



Kualitas Spermatozoa Beku Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat Modifikasi Sari Buah Semangka dengan Level Etilin Glikol yang Berbeda

Quality of Frozen Landrace Pig Sperm in Modified Citrate Extender with Watermelon Juice at Different Ethylene Glycol Levels

Maria Magdalena Nono*, Petrus Kune, Yustiany Yuliana Bette, Thomas Mata Hine

Faculty of Animal Husbandry, Marine Affairs, and Fisheries, Nusa Cendana University

*Corresponding Author. E-mail address: ririnmono5@gmail.com

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 12 August 2025

Revised: 30 November 2025

Accepted: 1 December 2025

Published: 1 July 2026

KATA KUNCI:

Babi Landrace
Level etilin glikol
Sari buah semangka
Semen beku

KEYWORDS:

Landrace boar
Ethylene glycol levels
Watermelon juice
Frozen semen

ABSTRAK

Tujuan kajian ini yakni untuk menentukan mutu semen beku babi Landrace dalam sari semangka dengan berbagai konsentrasi etilen glikol dalam pengencer sitrat. Semen segar dari empat babi jantan Landrace berumur 2–3 tahun dikumpulkan menggunakan metode gloved-hand, dievaluasi makroskopis dan mikroskopis, kemudian diencerkan dalam pengencer basa. Semen disimpan pada suhu 24–25°C selama 2 jam, lalu disentrifugasi (3000 rpm, 15 menit). Pelet sperma yang diperoleh diencerkan kembali (1:1) dan ditambahkan etilen glikol pada konsentrasi 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, dan 1%. Campuran dihomogenkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dialiquot ke straw 0,5 mL, diseimbangkan pada suhu 3–5°C, kemudian dibekukan di atas nitrogen cair selama 10 menit dan disimpan pada $\pm$ -196°C selama 24 jam. Hasil menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi etilen glikol tidak berpengaruh nyata terhadap mutu semen beku. Disimpulkan bahwa variasi konsentrasi etilen glikol dalam pengencer semen sitrat modifikasi sari semangka tidak memberikan hasil berbeda nyata.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the quality of frozen Landrace boar semen in watermelon juice with various concentrations of ethylene glycol in a citrate extender. Fresh semen from four 2–3-year-old Landrace boars was collected using the gloved-hand method, evaluated macroscopically and microscopically, and then diluted in a base extender. The semen was stored at 24–25°C for 2 hours and centrifuged (3000 rpm, 15 minutes). The sperm pellet was rediluted (1:1) and supplemented with ethylene glycol at concentrations of 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, and 1%. The mixture was homogenized, placed into test tubes, aliquoted into 0.5 mL straws, equilibrated at 3–5°C, frozen over liquid nitrogen for 10 minutes, and stored at approximately -196°C for 24 hours. The results showed that different concentrations of ethylene glycol had no significant effect on frozen semen quality. It was concluded that variations in ethylene glycol concentration in the modified citrate–watermelon juice extender did not produce significantly different results.

1. Pendahuluan

Kualitas semen beku merupakan faktor penentu keberhasilan program inseminasi buatan pada babi, khususnya babi Landrace yang memiliki nilai ekonomis tinggi dalam industri peternakan. Karakteristik membran plasma sperma babi berbeda dengan ternak lain, yaitu kandungan sphingomyelin (24%) dan phosphatidylethanolamine (14%) yang lebih tinggi dibandingkan sapi (9,7% dan 11,5%) (Zhang *et al.*, 2023). Komposisi ini membuat sperma babi lebih rentan terhadap cold shock saat proses pendinginan dan pembekuan (Yusuf *et al.*, 2017), sehingga memerlukan penanganan khusus agar viabilitas dan motilitas tetap terjaga.

Pengencer sitrat–kuning telur (S-KT) banyak digunakan karena natrium sitrat berfungsi sebagai penyangga pH, sedangkan kuning telur menyediakan lipoprotein dan fosfolipid yang melindungi membran sel sperma (Suoth *et al.*, 2023). Namun, selama penyimpanan, sperma tetap berisiko mengalami kerusakan akibat peroksidasi lipid. Penambahan bahan alami kaya antioksidan, seperti sari buah semangka (*Citrullus lanatus*), berpotensi mengurangi kerusakan tersebut. Semangka mengandung vitamin C, β -karoten, L-arginin, citrulline, serta mineral penting yang dapat mendukung metabolisme sperma (Maoto *et al.*, 2019).

