

Kualitas Semen Beku Babi Landrace Dalam Pengencer Vitasem dengan Level DMSO yang Berbeda

Quality Of Landrace Boars Frozen Semen In Vitasem Diluent With Different DMSO Levels

Maria Heni Beto Lamoren^{1*}, Petrus Kune¹, Ni Made Paramita Setyani¹, Alvrado Bire Lawa¹

¹Fakultas Peternakan, Kelautan, dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana
Jln. Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia 85001

*Email koresponden: mariahenibetolamoren@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas semen beku Babi Landrace dalam pengencer vitasem+kuning telur (V-KT) dengan level *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) yang berbeda. Semen yang dipakai dalam penelitian ini berasal dari pejantan Babi Landrace berumur 2 tahun yang sehat. Analisis kualitas semen dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Semen berkualitas baik diproses dengan penambahan pengencer dasar, kemudian di-*holding time* selama 2 jam pada suhu ruang berkisar 27-28°C. Semen diproses lebih lanjut melalui sentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Supernatant dibuang, dan endapan diencerkan kembali dengan pengencer dasar, lalu dibagi keempat tabung perlakuan. Sebelum dibekukan, semen dievaluasi untuk mengetahui motilitas, viabilitas, abnormalitas, kemudian dikemas dalam *straw* yang berukuran 0,5 mL. *Straw* diekuilibrasi 2 jam pada suhu 3-5°C. Proses pembekuan dilakukan 10 cm di atas nitrogen cair selama 10 menit pada suhu -110°C, selanjutnya disimpan di kontainer nitrogen cair pada suhu -196°C. Tidak ada pengaruh nyata ($P>0,05$) dari penambahan level DMSO yang berbeda terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan *recovery rate* spermatozoa dalam penelitian ini. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa penambahan level DMSO yang berbeda dalam pengencer vitasem mampu mempertahankan spermatozoa pasca *thawing* dengan perlakuan terbaik pada P3 dengan nilai motilitas 39,43%, viabilitas 64,84%, abnormalitas 8,72%, dan *recovery rate* (RR) 43,04%.

Kata kunci: *Babi Landrace, DMSO, kuning telur, semen beku, Vitasem*

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the quality of frozen semen from landrace boars in vitasem+egg yolk (V-EY) diluent with different levels of dimethyl sulfoxide (DMSO). The semen used in this study came from healthy 2 years old landrace boars. Semen quality analysis was carried out based on macroscopic and microscopic observations. Good quality semen processed by adding a base diluent, then holding for 2 hours at room temperature (27-28°C). The semen is further processed by centrifugation at 3000 rpm for 15 minutes. The supernatant was discarded, and the sediment was rediluted with the basic diluent, then divided into four treatment tubes. Before freezing , semen is evaluated for motility, viability, and abnormalities, then packed in 0,5 mL straws. Straw was equilibrated for 2 hours at 3-5°C. The freezing process was carried out 10 cm above liquid nitrogen for 10 minutes at -110°C, then stored in a liquid nitrogen container at a temperature of -196°C. There was no significant effect ($P>0,05$) of the addition of different levels of DMSO on spermatozoa motility, viability, abnormalities, and recovery rate in this study. Thus, it can be concluded that the addition of different levels of DMSO in the vitasem diluent is able to maintain spermatozoa after thawing with the best treatment at P3 with a motility value of 39,43%, viability 64,84%, abnormalities 8,72%, and recovery rate (RR) 43,04%.

Keywords: *DMSO, Egg yolk, Frozen semen, Landrace boar, Vitasem*

PENDAHULUAN

Inseminasi Buatan (IB) kini jadi adalah metode perkawinan buatan yang teknologi peternakan yang sangat populer. IB menggunakan sperma pejantan terpilih untuk

menghasilkan ternak berkualitas tinggi sekaligus mencegah perkawinan sedarah dan perkembangan penyakit pada hewan (Kaka, 2020). Metode ini telah diterapkan secara luas pada babi, sapi, kambing kuda, dan ayam. Penggunaan semen cair dalam inseminasi buatan babi telah menjadi prosedur umum, namun aplikasi semen beku masih minim dijalankan. *Cold shock* yang terjadi akibat paparan suhu rendah berisiko tinggi merusak atau menghancurkan spermatozoa babi, yang diketahui sangat peka terhadap perubahan suhu tersebut. Suhu ideal untuk mempertahankan spermatozoa babi berkisar antara 15°C hingga 20°C (Marlize *et al.*, 2021).

