

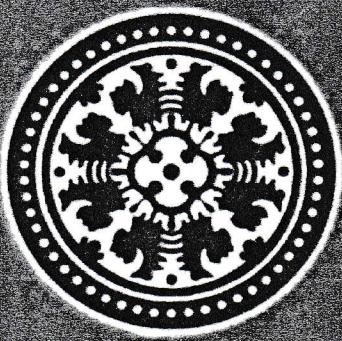
Prof. Dr. Ir. H. Syaiful Yaqoob

PROSIDING

**SEMINAR DAN LOKAKARYA NASIONAL
TERNAK BABI**

27

**PERAN PETERNAKAN BABI DALAM KONSELASI
PENYEDIA PANGAN NASIONAL**



DENPASAR-BALI
5 Agustus 2014

Prosiding

Seminar dan Lokakarya Nasional Ternak Babi

Peran Peternakan Babi dalam Konstelasi Penyedia Pangan Nasional

Denpasar, 5 Agustus 2014

Penyunting:

**Komang Budaarsa
Ida Bagus Komang Ardana
N. Sadra Dharmawan
I Wayan Suarna
I Gede Mahardika
N. N. Suryani
I N. Tirta Ariana
A. A. A. Sri Trisnadewi**

Diterbitkan Oleh:

**Fakultas Peternakan Universitas Udayana
Denpasar – Bali 80232
Telp./ Fax. (0361) 222096
e-mail: semnasbabi.unud@yahoo.co.id**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS UDAYANA**

Denpasar, 2014

Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Ternak Babi

**Peran Peternakan Babi dalam Konstelasi Penyedia
Pangan Nasional**

**Fakultas Peternakan Universitas Udayana
Denpasar – Bali 80232
Telp./ Fax. (0361) 222096
e-mail: semnasbabi.unud@yahoo.co.id**

Isi prosiding dapat disitasi dengan menyebutkan sumbernya

Penyunting: Komang Budaarsa, Ida Bagus Komang
Ardana, N. Sadra Dharmawan, I Wayan Suarna, I Gede
Mahardika N. N. Suryani, I N. Tirta Ariana, A. A. A. Sri
Trisnadewi
Prosiding Seminardan Lokakarya Nasional Ternak Babi,
diselenggarakan di Denpasar, 5 Agustus 2014
vii + 291 halaman
ISBN: 978-602-294-028-9

Dicetak di Denpasar, Bali, Indonesia

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkatrahmatNya Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional Ternak Babi 2014 dengan tema “Peran Peternakan Babi dalam Konstelasi Penyediaan Pangan Nasional” dapat diselesaikan dengan baik. Seminar dan Lokakarya Nasional Ternak Babi dilaksanakan pada tanggal 5 Agustus 2014 oleh Fakultas Peternakan Universitas Udayana dalam rangka Dies Natalis Universitas Udayana dan Hari Ulang Tahun Fakultas Peternakan Universitas Udayana yang ke-52.

Prosiding Seminar dan Lokakarya Nasional ini merangkum rumusan seminar nasional, rumusan lokakarya nasional, deklarasi pembentukan AITBI, makalah lengkap dari pemakalah seminar yang dibagi dalam tiga kelompok yaitu Produksi Ternak Babi, Nutrisi Ternak Babi, dan Kesehatan Ternak Babi.

Panitia mengucapkan terimakasih kepada Rektor Universitas Udayana, Dekan Fakultas Peternakan Universitas Udayana, dan Direktur Pascasarjana Universitas Udayana atas fasilitas dan bantuan yang diberikan sehingga Seminar dan Lokakarya Nasional Ternak Babi dapat terselenggara dengan baik. Terimakasih juga disampaikan kepada sponsor (terlampir), pemakalah/keynote speaker, peserta seminar, dan semua anggota panitia yang banyak membantu dari persiapan sampai terselenggaranya Semiloka Nasional ini dengan baik. Semoga Prosiding ini dapat berguna sebagai ajang pertukaran ilmu khususnya tentang ternak babi.