Selain pengencer, penambahan krioprotektan sangat penting untuk mencegah pembentukan kristal es selama pembekuan. Etilen glikol (EG) efektif menurunkan titik beku air intraseluler dan melindungi membran sperma. Penelitian sebelumnya menunjukkan penambahan EG 0,2% pada pengencer Tris–kuning telur dapat mempertahankan mutu sperma babi Landrace hingga 48 jam (Roy Ngorat *et al.*, 2024). Akan tetapi, penelitian mengenai pengaruh level EG yang berbeda pada pengencer sitrat modifikasi sari semangka untuk semen beku babi Landrace belum pernah dilaporkan.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh berbagai level EG dalam pengencer sitrat modifikasi sari buah semangka terhadap kualitas spermatozoa beku babi Landrace. Etilen glikol dipilih karena merupakan krioprotektan permeabel yang mampu menembus membran sel sperma, menurunkan titik beku air, dan mencegah pembentukan kristal es selama proses pembekuan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan inovasi formulasi pengencer yang lebih optimal dalam mempertahankan mutu semen beku babi, sehingga mendukung keberhasilan program pembibitan dan inseminasi buatan.

2. Materi dan Metode

2.1. Lokasi dan Waktu Kajian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Yayasan Williams dan Laura Tilon, Desa Ornasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) selama enam minggu, terhitung sejak 4 Januari sampai dengan 15 Februari 2025. Kegiatan penelitian meliputi tahap persiapan selama satu minggu, diikuti tahap pengumpulan data selama lima minggu.

2.2 Materi Kajian

Penelitian ini menggunakan semen segar yang diperoleh dari empat ekor babi jantan ras Landrace yang telah mencapai kematangan seksual, dengan rentang usia 2 hingga 3 tahun. Hewan percobaan dipelihara dalam kandang yang dilengkapi fasilitas bak air minum dan tempat pakan, sesuai dengan standar pemeliharaan ternak yang berlaku.

2.3 Alat dan Bahan yang dipakai

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas beberapa kelompok sesuai dengan tahapan kerja. Pertama, peralatan untuk pengumpulan semen meliputi *dummy* untuk penampungan, kain kasa untuk memisahkan fraksi semen dan gelatin, serta tabung penampung semen. Perlengkapan tambahan yang digunakan mencakup kertas label, neraca, spatula, aluminium foil, tabung *Elem*, tabung pengolahan, pipet, gelas ukur, dan timbangan. Kedua, peralatan untuk proses pengenceran semen meliputi pengaduk, batang putar, gelas ukur, gelas kimia, kertas saring, pinset, baskom berbahan baja tahan karat, dan pipet. Ketiga, peralatan untuk evaluasi kualitas semen mencakup mikroskop, kaca objek dan kaca penutup (*cover glass*), meja pemanas, kertas uji pH, pipet, tabung terbuka, tabung ukur, dan *hemocytometer*. Bahan yang digunakan meliputi etilen glikol, kuning telur, jus semangka, serta semen segar dari babi jantan ras Landrace.

2.4 Metode Kajian

Kajian eksperimental ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan empat ulangan. Pengencer dasar terdiri atas 60% pengencer sitrat dan 20% skimmed bovine serum (SBS). Etilen glikol (EG) ditambahkan sesuai perlakuan dengan level berbeda, yaitu: P1 = 0,2%, P2 = 0,4%, P3 = 0,6%, P4 = 0,8%, dan P5 = 1,0%.

2.5 Penyiapan Sari Buah Semangka

Pembuatan pengencer jus semangka diawali dengan pemilihan buah semangka segar dan bebas kotoran. Buah dicuci hingga bersih, kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan diperas menggunakan *juicer*. Jus yang dihasilkan disaring dua kali menggunakan kertas saring Whatman berdiameter 125 mm, kemudian ditampung dalam gelas ukur. Selanjutnya, jus dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan fraksi cair yang jernih. Hasil supernatan kemudian digunakan sesuai kebutuhan penelitian.

2.6 Pengencer Modifikasi

Larutan pengencer dibuat dengan mencampurkan sitrat 60%, kuning telur 20%, dan jus semangka 20%, kemudian dihomogenkan menggunakan pengaduk putar hingga tercampur merata. Setelah homogen, larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan siap digunakan untuk proses penelitian.

