak maju atau progresif. Jadi tujuan dari dilakukan perhitungan motilitas spermatozoa ini adalah untuk mengamati spermatozoa yang hidup dan juga mati. Spermatozoa yang tidak bergerak dan diam di tempat maka akan dikategorikan sebagai spermatozoa yang sudah mati, sedangkan yang bergerak progresif dikategorikan sebagai spermatozoa yang hidup.

Rumus perhitungan motilitas spermatozoa adalah:

$$\text{Motilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa progresif}}{\text{Total Spermatozoa}} \times 100\%$$

2. Viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa (Sukmawati *et al.*, 2014). Viabilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kebutuhan akan nutrisi bagi sperma. Nutrisi yang digunakan oleh spermatozoa akan dijadikan sebagai energi, sehingga apabila kebutuhan nutrisi spermatozoa berkurang maka akan mengakibatkan (viabilitas) spermatozoa menurun (Hidayatullah, 2007). Viabilitas spermatozoa ditandai dengan lamanya spermatozoa bertahan hidup.

Rumus perhitungan viabilitas spermatozoa adalah:

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total Spermatozoa}} \times 100\%$$

3. Abnormalitas spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa dapat dibedakan menjadi abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Penentuan abnormalitas spermatozoa adalah perbandingan antara spermatozoa abnormal dan spermatozoa normal (Fitri dan Supartini, 2012). Untuk perhitungan abnormalitas spermatozoa yaitu dengan rumus:

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa yang terhitung}} \times 100\%$$

4. Recovery rate (RR)

merupakan kemampuan pemulihan spermatozoa setelah pembekuan dengan cara membandingkan spermatozoa pasca thawing dengan motilitas semen segar. Rumus perhitungan *recovery rate* adalah:

$$\text{Rumus recovery rate} = \frac{\text{nilai motilitas pasca thawing}}{\text{nilai motilitas semen segar}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Variance* (Anova) dilanjutkan dengan uji Duncan. Analisis menggunakan *software SPSS 25 for Windows*.

3. Hasil dan Pembahasan

Evaluasi semen segar bertujuan untuk mengetahui kelayakan semen segar yang akan digunakan dan volume pengenceran yang digunakan. Hasil pemeriksaan secara makroskopis menunjukkan bahwa volume $137 \pm 20,61$ mL, warna putih susu, bau khas semen babi, konsistensi semen sedang dan pH $6,55 \pm 0,17$. Secara umum, karakteristik semen segar babi yang normal menurut AX *et al* (2000); Robert (2006) menyatakan volume babi tanpa gelatin

berkisar 200-250 mL, warna putih dengan konsentrasi spermatozoa berkisar $200-300 \times 10^6$ sel/mL semen (Garner dan Hafez, 2000) dan konsistensi sedang, persentase abnormalitas kurang dari 20% sedangkan untuk pH rata-rata 6,7, Gadea (2000) yang menyatakan bahwa pH rata-rata 7,40. Hasil pemeriksaan mikroskopis menunjukkan motilitas spermatozoa

yaitu motilitas massa (+) dan motilitas individu 70%, hasil ini tidak jauh berbeda dari hasil penelitian Yusuf *et al.* (2017) melaporkan motilitas spermatozoa berkisar antara 76.31%. Rataan viabilitas spermatozoa dari penelitian ini adalah 91,45%. Persentase spermatozoa hidup lebih tinggi dari pada spermatozoa motil karena dari jumlah spermatozoa yang hidup belum tentu semuanya motil progresif (Kostaman dan Utama, 2006). Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa mencapai 5,81% hasil ini sesuai dengan pernyataan Johnson *et al.* (2000) yakni persentase abnormalitas spermatozoa babi per ejakulat tidak boleh lebih dari 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase konsentrasi spermatozoa mencapai $167,75 \times 10^6$ sel/mL.

