

## EVALUASI POST THAWING MOTILITY SPERMATOZOA BEKU SAPI SIMENTAL PRODUKSI BPTSD PAYAKUMBUH

Alfian Asri<sup>1</sup>, Harissatria<sup>1\*</sup>, John Hendri<sup>1</sup>, Friza Elinda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dosen Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Mahaputra Muhammad Yamin

<sup>2</sup>Dosen Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Mahaputra Muhammad Yamin

\*Email: [haris\\_satria85@yahoo.com](mailto:haris_satria85@yahoo.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh waktu *thawing* terhadap kualitas spermatozoa beku sapi Simental produksi Balai Pengembangan Teknologi dan Sumber Daya Tuah Sakato (BPTSD) Payakumbuh. Penelitian dilaksanakan secara eksperimental di laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas tiga perlakuan waktu *thawing*, yaitu 15 detik (P1), 30 detik (P2), dan 45 detik (P3) pada suhu 38°C, masing-masing dengan enam ulangan. Variabel yang diamati meliputi motilitas individu, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa *post-thawing*. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa waktu *thawing* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap seluruh parameter yang diamati. Perlakuan *thawing* 30 detik (P2) menghasilkan motilitas tertinggi ( $56,00 \pm 3,16\%$ ), viabilitas tertinggi ( $70,40 \pm 3,01\%$ ), dan abnormalitas terendah ( $13,20 \pm 1,87\%$ ) dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Waktu *thawing* 30 detik memberikan kondisi optimal bagi proses pencairan semen secara sempurna tanpa menimbulkan stres osmotik maupun termal, sehingga dapat mempertahankan integritas membran plasma, fungsi mitokondria, dan morfologi spermatozoa. Dengan demikian, durasi *thawing* selama 30 detik pada suhu 38°C direkomendasikan sebagai kondisi terbaik untuk menjaga kualitas spermatozoa beku sapi Simental produksi BPTSD Payakumbuh dan mendukung keberhasilan program inseminasi buatan di lapangan.

**Kata kunci:** Sapi Simental, semen beku, suhu, *thawing*

### PENDAHULUAN

Sapi Simental merupakan salah satu bangsa sapi potong unggulan yang banyak dikembangkan di Indonesia karena memiliki pertumbuhan yang cepat, efisiensi pakan yang tinggi, serta kualitas karkas yang baik (Sihombing, Sutiyono, & Wibowo, 2019). Upaya peningkatan populasi dan mutu genetik sapi Simental dilakukan melalui penerapan teknologi reproduksi modern, salah satunya inseminasi buatan (IB). Keberhasilan IB sangat bergantung pada kualitas semen beku yang digunakan, terutama pada parameter motilitas

spermatozoa setelah proses *thawing* (*post thawing motility*), yang merupakan indikator utama viabilitas dan fertilitas sperma (Toelihere, 1993; Susilawati, 2011).

Proses *kriopreservasi* semen bertujuan untuk mempertahankan viabilitas dan potensi fertilisasi spermatozoa dalam jangka waktu lama. Namun, tahapan pendinginan, pembekuan, dan pencairan kembali dapat menimbulkan kerusakan struktural dan fungsional pada spermatozoa, seperti gangguan pada membran plasma, denaturasi protein, kerusakan akrosom, serta peningkatan produksi

radikal bebas yang dapat menurunkan motilitas dan daya hidup spermatozoa (Medeiros, Forell, Oliveira, & Rodrigues, 2002; Ariantie, Wahyuningsih, & Isnaini, 2020). Kerusakan tersebut berdampak pada menurunnya kemampuan spermatozoa untuk berinteraksi dengan sel telur, sehingga menurunkan tingkat keberhasilan fertilisasi (Hidayati, Isnaini, & Wahyuningsih, 2020). Oleh karena itu, evaluasi terhadap kualitas spermatozoa pasca-thawing merupakan langkah penting untuk memastikan semen beku yang dihasilkan masih memenuhi standar kelayakan untuk digunakan dalam program inseminasi buatan.