2.7 Ekuilibrasi, Pembekuan dan Pencairan Kembali

Semen hasil pengenceran dimasukkan ke dalam straw berkapasitas 0,5 mL dengan konsentrasi 200 juta spermatozoa per straw. Straw kemudian ditempatkan dalam kriostat dan diekuilibrasi pada suhu 3–5°C selama 2 jam untuk mencapai kesetimbangan suhu dan memungkinkan penetrasi krioprotektan ke dalam sel spermatozoa. Setelah proses ekuilibrasi selesai, semen dibekukan dengan metode vapour freezing, yaitu dengan meletakkan straw pada jarak ± 10 cm di atas permukaan nitrogen cair (-110°C) selama waktu yang telah ditentukan. Selanjutnya, straw dicelupkan ke dalam nitrogen cair hingga seluruhnya membeku, kemudian disimpan dalam wadah berisi nitrogen cair selama minimal 24 jam. Proses pencairan dilakukan dengan memasukkan straw beku ke dalam penangas air bersuhu 37°C selama 30 detik sebelum dilakukan evaluasi lebih lanjut.

2.8 Variabel Kajian

1. Motilitas spermatozoa yakni kemampuan spermatozoa dalam melakukan gerak aktif maju (progresif).
2. Viabilitas.

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

3. Abnormalitas

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

4. Recovery Rate (RR)

$$\text{Recoveri Rate (\%)} = \frac{\text{nilai motilitas pasca thawing}}{\text{nilai motilitas semen segar}} \times 100\%$$

2.9 Analisis Data

Langkah pertama dalam analisis data adalah menghitung nilai rerata dan simpangan baku dari setiap parameter yang diamati. Selanjutnya, dilakukan analisis ragam (*Analysis of Variance* / ANOVA) untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan, yang kemudian dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test* / DMRT) untuk membandingkan rata-rata perlakuan secara lebih spesifik. Seluruh proses analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 17.0 untuk Windows.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Efek Level Etilin Glikol pada Motilitas Spermatozoa Beku Babi Landrace

Rerata motilitas spermatozoa beku dapat terlihat di Tabel 1. Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada motilitas spermatozoa antarperlakuan pada tahap pasca pengenceran ($P > 0,05$). Seluruh perlakuan menghasilkan nilai motilitas yang sama, yaitu $80,00 \pm 2,04\%$, yang menegaskan bahwa penambahan etilen glikol pada konsentrasi 0,02% hingga 1% tidak memberikan dampak negatif terhadap motilitas spermatozoa pada tahap ini. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa etilen glikol yang ditambahkan ke dalam pengencer belum memberikan efek tekanan osmotik maupun efek toksik lainnya, karena pada fase awal pencampuran konsentrasinya masih rendah dan lingkungan pengencer tetap berada dalam kondisi stabil serta isotonik. Dengan demikian, etilen glikol tidak mempengaruhi kualitas motilitas spermatozoa pada tahap pengenceran, dan penurunan motilitas pada tahap berikutnya lebih disebabkan oleh proses pendinginan, ekuilibrase, serta pembekuan–pencairan, bukan oleh penambahan etilen glikol pada fase awal.

Setelah tahap ekuilibrase, mutu semen tetap relatif stabil pada $76,25 \pm 1,44\%$, namun nilai motilitas spermatozoa pada tahap ekuilibrase menurun dibandingkan dengan tahap pengenceran. Penurunan ini diduga disebabkan oleh kerusakan membran akibat *cold shock* (kejutan dingin) yang terjadi ketika suhu diturunkan dari 24–25°C menjadi 3–

5°C. Fenomena ini sejalan dengan pendapat Pratiwi *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa proses pembekuan dapat menurunkan kandungan fosfolipid pada membran sel spermatozoa.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa beku

Perlakuan	Pasca pengencer (%)	Pasca ekuilibrase (%)	Pasca thawing (%)
P1	80,00±2,04 ^a	76,25±1,44 ^a	17,50±3,78 ^a
P2	80,00±2,04 ^a	76,25±1,44 ^a	19,74±6,38 ^a
P3	80,00±2,04 ^a	76,25±1,44 ^a	20,61±2,86 ^a
P4	80,00±2,04 ^a	76,25±1,44 ^a	19,47±5,84 ^a
P5	80,00±2,04 ^a	76,25±1,44 ^a	17,97±1,49 ^a
P-Value	1,00	1,00	0,85

Keterangan : ^a superscrip yang sama pada kolom yang sama menunjukan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$). P1=S+SBS+EG0,2%, P2 =S+SBS+EG,04%, P3=S+SBS+EG,0,6%, P4 S+SBS+EG,08%, P5= S+SBS+EG,1,0%.

