

PENGARUH LEVEL DIMETHYL SULFOXIDE DALAM PENGECER SITRAT-KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR BABI Landrace
Effect of Dimethyl Sulfoxide Level in Citrate-Yolk Diluent on Landrace Boar Liquid Semen Quality

Maria Elisabeth Anjenita Ampur^{*}, Wilmintje Marlene Nalley, Agustinus Ridlof Riwu, Franky M. S Telupere

¹Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jl. Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia 850001

**Corresponding Author:* jeniampur@gmail.com

ABSTRACT

The research aims to determine the use of dimethyl sulfoxide (DMSO) levels in citrate-egg yolk (C-EY) diluent to maintain Landrace boar spermatozoa at a storage temperatures of 18-20°C. The research material was fresh stored semen from a healthy and trained 2 year old Landrace boar. The completely randomized design used in this study, consisted of five treatments and five replications, which were: T0 = C-EY, T1 = C-EY + DMSO 1%, T2 = C-EY + DMSO 2%, T3 = C-EY + DMSO 3%, T4 = C-EY + DMSO 4%. The variables that observed were motility, viability, abnormalities, and survival of spermatozoa. Diluted semen was stored in a styrofoam box at a temperature of 18-20°C. Obtained data were analyzed by analysis of variance, if there was a significant difference between treatments, then the test is continued with the Duncan test. The results showed that T4 treatment at 48 hours resulted in statistically higher spermatozoa quality ($P < 0.05$) than other treatments with motility: $50.00 \pm 3.53\%$, viability: $60.00 \pm 3.53\%$, abnormalities: $8.60 \pm 1.14\%$ and survival spermatozoa: 59.20 ± 1.78 hours. The conclusion of this research was that the addition of 4% DMSO in the citrate-egg yolk diluent provided good response in maintaining the quality of Landrace boar spermatozoa.

Keywords: Citrate, Dimethyl sulfoxide, Egg yolk, Landrace boar spermatozoa

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji penggunaan level dimethyl sulfoxide (DMSO) dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) guna mempertahankan spermatozoa babi Landrace pada suhu penyimpanan 18-20°C. Materi penelitian adalah semen segar yang berasal dari seekor babi Landrace yang berumur 2 tahun dalam kondisi yang sehat dan sudah terlatih dalam penampungan semen. Rancangan acak lengkap yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari lima perlakuan dan lima ulangan yaitu: P0 = S-KT, P1 = S-KT + DMSO 1%, P2 = S-KT + DMSO 2%, P3 = S-KT + DMSO 3%, P4 = S-KT + DMSO 4%. Variabel penelitian meliputi: motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup (DTH) spermatozoa. Semen yang telah diencerkan disimpan dalam *styrofoam box* pada suhu 18-20°C. Data yang telah diperoleh dianalisis dengan uji sidik ragam, apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P4 pada jam ke-48 menghasilkan kualitas spermatozoa yang lebih tinggi secara statistik ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan lainnya dengan motilitas: $50,00 \pm 3,53\%$, viabilitas: $60,00 \pm 3,53\%$, abnormalitas: $8,60 \pm 1,14\%$, dan DTH spermatozoa: $59,20 \pm 1,78$ jam. Simpulan dari penelitian ini adalah penambahan DMSO dengan level 4% dalam pengencer sitrat-kuning telur memberikan respon yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi Landrace.

Kata kunci: Dimethyl sulfoxide, Kuning telur, sitrat, Spermatozoa babi Landrace

PENDAHULUAN

Teknologi Inseminasi Buatan (IB) telah mendapatkan popularitas yang signifikan di masyarakat, terutama di kalangan peternak babi yang semakin percaya akan hasil positif dari IB. Keberhasilan proses perkawinan dengan menggunakan teknologi ini sangat bergantung pada kualitas semen yang digunakan. Jika semen tidak segera digunakan setelah disimpan, kualitasnya akan menurun. Jika semen tidak diencerkan dalam beberapa hari, motilitasnya akan menurun. Oleh karena itu, perlu ditambahkan pengencer untuk menjaga kualitas spermatozoa selama penyimpanan, sehingga dapat digunakan dalam jangka waktu yang lebih lama.

Pengencer semen dirancang untuk meningkatkan volume semen, menurunkan konsentrasi spermatozoa dan mempertahankan viabilitas spermatozoa selama jangka waktu tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau di atas titik beku (Rusdin *et al.*, 2000). Pengencer yang efektif harus menyediakan nutrisi esensial untuk memenuhi kebutuhan energi, melindungi spermatozoa dari stres yang disebabkan oleh dingin, berfungsi sebagai penyangga pH untuk menangkal asam laktat, dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Nugroho *et al.*, 2014; Susilawati, 2011).