Denpasar, Nopember 2014
Ketua Panitia

Dr. Ir. I Nyoman Tirta Ariana, MS.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
RUMUSAN SEMINAR NASIONAL	1
RUMUSAN LOKAKARYA	3
DEKLARASI AITBI	4
MAKALAH KEYNOTE SPEAKER.....	5
Ir. I Putu Sumantra, Mapp.Sc. (Kepala Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Bali)	6
Prof. Dr. Ir. Kemang Budaarsa, MS. (Fakultas Peternakan Univcrsitas Udayana)	12
KUMPULAN MAKALAH	31
MAKALAH KELOMPOK I: PRODUKSI TERNAK	
BAB I	32
Performans Reproduksi Induk Babi Melalui Ovulasi Ganda Dengan PMSG Dan hCG Sebelum Pengawinan <i>Mien Theodora Rossesthellinda Lapian</i>	33
Peluang Dan Tantangan Pengembangan Ternak Babi Bali Di Kabupaten Gianyar Provinsi Bali <i>I W. Suarna dan N. N. Suryani</i>	51
The Utilization of <i>Azolla pinnata</i> in Reducing Pollutants on A Pig Farm Liquid Waste <i>Vonny R W Rawung dan Jeanette E M Soputan</i>	60
Pengaruh Penambahan Probiotik Kering Pada Ransum Babi terhadap Daya Simpan Daging dan Dampak Lingkungan sebagai Usaha Menuju Peternakan Babi yang Berkelanjutan <i>Tirta A., IN., A. A. Oka, S. A. Lindcwiati, I Gd.Suarta, I Gede Suranjaya, dan Md. Dewantari</i>	61
Penggunaan Protexin untuk Menurunkan Angka Kematian Anak Babi Sampai Disapih <i>Rachmawati WS dan Ni Luh Gde Sumardani</i>	69
Hubungan Antara Ukuran Testis dengan Volume Semen dan Konsentrasi Spermatozoa pada Babi <i>Ruben Panggabean, Iis Arifiantini, WMM Nalley, dan Bondan Achmadi</i>	76
✓ Penentuan Waktu Optimal Pemeriksaan Integritas Membran Plasma Sperma Babi Menggunakan <i>Hypo-Osmotic Swelling</i> (HOS) Test <i>IN Donny Artika, RI Arifiantini, TL Yusuf, dan WM Nalley</i>	
Pengaruh Pemberian Jenis Antibiotika terhadap Penampilan Anak Babi Prasaphi <i>Sriyani, N. L. P., Tirta, A., IN., I W. Sukanata, dan Md.</i>	

86

<i>Artiningsih R.</i>	96
Analisis Usahatani Penggemukan Ternak Babi dengan Pengaturan Ransum <i>Ida Ayu Parwati, L. G. Budiari, dan N. Suyasa,</i>	101
Studi Kebutuhan Babi untuk Warung Makan Babi Guling di Bali <i>Miwadu, INS., IG. Mahendra, K. Budaarsa, dan Martini H.</i>	112
Pengaruh Bahan Pengencer Biologis Terhadap Kualitas Semen Babi Hampshire <i>Suberata I W, Artiningsih NM, Sumardani NLG, Putra Wibawa AAP, A. T. Umiarti</i>	128
MAKALAH KELOMPOK II: NUTRISI TERNAK BABI	142
Potensi Ampas Sagu sebagai Pakan Babi <i>Tabita N. Ralahalu</i>	143
Pengaruh Penambahan Tepung Tanaman Bangun-bangun (<i>Coleus amboinicus</i> Lour) dalam Ransum terhadap Penampilan Reproduksi Induk Babi dan Anak Babi Menyusu <i>Pollung H. Siagian, Agik Suprayogi, dan Parsaoran Silalahi</i>	154
Penampilan Ternak Babi yang Diberi Pakan Mengandung Tepung Bekicot (<i>Achatina fulica</i>) sebagai Pengganti Tepung Ikan <i>Egedius, L. L., K. Budaarsa, dan I G. Mahardika</i>	167
Pengaruh Suplementasi Starbio dalam Pakan dengan 40% Dedak Padi terhadap Penampilan Babi Landrace <i>I K. Sumadi, I M. Gede Wijaya, dan I. B. Sudana</i>	169
Penampilan Babi Landrace yang Diberikan Pakan Mengandung Enceng Gondok <i>I Wayan Sudiastra, I Gd. Mahardika, K. Budaarsa, dan N. S. Dharmawan</i>	179
Pengaruh Tingkat Penggunaan Limbah Hotel dalam Ransum terhadap Bobot Potong dan Komposisi Fisik Karkas Babi Persilangan (Babi Bali × Saddleback) <i>Tjok Gde Oka Susila, Tjok Istri Putri, dan Tjok Gede Belawa Yadnya</i>	180
Distribusi Lemak Karkas Babi Persilangan Saddleback dengan Babi Bali yang Diberi Ransum Tradisional dengan Suplementasi Rumput Laut <i>Ni W. Siti, Suci Sukmawati, Ni M., Ni G. K. Roni, Ni M. Witariadi, dan I N. Ardika</i>	192