Setelah pembekuan, tidak ditemukan perbedaan signifikan pada mutu semen maupun motilitas spermatozoa ($P>0,05$). Uji lanjutan memperlihatkan bahwa kadar etilen glikol tidak berpengaruh signifikan terhadap motilitas spermatozoa babi Landrace setelah pencairan ($P>0,05$). Secara deskriptif, perlakuan P3 memiliki nilai motilitas tertinggi ($20,61 \pm 2,86\%$), diikuti P2 ($19,74 \pm 6,38\%$). Sementara itu, nilai motilitas terendah terdapat pada P1 ($17,50 \pm 3,78\%$), disusul P5 ($17,97 \pm 1,49\%$). Data pada Tabel 1 memperlihatkan adanya fluktuasi nilai motilitas, yang diduga dipengaruhi oleh senyawa toksik yang mengganggu metabolisme spermatozoa, khususnya pada proses pergerakan dan produksi energi melalui fosforilasi oksidatif.

Hasil ini cenderung lebih rendah dibandingkan dengan laporan Yusuf *et al.* (2017), yang melaporkan kisaran motilitas spermatozoa babi setelah pembekuan dalam pengencer BTS–gliserol–trehalosa sebesar 30% hingga 44,47%. Jika dibandingkan dengan penelitian Foeh *et al.* (2015), nilai motilitas pasca-thawing pada penelitian ini juga sedikit lebih rendah. Foeh *et al.* (2015) mencatat motilitas pasca-thawing sebesar $20,92 \pm 0,91\%$, sedangkan motilitas tertinggi pada penelitian ini yaitu pada perlakuan P3 hanya mencapai $20,61 \pm 2,86\%$. Perbedaan ini menunjukkan bahwa penggunaan etilen glikol pada berbagai level dalam penelitian ini belum mampu menghasilkan motilitas setinggi yang dilaporkan oleh penelitian sebelumnya yang menggunakan kombinasi krioprotektan berbeda.. Jika dibandingkan dengan penelitian yang menggunakan krioprotektan etilen glikol, hasil ini menunjukkan kecenderungan yang sama. Ngorat *et al.* (2024) melaporkan bahwa penambahan etilen glikol 0,2% pada pengencer Tris–

kuning telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa babi Landrace hingga 48 jam pada penyimpanan cair, namun pada konsentrasi yang lebih tinggi justru terjadi penurunan motilitas akibat efek osmotik dan toksisitas krioprotektan. Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas etilen glikol sangat bergantung pada level penggunaannya, dan dosis optimal diperlukan untuk meminimalkan kerusakan membran serta mempertahankan kemampuan gerak spermatozoa.

Menurut Rizal dan Herdis (2010), adenosin trifosfat (ATP) yang dihasilkan melalui metabolisme sel merupakan sumber utama energi untuk motilitas spermatozoa. Paparan suhu rendah dan tingginya akumulasi laktat dapat menurunkan motilitas. Tamoës *et al.* (2017) melaporkan bahwa paparan suhu dingin mengurangi motilitas, viabilitas, permeabilitas membran, serta mengubah komposisi lipid membran spermatozoa. Akumulasi laktat juga dapat merusak organel dan menghambat proses metabolisme yang terlibat dalam produksi energi, sehingga pada akhirnya menurunkan motilitas. Penambahan etilen glikol hingga 1,0% (P5) justru menghasilkan motilitas lebih rendah dibandingkan dosis rendah maupun kontrol, yang kemungkinan disebabkan oleh efek toksik konsentrasi etilen glikol yang terlalu tinggi terhadap spermatozoa.

3.2. Efek Level Etilin Glikol Pada Viabilitas Spermatozoa Beku Babi Landrace

Warna setelah pewarnaan eosin dapat dipakai untuk membedakan sperma mati dari sperma hidup. Sperma mati berwarna merah, sedangkan sperma hidup berwarna putih, limfoid, atau tidak berwarna. (Ndeta *et al.*, 2015).