Proses pembekuan semen didefinisikan sebagai penghentian sementara aktivitas selular tanpa menghilangkan viabilitasnya, menyebabkan metabolisme sel hampir terhenti sepenuhnya (Malik *et al.*, 2018). Salah satu hambatan utama dalam prosedur ini meliputi efek *cold shock* pada sel yang dibekukan, disertai perubahan struktural intraseluler yang ditimbulkan oleh kehilangan air. Formasi kristal es dan penumpukan elektrolit, baik intraseluler maupun ekstraseluler turut memperparah kondisi ini. Akumulasi elektrolit yang berlebih dapat mengganggu integritas membran sel spermatozoa melalui pelarutan komponen lipoproteinnya. Konsekuensinya, selama proses pencairan (*thawing*), permeabilitas membran sel akan terganggu, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel. Namun, kendala ini sebagian dapat diminimalisir melalui aplikasi zat-zat pelindung (krioprotektan) dalam pengencer. Efektivitas krioprotektan selama pembekuan sangat krusial dan dipengaruhi oleh konsentrasi yang digunakan dalam media pengencer (Lestari *et al.*, 2022).

Dalam proses pembekuan, spermatozoa terpapar suhu yang sangat rendah, mencapai -196°C yang berakibat fatal. Suhu di bawah titik beku ini memicu perubahan fisik dan kimiawi di dalam sel, yang gilirannya mendorong pembentukan kristal es dan peningkatan konsentrasi elektrolit intraselular, kondisi yang dikenal sebagai *cold shock* (Bebas dan Gorda, 2020). *Cold shock* ini menyebabkan kerusakan serius pada membran sel, baik membran plasma maupun akrosoma. Kerusakan ini secara signifikan mempengaruhi motilitas spermatozoa, mengakibatkan sel menjadi abnormal dan pada akhirnya mati. Untuk meminimalkan dampak negatif ini, perlu dilakukan penambahan zat

tertentu kedalam pengencer, yaitu krioprotektan. Berdasarkan kemampuannya menembus sel, krioprotektan dikategorikan menjadi dua jenis krioprotektan intraseluler seperti gliserol dan DMSO, yang melindungi sel dari dalam dengan menyeimbangkan osmolalitas internal dan eksternal serta mengubah struktur permukaan kristal es agar tidak terlalu tajam; dan krioprotektan ekstraseluler, contohnya lesein yang ditemukan pada kuning telur, sukrosa, glukosa, laktosa dan gula lain.

Vitasem dan kuning telur adalah bahan pengencer potensial untuk semen. Vitasem, pengencer populer dalam peternakan terutama reproduksi babi, krusial untuk menjaga kualitas spermatozoa selama penyimpanan demi efektivitas inseminasi buatan (IB). Komponen vitasem meliputi *buffer* untuk menjaga pH stabil, susu skim atau laktosa sebagai nutrien dan pengatur tekanan osmotik, serta gula fruktosa dan glukosa sebagai sumber energi spermatozoa. Secara umum, vitasem berfungsi menjaga kualitas dan memberikan nutrisi penting seperti glukosa dan fruktosa sebagai energi. Pengencer ini juga mengandung zat pelindung membran sel spermatozoa dari kerusakan dan menjaga stabilitas pH lingkungan untuk kelangsungan sel. Sementara itu, kuning telur mengandung lipoprotein dan lestein yang melindungi spermatozoa dari *cold shock* (Baku *et al.*, 2022). Kuning telur umumnya ditambahkan sebagai sumber energi, agen protektif, dan penyangga bagi spermatozoa. Pentingnya glukosa sebagai sumber energi merupakan salah satu syarat utama pengencer semen yang baik.

Dimethyl Sulfoxide (DMSO) adalah krioprotektan intraseluler yang umum dipakai dalam preservasi dan kriopreservasi spermatozoa. Karena berat molekulnya rendah, DMSO mudah masuk ke dalam sel saat kriopreservasi. DMSO adalah cairan tidak berwarna yang berasal dari produk sampingan dari pulp kayu dalam produksi kertas. Cairan tak berwarna ini dapat langsung digunakan sebagai pelarut polar dan aprotik yang dapat bercampur dengan air dan mampu melarutkan sejumlah besar molekul kecil polar dan nonpolar. Prinsip kerjanya dalam pembekuan semen ada molekul-molekul DMSO yang kecil masuk ke sel spermatozoa untuk menggantikan air, sehingga meminimalkan pembentukan kristal es dan mengurangi konsentrasi garam (Hine *et al.*, 2019). Kemampuan ini melindungi spermatozoa.

