

PENGGUNAAN LEVEL GLISEROL DALAM PENGENCER SITRAT-KUNING TELUR GUNA MEMPERTAHANKAN KUALITAS SPERMATOZOA BABI LANDRACE PADA SUHU PENYIMPANAN 18-20°C

*The Use of Glycerol Levels in Citrate-Egg Yolk Diluent to Maintain the Quality of
Landrace Boar Spermatozoa at Storage Temperatures 18-20°C*

**Maria Deran Nuba^{*}, Wilmintje Marlene Nalley, Ni Made Paramita Setyani,
Thomas Mata Hine**

Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jln. Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia 850001.

**Corresponding Author:* daratpantai007@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to test the use of glycerol (GLY) levels in citrate-egg yolk diluents (C-EY) to maintain the quality of Landrace boar spermatozoa at 18-20°C temperature storage. This research utilized fresh semen obtained from 2.5 years old Landrace boar, which was in optimal health and had been trained in semen management. This research was structured using a completely randomized design method and included five treatments and five repetitions, namely: T0 = C-EY, T1: C-EY + GLY 1%, T2: C-EY + GLY 2%, T3: C-EY + GLY 3%, T4: C-EY + GLY 4%. Variables tested include motility, viability, abnormalities and survival of spermatozoa. After being diluted, the semen was stored in a Styrofoam box at 18-20°C. The data was analyzed using SPSS 26 windows software. The results from the study indicated that T2 treatment at the 36th observation hour produced spermatozoa quality with a statistically higher value ($P < 0,05$) when compared to the other four treatments with motility: $45,00 \pm 2,24\%$, viability: $52,70 \pm 3,87\%$, abnormality: $4,20 \pm 0,89\%$, and survival spermatozoa: $41,45 \pm 8,05$ hours. It could be inferred that the use of glycerol at concentration level 2% in a citrate-egg yolk diluents solution provides an effective response to maintaining the quality of Landrace boar spermatozoa up to 41,45 hours of storage.

Keywords: Citrate, egg yolk, Glycerol, spermatozoa Landrace boars

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini untuk menguji penggunaan level gliserol (GLY) dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) guna mempertahankan kualitas spermatozoa babi Landrace pada suhu penyimpanan 18-20°C. Materi dalam penelitian ini yaitu semen segar dari satu ekor babi jenis Landrace berusia 2,5 tahun, kesehatan optimal, babi pejantan telah terbiasa dan dilatih untuk proses koleksi semen secara teratur. Penelitian ini disusun dengan metode rancangan acak lengkap yang mencakup lima perlakuan berupa Sitrat-Kuning telur dan gliserol dan lima pengulangan yakni: P0 = S-KT, P1: S-KT + GLY 1%, P2: S-KT + GLY 2%, P3: S-KT + GLY 3%, P4: S-KT + GLY 4%. Variabel yang diuji diantaranya: motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup (DTH) spermatozoa. Setelah diencerkan, semen disimpan dalam *styrofoam box* pada temperature 18-20°C. Data dianalisis menggunakan *one way ANOVA* bila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil dari penelitian mengindikasikan bahwa perlakuan P2 pada jam pengamatan ke-36 menghasilkan kualitas spermatozoa dengan nilai yang lebih tinggi secara statistik ($P < 0,05$) apabila dibandingkan keempat perlakuan lain dengan motilitas: $45,00 \pm 2,24\%$, viabilitas: $52,70 \pm 3,87\%$, abnormalitas: $4,20 \pm 0,89\%$, dan DTH spermatozoa: $41,45 \pm 8,05$ jam. Simpulan dari penelitian ini adalah penggunaan gliserol pada tingkat konsentrasi 2% dalam larutan pengencer sitrat-kuning telur memberikan respon yang baik untuk menjaga kualitas spermatozoa babi Landrace hingga 41,45 jam penyimpanan.

Kata kunci: Gliserol, Kuning telur, Sitrat, Spermatozoa babi Landrace

PENDAHULUAN

Teknologi inseminasi buatan (IB) telah banyak di manfaatkan oleh peternak untuk membantu proses perkawinan pada ternak. Inseminasi buatan yang sukses bergantung pada penggunaan semen berkualitas dengan vitalitas yang tinggi. Dalam program inseminasi buatan, semen cair menjadi solusi untuk meningkatkan populasi dan produktivitas sekaligus dapat memaksimalkan potensi pejantan serta memungkinkan inseminasi pada banyak ternak betina dengan satu kali ejakulasi sehingga meningkatkan efisiensi reproduksi (Savio *et al.*, 2020).