MAKALAH KELOMPOK III: KESEHATAN TERNAK BABI

.....	201
Sistiserkosis Pada Babi Di Bali <i>Nyoman Sadra Dharmawan, Kadek Swastika, I Ketut Suardita, I Nengah Kepeng Yasuhito Sako, Munchiro Okamoto, Toni Wandra, dan Akira Ito</i>	202
Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>) sebagai Feed Suplemen untuk Meningkatkan Daya Tahan Babi terhadap Infeksi Parasit Intestinal <i>Nyoman Adi Suratma, Hapsari Mahatmi, IBK Ardana dan I N Kertha Besung</i>	212
Babi Sebagai Hewan Model Harvesting Dan Implantasi STSG dengan Aplikasi PRFM dan PRP <i>Mirta Hedyati Reksodiputro</i>	220
Strategi Pencegahan Penyakit Infeksi pada Peternakan Babi <i>Ida Bagus Komang Ardana, Dawa Ketut Harya Putra, W. Sayang Yupardi, Ni Luh Gede Sumardoni, I G.A. Arta Putra, dan I G. Suranjanjaya</i>	229
Faktor yang Mempengaruhi Peningkatan Titer Hog Cholera pada Babi <i>I Nyoman Suartha, Rui Daniel de Carvalho, Nyoman Sadra Dharmawan</i>	239
Pengujian Babi Menggunakan Morfologi Spermatozoa Pada Berbagai Breed Pewarnaan Eosin-Nigrosin dan Carbofuchsin <i>Annisa Fithri Lubis, R Iis Arifiantini, WM Nalley, Bondan Achmadi</i>	246
Diferensiasi Colibacillosis Pada Babi Berdasarkan Lesi Histopatologi (Studi Retrospektif) <i>I Ketut Berata, I Made Kardena dan Ida Bagus Oka Winaya.....</i>	256
Peran Babi sebagai Reservoir <i>Balantidium coli</i> dalam Penyebab Disentri <i>Ida Ayu Pasti Apsari.....</i>	264
Babi sebagai Hewan Pilihan untuk Hewan Coba <i>I Komang Wiarsa Scrdjana</i>	270
Introduksi Vaksin ETEC dalam Menurunkan Kejadian Diare Akibat Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> pada Anak Babi <i>Nyoman Suyasa dan IAP. Parwati</i>	280
LAMPIRAN	289
JADWAL ACARA SEMNAS II HITPI	290
DAFTAR JADWAL PRESENTASI	291

**PENENTUAN WAKTU OPTIMAL PEMERIKSAAN INTEGRITAS
MEMBRAN PLASMA SPERMABABI MENGGUNAKAN HYPOTONIC SWELLING (HOS) TEST**

IN Donny Artika¹⁾, RI Arifiantini²⁾, TL Yusuf²⁾, WM Nalley³⁾

1) Mahasiswa program studisarjana Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

2) Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

3) Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana, Kupang.

* Corresponding author: iis.arifiantinipurna@gmail.com

ABSTRAK

Keutuhan membran plasma merupakan faktor penting untuk menentukan fertilitas spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu optimum untuk pengujian membran plasma yang utuh (MFU) pada semen segar babi menggunakan *hypo-osmotic swelling (HOS) test*. Sebanyak 10 ekor babi dari bangsa *Landrace*, *Duroc* dan *Yorkshire* yang telah dewasa digunakan sebagai sumber semen. Semen dikoleksi menggunakan pemijatan massase. Semen yang diperoleh dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Pengujian MPU dilakukan dengan cara mernasukkan 50 µL semen ke dalam mikrotub berisi 1 ml larutan hipoosmotik (150 mOsm Kg^{-1}). Campuran larutan diinkubasi pada suhu 37°C . Sperma yang bereaksi dan yang tidak bereaksi terhadap larutan HOS dievaluasi mulai jam ke 0 dan setiap 15 menit dengan total 200 sel sperma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu optimal sperma bereaksi maksimal terhadap larutan HOS adalah 60 menit setelah inkubasi.

Kata kunci: keutuhan membran plasma, HOS test, semen babi

**DETERMINATION OF OPTIMAL TIME FOR SPERM MEMBRAN
INTEGRITY TEST OF BOAR SPERM USING HYPO-OSMOTIC
SWELLING (HOST) TEST**

ABSTRACT

Sperm plasma membrane integrity was important for sperm fertility. The objective of this study was to determine the optimal time to test sperm plasma membrane of raw boar semen using hypo osmotic swelling (HOS) test. A total of 10 sexually mature boars from three breed (landrace, Duroc, and Yorkshire) used as a sperm source. Semen were collected using hand glove method. Immediately after collection the semen were evaluate macro and microscopically. The HOS test conducted by putting 50 µL semen into 1 ml HOS medium (150 mOsm Kg^{-1}) incubated at 37°C . Two hundred reacted and not reacted sperm cell to HOS medium were evaluate at 0 min and every 15 minutes. Result showed that the optimum response to HOS was obtained at 60 minutes after incubation.