Pengencer Sitrat-Kuning Telur (S-KT) adalah agen yang sangat efisien yang berfungsi sebagai penyangga. S-KT memiliki struktur melingkar yang memungkinkan untuk mengikat kalsium atau logam berat. Tindakan pengikatan ini memfasilitasi pemisahan butiran lemak kuning telur, sehingga memudahkan visualisasi spermatozoa di bawah mikroskop (Wibawa *et al.*, 2019). Natrium sitrat bertindak sebagai penyangga dengan menyediakan ion-ion yang diperlukan spermatozoa untuk menjaga stabilitas membran sel, tekanan osmotik, dan

keseimbangan elektrolit. Kalsium plasma dapat diikat oleh ion sitrat.

Keunggulan utama kuning telur adalah konsentrasi lesitin yang tinggi yaitu phosphatidil cholin. Lesitin bertindak sebagai lapisan pelindung yang menjaga struktur yang tepat dari bilayer fosfolipid, yang merupakan susunan utama membran sel spermatozoa. Kuning telur terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin. Kuning telur juga mengandung sejumlah besar asam amino yang penting. Kuning telur juga kaya akan lesitin dan lipoprotein, yang memiliki kemampuan untuk menghindari kejutan dingin yang disebabkan oleh penurunan suhu secara tiba-tiba (Trias, 2001). Menurut Junianto *et al.* (2000), kuning telur mengandung glukosa yang dapat berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Penggunaan kuning telur dalam pengencer sangat diperlukan karena dapat membantu menjaga fleksibilitas membran sel. Selama penyimpanan membran sel spermatozoa mengalami degradasi, yang menyebabkan kerusakan permanen dan berkurangnya fungsi membran sel. Kerusakan ini disebabkan oleh kejutan dingin, yang mengubah komposisi lipid membran spermatozoa.

Untuk mengurangi kerusakan pada sel spermatozoa, sangatlah penting untuk memasukkan senyawa tertentu ke dalam pengencer semen, yang disebut sebagai krioprotektan. Dimetil sulfoksida (DMSO) adalah krioprotektan yang umum digunakan dalam proses pengenceran semen. DMSO dapat bertindak sebagai pelindung membran sel dengan cara meresap ke dalam sel spermatozoa. DMSO berfungsi sebagai krioprotektan dalam mekanisme seluler dengan cara menjaga membran sel dan mengurangi laju peningkatan konsentrasi. Valerdi *et al.* (2009) menyatakan bahwa penggunaan DMSO sebagai krioprotektan pada pengencer akan mempertahankan motilitas spermatozoa dengan lebih baik.

Untuk memastikan bahwa jumlah DMSO yang ditambahkan ke dalam pengencer adalah optimal, jumlah yang berlebihan dapat menyebabkan perubahan tekanan osmotik yang dapat menyebabkan dehidrasi spermatozoa. Hal ini, pada gilirannya meningkatkan kemungkinan kematian sel akibat kerusakan organel sel (Han *et al.*, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dampak dari berbagai level DMSO dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi Landrace.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Reproduksi Fakultas Peternakan, Kelautan, dan Perikanan Universitas Nusa Cendana. Penelitian dilakukan selama enam minggu, yang meliputi satu minggu persiapan, empat minggu pengumpulan data, dan satu minggu analisis data. Penelitian ini menggunakan spermatozoa yang baru saja diejakulasi dari babi Landrace berusia 2,5 tahun yang bebas penyakit dan telah dilatih. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap, yang terdiri dari lima perlakuan dan lima kali pengulangan. Perlakukannya adalah sebagai berikut:

- P0 = S-KT
- P1 = S-KT + DMSO 1%,
- P2 = S-KT + DMSO 2%,
- P3 = S-KT + DMSO 3%,
- P4 = S-KT + DMSO 4%.