Hal utama yang perlu diperhatikan dari pembuatan semen cair yaitu dengan menggunakan pengencer yang tepat untuk menjaga keberlangsungan hidup spermatozoa. Larutan pengencer berbahan sitrat-kuning telur sudah umum digunakan sebagai pengencer semen ternak karena bersifat sebagai penyangga dan strukturnya berbentuk lingkaran, yang memungkinkan untuk mengikat kalsium atau logam berat serta memisahkan fraksi lemak dari kuning telur sehingga spermatozoa dapat terlihat melalui mikroskop (Wibawa *et al.*, 2019). Sebagai penyangga (*buffer*), natrium sitrat mampu berperan dalam menjaga tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit dengan mengandung ion yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk mempertahankan stabilitas membrane sel (Berg *et al.*, 2012)

Kuning telur mengandung beragam nutrisi termasuk protein, lemak, vitamin dan mineral. Selain itu, lipoprotein dan lecitin yang terkandung dalam kuning telur merupakan partikel kompleks yang mengangkut lemak serta fosfolipid yang berperan dalam emulsi lemak (Feka *et al.*, 2016). Penggunaan kuning telur dalam pengencer lebih di utamakan dalam mempertahankan fluiditas membrane sel. Selama penyimpanan spermatozoa akan mengalami kerusakan structural maupun fungsional karena berbagai faktor seperti suhu, pH dan kerusakan ini terjadi karena

adanya *cold shock* sehingga merubah susunan lipid membran spermatozoa.

Untuk mengurangi kerusakan pada sel spermatozoa, perlu ditambahkan substansi tertentu ke dalam pengencer semen. Substansi ini dikenal sebagai krioprotektan dan satu dari banyak varian yang umum digunakan dalam proses pengenceran semen adalah gliserol (GLY). Mekanisme kerja GLY dengan penetrasi kedalam sel-sel spermatozoa mengikuti jalur perombakan fruktosa dalam triosa fosfat. Proses ini menghasilkan asam laktat, yang membantu menjaga gerakan spermatozoa. Fruktosa juga penting dalam pembentukan ATP, sumber energi yang kaya akan fosfat anorganik (Cohen *et al.*, 2020)

Dalam peranannya sebagai krioprotektan GLY berfungsi mencegah terjadinya kerusakan sel spermatozoa yang meliputi stabilitas membrane sel dimana GLY mampu menstabilkan membrane sel spermatozoa, mencegah terjadinya kerusakan akibat perubahan suhu yang ekstrem. Kemudian GLY dapat meminimalisir kerusakan biokimia; mengurangi kerusakan biokimia yang dapat terjadi akibat reaksi oksidasi. Hal tersebut diperjelas oleh Butta (2021) konsentrasi GLY yang optimal dalam pengencer memiliki peranan penting sebagai agen protektif terhadap spermatozoa. Akan tetapi jika konsentrasinya tidak optimal, dapat menyebabkan gangguan pada kualitas spermatozoa dengan mengakibatkan penurunan kualitas spermatozoa. Penggunaan level GLY dalam pengencer S-KT diharapkan dapat memberikan perlindungan yang optimal khususnya terkait mutu semen cair babi landrace.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Lokasi penelitian bertempat di Laboratorium Biologi Reproduksi, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana, selama enam minggu terbagi atas satu minggu persiapan, empat minggu pengumpulan data dimulai

dengan persiapan ternak babi jantan yang sehat, tidak mengalami stress dan diberi pakan cukup, koleksi semen dilakukan dengan metode massage dalam rentang waktu 4 minggu penampungan dilakukan antara 8 hingga 12 kali, selanjutnya pemeriksaan kualitas semen untuk menilai parameter seperti motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup, serta satu minggu analisis data.

Metode pemeriksaan kualitas spermatozoa terdiri dari motilitas untuk melihat gerakan spermatozoa dengan meneteskan semen pada kaca objek dan melihat persentase spermatozoa yang bergerak aktif, viabilitas diukur dengan pewarnaan vital seperti eosin-nigrosin dimana spermatozoa hidup tidak menyerap warna sementara spermatozoa mati menyerap warna, abnormalitas dilihat pada bentuk kepala atau ekor yang abnormal dan daya tahan hidup diamati dalam rentang waktu tertentu, misalnya 24, 48, dan 72 jam untuk melihat berapa banyak spermatozoa yang masih bergerak atau hidup.