Pengaruh Variasi Waktu Pre Freezing Terhadap Persentase Motilitas Spermatozoa

Motilitas atau daya gerak progresif spermatozoa mempunyai peranan penting dalam proses fertilisasi (Susilawati, 2003). Daya gerak spermatozoa sangat penting karena diperlukan untuk bergerak maju dalam saluran kelamin betina yang selanjutnya membuahi ovum. Syarat minimal motilitas spermatozoa post thawing agar dapat diinseminasi adalah 40% (Garner dan Hafez, 2000). Pengaruh variasi waktu pre freezing terhadap persentase motilitas spermatozoa setelah pre freezing dapat dilihat dari Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh waktu pre freezing terhadap motilitas

Tahapan pengamatan	Waktu pre freezing (Menit)				Nilai P.
	3	6	9	12	
Pasca thawing	24,33±7,31	23,44±2,70	24,51±8,3	25,26±12,90	0,992

Superskip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa variasi waktu pre freezing tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap persentase motilitas spermatozoa pasca thawing. Perbedaan waktu pre freezing selama 3-12 menit tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap persentase motilitas spermatozoa. Namun, selama waktu pre freezing spermatozoa banyak mengalami kematian akibat suhu yang dingin.

Secara umum, penurunan motilitas juga disebabkan karena adanya kejutan dingin (*cold shock*) dan adanya peningkatan konsentrasi asam laktat. Menurut (Fafu *et al.*, 2016) mengatakan bahwa kejutan dingin terhadap sel spermatozoa juga menurunkan motilitas dan daya hidupnya, terjadi perubahan permeabilitas dan komponen lipid pada membran. Tingginya asam laktat menyebabkan kerusakan organel-organelnya sehingga metabolisme sebagai upaya untuk memperoleh energi terganggu. Penurunan metabolisme mengakibatkan berkurangnya energi yang dihasilkan dan hal ini menyebabkan motilitas spermatozoa menurun karena kurang mendapatkan pasokan energi.

Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 1), waktu *pre freezing* pada semua perlakuan belum layak digunakan untuk inseminasi buatan karena menurut SNI 2024, standar minimal motilitas spermatozoa post thawing untuk semen beku sebesar 30% untuk IB.

Pengaruh Variasi Waktu Pre Freezing Terhadap Persentase Viabilitas Spermatozoa

Pemeriksaan persentase spermatozoa hidup dilakukan menggunakan preparat ulas dengan menggunakan pewarna eosin 2% dengan batasan bahwa sperma hidup tidak dapat menyerap warna merah eosin sedangkan spermatozoa mati menyerap warna karena permeabilitas dindingnya meningkat sehingga senyawa kimia dengan mudah akan masuk kedalam sel. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepala spermatozoa yang transparan karena tidak menyerap warna, sedangkan kepala spermatozoa yang mati akan berwarna merah karena menyerap warna.

Tabel 2. Pengaruh waktu pre freezing terhadap viabilitas spermatozoa

Tahapan pengamatan	Waktu pre freezing (Menit)				P-Value
	3	6	9	12	
Pasca thawing	43,01±13,44	42,31±2,62	48,61±17,77	41,89±19,30	0.908

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$)

Hasil analisis menunjukkan bahwa waktu *pre freezing* tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa. Hal ini disebabkan karena dinding membran spermatozoa masih berfungsi dengan baik sehingga zat warna tidak dapat masuk kedalam spermatozoa, maka spermatozoa akan tampak transparan sehingga diperoleh persentase viabilitas spermatozoa yang tinggi. Permeabilitas membran dari spermatozoa utuh dan berfungsi baik, maka pewarna tidak akan bisa masuk ke dalam spermatozoa.

Persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing masih baik meskipun mengalami penurunan. Penurunan persentase spermatozoa hidup setelah pre freezing disebabkan oleh terjadinya cold shock dan kerusakan membran spermatozoa akibat dari pembentukan kristal-kristal es yang menimbulkan perbedaan tekanan osmotik diluar dan di dalam sel sehingga akan meningkatkan angka kematian. Samsudewa (2006) menyatakan bahwa peningkatan tekanan osmotik pada plasma semen dapat menurunkan permeabilitas membran spermatozoa dan meningkatkan kerusakan membran.

Nilai viabilitas paling tinggi pasca thawing adalah P3 48,61±17,77% dengan waktu *pre freezing* 9 menit dan nilai viabilitas paling rendah terdapat pada P4 41,89±19,30% dengan waktu pre freezing 12 menit. Hasil penelitian ini lebih rendah sedikit dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Mega, (2022) dengan viabilitas spermatozoa babi landrace 49,53±11,14% yang menggunakan pengencer durasperm modifikasi air buah lontar, serta (Marlize *et al.*, 2021) menunjukkan viabilitas spermatozoa babi landrace 58,21±12,70% yang menggunakan pengencer durasperm termodifikasi, namun lebih rendah dari penelitian yang dilakukan Yusuf *et al.*, (2017) menunjukkan viabilitas spermatozoa berkisar antara 68,20±2,06% sampai dengan 70,80±0,07% pada semen beku babi dalam pengencer komersial yang disuplementasi dengan trehalosa. Penurunan persentase viabilitas diduga karena waktu penyimpanan yang semakin lama menyebabkan ketersediaan nutrisi semakin berkurang untuk diubah menjadi energi karena motilitas dan viabilitas spermatozoa bergantung pada suplai energi dari hasil metabolisme spermatozoa (Khaeruddin *et al.*, 2020). Menurut Stefania *et al.*, (2024) bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka nutrisi yang terdapat dalam bahan pengencer pun akan semakin berkurang.