Keywords: plasma membrane integrity, HOS test, boar semen

PENDAHULUAN

Penerapan teknologi insēminasi buatan (IB) pada peternakan babi meningkat secara signifikan pada satu decade terakhir (Maes *et al.*, 2011), termasuk di Indonesia. Salah satu faktor keberhasilan IB adalah kualitas semen. Kualitas semen yang baik diketahui melalui proses evaluasi semen setelah penampungan. Evaluasi semen yang dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Peternakan Provinsi Bali di Baturiti dan peternakan Adhi Farm, Solo masih terbatas pada metode pengujian standard yang meliputi pengujian makroskopis seperti volume, konsistensi, warna, dan pH serta pengujian mikroskopis yang meliputi motilitas, viabilitas dan konsentrasi.

Pengujian kualitas semen, selain yang telah disebutkan di atas juga dapat dilakukan dengan beberapa parameter lain seperti pengujian tudung akrosom dan pengujian integritas membran. Lechniak *et al.* (2002) menyebutkan bahwa integritas fungsional dan struktur membran plasma spermatozoa sangat penting bagi kehidupan spermatozoa. Spermatozoa juga harus mempunyai energi yang cukup untuk pergerakan, protein dan senyawa lain yang penting selama berada dalam saluran reproduksi betina serta memiliki membran plasma yang baik sehingga dapat melakukan fertilisasi dengan baik (Purdy *et al.*, 2010).

Integritas membran dapat diuji menggunakan mikroskop cahaya atau mikroskop *fluorescent* yang dikombinasikan dengan pewarnaan vital (Brito *et al.*, 2003), *flow cytometry* (Hallap *et al.*, 2004) dan *hypo-osmotic swelling* (HOS) tes pada *Estonian Holstein*(Padrik *et al.*, 2012); kambing (Fonseca *et al.*, 2005); domba (Nalley dan Arifiantini, 2013); kuda (NiedanWanzel, 2001). *Hypo-osmotic swelling* (HOS) test merupakan metode yang murah dan mudah diaplikasikan dalam pengujian integritas membran plasma (Nalley dan Arifiantini 2013). Pengujian HOS didasarkan pada kemampuan spermatozoa membengkak setelah dimasukkan ke dalam larutan hiposmotik. Spermatozoa dengan kerusakan fungsi membran tidak mengalami pembengkakan dan ekornya tidak mengalami invaginasi/melingkar.

Babi memiliki karakteristik semen yang unik, berbeda dengan ternak lain seperti sapi, domba dan kambing. Semen babi mengandung gelatin yang

merupakan sekresi dari kelenjar bulbouretralis dan akan keluar pada saat ejakulasi. Gelatin yang menyelimuti sel spermatozoa akan memengaruhi kecepatan larutan hipoosmotik memasuki sel, sehingga diperlukan waktu yang tepat untuk melakukan pengujian HOS. Mengingat karakteristik semen babi yang berbeda dan adanya perbedaan kecepatan masuknya larutan hipoosmotik ke dalam sel spermatozoa maka penelitian ini dilakukan untuk menentukan waktu optimal dalam pengujian integritas membran plasma spermatozoa babi menggunakan larutan HOS.

MATERI DAN METODE

Penampungan Semen

Sebagai sumber semen digunakan 10 ekor babi jantan dengan breed yang berbeda yaitu *Landrace* (6 ekor), *Duroc* (3 ekor), dan *Yorkshire* (1 ekor). Tujuh ekor babi di BIB Baturiti dan tiga ekor di PT Adi Farm, Solo. Penampungan semen dilakukan dengan metode pemijatan (*massage*) / *gloves hand method* pada korpus penis dengan bantuan *dummy sow*, dilengkapi dengan kasa untuk memisahkan gelatin dan semen.

Evaluasi Semen

Segera setelah koleksi, semen dibawa ke laboratorium untuk dianalisis secara makroskopis dan mikroskopis. Pengujian makroskopis diawali dengan pengukuran volume semen menggunakan gelas ukur. Keasaman dari semen diuji menggunakan kertas indikator pH, selanjutnya dilihat secara visual konsistensi/kekentalan, warna, dan bau semen. Pengujian mikroskopis dimulai dengan menilai persentase motilitas spermatozoa dengan cara meneteskan 1 tetes semen pada gelas objek kemudian ditambahkan satu tetes larutan NaCl fisiologis, dihomogenkan dan diambil satu tetes untuk dipindahkan ke gelas objek yang lain. Pengamatan motilitas pada mikroskop cahaya (Olympus CX21) dengan pembesaran 10×40 ($400\times$). Pengamatan dilakukan pada lima lapang pandang dengan interval nilai 1-100%.