Metode Penelitian

Materi dalam penelitian ini memanfaatkan semen segar yang diperoleh dari satu ekor babi jenis landrace untuk mengidentifikasi variabel atau pola dasar dengan usia 2,5 tahun, kesehatan optimal, babi pejantan telah terbiasa dan dilatih untuk proses koleksi semen secara teratur. Penelitian ini disusun dengan metode rancangan acak lengkap yang mencakup lima perlakuan dan lima pengulangan yakni:

P0 = Sitrat-Kuning Telur

P1: Sitrat-Kuning Telur + Gliserol 1%

P2: Sitrat-Kuning Telur + Gliserol 2%

P3: Sitrat-Kuning Telur + Gliserol 3%

P4: Sitrat-Kuning Telur + Gliserol 4%.

Variabel yang diuji adalah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup (DTH).

1. Motilitas Spermatozoa mengacu pada kapabilitas spermatozoa untuk bergerak secara aktif untuk memungkinkan

terjadinya fertilisasi. Persentase motilitas dinilai secara subjektif kuantitatif pada lima perspektif yang berbeda, dengan penilaian dalam rentang 0-100%, menggunakan skala 5%.

2. Viabilitas Spermatozoa merupakan kemampuan spermatozoa untuk tetap hidup atau dapat bertahan hidup (Sukmawati *et al.*, 2014). Rumus perhitungan viabilitas spermatozoa:

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

3. Abnormalitas spermatozoa, dibedakan menjadi abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Spermatozoa yang layak IB ditunjukkan dengan abnormalitas $\leq 20\%$ (SNI, 2023). Rumus perhitungan abnormalitas spermatozoa:

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

4. Daya tahan hidup. Daya tahan hidup spermatozoa dihitung berdasarkan periode lama penyimpanan spermatozoa didalam *styrofoam box* dengan suhu ruang 18-20°C hingga nilai motilitas diatas 40%. Rumus perhitungan daya tahan hidup spermatozoa:

$$\text{Daya tahan hidup} = \frac{A-B}{A-C} \times D + E$$

Keterangan.

A= Motilitas di atas standar

B= Motilitas standar

C= Motilitas di bawah standar

D= Rentang waktu pengamatan

E= Jam penyimpanan dengan motilitas di atas standar.

Analisis Data

Data yang terkumpul dianalisis dengan *analysis of variance* oneway ($P < 0,05$) bila terdapat perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan *software* SPSS 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Tujuan akhir dari pengenceran adalah untuk mempertahankan spermatozoa tetap hidup dan bergerak secara progresif. Kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif

memiliki korelasi positif terhadap tingkat fertilitas. Penilaian motilitas/gerakan dilakukan setiap 12 jam sekali sampai motilitas spermatozoa berada dibawah 40% (Badan Standarisasi Nasional, 2023). Rata-rata gerak maju spermatozoa hingga pengamatan jam ke-48 setiap perlakuan di lihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa babi Landrace

Jam ke-	Motilitas (%)					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	84,00±2,20	84,00±2,20	84,00±2,20	84,00±2,20	84,00±2,24	1,00
12	63,00±2,70 ^b	62,00±2,70 ^b	73,00±2,70 ^a	62,00±2,70 ^b	63,00±2,70 ^b	0,00
24	52,00±2,70 ^b	52,00±2,70 ^b	64,00±4,10 ^a	53,00±2,70 ^b	55,00±3,50 ^b	0,00
36	40,00±0,00 ^{bc}	41,00±0,00 ^b	45,00±2,20 ^a	37,00±2,20 ^{cd}	35,00±0,00 ^d	0,00
48	24,00±6,50 ^b	25,00±6,12 ^b	34,00±8,22 ^a	21,00±2,24 ^b	27,00±5,70 ^b	0,01

Keterangan: ^{a,b,c,d}Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05). P0=S-KT, P1=S-KT + GLY 1%, P2=S-KT + GLY 2%, P3=S-KT + GLY 3%, P4=S-KT + GLY 4%.