Variabel yang diperiksa meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa. Motilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bergerak secara aktif yang merupakan faktor penting untuk pembuahan. Persentase motilitas dievaluasi secara subyektif pada skala 0--100% dengan kelipatan 5% dari lima lampang pandang yang berbeda. Viabilitas spermatozoa dinilai untuk mengidentifikasi kapasitasnya untuk

tetap hidup. Hal ini dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persentase (\%)} \text{ viabilitas} = \frac{\text{Spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100\%.$$

Abnormalitas sperma terdiri dari primer atau sekunder. Sperma dengan abnormalitas 20% atau kurang dianggap layak untuk di IB. Ini dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Persentase (\%)} \text{ abnormalitas} = \frac{\text{Sperma abnormal}}{\text{Total sperma yang dihitung}} \times 100\%$$

Kelangsungan hidup spermatozoa ditentukan oleh durasi penyimpanan hingga nilai motilitas melebihi 40%. Hal ini dihitung dengan menggunakan rumus:

$$DTH = \frac{A-B}{A-C} \times D + E .$$

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

Data dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Duncan, dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 29 untuk Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Tujuan utama pengenceran adalah untuk mempertahankan kelangsungan hidup dan motilitas spermatozoa yang berkelanjutan. Terdapat hubungan langsung antara kemampuan spermatozoa untuk bergerak ke arah depan dan tingkat kesuburan. Evaluasi pergerakan spermatozoa

dilakukan setiap dua belas jam hingga motilitas di bawah 40% (Badan Standarisasi Nasional 2023). Rerata gerak maju

spermatozoa hingga jam ke-48 pengamatan untuk setiap perlakuan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa babi Landrace

Waktu Pengamatan	Perlakuan %					P Value
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	84,00±2,24 ^a	1,00
12	73,00±2,73 ^b	80,00±0,00 ^a	80,00±0,00 ^a	80,00±0,00 ^a	80,00±0,00 ^a	0,00
24	64,00±4,18 ^b	71,00±4,18 ^a	71,00±2,23 ^a	75,00±0,00 ^a	75,00±0,00 ^a	0,00
36	53,00±2,73 ^b	60,00±6,12 ^a	62,00±2,73 ^a	63,00±7,58 ^a	66,00±2,23 ^a	0,00
48	36,00±5,47 ^c	39,00±2,24 ^{bc}	39,00±4,18 ^{bc}	42,00±4,47 ^b	50,00±3,53 ^a	0,00
60	32,00±2,73 ^b	33,00±2,73 ^b	32,00±4,47 ^b	35,00±5,00 ^{ab}	39,00±2,23 ^a	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), P0 = S-KT, P1 = S-KT + 1% DMSO, P2 = S-KT + 2% DMSO, P3 = S-KT + 3% DMSO, P4 = S-KT + 4% DMSO

Berdasarkan data pada Tabel 1, analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam motilitas spermatozoa setelah pengenceran pada jam ke-0 di antara perlakuan yang berbeda ($P > 0,05$) namun, terdapat perbedaan yang mencolok dalam motilitas spermatozoa antara perlakuan selama jam ke-12 dan jam pengamatan ke-60, dengan signifikansi statistik ($P < 0,05$). Perbedaan yang diamati terlihat jelas pada penanganan P0, P1, P2, dan P3 ($P < 0,05$), menunjukkan bahwa durasi penyimpanan berdampak pada pengukuran motilitas. Setelah 48 jam, perlakuan P0 (kontrol), P1, dan P2 menunjukkan penurunan persentase motilitas dibandingkan dengan P3 dan P4. Penurunan motilitas yang diamati pada P0, P1, dan P2 disebabkan oleh nutrisi yang tidak mencukupi dalam pengencer dan dosis DMSO yang tidak optimal, sehingga kurang efektif dalam mempertahankan motilitas spermatozoa. Setelah 48 jam, perlakuan P3 (3% DMSO) dan P4 (4% DMSO) berhasil mempertahankan motilitas spermatozoa pada tingkat di atas 40%, yang cocok untuk inseminasi buatan. Peningkatan mobilitas yang diamati pada perlakuan P3 dan P4 dapat

dikaitkan dengan konsentrasi DMSO yang lebih tinggi. DMSO secara efektif mengatur osmolalitas di dalam dan di luar sel, sehingga menjaga struktur sel bahkan pada suhu rendah.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hine *et al.* (2019), yang menetapkan bahwa konsentrasi DMSO yang ideal adalah 3%. Namun demikian, hasilnya lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bebas *et al.* (2020) yang menggunakan konsentrasi DMSO 6%, yang menghasilkan peningkatan motilitas semen beku. Di sisi lain, penggunaan larutan DMSO 10% tanpa larutan extender mengakibatkan kematian banyak sel sperma. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa konsentrasi DMSO yang tinggi berbahaya bagi sel sperma, seperti yang dilakukan oleh penelitian Mitrus *et al.* (2013). Temuan mereka menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi DMSO dari 7,5% menjadi 10% mengurangi kemampuan sel darah tepi untuk membentuk klonogenetik. Peningkatan kadar DMSO dapat menyebabkan denaturasi protein (Arakawa *et al.*, 2007) dan meningkatkan fluiditas membran sel (Gurtovenko *et al.*, 2007).