Pengujian viabilitas dilakukan menggunakan pewarna eosin nigrosin. Satu tetes semen diteteskan pada gelas objek, ditambahkan satu tetes eosin nigrosin kemudian dihomogenkan dan dibuat preparat ulas. Pemeriksaan dilakukan dengan mikroskop cahaya (Olympus CX21) pada pembesaran 10×40 ($400\times$). Penilaian

dilakukan dengan melihat warna kepala spermatozoa. Kepala spermatozoa yang menyerap warna menunjukkan spermatozoa yang mati dan spermatozoa hidup tidak menyerap warna. Spermatozoa hidup dan mati dihitung hingga 200 sel atau 10 lapang pandang kemudian dihitung dengan cara: Spermatozoa hidup dibagi dengan jumlah spermatozoa terhitung (hidup dan mati) dikali 100%. Perhitungan konsentrasi menggunakan photometer SDM 5 dan Neubauer chamber (Arifantini, 2012).

Pengujian Integritas Membran Plasma

Pengujian integritas membran plasma dilakukan sebagai berikut: Semen sebanyak 50 μL dimasukkan ke dalam mikrotub berisi 1 mL larutan hipoosmotik (1.351 g fruktosadan 0.735 g Na sitrat dalam Aquabidest100 mL). Campuran larutan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dan dievaluasi menggunakan mikroskop cahaya (Olympus CX21) dengan pembesaran 10×40 ($400\times$). Spermatozoa yang beraaksi terhadap larutan hipoosmotik (ekor melingkar) dan spermatozoa yang tidak beraaksi (ekor lurus) dihitung hingga 200 sel. Pengujian dilakukan setiap 15 menit dan dihentikan pada saat waktu inkubasi mencapai 90 menit. Data yang diperoleh merupakan persentase spermatozoa yang beraaksi positif terhadap larutan HOS.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji Anova dan uji lanjut Duncan. Data antar breed diseragamkan dengan proporsi dan diuji dengan menggunakan t-test menggunakan SPPS 16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar

Hasil evaluasi semen segar merupakan tahap awal untuk menentukan kelayakan semen yang akan diperoses lebih lanjut. Rata-rata volume semen per ejakulat yang didapatkan dari penelitian ini adalah $326,67 \pm 141,33$ mL, derajat keasaman (pH) 7,2 – 7,5 dengan rata-rata $7,32 \pm 0,12$, konsistensi encer dan berwarna putih keruh. Motilitas spermatozoa antara 60-75% ($68,89 \pm 6,01\%$), spermatozoa hidup $79,49 \pm 5,52\%$ dengan konsentrasi spermatozoa $175,50 \pm 8214 \times 10^6$ sel/ml (Tabel 1).

Tabel 1 Nilai karakteristik semen segar babi

Karakteristik semen	Nilai rerata
---------------------	--------------

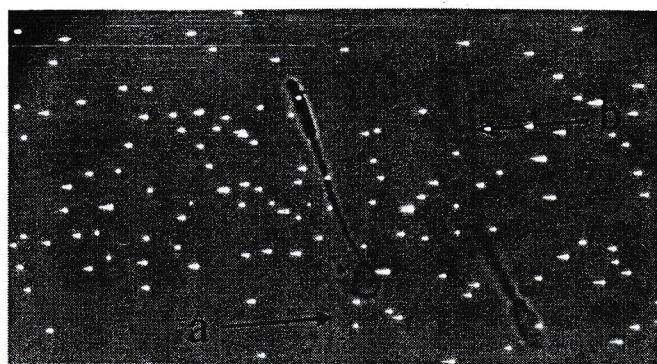
Volume (mL)	$326,67 \pm 141,33$
Warna	Putih susu
Konsistensi	Encer
pH	$7,32 \pm 0,12$
Motilitas spermatozoa (%)	$68,89 \pm 6,01$
Spermatozoa hidup (%)	$79,49 \pm 5,52$
Konsentrasi spermatozoa (10^6 sel/mL)	$175,50 \pm 82,14$

Integritas membran plasma spermatozoa pada babi

Membran plasma merupakan lapisan semipermeabel yang menyelimuti sel spermatozoa. Menurut Curry dan Watson (1995), integritas membran plasma serta fungsinya penting untuk menjaga viabilitas sel. Bagian ini menjadi struktur penting dari sel sebagai gerbang yang menghubungkan lingkungan ekstra seluler dan intra seluler, dengan demikian keutuhan struktur dan fungsi membran plasma sangat penting untuk dievaluasi dalam pengujian kualitas spermatozoa. Membran plasma memiliki kemampuan permeabilitas yang selektif untuk mengatur aktivitas metabolismik intrasel, pH, dan komposisi ion.