Dari data yang disajikan pada Tabel 1, terlihat bahwa penurunan motilitas bervariasi di setiap perlakuan bersamaan dengan meningkatnya masa penyimpanan. Sesuai dengan Purdy (2006) mengemukakan penurunan gerakan spermatozoa akibat penyimpanan yang panjang mungkin dikarenakan berkurangnya sumber nutrisi dalam larutan yang mengakibatkan berkurangnya jumlah spermatozoa progresif (maju). Penyebab lainnya adalah dampak bahan beracun yang dihasilkan selama metabolisme biologis spermatozoa. Menurut Rizal (2010) tingkat gerakan spermatozoa sangat tergantung pada pasokan energi yang diperoleh dari ATP yang dihasilkan oleh metabolisme sel. Penurunan gerakan spermatozoa juga disebabkan oleh paparan suhu dingin serta kenaikan kadar asam laktat. Laporan Tamoës *et al.* (2014) dampak dari paparan suhu dingin terhadap sel-sel spermatozoa adalah berkurangnya kemampuan bergerak, kelangsungan hidup, perubahan dalam permeabilitas, serta modifikasi komponen lipid di membran sel. Akumulasi asam laktat menyebabkan kerusakan organel-organel,

menghambat proses metabolisme yang berperan dalam memperoleh energi. Penurunan tingkat metabolisme menghasilkan energi yang lebih sedikit dan mengakibatkan penurunan kemampuan bergerak.

Pada P3 dan P4, terjadi penurunan yang signifikan dalam persentase motilitas, mungkin disebabkan oleh tingginya kadar GLY sebagai suplemen dalam pengencer. Menurut Rizal (2010) tingginya konsentrasi gliserol dapat menyebabkan kerusakan sel melalui stres oksidatif. Stres oksidatif ini dapat mengakibatkan reaksi peroksidasi lipid yang berkontribusi pada penurunan kualitas semen cair karena kontak semen dengan oksigen dapat meningkatkan jumlah radikal bebas. Peningkatan jumlah radikal bebas dapat berdampak pada rusaknya membran plasma spermatozoa. Kerusakan pada membran ini sebagai pertahanan awal akan menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa. Konsentrasi GLY yang terlalu tinggi tidak akan efektif dalam melindungi sel. Penggunaan GLY harus memperhatikan konsentrasi yang tepat agar dapat berfungsi dengan baik, jika terlalu

banyak, GLY bisa beracun bagi spermatozoa (Mumu, 2009). Hasil analisis statistik mengenai pergerakan spermatozoa setelah diencerkan menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan ($P>0,05$) antara perlakuan P0, P1, P3 dan P4, tetapi terdapat perbedaan signifikan ($P<0,05$) dengan perlakuan P2. Pada jam ke-36 penyimpanan, motilitas spermatozoa pada perlakuan P2 lebih tinggi ($P<0,05$) daripada 4 perlakuan lainnya. Dengan demikian memberi gambaran perlakuan P2 dengan level GLY 2% menunjukkan pergerakan spermatozoa lebih baik dari perlakuan lain. Penggunaan GLY memberikan perlindungan yang baik terhadap spermatozoa ketika jumlahnya di dalam larutan pengencer yang ideal. Pengaruh perlindungan yang dimaksud yaitu mencegah kerusakan organel-organel sel dimana GLY dapat menghasilkan energi dan mengubah fruktosa melalui siklus perombakan fruktosa pada triosafosfat. Selanjutnya, fruktosa dirombak menjadi asam laktat untuk dioksidasi lebih lanjut. Ketersediaan fruktosa ini membuat spermatozoa motil progresif karena fruktosa membantu menghasilkan energi

dalam bentuk ATP yang kaya akan fosfatanorganik. Sumber nutrisi berupa fruktosa ini akan digunakan untuk kontraksi fibril-fibril dan menghasilkan gerakan pada spermatozoa (Dongkot *et al.*, 2022).

Dari hasil penelitian, penambahan level gliserol 2% dalam larutan pengencer sitrat-kuning telur pada 36 jam pengamatan, menunjukkan motilitas spermatozoa tertinggi. Hal ini membuktikan bahwa secara teknis dapat dipertimbangkan untuk aplikasi inseminasi buatan pada babi Landrace dikarenakan persentase daya gerak spermatozoa di atas 40% (Ranggadana *et al.*, 2019).

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa dapat dinilai dengan mengamati perbedaan pigmen warna di antara spermatozoa hidup dan mati. Spermatozoa yang mati mengalami kerusakan permeabilitas sehingga menyebabkan spermatozoa dapat mengikat pigmen warna, sedangkan spermatozoa yang hidup cenderung tidak berpigmen atau transparan (Ndeta *et al.*, 2015).