Oleh karena itu, penambahan krioprotektan seperti DMSO ke dalam pengencer penting untuk mengatasi kerusakan sel. Konsentrasi DMSO yang tepat sangat krusial untuk keberhasilan kriopreservasi semen, karena ia menggantikan air dalam sel mencegah kristal es berbahaya terbentuk saat pembekuan (Junaedi *et al.*, 2016).

MATERI DAN METODE

Lokasi Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini berlangsung selama enam minggu di Laboratorium Yayasan Wiliams dan Laura, di Tilong Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT), dengan waktu yang terbagi untuk persiapan dan pengumpulan data.

Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu satu set alat penampungan semen: satu set alat untuk pembuatan pengencer (timbangan digital, *aluminium foil*, tabung *erlenmeyer*, pipet, tabung ukur, kertas label, gelas ukur, kertas saring, pinset kapas, tisu, spoit, baskom, *stirrer*, dan *spinbar*), satu set alat peralatan evaluasi semen (*object glass*, *cover glass*, kertas pH, pipet ukur, pipet tetes, *eppendorf*, tabung berskala, *centrifuge*, kotak krio, mikropipet, *waterbath*, *microwave*, dan *erlenmeyer*), *freezing rack*, mistar, *styrofoam*, *container*, *thermometer*, dan *timer*, *forceps*, yang merupakan alat pembekuan semen.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen Babi Landrace, pengencer vitasem, kuning telur ayam ras, DMSO, aquabides, *alcohol*, N_2 cair, antibiotik, bahan pewarnaan spermatozoa yaitu eosin-negrosin.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan semen ternak Babi Landrace 4 ekor, yang telah mencapai dewasa kelamin dengan umur 2 tahun. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen dengan metode penelitian rancangan acak lengkap yang terdiri dari 4 perlakuan dan empat kali ulangan. Adapun rancangan sebagai berikut:

- P_1 = vitasem+kuning telur+4% DMSO
 P_2 = vitasem+kuning telur+6% DMSO
 P_3 = vitasem+kuning telur+8% DMSO
 P_4 = vitasem+kuning telur+10% DMSO

Persiapan Pengencer

Kristal es dalam medium pengencer juga dapat dicegah dengan konsentrasi DMSO yang sesuai. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menilai kualitas semen beku babi landrace dalam pengencer vitasem dengan level DMSO yang berbeda.

Proses persiapan kuning telur, dimulai dengan tahapan preparasi, dimana telur ayam ras dibersihkan dengan alkohol 70% dan dikeringkan dengan kapas. Selanjutnya, pecahkan telur dari cangkangnya, kuning telur dipisahkan dari putihnya dan ditempatkan di atas kertas saring untuk absorpsi. Selanjutnya, selaput vitelin kuning telur disayat dengan pipet sebelum kuning telur dipindahkan ke gelas ukur dan ditutup rapat dengan *aluminium foil*.

Penyiapan pengencer vitasem dimulai dengan penimbangan 25 gram vitasem masukkan ke *erlenmeyer* dengan 250 mL aquades dan 20% kuning telur. Homogenkan dengan *stirrer* dan *spinbar*; lalu masukkan ke tabung perlakuan dan pengencer siap digunakan.

Penampungan Semen

Semen babi ditampung menggunakan metode pemijatan atau *massage* pada induk buatan (*dummy*) dengan pejantan terlatih. Tahap evaluasi semen dapat dilakukan dengan 2 cara yakni secara makroskopis dan mikroskopis. Makroskopis meliputi volume semen yang dapat langsung dilakukan dengan melihat skala tabung penampungan semen. Warna semen dilihat secara visual, warna normal semen yaitu putih dan putih susu. Konsistensi semen kekentalan diamati dengan cara memiringkan tabung semen lalu tegakan kembali. pH semen diukur dengan menggunakan kertas indikator dengan cara meneteskan semen di atas kertas indikator.