Rerata viabilitas spermatozoa pada seluruh perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada tahap pasca pengenceran, ekuilibrase, maupun pasca thawing ($P > 0,05$). Pada tahap pasca pengenceran, nilai viabilitas berada pada kisaran $90,51 \pm 2,41\%$ (terendah) hingga $92,74 \pm 3,27\%$ (tertinggi). Setelah ekuilibrase, viabilitas sedikit menurun dengan kisaran $87,02 \pm 1,41\%$ (terendah) hingga $87,90 \pm 1,03\%$ (tertinggi). Pasca pencairan, viabilitas spermatozoa menunjukkan rentang $28,78 \pm 3,53\%$ (terendah) hingga $38,22 \pm 7,67\%$ (tertinggi). Rentang nilai ini menunjukkan bahwa seluruh perlakuan masih mampu mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa pada tingkat yang relatif stabil, tanpa adanya pengaruh signifikan dari variasi level etilen glikol dalam pengencer. Secara keseluruhan, nilai viabilitas pascathawing yang berada pada kisaran 28–38% menunjukkan bahwa semen masih memenuhi kategori layak untuk digunakan

dalam program inseminasi buatan, meskipun mengalami penurunan akibat proses pembekuan dan pencairan.

Tabel 2. Rerata viabilitas spermatozoa beku dalam pengencer perlakuan

Perlakuan	Pasca pengencer (%)	Pasca ekuilibrase (%)	Pasca thawing (%)
P1	90,51±2,41 ^a	87,71±1,41 ^a	28,78±3,53 ^a
P2	92,74±3,27 ^a	87,78±1,88 ^a	34,67±11,51 ^a
P3	91,87±3,30 ^a	87,90±1,03 ^a	38,22±7,67 ^a
P4	92,17±2,98 ^a	87,02±1,41 ^a	31,29±9,03 ^a
P5	90,99±3,43 ^a	87,41±1,00 ^a	29,77±3,88 ^a
P-Value	0,33	0,89	0,43

Keterangan : ^a superscrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$). P1=S+SBS+EG0,2%, P2 =S+SBS+EG,04%, P3=S+SBS+EG,0,6%, P4 S+SBS+EG,08%, P5= S+SBS+EG,1,0%.

Etilen glikol pada level tertentu dapat memberikan efek protektif terhadap membran spermatozoa karena sifatnya yang mampu berdifusi ke dalam sel dan membantu menyeimbangkan tekanan osmotik antara lingkungan intra– dan ekstraseluler. Namun, efek protektif ini hanya terjadi pada konsentrasi optimal. Ketika level etilen glikol dinaikkan melebihi batas toleransi sel, senyawa ini dapat meningkatkan tekanan osmotik dan bersifat toksik sehingga menurunkan kelangsungan hidup spermatozoa. Oleh karena itu, viabilitas tertinggi ditemukan pada perlakuan P3 dan P2 yang berada pada rentang konsentrasi optimal, sedangkan pada konsentrasi tertinggi (P5) viabilitas justru menurun, menunjukkan bahwa manfaat etilen glikol bersifat dosis-dependen dan tidak meningkat secara linear dengan penambahan dosis.

Namun demikian, meskipun etilen glikol mampu menembus membran sel dengan efektif, senyawa ini juga memiliki potensi toksik. Seshoka *et al.* (2016) menyatakan bahwa daya tembus etilen glikol yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan membran sel. Hal ini sejalan dengan Bhattacharya dan Prajapati (2016) yang menjelaskan bahwa paparan etilen glikol pada suhu ruang sebelum pembekuan dapat menghasilkan metabolit berbahaya yang merusak membran spermatozoa.

3.3. Efek Level Etilin Glikol pada Abnormalitas Spermatozoa Beku Babi Landrace

Struktur sel spermatozoa yang abnormal dapat menurunkan tingkat keberhasilan pembuahan, sehingga persentase kelainan morfologis menjadi salah satu indikator penting mutu semen (Bria *et al.*, 2022). Persentase abnormalitas sangat krusial untuk diperhatikan karena sel spermatozoa yang mengalami kerusakan dapat menghambat

proses fertilisasi (Wawang *et al.*, 2024). Berdasarkan hasil analisis statistik, pengencer sitrat–glikol–kuning telur menunjukkan efektivitas yang sama dalam menghambat peningkatan laju deformitas spermatozoa pada babi Landrace. Hal ini ditunjukkan oleh tidak adanya perbedaan yang signifikan pada persentase abnormalitas antarperlakuan ($P>0,05$).