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa babi Landrace

Jam ke-	Viabilitas (%)					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	93,40±1,67	93,40±1,67	93,40±1,67	93,40±1,67	93,40±1,67	1,00
12	66,80±1,98 ^b	66,60±2,10 ^b	80,90±3,03 ^a	67,00±1,77 ^b	64,20±2,59 ^b	0,00
24	55,70±2,33 ^b	59,00±2,81 ^b	74,40±5,50 ^a	57,70±2,39 ^b	59,50±3,57 ^b	0,00
36	49,60±2,38 ^c	46,70±4,97 ^b	52,70±3,87 ^a	43,50±3,29 ^c	39,20±1,41 ^d	0,00
48	28,60±8,44 ^b	28,70±9,35 ^b	38,40±9,40 ^a	24,40±1,52 ^b	27,20±4,92 ^{ab}	0,07

Keterangan: ^{a,b,c,d}Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$). P0=S-KT, P1=S-KT + GLY 1%, P2=S-KT + GLY 2%, P3=S-KT + GLY 3%, P4=S-KT + GLY 4%.

Data pada Tabel 2 menunjukkan penurunan viabilitas spermatozoa pada setiap perlakuan setelah diencerkan selama 36 jam penyimpanan. Meskipun demikian, tingkat penurunan viabilitas dari masing-masing perlakuan bervariasi. Kemungkinan ini terjadi karena setiap

larutan pengencer memiliki kemampuan yang berbeda dalam memberikan nutrisi yang diperlukan untuk mendukung kelangsungan hidup spermatozoa serta dapat mengurangi penurunan tingkat keasaman yang disebabkan oleh proses metabolik spermatozoa.

Analisis statistik terhadap viabilitas spermatozoa pada jam ke-0 penyimpanan dalam tidak menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan ($P>0,05$). Setelah masa penyimpanan selama 36 jam, viabilitas spermatozoa pada P2 menunjukkan perbedaan signifikan ($P<0,05$) dibandingkan semua perlakuan. Hal ini mungkin dikarenakan tingkat keasaman akibat dari metabolisme yang sangat mempengaruhi kelangsungan hidup spermatozoa dalam semen. Kematian spermatozoa sangat ditentukan oleh tinggi atau rendah pH semen. Perubahan pH menjadi lebih asam disebabkan oleh akumulasi asam laktat yang dihasilkan dari penguraian zat-zat dalam tubuh spermatozoa dalam keadaan tanpa oksigen (Farina *et al.*, 2011).

Selain itu, penurunan kemampuan hidup pada perlakuan P4 kemungkinan disebabkan oleh kadar suplementasi GLY terlalu tinggi yang menimbulkan toksisitas terhadap spermatozoa sehingga meningkatkan rasio mortalitas spermatozoa. Meskipun pada perlakuan P3 dan P4 sama-sama mengandung lipoprotein dan lesitin yang diperoleh dari kandungan kuning telur konsentrasi dan proporsi keduanya berbeda, perubahan dalam komposisi ini dapat mempengaruhi efektivitas perlakuan terhadap kualitas spermatozoa. Alasan lain yang diduga menyebabkan penurunan kemampuan hidup adalah bahwa konsentrasi pengencer pada perlakuan P4 terlalu tinggi, sehingga spermatozoa kesulitan bergerak dan bertahan hidup. Dalam situasi di mana larutan sangat encer, spermatozoa bisa kehilangan cairan dengan cepat karena air keluar dari sel untuk menjaga

keseimbangan air antara dalam dan luar sel (Perry dan Foxcroft (2003)).

Data dari penelitian ini menunjukkan angka yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan laporan Feka (2016) viabilitas spermatozoa babi Landrace yang diencerkan dalam larutan S-KT dan disimpan selama 24 jam dengan persentase 43.88%. Rata-rata viabilitas spermatozoa dari penelitian ini menunjukkan tingkat viabilitas spermatozoa yang lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Johnson *et al.* (2000) yang mencatat viabilitas spermatozoa sebesar 80%. Ini disebabkan oleh kenyataan bahwa tidak semua spermatozoa yang hidup memiliki kemampuan untuk bergerak maju. Hasil ini memberikan Gambaran bahwa penggunaan S-KT dengan penambahan GLY 2% menghasilkan kondisi pengencer yang kondusif dalam menjaga viabilitas spermatozoa selama penyimpanan. Hal ini diduga karena kemampuan dari pengencer S-KT ditambah GLY 2% yang mempunyai kandungan lipoprotein dan lesitin bertujuan melindungi spermatozoa dari suhu dingin tanpa efek beracun, sementara fruktosa menyediakan energi yang diperlukan untuk mempertahankan spermatozoa dan menghambat penurunan pH yang disebabkan oleh aktivitas metabolisme spermatozoa (Linayati *et al.*, 2015).