Selain itu, jumlah DMSO yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada struktur membran bilayer (Wang *et al.*, 2007) dan mengakibatkan dehidrasi pada sel spermatozoa (Han *et al.*, 2005). Adanya jumlah DMSO yang tidak tepat dapat menghambat respirasi mitokondria dan menyebabkan peningkatan kadar kalsium sistolik (Ivanov, 2001).

Penurunan motilitas setelah 48 jam pada perlakuan P0, P1, dan P2 disebabkan oleh jumlah krioprotektan yang tidak mencukupi. Hal ini mengakibatkan penundaan pengeluaran cairan dari sel dan menyebabkan kerusakan pada sel spermatozoa (Han *et al.*, 2005). Kadar DMSO yang tidak mencukupi dapat menyebabkan berkurangnya motilitas dan umur spermatozoa, perubahan permeabilitas, dan kerusakan pada membran spermatozoa. Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan yang mengakibatkan penurunan pergerakan spermatozoa (Guthrie dan Welch, 2012), yang menyebabkan penurunan motilitas dari jam ke-12 hingga jam ke-60. Penyimpanan semen yang terlalu lama dapat meningkatkan kadar spesies oksigen reaktif (ROS), yang menyebabkan stres oksidatif dan merusak integritas membran plasma spermatozoa hal ini, pada gilirannya memengaruhi fungsi mitokondria yang bertanggung jawab atas produksi ATP selama respirasi sel (Priharyanthi *et al.*, 2021).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada jam ke-48 untuk perlakuan P0, P1, dan P2 masih berada di bawah standar. Nilai motilitasnya adalah sebagai berikut P0 $36.00 \pm 5.47\%$, P1

$39.00 \pm 2.24\%$, dan P2 $39.00 \pm 4.18\%$. Sementara itu, perlakuan P3 dan P4 menunjukkan nilai motilitas di atas 40%, yaitu P3 dengan nilai $42 \pm 4.47\%$ dan P4 dengan nilai $50 \pm 3.53\%$. Penelitian ini menunjukkan persentase motilitas yang menurun dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh Bebas *et al.* (2020) yang memperoleh persentase motilitas sebesar 39,80%. Hasilnya hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Junaedi *et al.* (2016), yang memperoleh persentase motilitas sebesar 48,14%. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh fluktuasi konsentrasi DMSO yang digunakan dalam pengawetan semen.

4% dimetil sulfoksida pada perlakuan P4 menghasilkan motilitas tertinggi yaitu $50 \pm 3.53\%$ hingga penyimpanan selama 48 jam. Hal ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada konsentrasi ini sesuai untuk inseminasi buatan, karena melebihi 40% untuk motilitas progresif (Sumardani *et al.*, 2008).

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Vitalitas spermatozoa dapat ditentukan dengan mengamati perbedaan pengikatan pigmen antara spermatozoa yang masih hidup dan yang sudah mati. Menurut Ndeta *et al.* (2015), spermatozoa yang mati mengalami gangguan permeabilitas, yang dapat mengakibatkan pigmentasi sebaliknya, spermatozoa yang masih hidup sering kali tidak berpigmen atau tidak berwarna.

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa babi Landrace

Jam Penyimpanan	Perlakuan %					P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	93,40±1,67 ^a	93,40±1,67 ^a	93,40±1,67 ^a	93,40±1,67 ^a	93,40±1,67 ^a	1,00
12	80,80±1,09 ^c	85,60±1,14 ^b	87,10±1,88 ^{ab}	88,40±1,19 ^a	89,00±2,82 ^a	0,00
24	69,80±2,86 ^b	78,80±5,02 ^a	80,40±0,54 ^a	82,10±0,23 ^a	82,40±0,54 ^a	0,00
36	65,60±3,21 ^c	69,80±3,20 ^{abc}	69,00±4,18 ^{bc}	73,60±4,98 ^{ab}	75,00±3,53 ^a	0,00
48	46,00±5,48 ^b	48,00±4,47 ^b	47,00±6,70 ^b	50,00±0,00 ^b	60,00±3,53 ^a	0,00
60	35,00±2,74 ^{bc}	37,00±2,24 ^{bc}	34,00±4,18 ^c	39,00±4,18 ^{ab}	42,00±2,24 ^a	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), P0 = S-KT, P1= S-KT + 1% DMSO, P2= S-KT + 2% DMSO, P3= S-KT + 3% DMSO, P4= S-KT + 4% DMSO