Tabel 3. Rerata abnormalitas spermatozoa beku dalam pengencer perlakuan

Perlakuan	Pasca pengencer (%)	Pasca ekuilibrase (%)	Pasca thawing (%)
P1	5,73±0,90 ^a	6,58±0,64 ^a	12,86±1,85 ^a
P2	6,20±0,96 ^a	6,53±0,84 ^a	10,99±1,74 ^a
P3	6,02±0,80 ^a	7,16±0,97 ^a	12,61±2,09 ^a
P4	5,89±0,58 ^a	6,85±0,42 ^a	12,82±1,33 ^a
P5	5,90±1,17 ^a	7,02±1,10 ^a	13,68±2,14 ^a
P-Value	0,15	0,78	0,38

Keterangan : a superscrip yang sama pada kolom yang sama menunjukan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$). P1=S+SBS+EG0,2%, P2 =S+SBS+EG,04%, P3= S+SBS+EG,0,6%, P4 S+SBS+EG,08%, P5= S+SBS+EG,1,0%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat abnormalitas spermatozoa setelah pencairan berada pada kisaran $12,86 \pm 1,85\%$ hingga $13,68 \pm 2,14\%$. Nilai ini lebih rendah dibandingkan laporan Bebas dan Gorda (2020) yang melaporkan tingkat abnormalitas sebesar 27,60% pada semen beku babi dalam pengencer astaxanthin–fosfat–kuning telur–gliserol setelah ekuilibrase pada suhu 4°C selama 2 jam, namun hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan temuan Mega *et al.* (2022) yang melaporkan tingkat abnormalitas sebesar $4,78 \pm 0,23\%$ pada semen beku babi yang diencerkan dengan pengencer duras–air buah aren dua jam setelah pencairan.

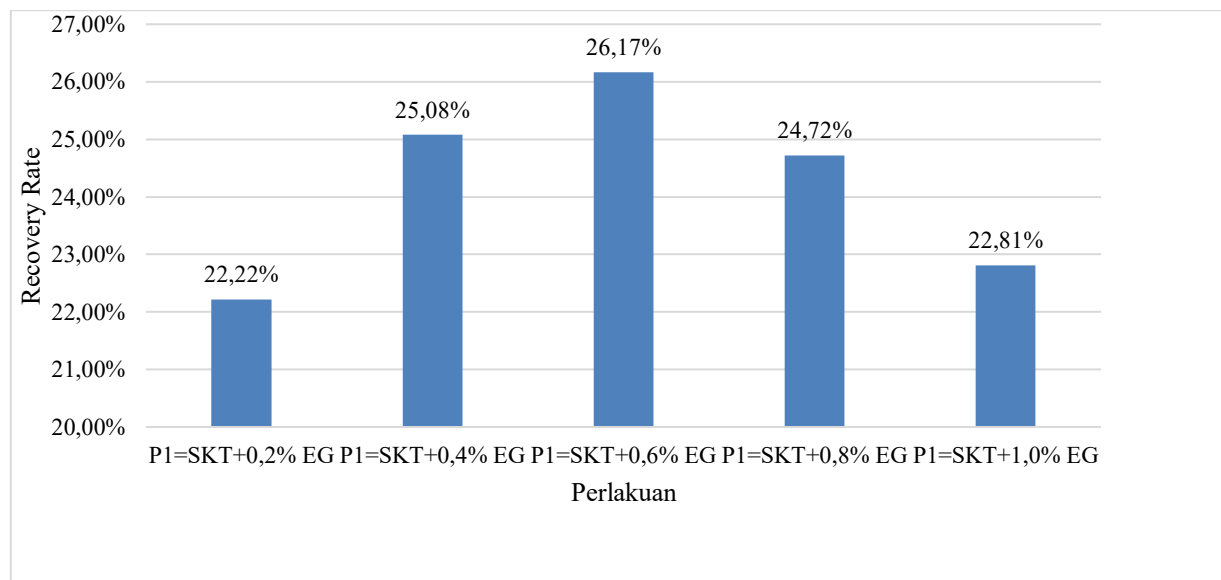
Jika dibandingkan dengan penelitian Foeh *et al.* (2016), persentase abnormalitas pada penelitian ini sedikit lebih tinggi, mengingat Foeh *et al.* (2016) melaporkan tingkat abnormalitas 11,1% pada semen beku babi ras Duroc dengan pengencer BTS. Sementara itu, Marlize *et al.* (2021) menyarankan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa pada setiap pejantan tidak boleh melebihi 20%, sehingga hasil penelitian ini masih berada dalam kisaran yang dapat diterima.