Pengaruh Variasi Waktu Pre Freezing Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi (Bria *et al.*, 2022). Abnormalitas pada spermatozoa memiliki peranan penting dalam proses IB. Persentase abnormalitas spermatozoa dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh variasi waktu pre freezing terhadap abnormalitas

Tahapan pengamatan	Waktu pre freezing (Menit)				P-Value
	3	6	9	12	
Pasca thawing	13,15±1,48	11,38±1,12	12,23±1,41	12,41±1,98	0.469

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$)

($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa setelah thawing, hal ini berarti bahwa waktu *pre freezing* selama 3, 6, 9 dan 12 menit dalam pengencer sitrat kuning telur dengan waktu *pre freezing* menghasilkan dampak yang relatif sama terhadap abnormalitas spermatozoa post thawing, walaupun ada perbedaan angka antara perlakuan. Abnormalitas spermatozoa yang tidak lebih dari 20% masih dikatakan layak untuk digunakan pada inseminasi buatan Rangkuti *et al*, (2021). Semen masih layak untuk digunakan inseminasi buatan (IB) jika abnormalitas dibawah 20% (SNI, 2017). Berdasarkan data hasil penelitian ini diketahui persentase spermatozoa hidup lebih rendah dibandingkan persentase motilitas.

Hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Marlize *et al*, (2021) menunjukkan nilai abnormalitas $6,72 \pm 0.61\%$ pada kualitas semen beku babi landrace yang menggunakan pengencer durasperm termodifikasi. Bentuk abnormalitas yang diamati selama penelitian kebanyakan abnormalitas sekunder seperti ekor bengkok, leher patah, kepala dan leher putus diakibatkan tekanan dan gesekan pada saat penarikan preparat ulas. Pernyataan ini sesuai dengan (Rusdianti, 2024) yang menyatakan abnormalitas sekunder disebabkan karena perlakuan ketika pembuatan preparat ulas.

Recovery Rate Spermatozoa

Recovery rate (RR) merupakan kemampuan pemulihan spermatozoa setelah pembekuan dengan cara membandingkan spermatozoa pasca thawing dengan motilitas semen segar (Garner dan Hafez (2000). *Recovery rate* merupakan salah satu indikator penting untuk menilai suatu keberhasilan dalam kriopreservasi semen. Selain itu, RR juga menunjukkan efisiensi dari proses pembekuan yang dilakukan. Semakin tinggi nilai RR maka proses pembekuan yang dilakukan semakin baik.

Rerata *recovery rate* spermatozoa tertinggi dihasilkan pada waktu *pre freezing* menit ke 12 yaitu 31.58%, diikuti oleh menit ke-9 yaitu 30.64%, diikuti lagi oleh menit ke-3 yaitu 30.42% dan terendah pada menit ke-6 yaitu 29.54%. Hasil analisis *recovery rate* setelah pasca thawing dapat dilihat pada diagram. Hasil analisis *recovery rate* dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 5. Hasil analisis recovery rate