Sel spermatozoa akan bereaksi ketika dimasukkan kedalam larutan hipoosmotik, hal ini terjadi karena larutan hipoosmotik akan masuk kedalam sel melewati membran plasma. Akibat perbedaan tekanan osmotik dari larutan tersebut dengan tekanan osmotik luar sel lebih tinggi, maka larutan tersebut akan masuk ke dalam sel dan menyebabkan kebengkakan, fenomena inilah yang dapat diamati dan diukur untuk menguji integritas membran plasma (Vazquez *et al.*, 1997). Fenomena ini lebih mudah diamati pada ekor spermatozoa (Gambar 1), daripada kepala karena membran plasma yang mengelilingi ekor tampak lebih longgar (Vazquez *et al.*, 1997).

Berdasarkan hasil penelitian, pada menit ke-15 sudah menunjukkan HOS positif antara 36,27 sampai 63,50% dengan rata-rata $52,32 \pm 9,05$. Pada 30 menit inkubasi, sel yang positif terhadap larutan HOS semakin meningkat antara 47,44 sampai dengan 77,00% dengan rata-rata $60,13 \pm 9,56$. Peningkatan reaksi spermatozoa yang positif terhadap larutan HOS terus terjadi dan puncaknya terlihat pada menit ke-60 (Tabel 2).



Gambar 1. Hasil pengujian integritas membran plasma dengan HOS test.
a spermatozoa HOS positif dan b Spermatozoa HOS negatif

Persentase HCS positif pada menit ke-60 berkisar antara 64,36 sampai 84,07% dengan rata-rata $74,65 \pm 7,03$, reaksi ini lebih tinggi ($p < 0,01$) dibandingkan jumlah spermatozoa dengan HOS positif pada menit ke 45, 30 ataupun 15 menit. Setelah melewati puncak reaksi pada menit ke-60 persentase spermatozoa yang HOS positif mulai menurun. Spermatozoa yang mengalami HOS positif pada menit ke-75 antara 50,70 sampai 82,50%. Penurunan terus terjadi dan akhirnya pada menit ke-90 menunjukkan reaksi HOS positif hanya 49,50 sampai dengan 72,30% dari rata-rata $60,96 \pm 5,85$ (Tabel 2). Penurunan ini disebabkan karena paparan larutan hipoosmotik yang terlalu lama sehingga membran plasma mengalami kerusakan dan tidak reaktif lagi terhadap larutan hipoosmotik.

Teknik *hypo-osmotik swelling* (HOS) test pada babi telah dilaporkan oleh Vazquez *et al.* (1997), Perez-Llano *et al.* (2001) dan Yesteet *et al.* (2010) namun dalam penelitian tersebut belum ada yang menentukan secara spesifik waktu optimal dalam pengujian integritas membran dengan menggunakan HOS test. Selain itu cara penampungan semen di Indonesia masih belum bisa memisahkan fraksi gelatin secara sempurna, dengan demikian akan memengaruhi kecepatan masuknya larutan hipoosmotik ke dalam sel spermatozoa yang akan berpengaruh terhadap waktu pengujian.

Tabel 2. Persentase jumlah spermatozoa yang bereaksi positif *Hypo-osmotic swelling* (HOS) test selama masa inkubasi

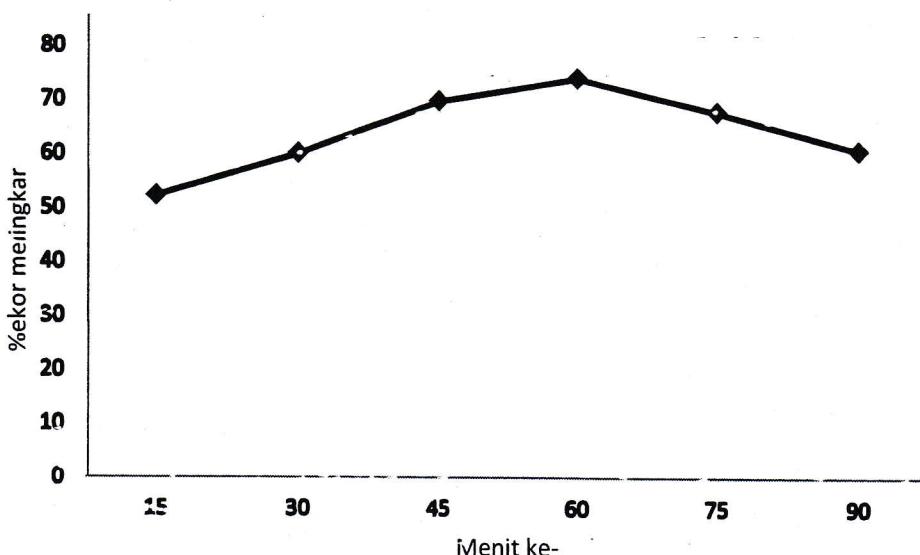
Ulangan	Menit ke					
	15	30	45	60	75	90
1	53,00	60,50	76,70	84,07	82,50	72,30
2	63,50	66,30	72,50	76,68	79,50	70,00
3	54,80	61,40	69,30	68,00	66,20	58,50
4	50,20	51,20	62,80	62,36	50,70	49,50