Hasil analisis statistik juga menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara P1 dan P5 ($P > 0,05$). Hal ini kemungkinan berkaitan dengan ketersediaan sumber energi seperti glukosa dalam pengencer, yang mendukung pembentukan ATP untuk menjaga integritas membran spermatozoa. Kecukupan ATP membantu menekan stres oksidatif dan peroksidasi lipid, sehingga abnormalitas tidak meningkat meskipun terdapat

perbedaan level etilen glikol. Secara umum, abnormalitas spermatozoa dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk faktor genetik, stres, suhu lingkungan, penyakit, serta penanganan selama proses pembekuan semen (Nahak *et al.*, 2022).

3.4. Efek Level Etilin Glikol pada Recovery Rate Spermatozoa Beku Babi Landrace

Recovery rate (RR) merupakan indikator penting yang digunakan untuk menilai keberhasilan proses kriopreservasi semen, karena menunjukkan persentase spermatozoa yang mampu mempertahankan kelangsungan hidup dan motilitasnya setelah pembekuan dan pencairan kembali. Nilai RR dihitung berdasarkan perbandingan antara motilitas spermatozoa segar dan motilitas pasca-*thawing*.



Gambar.1 Rataan *recovery rate* spermatozoa beku

Keterangan : ^a superscrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$). P1=S+SBS+EG0,2%, P2 =S+SBS+EG,04%, P3= S+SBS+EG,0,6%, P4 S+SBS+EG,08%, P5= S+SBS+EG,1,0%.

Berdasarkan hasil analisis statistik, penambahan etilen glikol dalam pengencer sitrat-kuning telur tidak memberikan pengaruh nyata terhadap nilai *recovery rate* spermatozoa babi Landrace ($P > 0,05$). Rata-rata RR tertinggi diperoleh pada perlakuan P3 (26,17%), diikuti oleh P2 (25,08%) dan P4 (24,72%). Sementara itu, nilai RR terendah terdapat pada P1 (22,22%) dan P5 (22,81%).

Hasil ini lebih rendah dibandingkan Koelima *et al.* (2022) yang melaporkan *recovery rate* spermatozoa babi Duroc sebesar 36,61% menggunakan pengencer Tris–kuning telur. Rendahnya RR pada penelitian ini diduga akibat spermatozoa yang belum sepenuhnya beradaptasi terhadap pengencer berbasis etilen glikol (Ngorat *et al.*, 2024). Adaptasi yang tidak optimal meningkatkan risiko cold shock dan pembentukan kristal es selama pembekuan, yang dapat merusak membran plasma spermatozoa.

Selain itu, nilai RR yang menurun pada perlakuan P5 menunjukkan bahwa penggunaan etilen glikol dalam konsentrasi tinggi cenderung bersifat toksik. Krioprotektan hanya efektif pada tingkat konsentrasi optimal; jumlah yang terlalu tinggi dapat menyebabkan dehidrasi berlebih, ketidakseimbangan osmotik, serta kerusakan struktural sel. Sebaliknya, jumlah yang terlalu rendah tidak mampu menarik air keluar dari sel secara memadai, sehingga pembentukan es intraseluler tetap terjadi.

Secara keseluruhan, nilai *recovery rate* pada seluruh perlakuan berada pada kisaran 22–26%, yang menggambarkan bahwa meskipun proses pembekuan menyebabkan penurunan kemampuan hidup dan motilitas spermatozoa, struktur membran sel masih cukup terjaga untuk mendukung fungsi spermatozoa pasca pencairan.

4. Kesimpulan

Penambahan etilen glikol pada berbagai level dalam pengencer semen sitrat yang dimodifikasi dengan sari buah semangka memberikan hasil yang tidak berbeda nyata.

5. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan rentang konsentrasi etilen glikol yang lebih tinggi, seperti 2%, 4%, 6%, dan 8%, atau dengan mengganti jenis krioprotektan, misalnya gliserol atau dimetilasetamida (DMA). Penelitian dengan variasi konsentrasi atau jenis krioprotektan yang berbeda diharapkan dapat menghasilkan formulasi pengencer yang lebih optimal untuk mempertahankan mutu semen beku babi Landrace.