Perlakuan	Recovery Rate
P1	30,42
P2	29,54

P3	30,64
P4	31,58

Berdasarkan hasil analisis statistik nilai *recovery rate* (RR) paling tertinggi dihasilkan pada waktu *pre freezing* menit ke 12 yaitu 31,58% dan nilai *recovery rate* (RR) paling rendah adalah waktu *pre freezing* 6 menit 28,54%. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa waktu *pre freezing* berpengaruh tidak nyata ($P>0,05$) terhadap *recovery rate* (RR) spermatozoa. Hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Sulistya *et al.*, (2015) melaporkan bahwa nilai *recovery rate* semen beku pada tiga jenis pengencer TF, Tris-kuning telur dan pengencer paten andromed masing-masing sebesar 59,40%, 63,48% dan 69,96%. Rendahnya nilai *recovery rate* pada perlakuan P2 (*pre freezing* 6 menit) 29,5%. Hal ini diduga karena spermatozoa belum adaptasi secara sempurna dengan pengencer yang mengakibatkan spermatozoa mudah mengalami *cold shock* serta terjadinya pembentukan kristal-kristal es. Menurut Dongkot *et al.*, (2022) kerusakan sel selama proses pembekuan dan thawing disebabkan karena terjadinya peroksidasi lipid pada spermatozoa sehingga menurunkan daya hidup. Semakin tinggi nilai motilitas maka semakin tinggi pula nilai *recovery rate*, begitupun sebaliknya jika nilai motilitas menurun maka nilai *recovery rate* juga akan menurun.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa waktu *pre freezing* yang dilakukan selama 3 hingga 12 menit tidak memberikan dampak terhadap kualitas semen beku babi landrace.

Daftar Rujukan

- Seo D, M.S. Bhuiyan, H. Sultana, J.M. Abdullah, M. A. N., Novita, C. I., dan Sari, E. M. 2019. *Buku Ajar Manajemen Reproduksi Ternak Sapi*. Syiah Kuala University Press.
- Baku, A., Dethan, A. A., dan Tahuk, P. K. 2022. Quality of Landrace Semen in Yolk Citrate Cement which Plus Glucose with Different Concentrations. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1), 42–55.
- Bria, M. M., Nalley, W. M., Kihe, J. N., dan Hine, T. M. 2022. Pengaruh Substitusi Sari Buah Semangka (*Citrullus Lanatus*) Dalam Pengencer Sitrat- Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), 23–32. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i1.4393>
- 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 teknologi ib menggunakan semen cair maupun semen beku. 105.
- Fafo, M., Mata Hine, T., dan Nalley, M. 2016. Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Babi. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), 184–195.
- Fitriyani, D., Ghina, M., dan Atifah, Y. 2023. Literature Review: Analisis Faktor Keberhasilan Inseminasi Buatan Pada Hewan Ternak Kambing. *Prosiding ...*, 549–555.
- Foeh, N. D. F. K., Arifiantini, R. I., dan Yusuf, T. L. 2016. Viabilitas Spermatozoa Semen Beku Babi Duroc Dalam Extender Beltsville Thawing Solution Menggunakan Krioprotektan Gliserol Dan Dimetillacetamida. *Jurnal Kajian Veteriner*, 4(1), 24–32.
- Khaeruddin, K., Hidayat, A., dan Syamsuryadi, B. 2020. Preservasi Semen Ayam Menggunakan Pengencer Air Kelapa Hijau Dengan Berbagai Tingkat Kematangan. *Agrominansia*, 4(2), 109–119. <https://doi.org/10.34003/294922>

- Marlize, S., Hine, T. M., dan Nalley, W. M. 2021. Pengaruh Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Babi Landrace Dalam Pengencer Durasperm Termodifikasi. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(2), 150–160. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v8i2.4867>
- Nahak, P. L., Dethan, A. A., dan Kia, K. W. 2022. Kualitas Semen Babi Landrace Dalam Pengencer Semen Sitrat-Kuning Telur yang Ditambah Glukosa Dengan Konsentrasi Berbeda. *JAS*, 7(1), 12–15.
- Nur Jamiah Rangkuti, Tatik Suteky, dan Heri Dwi Putranto. 2021. Pengaruh Waktu Pre Freezing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali di UPTD IB Bengkulu. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan Dan Pendidikan Vokasi Pertanian*, 2(1), 165–176. <https://doi.org/10.47687/snppvp.v2i1.183>
- Stefania, Y., Kue, E., Kune, P., dan Marawali, A. 2024. Jurnal Penelitian Ilmu Humaniora Pengaruh Kombinasi Pengencer Beltsville Thawing Solution Dan Semen Life Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. 7(10), 1–10.
- Sulistya, T. A., Widyaningrum, Y., dan Ratnawati, D. 2015. Longivity dan Recorvery Rate Pasca-thawing Semen Beku Sapi PO Menggunakan Pengencer Tris dengan Berbagai Tingkat Fruktosa sebagai Sumber Energi pada Suhu Inkubasi 39oC. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan Veteriner*, 59–65.
- Yusuf, T., Arifiantini, R., Dapawole, R., dan Nalley, W. M. 2017. Kualitas Semen Beku Babi dalam Pengencer Komersial yang Disuplementasi dengan Trehalosa. *Jurnal Veteriner*, 18(1), 69–75. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2017.18.1.69>