Balai Pengembangan Teknologi dan Sumber Daya Tuah Sakato (BPTSD) Payakumbuh merupakan salah satu lembaga yang berperan penting dalam produksi dan distribusi semen beku sapi Simental di Sumatera Barat. Kualitas semen beku yang diproduksi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk kualitas awal semen segar, jenis dan komposisi bahan pengencer, metode pembekuan, serta kondisi penyimpanan (Hardijanto, Purwantara, & Situmorang, 2016; Yulnawati, Said, & Hasan, 2018). Evaluasi rutin terhadap motilitas spermatozoa pasca pencairan menjadi langkah penting dalam pengendalian mutu, guna memastikan semen beku tetap memiliki daya fertilisasi yang optimal dan mendukung keberhasilan IB di lapangan (Hidayati et al., 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi motilitas spermatozoa beku sapi Simental produksi BPTSD Payakumbuh

setelah proses *thawing* dengan durasi yang berbeda, sehingga diperoleh informasi ilmiah mengenai tingkat kelayakan semen beku yang digunakan dalam kegiatan inseminasi buatan. Hasil evaluasi ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam pengendalian mutu dan peningkatan kualitas produksi semen beku di lembaga pembibitan sapi Indonesia.

## MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku sapi Simental produksi BPTSD Payakumbuh yang diambil dari Inseminator Kota Solok sebanyak 18 straw yang disimpan dalam kontainer nitrogen cair ( $-196^{\circ}\text{C}$ ). Setiap straw berisi 0,25 mL semen beku. Bahan lain yang digunakan meliputi NaCl fisiologis 0,9%, akuades steril. Alat yang digunakan meliputi water bath bersuhu  $38^{\circ}\text{C}$ , mikroskop cahaya dengan pembesaran  $400\times$ , gelas objek dan penutup, pipet mikro, hemocytometer, dan counter sperm untuk pengamatan dan penilaian motilitas.

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen di laboratorium serta rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan waktu thawing yaitu:  
P1 = thawing selama 15 detik pada suhu  $38^{\circ}\text{C}$   
P2 = thawing selama 30 detik pada suhu  $38^{\circ}\text{C}$   
P3 = thawing selama 45 detik pada suhu  $38^{\circ}\text{C}$

Semen beku diambil dari kontainer nitrogen cair, kemudian dilakukan pencairan (*thawing*) sesuai perlakuan menggunakan water bath bersuhu  $38^{\circ}\text{C}$ . Setelah waktu *thawing* sesuai perlakuan (15, 30, dan 45 detik), semen

dikeluarkan dari straw, diteteskan pada gelas objek, ditutup dengan cover glass, dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400×.

Pengamatan motilitas individu spermatozoa dilakukan secara subjektif pada lima lapang pandang secara acak dan diulang tiga kali untuk setiap sampel (Toelihere, 1993; Susilawati, 2011; Harissatria et al, 2023). Nilai motilitas dinyatakan dalam persentase spermatozoa yang bergerak progresif maju. Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan pewarnaan eosin-nigrosin, di mana spermatozoa hidup tidak menyerap warna dan tampak jernih, sedangkan spermatozoa mati berwarna merah muda (Susilawati, 2011). Sedangkan morfologi spermatozoa diamati menggunakan preparat yang telah diwarnai dengan eosin, kemudian dihitung persentase spermatozoa dengan bentuk normal terhadap total spermatozoa yang diamati (Ariantie, Wahyuningsih, & Isnaini, 2020).

#### Variabel yang Diamati

1. Motilitas individu spermatozoa (%): persentase spermatozoa yang bergerak progresif maju.
2. Viabilitas spermatozoa (%): persentase spermatozoa hidup berdasarkan pewarnaan eosin nigrosin.
3. Morfologi normal (%): persentase spermatozoa dengan bentuk kepala, leher, dan ekor normal setelah thawing.

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan Analisis Sidik Ragam (ANOVA) sesuai rancangan acak lengkap. Apabila hasil menunjukkan perbedaan yang nyata

antarperlakuan, maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (Duncan's Multiple Range Test DMRT) untuk mengetahui perlakuan terbaik (Steel & Torrie, 1993). Kriteria kelayakan semen beku pasca-thawing mengacu pada standar Direktorat Jenderal Peternakan (2014), yaitu motilitas progresif minimal 40% agar layak digunakan dalam program inseminasi buatan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Motilitas Spermatozoa Pasca-Thawing

Tabel 1. Rata-rata motilitas spermatozoa sapi Simental pasca-thawing pada suhu 38°C

Perlakuan	Waktu thawing	Motilitas ± sd
P1	15 detik	42,50 ± 2,87 <sup>b</sup>
P2	30 detik	56,00 ± 3,16 <sup>a</sup>
P3	45 detik	47,50 ± 2,64 <sup>b</sup>

Keterangan: Huruf superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa waktu thawing berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap motilitas spermatozoa pasca-thawing. Motilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan thawing 30 detik (P2) dengan rata-rata 56,00 ± 3,16%, sedangkan motilitas terendah terdapat pada thawing 15 detik (P1) sebesar 42,50 ± 2,87%. Motilitas yang lebih baik pada thawing 30 detik menunjukkan bahwa durasi pencairan yang optimal mampu meminimalkan stres osmotik dan kerusakan membran plasma spermatozoa (Medeiros et al., 2002).