Mikroskopis meliputi motilitas spermatozoa yang dilakukan dengan meneteskan semen pada objek *glass* dan mengamatinya di bawah pembesaran 400 kali dengan mikroskop cahaya untuk melihat pergerakan progresif. Viabilitas spermatozoa diukur dalam persentase menggunakan pewarnaan diferensial eosin-negrosin. Semen dicampur rata dengan pewarna eosin diatas objek *glass*, lalu diulas dan diamati di bawah mikroskop 400 kali. Spermatozoa hidup ditandai kepala tidak berwarna (tidak menyerap warna) sedangkan spermatozoa mati ditandai kepala berwarna merah (menyerap warna). Abnormalitas spermatozoa dinilai menggunakan pewarnaan diferensial eosin-negrosin dan

diamati di bawah mikroskop 400 kali. Spermatozoa dianggap abnormal jika ada kelainan morfologi pada bagian kepala, leher atau ekornya. Konsentrasi spermatozoa adalah jumlah spermatozoa per mililiter semen. Parameter ini penting untuk menentukan berapa banyak betina yang bisa diinseminasi dengan volume tersebut.

Pengenceran, Pembekuan, dan Penyimpanan Semen

Semen dikoleksi, dibagi tiga dan diencerkan dengan vitasem kuning telur. Setelah dua jam pada suhu ruang (27-28°C), sampel disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang, dan endapan diencerkan kembali dengan pengencer dasar. Endapan kemudian dibagi ke empat tabung (P_1 , P_2 , P_3 , dan P_4) dan diencerkan ulang dengan DMSO sesuai konsentrasi perlakuan (P_1 : 4%, P_2 : 6%, P_3 : 8%, dan P_4 : 10%).

Semen encer dihisap ke dalam straw 0,5 mL kemudian direkatkan dengan pinset panas dan diberi label. Straw kemudian diekuilibrasi selama 2 jam pada suhu 3-5°C untuk adaptasi sel. Selanjutnya, straw dibekukan di atas permukaan nitrogen cair -110°C selama 10 menit. Selanjutnya, straw disimpan dalam goblet dan canister di nitrogen cair -196°C.

Variabel Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini untuk melihat kualitas spermatozoa. Kualitas yang dilihat meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan *recovery rate* spermatozoa.

Motilitas spermatozoa mengacu pada kemampuan gerak maju atau progresif sel. Perhitungan motilitas bertujuan untuk membedakan spermatozoa hidup dan mati, yang tidak bergerak progresif atau diam dianggap mati, sedangkan yang bergerak progresif adalah hidup. Penilaian motilitas dilakukan secara subjektif dengan mengamati perbandingan gerakan progresif pada sepuluh lapang pandang dengan nilai yang diberikan 0%-100% dengan skala 5%.

Viabilitas spermatozoa, kondisi viabilitas spermatozoa sangat bergantung pada kecukupan dan kualitas nutrisi yang tersedia dalam medium.

Nutrisi esensial bagi spermatozoa untuk konversi menjadi energi, yang apabila suplai nutrisi ini tidak mencukupi, dapat mengakibatkan penurunan viabilitas spermatozoa (Loka *et al.*, 2024). Ketahanan hidup spermatozoa diukur berdasarkan durasi kemampuannya dalam mempertahankan fungsi fisiologis secara optimal. Rumus yang digunakan untuk perhitungan viabilitas spermatozoa adalah:

Viabilitas

$$= \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Hidup}}{\text{Total Spermatozoa yang Dihitung}} \times 100\%$$

Abnormalitas spermatozoa dapat dikelompokkan menjadi abnormalitas primer dan sekunder. Deteksi abnormalitas ini dilakukan melalui perbandingan antara spermatozoa yang menunjukkan kelainan dan spermatozoa yang normal (Manur, 2024). Rumus yang digunakan untuk perhitungan abnormalitas spermatozoa adalah:

Abnormalitas

$$= \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Abnormal}}{\text{Jumlah Sel Spermatozoa Keseluruhan}} \times 100\%$$

Recovery rate (RR) adalah indikator kemampuan spermatozoa bertahan setelah pembekuan, dihitung dengan membandingkan persentase motilitas spermatozoa pada semen segar dengan kondisi pasca pencairan (*thawing*). Tujuan utama RR adalah mengukur seberapa efektif dan berkualitas semen beku yang telah melewati proses *thawing*. Semakin tinggi nilai RR, semakin baik kualitas dan keberhasilan proses pembekuan. Rumus menghitung *recovery rate* adalah:

Recovery Rate

$$= \frac{\text{Motilitas Pasca Thawing}}{\text{Motilitas Semen Segar}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan SPSS 20 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar Babi Landrace

Dalam penelitian ini, evaluasi semen segar dilakukan segera setelah penampungan menggunakan dua metode, makroskopis dan

mikroskopis. Penilaian makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH (dilakukan secara visual), sementara penilaian secara mikroskopis mencakup motilitas, viabilitas,

abnormalitas, dan konsentrasi (menggunakan mikroskop).