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Kelainan pada spermatozoa bisa disebabkan oleh faktor genetik, lingkungan atau suhu. Jika penilaian spermatozoa tidak akurat, dapat mengakibatkan kerusakan pada spermatozoa. Tabel 3 memperlihatkan kelainan pada spermatozoa babi Landrace.

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa babi Landrace

Jam ke-	Abnormalitas (%)					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	3,00±1,22	3,00±1,22	3,00±1,22	3,00±1,22	3,00±1,22	1,00
12	4,00±0,00	4,40±0,55	3,00±1,22	3,60±0,89	3,40±1,14	1,55
24	5,00±0,05	5,00±0,00	4,00±0,71	4,60±0,89	4,60±1,14	0,20
36	5,00±0,00	5,60±0,89	4,20±0,89	5,00±0,71	5,60±1,14	0,25
48	6,20±0,84	6,40±0,55	5,20±0,90	6,20±0,84	6,00±0,00	0,29

Secara statistik menunjukkan bahwa pada tahap awal penyimpanan, tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam tingkat keabnormalan spermatozoa ($P > 0,05$) antar perlakuan yang diberikan. Setelah penyimpanan dalam waktu 36 jam, abnormalitas spermatozoa pada perlakuan P2 mengalami penurunan, tetapi tidak berbeda secara signifikan ($P > 0,05$) dengan perlakuan lainnya. Hal ini menggambarkan pemanfaatan GLY dalam larutan pengencer S-KT dapat menghambat terjadinya peningkatan abnormalitas yang cukup baik.

Angka abnormalitas bukan hanya hasil dari proses pembuatan preparat sebelum diamati, tetapi juga dipengaruhi oleh peroksidasi lipid, suatu proses kerusakan membran yang timbul dari perubahan yang terjadi saat asam lemak tidak jenuh berinteraksi dengan radikal bebas (Suyadi *et al.*, 2012). Oksidasi lipid bisa merusak membran plasma di bagian tengah spermatozoa, sementara mitokondria di bagian tersebut aktif dalam menghasilkan energi, mengoksidasi asam lemak, dan menjalankan siklus krebs.

Persentase rata-rata kelainan spermatozoa yakni berkisar antara 3,00-5,20%. Menurut

Henuk (2023) rata-rata motilitas yang diperoleh sama dengan hasil penelitian ini dengan kisaran $3,69 \pm 0,46$. Hasil penelitian lebih kecil dari temuan Fafo *et al.* (2016) yang menyatakan nilai abnormalitas berkisar 7,40–16,10% dan riset yang dilaksanakan oleh Nahak *et al.* (2022) persentase abnormalitas spermatozoa babi mencapai 10,5%. Dari hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa penggunaan level dengan larutan pengencer S-KT untuk setiap perlakuan mampu memberikan perlindungan yang baik terhadap abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan.

Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup merujuk pada waktu yang dibutuhkan oleh spermatozoa sebelum motilitas progresifnya menurun hingga 40% seperti yang dilaporkan dalam penelitian oleh (Hine *et al.* 2014). Data mengenai nilai ketahanan hidup spermatozoa dapat ditemukan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Daya tahan hidup spermatozoa babi Landrace

Perlakuan	Jam Pengamatan
P0	36,00±9,96 ^b
P1	36,75±15,36 ^b
P2	41,45±8,05 ^a
P3	33,75±10,73 ^b
P4	33,00±16,83 ^b
P-Value	0,00

Keterangan: ^{a,b} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) P0=S-KT, P1=S-KT + GLY 1%, P2=S-KT + GLY 2%, P3=S-KT + GLY 3%, P4=S-KT + GLY 4%.

Analisis statistik mengungkapkan bahwa perlakuan P2 secara signifikan berbeda ($P < 0,05$) dari P0, P1, P3 dan P4. Perlakuan P2 menunjukkan daya tahan hidup spermatozoa babi Landrace yang lebih panjang dari ketiga perlakuan lainnya. Perbedaan signifikan yang ditemukan pada perlakuan P2 menunjukkan bahwa ketahanan hidup spermatozoa sangat berkaitan dengan kemampuan spermatozoa mempertahankan kelangsungan hidupnya yang diukur dengan motilitas spermatozoa layak IB $> 40\%$.