5	62,50	77,00	87,00	83,70	78,90	65,00
6	36,27	47,44	60,00	64,36	56,52	55,00
7	60,00	67,50	76,90	80,60	76,00	62,10
8	52,50	57,73	72,90	80,60	68,50	60,00
9	45,45	55,00	64,82	65,00	57,84	60,00
10	45,00	51,50	58,17	75,00	66,20	57,21
Rerata±SD	52,32 ± 9,05 ^c	60,13 ± 9,56 ^{bc}	70,10 ± 9,12 ^{ab}	74,65 ± 7,03 ^a	68,28 ± 10,25 ^{ab}	60,96 ± 5,85 ^{bc}

Huruf *superscrip* berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan beda sangat nyata ($p<0,01$)

Membran plasma spermatozoa memiliki peran penting dalam proses fusi dalam ovum pada saat fertilisasi. Pengujian membran plasma dengan menggunakan *hypo-osmotik swelling*(HOS) test telah banyak dilakukan pada hewan domestik yaitu pada kerbau (Padrik *et al.*, 2012), kuda (Nie dan Wenzel, 2001), dan domba (Nalley dan Arifiantini, 2013).

Waktu yang paling tepat untuk melakukan pengujian integritas membran pada babi berdasarkan hasil penelitian ini adalah pada menit ke-60 inkubasi (Gambar 2). Ketepatan waktu pengujian HOS sangat penting dilakukan, bila waktu pengujian terlalu cepat, maka spermatozoa belum bereaksi secara optimal. Sebaliknya jika dilakukan terlalu lama sejak inkubasi kemungkinan waktu optimal bereaksi sudah hilang. Menurut Lang *et al.* (1998) mekanisme regulasi volume sel merupakan faktor penting sel. Sel harus volume berlebihan yang dapat membahayakan integritas struktural dan estabilan lingkungan intraselular. Stabilitas volume sel merupakan proses lanjut dari mekanisme regulasi volume, akumulasi atau pelepasan osmolit dan metabolit organic serta transportasi ion melalui membran plasma. Fungsi sel harus dipertahankan dalam menghadapi perubahan tekanan osmotik. Spermatozoa beberapa mamalia (babi, tikus, banteng dan manusia) telah ditemukan memiliki kemampuan regulasi volume, dibagi menjadi dua yaitu *regulatory volume decrease* (RVD) merupakan respon terhadap tekanan hiperosmotik dan *regulatory volume increase* (RVI) yaitu sel mampu mengembalikan volumenya setelah mengalami pengeringan karena lingkungan hipertonis (Petrukina *et al.*, 2007).



Gambar 2. Grafik reaksi spermatozoa positif terhadap larutan HOS

Tabel 3. Persentase jumlah spermatozoa yang bereaksi positif *Hypo-osmotic swelling* (HOS) terhadap larutan HOS selama masa inkubasi

Breed	Menit ke-					
	15	30	45	60	75	90
Landrace	53,38	60,64	71,38	73,02	69,05	61,72
Duroc	52,65	60,00	71,54	75,40	67,45	60,70
Yorkshire	51,50	51,50	58,17	75,00	66,20	57,21

Pada penelitian ini reaksi HOS positif antar breed pada setiap waktu pengamatan disajikan pada Tabel 3. Data tersebut diuji dengan uji t-test dan menunjukkan hasil yang tidak berbeda ($p > 0,05$) hal ini sesuai dengan pernyataan Amorim *et al.* (2009) bahwa reaksi spermatozoa pada larutan HOS dipengaruhi oleh spesies hewan, jenis larutan, osmolalitas, dan waktu inkubasi. Fungsi membran plasma spermatozoa sangat fundamental dalam mengatur volume sel, karena akan menentukan kelangsungan hidup spermatozoa.

Optimalnya pengujian pada menit ke-60 dalam penelitian ini juga dilaporkan oleh Padrik *et al.* (2012) pada sapi *Estonian Holstein* dengan menggunakan tekanan hipoosmotik yang sama (150 mOsm kg^{-1}). Fonseca *et al.* (2005) melaporkan pengujian integritas membran pada semen kambing dengan larutan HOS 125 mOsm kg^{-1} pada 37°C dalam waktu 60 menit. Pada spermatozoa kuda Niedan Wanzel (2001) menyatakan, inkubasi selama 60 menit dengan larutan hipoosmotik 100 mOsm kg^{-1} menunjukkan persentase HOS reaktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan larutan hipoosmotik lainnya.