Hasil evaluasi menunjukkan bahwa semen segar yang dikoleksi memiliki kualitas yang memadai dan memenuhi syarat untuk diproses menjadi semen beku. Kualitas ini konsisten dengan standar semen normal yang

dilaporkan oleh (Baku *et al.*, 2022) dimana volume semen babi tanpa gelatin berkisar 200-250 mL dan konsentrasi spermatozoa antara 200-300 $\times 10^6$ sel/mL (Garner dan Hafez, 2000). Rincian kualitas semen segar tersaji dalam Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Semen Segar Babi Landrace

Karakteristik Semen	Rataan
Pemeriksaan Makroskopis	
Volume (mL)	120,25 \pm 20,00
Warna	putih susu
Konsistensi	Encer
pH	6,55 \pm 0,17
Pemeriksaan Mikroskopis	
Motilitas (%)	80,00 \pm 0,00
Viabilitas (%)	92,12 \pm 1,18
Abnormalitas (%)	3,90 \pm 0,50
Konsentrasi ($\times 10^6$ sel/mL)	232,00 \pm 33,55

Volume rata-rata semen yang didapatkan dalam penelitian ini tergolong rendah dibandingkan dengan penelitian Foeh *et al.* (2015), yang melaporkan rentang 139-205 mL dengan rerata 176 \pm 4,85 mL, serta Feka (2018) yang memperoleh 200 mL. Variasi makroskopis ini dapat dipengaruhi oleh umur pejantan, tingkat stimulasi, kualitas pakan, dan frekuensi ejakulasi. Johnson *et al.* (2000) menyebutkan bahwa volume semen dapat bervariasi tergantung pada usia ternak, teknik penampungan, jumlah pengambilan serta frekuensinya.

Dalam penelitian ini, semen yang diperoleh berwarna putih susu dengan konsistensi encer, serupa dengan temuan Amfotis *et al.* (2025) pada Babi Landrace. Hasil penelitian ini bertolak belakang dengan temuan Suberata *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa semen babi berwarna putih keabuan dan Foeh *et al.* (2017) yang mencatat warna putih keruh. pH semen yang terukur sebesar 6,55 masih termasuk dalam kategori normal 6,4-7,8 menurut. Menurut Johnson *et al.* (2000), faktor-faktor seperti umur, rangsangan seksual, frekuensi ejakulasi, kualitas nutrisi, dan lingkungan dapat mempengaruhi perubahan warna, konsistensi, dan pH semen.

Motilitas spermatozoa yang diamati secara mikroskopis tercatat sebesar 80,00% melebihi hasil penelitian Sumardani (2007) yang menyebutkan persentase 65,56% pada Babi Landrace. Sementara itu, konsentrasi

spermatozoa yang diperoleh adalah 232,00 $\times 10^6$ sel/mL, tergolong mendekati kisaran 200-600 $\times 10^6$ sel/mL, seperti yang dilaporkan oleh Garner dan Hafez (2000) serta Knox (2006). Faktor-faktor seperti umur, jumlah ejakulat, interval penampungan, kondisi pejantan, dan lingkungan dapat mempengaruhi motilitas dan konsentrasi spermatozoa (Marlize *et al.*, 2021).

Selama uji viabilitas spermatozoa yang masih hidup tampak jernih di bagian kepala, sementara sel yang mati menyerap warna merah karena perubahan permeabilitas pada membran selnya. Rata-rata viabilitas spermatozoa dalam penelitian ini adalah 92,12%. Hasil penelitian ini berada dalam kisaran yang serupa dengan temuan Sumardani *et al.* (2008) yang menghasilkan persentase 87,76%, bahkan lebih tinggi dari 79,19% (Kaka, 2020) untuk Babi Landrace. Kualitas semen yang beragam berkaitan erat dengan umur ternak, intensitas rangsangan, pola ejakulasi, lingkungan, dan kualitas nutrisi yang diberikan (Marlize *et al.*, 2021).