Menurut Medeiros et al. (2002), proses pembekuan dan pencairan berkaitan dengan

kerusakan struktural dan fungsional pada membran spermatozoa, yang terutama disebabkan oleh stres osmotik dan perubahan fase lipid. Hal ini menegaskan bahwa keseimbangan antara kecepatan dan durasi pencairan sangat berperan penting dalam mempertahankan motilitas spermatozoa setelah proses thawing. Waktu thawing yang terlalu singkat (15 detik) menyebabkan semen belum mencair sempurna, sehingga terjadi perubahan suhu secara mendadak (*thermal shock*) yang menurunkan kemampuan gerak spermatozoa. Koshimoto et al. (1985) melaporkan bahwa spermatozoa yang dicairkan pada suhu rendah atau dalam waktu yang terlalu singkat mengalami kerusakan akrosom secara langsung akibat proses pencairan yang tidak sempurna. Dengan demikian, pencairan yang terlalu cepat dapat menimbulkan terbentuknya kristal es residu yang merusak membran dan organel sel spermatozoa.

Sebaliknya, thawing yang terlalu lama (45 detik) justru menurunkan motilitas karena paparan suhu tinggi dalam waktu yang lebih panjang meningkatkan aktivitas radikal bebas di dalam sel. Ariantie et al. (2020) menjelaskan bahwa, pemanasan berlebihan selama proses pencairan dapat mempercepat peroksidasi lipid pada membran plasma spermatozoa, yang menyebabkan penurunan motilitas dan viabilitas sel. Temuan ini juga sejalan dengan hasil penelitian Hidayati et al. (2020) pada semen beku sapi Simental, yang menyatakan bahwa “pencairan semen pada suhu 38°C selama 30 detik menghasilkan motilitas

spermatozoa pasca-thawing tertinggi dibandingkan dengan durasi pencairan yang lebih singkat atau lebih lama.

### Viabilitas Spermatozoa

Tabel 2. Rata-rata viabilitas spermatozoa sapi Simental pasca-thawing pada suhu 38°C

Perlakuan	Waktu thawing	Viabilitas ± sd
P1	15 detik	58,80 ± 2,39 <sup>b</sup>
P2	30 detik	70,40 ± 3,01 <sup>a</sup>
P3	45 detik	62,60 ± 2,73 <sup>b</sup>

Keterangan: Huruf superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ).

Analisis statistik menunjukkan bahwa waktu thawing berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap viabilitas spermatozoa. Viabilitas tertinggi diperoleh pada waktu thawing 30 detik (70,40 %), sedangkan terendah pada thawing 15 detik (58,80 %). Durasi thawing 30 detik memberikan waktu yang cukup bagi semen untuk mencair sempurna tanpa menimbulkan stres suhu yang merusak membran plasma. Membran yang utuh akan mendukung metabolisme energi yang optimal, sehingga spermatozoa tetap hidup dan motil (Hardijanto, Purwantara, & Situmorang, 2016).

Pada konteks kriopreservasi semen, integritas membran plasma setelah thawing sangat penting karena proses pembekuan dan pencairan (*freezing dan thawing*) berkaitan dengan kerusakan struktural dan fungsional pada membran spermatozoa, yang terutama disebabkan oleh stres osmotik dan transisi fase lipid, (Medeiros, Forell, Oliveira, & Rodrigues, 2002). Pernyataan ini memperkuat temuan bahwa thawing yang terlalu singkat (misalnya

15 detik) belum memberikan waktu cukup bagi transisi lelehan es menjadi cair secara sempurna, sehingga sel sperma menghadapi ketidakseimbangan osmotik yang dapat mengakibatkan lisis membran dan menurunkan viabilitas.

Sebaliknya, thawing yang terlalu lama pun dapat memberi efek negatif. Studi oleh Solis et al. (2024) mencatat bahwa peningkatan suhu selama proses thawing menyebabkan terjadinya defosforilasi dan aktivasi enzim GSK3, yang pada akhirnya menurunkan kapasitas produksi energi pada spermatozoa. Hal ini menunjukkan bahwa jika semen dipanaskan terlalu lama atau pada suhu yang terlalu tinggi, mitokondria spermatozoa dapat mengalami gangguan fungsi, yang kemudian menurunkan viabilitas sel. Selain itu, viabilitas spermatozoa yang tinggi pada waktu thawing 30 detik juga berkaitan erat dengan kemampuan sel dalam mempertahankan integritas struktur intraseluler, terutama mitokondria dan akrosom. Menurut Susilawati (2011), keberlangsungan hidup spermatozoa sangat tergantung pada kondisi membran plasma dan fungsi mitokondria sebagai pusat produksi energi dalam bentuk adenosine triphosphate (ATP). Proses thawing yang optimal dapat menjaga aktivitas enzimatik di daerah midpiece spermatozoa, sehingga metabolisme energi tetap berjalan normal dan mempertahankan hidup sel lebih lama. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Nugraha et al. (2021) bahwa durasi pencairan semen yang sesuai dapat mengurangi kerusakan membran dan