Berdasarkan Tabel 2, analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam proporsi spermatozoa yang layak hidup setelah pengenceran pada jam ke-0 di antara perlakuan yang berbeda ($P > 0,05$). Kurangnya dampak pada viabilitas spermatozoa babi Landrace dapat dikaitkan dengan komposisi nutrisi pengencer yang banyak namun, antara jam ke-12 dan ke-48, terdapat perbedaan yang mencolok dalam persentase viabilitas, dengan perbedaan yang signifikan secara statistik ($P < 0,05$). Pada jam ke-48, perlakuan P4 (s-kt + 4% DMSO) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik ($P > 0,05$) dan mampu mempertahankan tingkat viabilitas spermatozoa rata-rata 60,00±3,53%. Tingkat viabilitas yang tinggi yang terlihat pada perlakuan P4 dapat dikaitkan dengan konsentrasi DMSO yang tinggi, yang secara efektif menjaga keseimbangan osmolalitas di dalam dan di luar sel dan mengubah struktur sel untuk mencegah kerusakan. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hine *et al.* (2019), yang menentukan bahwa konsentrasi DMSO yang optimal adalah 3%.

Pada penelitian ini, rata-rata persentase viabilitas spermatozoa adalah 60,00±3,53%, lebih besar dari hasil yang diberikan oleh Hine *et al.* (2019) yaitu 44,15±66,78%. Viabilitas spermatozoa biasanya lebih tinggi daripada % motilitasnya. Hal ini disebabkan karena spermatozoa non motil yang masih

hidup tidak menyerap warna dari larutan eosin yang digunakan (Nalley *et al.*, 2007).

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa dengan menggunakan konsentrasi DMSO 4% dalam pengencer sitrat kuning telur, viabilitas spermatozoa tetap berada di angka 60,00±3,53% hingga jam ke-48. Dengan memasukkan 4% DMSO ke dalam sitrat kuning telur, kondisi pengencer dioptimalkan untuk mempertahankan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan. Hal ini juga dapat dikaitkan dengan aksesibilitas DMSO yang lebih besar dibandingkan dengan pilihan perlakuan P0, P1, P2, dan P3. Gudogan *et al.* (2010) menemukan bahwa penurunan viabilitas spermatozoa diakibatkan oleh beberapa bentuk kerusakan. Kerusakan ini diawali dengan hilangnya motilitas, diikuti dengan terganggunya aktivitas metabolisme sel dan kerusakan membran plasma. Pada akhirnya, penurunan viabilitas adalah hasil akhir dari kerusakan spermatozoa.

Viabilitas spermatozoa pada setiap perlakuan berangsur-angsur menurun setiap jamnya karena terjadinya kematian sel dan stres secara alami selama pengenceran. Selain itu, jumlah krioprotektan DMSO yang terbatas menyebabkan pelepasan cairan dari sel yang lambat, yang menyebabkan stres sel selama penyimpanan pada suhu rendah. Krioprotektan DMSO berfungsi dalam pengencer semen dengan menggantikan air di dalam sel (Valerdi *et al.*, 2009). Dimasukkannya kuning telur ke dalam

pengencer sangat penting untuk menjaga kualitas semen cair babi Landrace selama penyimpanan. Kuning telur mengandung lecitin, yang membantu melindungi spermatozoa dari kejutan dingin. Hal ini karena kuning telur kaya akan kolesterol, yang merupakan komponen lipid utama. Struktur lipoprotein kuning telur mirip dengan membran plasma, sehingga memungkinkannya untuk melindungi

membran sel spermatozoa (Botham *et al.*, 2009).