Tingginya abnormalitas spermatozoa dapat mengganggu fertilitas pejantan, sehingga pemeriksannya penting dilakukan. Abnormalitas spermatozoa tercatat sebesar 3,90% jauh lebih rendah dibandingkan batas maksimal 20% yang disarankan oleh Johnson *et al.* (2000) untuk semen babi, sehingga menunjukkan kualitas yang sangat baik. Beberapa faktor yang dapat memicu kelainan

pada spermatozoa meliputi aspek genetik, stres, perubahan suhu lingkungan, adanya penyakit, serta teknik yang digunakan dalam proses pembekuan semen (Marlize *et al.*, 2021).

Pengaruh Level DMSO terhadap Motilitas Semen Beku Babi Landrace

Motilitas spermatozoa, yang merujuk pada daya gerak progresifnya, memiliki signifikansi esensial dalam keberhasilan proses fertilisasi (Leki *et al.*, 2022). Tujuan dilakukan pengukuran motilitas spermatozoa untuk mengevaluasi kemampuan spermatozoa bergerak secara progresif. Daya gerak spermatozoa sangat

perlu dilakukan untuk perjalannya dalam saluran reproduksi betina, yang kemudian mengarah pada pembuahan ovum.

Motilitas progresif spermatozoa berhubungan langsung dengan tingkat fertilitas. Mengukur motilitas menjadi penting untuk menilai kualitas spermatozoa dan potensi reproduksinya. Oleh karena itu, motilitas spermatozoa dinilai sebagai indikator utama kemampuan sel tersebut dalam membuahi sel telur. Tabel 2 menampilkan rata-rata persentase motilitas spermatozoa Babi Landrace untuk tiap perlakuan

Tabel 2. Pengaruh Level DMSO terhadap Motilitas Semen Beku Babi Landrace

Perlakuan	Pasca Pengenceran (%)	Pasca Ekuilibrasi (%)	Pasca Thawing (%)
P ₁	78,75±2,50	76,25±1,44	26,13±12,01
P ₂	78,12±2,39	76,25±1,44	23,39±15,52
P ₃	78,75±2,50	76,87±1,25	39,43±8,33
P ₄	78,75±2,50	75,62±2,39	21,86±16,57

Keterangan: Vitasem + Kuning Telur + DMSO, P₁= VKT+4% DMSO, P₂= VKT+6% DMSO, P₃= VKT+8% DMSO, P₄= VKT+10% DMSO.

Perlakuan yang diuji dalam penelitian ini tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap motilitas spermatozoa menurut hasil analisis statistik ($P>0,05$). Rata-rata nilai motilitas pasca pengenceran 78,12±2,39%-78,75±2,50% dan pasca ekuilibrasi berkisar antara 75,62±2,39%-76,87±1,25%. Dan nilai motilitas tertinggi pasca thawing terdapat pada P₃ 39,43±8,33% dan P₁ 26,13±12,01% sedangkan nilai terendah terdapat pada P₄ 21,86±16,57% dan P₂ 23,39±15,52%. Berdasarkan SNI (2024) persyaratan motilitas spermatozoa setelah proses thawing agar layak diinseminasikan adalah minimal 30%.

Jika dibandingkan penelitian sebelumnya, Bebas dan Gorda (2020) melaporkan motilitas pasca thawing sebesar 42,60±1,34% setelah ekuilibrasi 2 jam. Meskipun demikian, hasilnya tidak secara signifikan berbeda dari rentang 21,67±7,53%-30,00±4,47% yang dilaporkan Yusuf *et al.* (2017) untuk ekuilibrasi 2 jam, serta 26,16±1,54% dari Da Silva *et al.*, (2020). Variasi ini diduga berasal dari perbedaan bahan pengencer yang digunakan pada setiap penelitian, sejalan dengan pernyataan Mega *et al.* (2022) bahwa kemampuan setiap pengencer dalam menjaga kualitas spermatozoa bervariasi. Penurunan persentase motilitas

spermatozoa ini dapat diatribusikan pada peroksidasi lipid yang mengakibatkan kerusakan membran spermatozoa, suatu kondisi yang rentan terjadi mengingat tingginya kandungan asam lemak tak jenuh pada membran spermatozoa.