mempertahankan fungsi metabolik spermatozoa selama fase pasca-thawing. Dengan demikian, pencairan selama 30 detik pada suhu 38°C dapat dianggap sebagai titik keseimbangan fisiologis yang ideal bagi spermatozoa sapi Simental dalam menjaga integritas membran, fungsi metabolik, serta kemampuan hidup *pasca-thawing*.

### Abnormalitas Spermatozoa

Tabel 3. Rata-rata abnormalitas spermatozoa sapi Simental pasca-thawing pada suhu 38°C

Perlakuan	Waktu thawing	Abnormalitas (%) ± sd
P1	15 detik	19,40 ± 2,15 <sup>a</sup>
P2	30 detik	13,20 ± 1,87 <sup>b</sup>
P3	45 detik	17,80 ± 2,06 <sup>a</sup>

Keterangan: Huruf superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ).

Hasil analisis menunjukkan bahwa waktu thawing berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa. Persentase abnormalitas terendah diperoleh pada thawing 30 detik (13,20 %), sedangkan tertinggi pada thawing 15 detik (19,40 %). Tingginya abnormalitas pada waktu thawing yang terlalu singkat disebabkan oleh ketidaksempurnaan proses pencairan, yang menimbulkan kerusakan struktural pada kepala, leher, dan ekor spermatozoa. Menurut Susilawati (2011), pencairan semen yang tidak sempurna dapat menyebabkan perubahan tekanan osmotik dan pembentukan kristal es yang merusak struktur fisik spermatozoa, sehingga meningkatkan jumlah sel dengan bentuk tidak normal.

Proses thawing yang terlalu cepat (15 detik) menyebabkan semen belum sepenuhnya mencair dan menimbulkan *thermal shock*, yang dapat mengakibatkan kerusakan mekanis pada membran plasma dan akrosom. Medeiros et al. (2002) menyatakan bahwa kerusakan pada membran spermatozoa selama pembekuan dan pencairan terutama disebabkan oleh stres osmotik dan perubahan fase lipid yang tidak seimbang. Kondisi ini menjelaskan mengapa peningkatan abnormalitas sering terjadi pada durasi thawing yang terlalu singkat.

Sebaliknya, thawing yang terlalu lama juga dapat meningkatkan abnormalitas akibat paparan suhu tinggi yang mempercepat denaturasi protein membran dan akrosom. Solis et al. (2024) menjelaskan bahwa “peningkatan suhu selama proses thawing menyebabkan defosforilasi dan aktivasi enzim GSK3, yang pada akhirnya menurunkan kapasitas produksi energi pada spermatozoa. Penurunan kapasitas energi ini mengganggu fungsi struktural dan metabolik spermatozoa, termasuk proses perbaikan membran dan pembentukan flagelum, sehingga meningkatkan peluang terjadinya deformitas sel.

Abnormalitas spermatozoa yang rendah pada waktu thawing 30 detik menunjukkan bahwa durasi tersebut merupakan kondisi optimal untuk menjaga integritas morfologi sel, yang berperan penting dalam keberhasilan fertilisasi. Menurut Direktorat Jenderal Peternakan (2014), semen beku yang layak untuk inseminasi buatan sebaiknya memiliki persentase abnormalitas kurang dari 20 %. Nilai

abnormalitas <20 % yang diperoleh dalam penelitian ini masih berada dalam batas kelayakan tersebut. Hasil ini juga sejalan dengan temuan Hidayati et al. (2020), yang melaporkan bahwa “thawing semen sapi Simental selama 30 detik pada suhu 38°C menghasilkan proporsi spermatozoa abnormal yang lebih rendah dibandingkan waktu pencairan yang lebih singkat atau lebih lama.