Daftar Pustaka

Bebas, I. K., & Gorda, I. W. (2020). Kualitas semen beku babi Duroc dalam pengencer astaxanthin–fosfat–kuning telur–gliserol setelah ekuilibrasi pada suhu 4°C. *Jurnal Peternakan Tropika*, 8(2), 112–120.

- Bhattacharya, S., & Prajapati, B. G. (2016). A review on cryoprotectant and its modern implication in cryonics. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 10(3), 154–159. <https://doi.org/10.22377/ajp.v10i03.717>
- Bria, R. M., Nulik, J., & Nenobais, D. (2022). Abnormalitas spermatozoa dan hubungannya dengan fertilitas pejantan. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 17(3), 45–52.
- Foeh, N., Arifiantini, R., & Yusuf, T. L. (2016). Mutu semen beku babi dalam pengencer BTS dan MIII memakai krioprotektan dimethylacetamide dan gliserol dengan sodium dedocyl sulphate. Institut Pertanian Bogor.
- Koelima, A., Ndaru, A., & Nona, T. (2022). Pengaruh pengencer Tris–kuning telur terhadap recovery rate semen beku babi Duroc. *Jurnal Peternakan Nusa Cendana*, 5(1), 25–31.
- Maoto, M. M., Beswa, D., & Jideani, A. I. O. (2019). Watermelon as a potential source of functional food ingredients: A review. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 355–370. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1579833>
- Mega, R. D., Marawali, A., & Tefbana, M. (2022). Kualitas semen beku babi Landrace dengan pengencer duras–air buah aren setelah pencairan. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 6(2), 77–83.
- Nahak, E. M., Dethan, Y., & Benu, F. L. (2022). Faktor-faktor yang mempengaruhi abnormalitas spermatozoa pada ternak pejantan. *Jurnal Agro Peternakan*, 9(1), 44–52.
- Ndeta, K. A., Lelang, B., & Sanam, A. (2015). Viabilitas spermatozoa sapi Bali dengan pewarnaan eosin–nigrosin. *Jurnal Veteriner Tropika*, 3(2), 65–70.
- Ngorat, F. R., Marawali, A., Setyani, N. M. P., & Uly, K. (2024). Pengaruh level etilen glikol dalam pengencer Tris–kuning telur pada mutu semen cair babi Landrace. *Jurnal Transformasi Humaniora*, 7(7). <https://oaj.jurnalhst.com/index.php/jth/article/view/84>
- Pratiwi, I., Yulnawati, & Arifiantini, R. (2014). Kandungan fosfolipid membran spermatozoa selama proses pembekuan semen pejantan sapi Friesian Holstein. *Jurnal Veteriner*, 15(1), 39–45.
- Rizal, M., & Herdis. (2010). Kriopreservasi semen dan aplikasinya pada teknologi reproduksi ternak. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 10(2), 68–76.
- Seshoka, M. M., Mphaphathi, M. L., & Nedambale, T. L. (2016). Comparison of four different permeating and combination of two best cryoprotectants on freezing Nguni sperm evaluated with the aid of computer-aided sperm analysis. *Cryobiology*, 72(3), 232–238. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.04.001>
- Suoth, F., Leke, J. R., & Lengkong, M. (2023). Pengaruh penambahan kuning telur terhadap kualitas semen cair pada pengencer sitrat natrium selama penyimpanan suhu dingin. *Zootec*, 43(1), 33–40. <https://doi.org/10.35792/zot.43.1.2023.44132>
- Tamoes, J. R. M., Marawali, A., & Foeh, N. (2017). Pengaruh berbagai jenis krioprotektan terhadap kualitas semen cair babi Landrace selama penyimpanan suhu dingin. *Jurnal Peternakan Tropika*, 5(2), 45–53.
- Wawang, M., Kune, A., & Nenobais, D. (2024). Hubungan antara morfologi spermatozoa dan tingkat fertilitas pejantan babi. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 12(1), 55–63.
- Yusuf, T., Arifiantini, R., Dapawole, R., & Nalley, W. M. (2017). Mutu semen beku babi dalam pengencer komersial yang disuplementasi dengan trehalosa. *Jurnal Veteriner*, 18(1), 69–75. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2017.18.1.69>

Zhang, Y., Yuan, W., Liu, Y., Liang, H., Xu, Q., Liu, Z., & Weng, X. (2023). Plasma membrane lipid composition and metabolomics analysis of Yorkshire boar sperms with high and low resistance to cryopreservation. *Theriogenology*, 206, 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.02.025>