Rata-rata nilai motilitas pasca pengenceran berkisar antara: 78,12±2,39%-78,75±2,50% sedangkan pasca ekuilibrasi berada pada kisaran: 75,62±2,39%-76,87±1,25%. Dibandingkan dengan penelitian Mega *et al.* (2022) yang menggunakan pengencer durasperm modifikasi air buah lontar pada semen Babi Landrace menghasilkan motilitas 70,00±0,00% pasca pengenceran dan 65,63±3,75% pasca ekuilibrasi; penelitian ini menghasilkan nilai motilitas yang lebih baik. Demikian pula, penelitian oleh Marlize *et al.* (2021) menunjukkan nilai motilitas sebesar 70,00±0,00% pasca pengenceran dan 65,62±3,75% pasca ekuilibrasi pada semen Babi Landrace yang menggunakan pengencer durasperm termodifikasi. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pada P₃ pasca thawing memberikan hasil yang terbaik dengan nilai pasca thawing sebesar 39,43% dan secara teknik layak digunakan untuk inseminasi sesuai dengan SNI (2024), dengan standar minimal motilitas spermatozoa pasca thawing untuk semen beku babi sebesar 30%.

Pengaruh Level DMSO terhadap Viabilitas Semen Beku Babi Landrace

Viabilitas spermatozoa berfungsi sebagai indikator esensial dalam penilaian kualitas semen, dimana peningkatan persentase viabilitas menunjukkan kualitas semen yang lebih unggul (Marlize *et al.*, 2021). Semen segar yang akan digunakan untuk inseminasi buatan (IB) harus memenuhi persyaratan viabilitas. Metode pewarnaan diferensial digunakan untuk menilai viabilitas secara objektif, dengan membedakan spermatozoa hidup yang tidak menyerap eosin (kepala transparan) dari spermatozoa mati yang menyerap eosin sehingga kepala tampak merah. Evaluasi viabilitas spermatozoa memiliki peranan penting karena berpengaruh langsung terhadap tingkat motilitasnya.

Jumlah spermatozoa hidup biasanya lebih besar daripada yang bergerak progresif, sehingga persentase viabilitas cenderung melebihi motilitas (Marlize *et al.*, 2021). Identifikasi spermatozoa dilakukan berdasarkan kemampuan menyerap warna, kepala yang transparan menunjukkan sel hidup, sedangkan kepala berwarna mengindikasikan sel mati. Spermatozoa hidup memiliki membran plasma

yang utuh secara fungsional. Membran ini berfungsi sebagai penghalang selektif, yang secara aktif mencegah masuknya zat-zat tertentu, termasuk pewarna eosin. Karena membrannya utuh dan berfungsi, pewarna eosin tidak dapat menembus kepala spermatozoa. Dengan demikian, saat diamati secara mikroskopis setelah proses pewarnaan, kepala spermatozoa yang viabel akan tetap tidak ternoda dan memperlihatkan tampilan transparan, atau dalam beberapa kasus, sedikit kemerah di area pasca akrosomal sebagai indikasi perubahan permeabilitas yang minor. Sebaliknya, pada spermatozoa yang tidak viabel, membran plasmanya akan kehilangan integritas strukturalnya, yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas dan hilangnya fungsi sebagai sawar yang efektif. Membran yang rusak memungkinkan pewarna eosin masuk ke kepala spermatozoa. Begitu masuk, eosin menodai komponen internal spermatozoa, menyebabkan kepala tampak merah muda atau merah di bawah mikroskop. Tabel 3 menampilkan rata-rata persentase viabilitas spermatozoa babi landrace untuk tiap perlakuan.

Tabel 3. Pengaruh Level DMSO terhadap Viabilitas Semen Beku Babi Landrace

Perlakuan	Pasca Pengenceran (%)	Pasca Ekuilibrasi (%)	Pasca Thawing (%)
P ₁	91,16±2,15	89,57±0,96	44,44±18,39
P ₂	90,56±2,52	89,49±1,41	46,89±21,43
P ₃	90,98±2,08	89,20±1,17	64,84±15,04
P ₄	91,82±1,34	89,22±1,69	46,05±26,36

Keterangan: Vitasem + Kuning Telur + DMSO, P₁= VKT+4% DMSO, P₂= VKT+6% DMSO, P₃= VKT+8% DMSO, P₄= VKT+10% DMSO