Dengan demikian, durasi thawing selama 30 detik pada suhu 38°C terbukti memberikan keseimbangan antara kecepatan pencairan dan kestabilan struktural spermatozoa. Kondisi tersebut memungkinkan proses rehidrasi sel berlangsung sempurna, mencegah stres osmotik, serta menjaga integritas morfologi spermatozoa yang berperan penting dalam mempertahankan kualitas semen beku pasca-thawing.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu thawing berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kualitas spermatozoa beku sapi Simental yang meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas. Perlakuan thawing selama 30 detik pada suhu 38°C memberikan hasil terbaik dengan nilai motilitas tertinggi ( $56,00 \pm 3,16\%$ ), viabilitas tertinggi ( $70,40 \pm 3,01\%$ ), serta abnormalitas terendah ( $13,20 \pm 1,87\%$ ). Durasi thawing 30 detik terbukti memberikan waktu yang cukup untuk mencairkan semen secara sempurna tanpa menimbulkan stres osmotik maupun termal, sehingga mampu mempertahankan integritas membran plasma, fungsi mitokondria, dan struktur akrosom

spermatozoa. Sebaliknya, thawing yang terlalu singkat menyebabkan pencairan tidak sempurna dan menimbulkan *thermal shock*, sedangkan thawing yang terlalu lama meningkatkan risiko kerusakan membran akibat paparan suhu tinggi. Dengan demikian, waktu thawing 30 detik pada suhu 38°C direkomendasikan sebagai durasi optimal untuk menjaga kualitas spermatozoa beku sapi Simmental dan mendukung keberhasilan program inseminasi buatan di lapangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ariantie, D., Wahyuningsih, S., & Isnaini, N. (2020). Pengaruh waktu dan suhu thawing terhadap kualitas semen beku sapi Simmental. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia*, 6(1), 45–52. <https://doi.org/10.25077/jitpi.6.1.45-52.2020>.
- Direktorat Jenderal Peternakan. (2014). *Pedoman teknis penilaian mutu semen beku untuk inseminasi buatan*. Jakarta: Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Hardijanto, A., Purwantara, B., & Situmorang, P. (2016). Kriopreservasi semen sapi potong dan hubungannya dengan integritas membran plasma spermatozoa. *Jurnal Veteriner*, 17(1), 118–126. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.1.118>.
- Harissatria., J. Hendri., F. Elinda., Jaswandi., Hendri., Zumarni., & D. Afrini. (2023). Kualitas Semen Beku Sapi Simmental, Limousin dan Frisian Holstein dengan Metode *Thawing* yang Berbeda. *Jurnal Peternakan*, Vol 20 (1): 26-31. <http://dx.doi.org/10.24014/jupet.v20i1:19563>
- Hidayati, L. N., Isnaini, N., & Wahyuningsih, S. (2020). Kualitas semen beku sapi Simmental pada berbagai lama waktu thawing. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 8(3), 125–133. <https://doi.org/10.24198/jipt.v8i3.2020>.
- Koshimoto, C., Mazur, P., & Katkov, I. I. (1985). Effect of cooling and thawing rates on the survival of bovine spermatozoa. *Cryobiology*, 22(6), 607–618. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(85\)90063-8](https://doi.org/10.1016/0011-2240(85)90063-8).
- Medeiros, C. M. O., Forell, F., Oliveira, A. T., & Rodrigues, J. L. (2002). Current status of sperm cryopreservation: Why isn't it better? *Theriogenology*, 57(1), 327–344. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00674-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00674-4).
- Nugraha, R. D., Santoso, B., & Yulnawati, Y. (2021). Pengaruh lama pencairan semen beku terhadap integritas membran dan daya hidup spermatozoa sapi Limousin. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 23(1), 49–57. <https://doi.org/10.25077/jpi.23.1.49-57.2021>.
- Sihombing, T., Sutiyono, & Wibowo, B. (2019). Kinerja pertumbuhan dan efisiensi pakan sapi Simmental jantan pada sistem penggemukan intensif. *Jurnal Peternakan Nusantara*, 5(2), 87–95.
- Solis, A. M., Roldan, E. R. S., & Fernández-Gago, R. (2024). Thermal stress during thawing alters sperm energy metabolism through GSK3 pathway activation. *Reproduction in Domestic Animals*, 59(1), 10–18. <https://doi.org/10.1111/rda.14312>.
- Steel, R. G. D., & Torrie, J. H. (1993). *Prinsip dan prosedur statistika: Suatu pendekatan biometrik* (Terj. Bambang Sumantri). Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Susilawati, T. (2011). *Semen beku dan inseminasi buatan pada sapi*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Toelihere, M. R. (1993). *Inseminasi buatan pada ternak*. Bandung: Angkasa.

Yulnawati, Y., Said, S., & Hasan, A. (2018). Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas semen beku sapi potong di Balai Inseminasi Buatan. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 20(3), 151–160. <https://doi.org/10.25077/jpi.20.3.151-160.2018>.