Hasil penelitian juga memberikan petunjuk bahwa penggunaan larutan pengencer S-KT dengan penambahan GLY ketahanan hidup lebih panjang berbeda dengan perlakuan kontrol tanpa GLY. Hasil ini menunjukkan bahwa pengencer S-KT dengan penambahan GLY mampu berperan sebagai krioprotektan dalam pengencer yang isotonis serta mampu mempertahankan keseimbangan asam basa. Hal ini dibuktikan dari cara kerja GLY yang mampu memasuki sel-sel sehingga mampu memberikan proteksi terhadap spermatozoa dengan cara menyeimbangkan konsentrasi elektrolit ekstra dan intra sel. Lebih lanjut Mumu (2009) menambahkan bahwa yang penting bagi spermatozoa dalam memperpanjang daya tahan hidupnya dalam bahan pengencer adalah ketersediaan nutrisi dan kemampuan untuk menyeimbangkan antara asam dan basa (*buffer*).

Seiring lamanya waktu penyimpanan nilai motilitas mengalami penurunan hal ini juga akan berpengaruh bagi ketahanan hidup spermatozoa. Spermatozoa yang mati sewaktu penyimpanan menyebabkan racun bagi spermatozoa yang masih hidup. Adanya abnormalitas yang ditemukan dalam penelitian ini kemungkinan dikarenakan penurunan daya tahan hidup yang disebabkan oleh kurangnya perlindungan optimal dari GLY terhadap cekaman dingin pada spermatozoa. Oleh karena itu, seminal plasma akan meningkatkan metabolisme untuk

mempertahankan keseimbangan energi dan nutrisi dalam tubuh spermatozoa. Terjadinya penurunan daya tahan hidup juga disebabkan karena spermatozoa belum dapat menggunakan secara efektif S-KT sebagai sumber nutrisi dan pelindung seluler tambahan secara optimal. Penelitian Melisa *et al.* (2016) menunjukkan level GLY 6% dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa (14,8 jam) dan persentase tudung akrosom utuh (52,80%) pada semen kambing peranakan etawah *post thawing*. Mumu (2009) menambahkan bahwa spermatozoa sangat sensitive terhadap fluktuasi pH, terutama pada kondisi pH yang rendah. Fenomena ini akan memengaruhi ketahanan hidup spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa penambahan gliserol 2% dalam larutan pengencer sitrat-kuning telur memberikan respon yang baik untuk menjaga kualitas spermatozoa babi Landrace.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standarisasi Nasional. 2023. SNI 8034 : 2023 Semen Cair Babi. Jakarta
- Banamtuan, A. N., Nalley, W. M., dan Hine, T. M. 2021. Kualitas semen cair babi duroc dalam pengencer udraspem yang disuplementasi air buah lontar dan sari tebu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(1), 41-48.
- Bebas W, Pemayun TGO Damriyasa IM, Mantik-Astawa In. 2016. Lactose-astaxanthin Increases Green Jungle Fowl's Sperm Motility and Reduces Sperm DNA Fragmentation during 5° Celcius Storage. *Bali Medical Journal* 4(1): 152-156.
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. 2012.