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

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

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa babi Landrace

Jam Penyimpanan-	Abnormalitas (%)					P-Value
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	2,80±0,84 ^a	2,80±0,84 ^a	2,80±0,4 ^a	2,80±0,84 ^a	2,80±0,84 ^a	1,00
12	4,80±0,84 ^a	5,00±1,22 ^a	4,00±0,71 ^a	5,00±0,70 ^a	4,80±0,84 ^a	0,383
24	4,80±1,09 ^a	6,00±1,58 ^a	6,40±1,14 ^a	5,60±1,52 ^a	6,60±1,52 ^a	0,292
36	6,60±1,67 ^a	7,40±1,81 ^a	6,60±1,67 ^a	7,80±1,09 ^a	6,60±2,07 ^a	0,697
48	8,00±1,22 ^a	8,40±1,67 ^a	8,60±0,54 ^a	9,20±0,83 ^a	8,60±1,14 ^a	0,593
60	11,00±2,24 ^a	11,70±2,38 ^a	11,60±1,67 ^a	10,60±1,34 ^a	9,40±3,57 ^a	0,556

Keterangan: ^aSuperskrip menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$), P0 = S-KT, P1= S-KT +1% DMSO, P2= S-KT + 2% DMSO, P3= S-KT +3% DMSO, P4= S-KT + 4% DMSO

Hasil yang disajikan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa tidak ada variasi yang signifikan secara statistik pada abnormalitas spermatozoa pada semua perlakuan ($P>0,05$) dari jam ke-0 hingga jam ke-60. Persentase abnormalitas spermatozoa meningkat secara proporsional dengan periode penyimpanan, karena diyakini bahwa lama penyimpanan berdampak pada kuantitas spermatozoa yang menyimpan. Perlakuan P4 memiliki rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa terendah, yaitu sebesar 9,40±3,57%, diikuti oleh P3 dengan 10,60±1,34%, P0 dengan 11,00±2,24%, P2 dengan 11,60±1,6%, dan P1 dengan 11,70±2,38%. Nilai ini melebihi persentase abnormalitas 5,78±0,74% yang dilaporkan oleh Hine *et. al* (2019) setelah periode penyimpanan 2 jam. Terlepas dari keterbatasan ini, hasilnya masih dianggap memuaskan dan dapat dicapai karena proporsi abnormalitas di bawah 15%. Hal ini

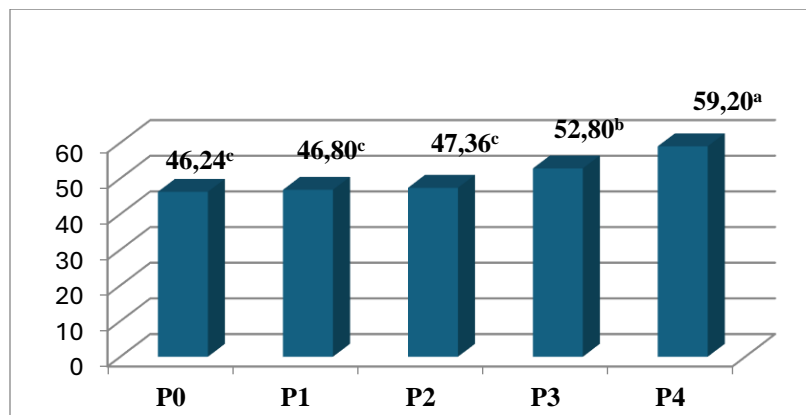
berpotensi dipengaruhi oleh variabel-variabel seperti usia, kesuburan jantan, dan variasi zat yang digunakan untuk pengenceran (Garner & Hafez, 2000). Ihsan *et. al* (2009) menegaskan bahwa batas yang dapat diterima untuk spermatozoa abnormalitas yang digunakan dalam inseminasi buatan adalah maksimum 15%.

Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik ($P>0,05$) pada semua perlakuan selama periode pengamatan dari jam ke-0 sampai jam ke-60. Pemberian DMSO dalam jumlah yang ideal mampu mengurangi kenaikan tingkat abnormalitas. Kejut dingin dapat menyebabkan kerusakan pada membran plasma sel, yang menyebabkan kelainan sel dan kematian sel selanjutnya. Untuk mengurangi konsekuensi negatif ini, krioprotektan disertakan. Penyelidikan mengidentifikasi kelainan sekunder pada spermatozoa, termasuk ekor yang patah atau

bengkok. Kelainan ini kemungkinan besar merupakan hasil dari kesalahan selama persiapan atau ejakulasi (Arifiantini *et al.*, 2006). Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan berbagai dosis DMSO pada setiap perlakuan secara efektif dapat mencegah terjadinya abnormalitas pada spermatozoa.

Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Kelangsungan hidup dalam hal ini, berkaitan dengan durasi yang diperlukan spermatozoa untuk mengalami penurunan motilitas progresif sekitar 40%, seperti yang dilaporkan dalam penelitian yang dilakukan oleh (Hine *et al.* 2014). Daya tahan hidup spermatozoa pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Persentase daya tahan hidup spermatozoa semen cair babi Landrace

Keterangan: ^{abc}Superskrip menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$), P0 = S-KT, P1= S-KT +1% DMSO, P2= S-KT + 2% DMSO, P3= S-KT + 3% DMSO, P4= S-KT + 4% DMSO

Analisis statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara perlakuan P4 dengan perlakuan P0, P1, P2, dan P3. Perlakuan P3 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P0, P1, dan P2. Penelitian ini, penambahan level 4% dimetil sulfoksida dalam pengencer sitrat kuning telur pada perlakuan P4 ditemukan secara efektif memperpanjang kelangsungan hidup spermatozoa babi Landrace. Spermatozoa mampu bertahan hidup selama 59,20 jam, tetapi pada perlakuan P0, masa hidup hanya terbatas pada 46,24 jam.

Hal ini terjadi karena ketersediaan DMSO yang cukup, yang mendukung proses metabolisme spermatozoa tanpa adanya

penundaan dalam mengubah DMSO menjadi ATP. Akibatnya, metabolisme spermatozoa berlangsung lebih efisien, sehingga memungkinkan untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Peran penting DMSO dalam menjaga keseimbangan osmolalitas di dalam dan di luar sel, serta dalam mengubah struktur sel untuk mencegah kerusakan, sangat penting dalam proses ini. Sebaliknya, ketika DMSO yang ditambahkan lebih sedikit, seperti yang terlihat pada perlakuan P0, P1, dan P2, terjadi penurunan daya tahan hidup spermatozoa.

Penurunan daya tahan hidup ini disebabkan oleh berkurangnya kadar DMSO, yang mengganggu proses metabolisme dengan meningkatkan oksidasi lipid pada

membran spermatozoa dan meningkatkan permeabilitas membran sel. Akibatnya, sel menjadi rusak dan mati dengan cepat (Zakir *et al.*, 2010). Selain itu, spermatozoa belum dapat secara efektif mengeksploitasi sitrat-kuning telur sebagai sumber energi dan sebagai krioprotektan ekstraseluler secara sempurna. Penelitian dilakukan oleh Bebas *et al.* (2020) menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi 6% DMSO menghasilkan tingkat kelangsungan hidup spermatozoa sebesar $57,80 \pm 2,16\%$. Mumu (2009) juga menjelaskan bahwa spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH terutama pH rendah. Hal ini juga akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah disampaikan, dapat disimpulkan bahwa penambahan 4% DMSO pada pengencer sitrat-kuning telur, mampu memberikan respon yang baik dalam mempertahankan motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa babi Landrace selama 48 jam penyimpanan pada suhu dingin.

DAFTAR PUSTAKA

- Arakawa T, Kita Y, Timasheff SN. 2007. Protein precipitation and denaturation by dimethyl sulfoxide. *Biophys Chem* 131: 62-70.
- Arifiantini, R. I dan Yusuf, T. L. 2006. *Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi Friesian Holstein*. Majalah Ilmiah Peternakan. 9 (3): 89-93.
- Bebas, W., & Gorda, W. 2020. Kadar Krioprotektan Gliserol dan Dimethylsulfoxide Terbaik pada Pengencer Astaxanthin Fosfat Kuning Telur Bebek Terhadap Kualitas Semen Beku Babi. *Jurnal Veteriner*, 21(1).
- Ganer, D.L. and E.S.E. Hfez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animals*. E.S.E. Hafez (Eds.).
- Gundogan, M., Yeni, D., Avdatek, F., and Fidan, A. F. 2010. Influence of sperm concentration on the motily, morphology, membrane and DNA integrity
- Gurtovenko AA, Anwar J. 2007. Modulating the structure and properties of cell membranes: The molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide. *J Phys Chem B* 6(111): 10453–10460.
- Guthrie, H.D dan Welch GR. 2012. Effects of Reactive Oxygen Species on Sperm Function. *Theriogeno*. 78(1): 1700-1708.
- Han XF, Niu ZY, Liu FZ, Yang CS. 2005. Effects of diluents, cryoprotectants, equilibration time and thawing temperature on cryopreservation of duck semen. *International Journal of Poultry Science* 4(4): 197-201.
- Hine T.M., Burhanudin, Marwali A. 2014. Efektivitas Air Buah Lontar Dalam Mempertahankan Motilitas, Viabilitas, Dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal veteriner* 15(2) : 263-273.
- Hine, T. M., Uly, K., Nalley, W. M., & Armadianto, H. 2019. Kualitas Sperma Beku Sapi Bali dalam Pengencer Air Kelapa Modifikasi dengan Berbagai Aras Dimethyl Sulfoxide. *Jurnal Veteriner*, 20(1), 93-100.
- Ihsan, N.M., 2009. *Bioteknologi Reproduksi Ternak*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Ivanov IT. 2001. Rapid method for comparing the cytotoxicity of organic solvents and their ability to