Tekanan osmotik yang berbeda akan memberikan hasil yang berbeda. Pada penelitian ini spermatozoa babi bereaksi dengan larutan HOS (150 mOsm kg^{-1}), optimal pada menit ke-60 inkubasi. Pengujian yang dilakukan lebih cepat atau lambat akan mendapatkan hasil yang kurang akurat.

SIMPULAN

Waktu optimal untuk melakukan pemeriksaan integritas membran plasma adalah pada menit ke-60 dengan larutan hipoosmotik 150 mOsm Kg^{-1} . Tidak ada perbedaan yang nyata antara *breed* dan waktu pemeriksaan integritas membran plasma spermatozoa babi dengan *hypo-osmotic swelling (HOS) test*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amorim EA, Torres CA, Graham JK, Amorim LS, Santos LV. 2009. The *hypo-osmotic swelling test* in fresh rabbit spermatozoa. *Anim Reprod Sci*.111: 338–343.
- Brito LFC, Barth AD, Bilodeau Roessels S, Panich PL, Kastelic JP. 2003. Comparison methods to evaluate the plasmalemma of bovine sperm and their relationship with in vitro fertilization rate. *Theriogenology*60: 1539-1551
- Curry MR, Watson PF. 1995. Sperm structure and function. Di dalam: Grudzinskas JG, Yovich JL. Editor. Gametes-The Spermatozoon. Cambridge (UK): Cambridge University Pr.
- Fonseca JF, Torres CAA, Maffili VV, Borges AM, Santos ADF, Rodrigues MT. Oliveira RFM. 2005. The hypoosmotic swelling test in fresh goat spermatozoa. *Anim Reprod sci*.2: 139-144
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reprod in Farm Anim*. 7th ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins. 96-109.
- Hallap T, Nagy S, Haard M, Jaakma U, Larsson B, Rodriguez-Martinez H. 2004. Variations in quality of frozen-thawed semen from Swedish Red and White sires at 1 and 4 years of age. *J of Andrology*. 27:166–171.
- Lang F, Gillian L, Busch L, Markus R, Harald Vo Lkl, Siegfried W, Erich G. 1998. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Phys Rev*. 78 (1): 248-273
- Lechniak DA, Kedzierski D, Stanislawska D. 2002. The use of HOS test to evaluate membrane functionality of boar sperm capacitated *in vitro*. *Reprod Dom Anim*. 37(6): 379-380.
- Maes D, López A, Rijsselaere T, Vyt P, Van A. 2011. Artificial insemination in pigs. In Artificial insemination in farm animals ed. M. Manafi. *In Tech Rijeka Croatia*. 79-94
- Nalley WMM, Arifiantini RI. 2013. The Hypo-osmotic swelling test in fresh garut ram spermatozoa. *J Indonesian Trop Anim Agric*. 38(4): 212-216

- Nie GJ, Wenzel JGW. 2001. Adaptation of the semen hypo-osmotic swelling test to assess functional integrity of stallion spermatozoal plasma membranes. *Theriogenology* 59: 735-742.
- Padrik P, Hallap T, Kaart T, Bulitko T, Jaakma U. 2012. Relationships between the results of hypo-osmotic swelling tests, sperm motility, and fertility in Estonian Holstein dairy bulls. *Czech J Anim Sci.* 57 (10): 490-497
- Perez-Llano BJLP, Lorenzo YA, Trejo P, Garcia-Casado P. 2001. Hypoosmotic swelling test for the prediction of boar sperm fertility. *Theriogenology* 56: 387-398
- Petrunkina AM, Waberski D, Gunzel-Apel AR, Topfer-Peterson E. 2007. Determinants of sperm quality and fertility in domestic species. *Society for Reprod and Fertil.* 1470-1626.
- Purdy PH, Moce E, Stobart R, Murdoch WJ, Moss GE, Larson B, Ramsey S, Graham JK, Blackburn HD. 2010. The fertility of ram sperm held for 24h at 5°C prior to cryopreservation. *AnimReprod Sci.* 118:231-235.
- Vazquez JM, Martinez EA, Martinez P. 1997. Hypoosmotic swelling of boar spermatozoa compared to other methods for analyzing the sperm membrane. *Theriogenology* 47:913-922
- Yeste M, BrizM, PinartES, Sancho E, Bussalleu S. 2010. The osmotic tolerance of boar spermatozoa and its usefulness as sperm quality parameter. *Anim Reprod Sci.* 119: 265-274