- Biochemistry 7th edition. New York: W. H. Freeman.
- Butta CA, Gaina CD, Titong AP, Foeh NDFK. 2021. "Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur Ayam Kampung". *Jurnal Kajian Veteriner* 7(1): 47-52.
- Cohen, J., & Quiroz, M. (2020). The impact of cryoprotectants on sperm function and energy metabolism during freezing and thawing. *Reproduction*, 160(1), 9-24.
- Djawapatty DJ, Belli HLL, Hine TM. 2018. Fertilitas In Vitro dan In Vivo Spermatozoa Babi Landrace pada Pengencer Sitrat Kuning Telur yang Disuplementasi Berbagai Level Fruktosa pada Penyimpanan Suhu 180C. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 13(1): 43-54.
- 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 (the frozen sperm quality of duroc pig in modified tris diluent with different equilibration time). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), 72–84. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i1.5491>
- Fafo M. Hine, T. M., Nalley, W. M. 2016. Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor Dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur. *Jurnal Nukleus Peternakan* (Desember 2016), Volume 3, No, 2:184-195
- Farina, Y. 2011. Pengaruh Pengencer Tris Kuning Telur, Tris Susu Skim dan Tris Susu yang disuplementasi dengan Gliserol 6% Terhadap Kualitas Semen Sapi Pesisir. Skripsi Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang. 110 hal (tidak diterbitkan)
- Feka, W. V, Dethan, A. A., dan Beyleto, V. Y. 2016. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas dan pH Semen Babi Landrace yang Diencerkan Menggunakan Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur. In *Journal of Animal Science-2016 International Standard of Serial Number 3 (1) 14-15*
- Foeh, N.D.F.K. 2015. Kualitas Semen Beku Babi dalam Pengencer BTS Dan MIII Menggunakan Krioprotektan Dimethylacetamide dan Gliserol dengan Sodium Dedocyl Sulphate. Thesis. IPB. Bogor
- Lawa, A. B., Hine, T. M., dan Nalley, W. M. 2021. Penganruh Penambahan Virgin Coconut Oil, Minyak Ikan dan Minyak Zaitun dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(2), 135–141. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.2.135-141>
- Linayati, B. Fadjar dan Pinandoyo. 2015. Efektivitas Penambahan Glycerol dalam Susu Pengencer Terhadap Prosentase Sperma hidup dan Penetasan Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn). *PENA Akuatika*, 12(1): 43-57
- Mata Hine, T., Burhanuddin dan Marawali, A. 2014. Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas, Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Veteriner*.15(2):263- 273
- Mumu, M.I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental Yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan

- Gliserol. *Journal Agroland* 16 (2): 172-179.
- Neno, M.E.W. 2019. Pengaruh Pengencer Komersial dengan Metode Water Jacket dan Non Water Jacket terhadap Kualitas Semen Babi Landrace. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*;4 (1): 42-55 Doi: <https://doi.org/10.32938/jtast.v4i1.1268>
- 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. *Jas*, 7(1), 12–15. <https://doi.org/10.32938/ja.v7i1.1593>
- Ndeta AK, Henderiana LL, Belli KU. 2015. Pengaruh Sari Wortel dengan Level yang Berbeda pada Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Motilitas, Viabilitas, Derajat Keasaman Spermatozoa Babi Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 2(2): 117-128.
- Parera, Victor Lenda, 2022., Motilitas Spermatozoa Babi Dalam Berbagai Modifikasi Pengencer Yang Disimpan Pada Suhu 13°C Selama 4 Hari Program Studi Kesehatan Hewan Politeknik Pertanian Negeri Kupang. 47 :656-663
- Perry, G. A., dan R. L. Foxcroft (2003). Reproduction biology of the boar. Factors affecting semen quality and fertility. *Journal of Animal Science*, 81(12), 1-11
- Purdy, P. H. (2006). Sperm viability and oxidative stress in the boar. *Animal Reproduction Science*, 96(3-4), 248-270
- Ranggadana, I. P. S., N. L.G. Sumardani., N. P. Mariani. 2019. Persentase Motilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Balai Inseminasi Buatan Daerah Baturiti Peternakan Tropika. 612–618.
- Rizal M, Heradis. 2010. Peran antioksidan dalam meningkatkan semen beku. *Wartazoa* 20(3):139-145
- Robert, V. K. 2006. Semen Processing, Extending & Storage for Artificial Insemination in Swine. Dep. Of Animal Science University of Illinois.
- Savio, J. D., & Driancourt, M. A. (2020). Semen Quality and Artificial Insemination in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36(1), 57-58. Doi: 10.1016/J.Vcfa.2019.10.002
- Selviana, M., Bei, B., Foeh, N. D. F. K., dan Gaina, C. D. 2021. Kualitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Buah Lontar dan Kuning Telur Ayam Kampung dengan Metode Penyimpanan yang Berbeda. 20 (3) : 330-333. DOI: 10.19087/jveteriner.2019.20.3.330
- Sumardani NLG, Tuty LY, Siagian PH. 2019. Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda. *Media Peternakan* 31(2): 81-86.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa Terhadap Proses Pembekuan Pada Berbagai Jenis Pejantan Unggul. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

JITV, 19(3):168-175.

Suyadi, A., Rachmawati., dan Iswanto, N. 2012. Pengaruh α -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethan-kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 50°C. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan22 (1) : 1-8.

Wibawa, A. A. P. P., Ardika, I. N., Sumardani, N. L. G., dan Wirapartha, D. M. 2019. Pengenceran Semen Babi Dengan Ekstrak Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum*) Dalam Upaya Mempertahankan Kualitas Spermatozoa Dan Jumlah Anak Yang Lahir. 50 :205-213