- destabilize proteins of the erythrocyte membrane. *Pharmazie* 56: 808-809.
- Junaedi, Arifiantini RI, Sumantri C, Gunawan A. 2016. Penggunaan *dimethyl sulfoxide* sebagai krioprotektan dalam pembekuan semen ayam kampung. *J Veteriner* 17(2): 300-308.
- Junianto, L., B. Sutiono dan S. Kismiati. 2000. Pengaruh pengencer semen dengan berbagai kuning telur unggas terhadap motilitas dan daya hidup sperma ayam Kampung. *Jurnal Tropical Animal* (2) 2:30—34
- Mitrus I, Smagur A, Giebel S, Gliwinska J, Prokop, Glowala-Kosinska M, Chwieduk A, Sodus-Wojciechowska M, Tukiendorf A, Holowiecki J. 2013. A faster reconstitution of hematopoiesis after autologous transplantation of hematopoietic cells cryopreserved in 7.5% dimethyl sulfoxide if compared to 10% dimethyl sulfoxide containing medium. *Cryobiology* 67: 327-331.
- Mumu, M.I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental Yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol. *Journal Agroland* 16 (2): 172-179.
- Nalley W M, Handarini R, Purwanta B. 2007. Viabilitas spermatozoa rusa Timor *Cervus timorensis* di dalam pengencer tris kuning telur dengan sumber karbohidrat yang berbeda yang disimpan pada suhu ruang. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 12(4): 311-317.
- 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 Pe- ternakan*. 2(2): 117-128.
- Nugroho, A. P. dan D. M. Saleh. 2016. Motilitas dan abnormalitas spermatozoa ayam Kampung dengan pengencer ringer laktat – putih telur dan lama simpan pada suhu 5°C selama 48 jam. *Acta Veterina Indonesiana*, 4(1): 35—41.
- Priharyanthi, L. K. A. P., Bebas, W., & Trilaksana, I. G. N. B. 2021. Ekstrak daun kelor dapat mempertahankan motilitas progresif dan viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer air kelapa kuning telur. *Indones. Med. Veterinus* 10(3): 389-398.
- Rusdin dan K Jumat. 2000. Motilitas dan Recovery Sperma Domba Dalam Berbagai Pengencer Selama Penyimpanan Pada suhu 50 C. Laporan Penelitian. Fakultas Pertanian Universitas Tadulako, Palu.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa Terhadap Proses Pembekuan Pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. *JITV*, 19(3):168-175.
- Sumardani, N.L.G., L. Y. Tuty dan H.S. Pollung. 2008. Viabilitas spermatozoa babi dalam pengencer Beltsville Thawing Solution (BTS) pada tiga tempat penyimpanan berbeda. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2008. *Media Peternakan* 31 : 81-86.
- Susilawati T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya Press
- Trias, P. A. H. 2001. Kualitas sperma dan pengaruh bahan pengencer terhadap daya hidup spermatozoa domba lokal. *Buletin Pertanian dan Peternakan* 2(3):14-20.
- Valerdi MR, Eftekhari P, Yazdi, Karimian L, Hassani F, Movaghar B. 2009. Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and

- pregnancy outcomes for human cleaved embryos. *J Assist Reprod Genet* 26: 347- 354.
- Wang X, Hua TC, Sun DW, Liu B, Yang G, Cao Y. 2007. Cryopreservation of tissueengineered dermal replacement in Me2SO: Toxicity study and effects of concentration and cooling rates on cell viability. *Cryobiology* 55: 60-65.
- Wibawa, A. A. P., & Sumadi, I. K. (2019). Pengaruh Penggunaan Campuran Asam Amino Esensial Pada Ransum Dasar Jagung-pollard Terhadap Performa Babi Bali. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 22(3), 104-107.
- Zakir, M.I. 2010. Pengaruh perbandingan Semen Dengan Pengencer Campuran Sari Kacang Hijau – Sitrat Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Kambing Kacang *capra capra* 12 (2): 30-40.