Berdasarkan hasil uji statistik, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan pada viabilitas spermatozoa akibat perlakuan yang diberikan ($P>0,05$). Rataan nilai viabilitas pasca *thawing* tertinggi terdapat pada P₃ 64,84±15,04% dan P₂ 46,89±21,43% sedangkan nilai terendah terdapat pada P₁ 44,44±18,39% dan P₄ 46,05±26,36%. Dalam studi ini, viabilitas spermatozoa setelah pasca *thawing* menunjukkan angka yang sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil penelitian Yusuf *et al.* (2017) yang memperoleh 68,20-70,80% untuk spermatozoa babi yang diekuilibrasi selama dua jam. Nilai viabilitas yang diperoleh juga melampaui hasil Foeh *et al.* (2017) yang hanya mencapai 44,84% setelah *thawing* menggunakan pengencer berbasis BTS-gliserol dan *sodium dodecyl sulphate* (SDS). Pratiwi *et al.* (2014)

menjelaskan bahwa peningkatan tekanan osmotik pada plasma semen berpotensi menurunkan permeabilitas dan meningkatkan kerusakan membran spermatozoa.

Spermatozoa kehilangan viabilitas selama penyimpanan karena bertambahnya jumlah spermatozoa yang rusak dan mati akibat kekurangan energi (Leki *et al.*, 2022), khususnya semen babi yang menunjukkan kepekaan tinggi terhadap fluktuasi suhu selama pengenceran dan penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh lapisan lipid membran spermanya yang sangat tipis, menjadikannya kurang tahan terhadap suhu rendah. Lebih lanjut, interaksi antara metabolisme spermatozoa dan oksigen selama penyimpanan memicu pembentukan radikal bebas. Radikal bebas ini kemudian mendorong peroksidasi lipid membran, yang berdampak

negatif pada daya hidup dan motilitas spermatozoa.

Dari beberapa perlakuan yang diuji nilai persentase P_3 yaitu: $64,84\pm15,04\%$ menunjukkan hasil terbaik dibandingkan perlakuan lainnya. Pada P_3 , viabilitas spermatozoa setelah proses pembekuan dan *thawing* berada pada nilai tertinggi secara signifikan, yang mengindikasikan bahwa konsentrasi DMSO tersebut paling efektif dalam mempertahankan integritas dan fungsi sel spermatozoa selama proses kriopreservasi. Kemampuan DMSO sebagai krioprotektan dalam P_3 kemungkinan berada pada level optimal, sehingga mampu meminimalisir kerusakan membran sel akibat pembentukan kristal es selama pembekuan. Sementara itu, perlakuan lain (P_1 , P_2 , dan P_4) menunjukkan viabilitas spermatozoa yang lebih rendah. Kondisi ini mungkin timbul akibat kadar DMSO yang tidak optimal, konsentrasi yang terlalu rendah gagal melindungi sel dari *cold shock* dan kerusakan struktural, sementara

konsentrasi yang terlalu tinggi justru bersifat toksik bagi spermatozoa, menyebabkan kerusakan membran dan menurunkan viabilitas.

Pengaruh Level DMSO terhadap Abnormalitas Semen Beku Babi Landrace

Kualitas spermatozoa dapat dinilai melalui abnormalitasnya, sebab struktur sel yang tidak normal bisa mengganggu proses fertilisasi (Marlize *et al.*, 2021). Abnormalitas spermatozoa terbagi dua, primer, dan sekunder. Penelitian ini menemukan bahwa mayoritas kelainan spermatozoa yang diamati adalah abnormalitas sekunder, termasuk ekor tergulung, ekor tanpa kepala, atau ekor putus. Kelainan jenis ini biasanya timbul akibat penanganan selama pengenceran dan pembuatan preparat ulas. Berbeda dengan abnormalitas primer yang terbentuk saat spermatogenesis (Solihati *et al.*, 2008). Tabel 4 menampilkan rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa babi landrace untuk tiap perlakuan.

Tabel 4. Pengaruh Level DMSO terhadap Abnormalitas Semen Beku Babi Landrace

Perlakuan	Pasca Pengenceran (%)	Pasca Ekuilibrasi (%)	Pasca <i>Thawing</i> (%)
P_1	$3,63\pm0,80$	$7,57\pm1,12$	$10,47\pm1,78$
P_2	$4,04\pm0,56$	$7,72\pm1,26$	$9,96\pm2,66$
P_3	$4,01\pm0,77$	$7,45\pm1,49$	$8,72\pm1,15$
P_4	$4,25\pm0,71$	$7,56\pm0,88$	$10,01\pm0,93$

Keterangan: Vitasem + Kuning Telur + DMSO, P_1 = VKT+4% DMSO, P_2 = VKT+6% DMSO, P_3 = VKT+8% DMSO, P_4 = VKT+10% DMSO

Perlakuan yang diterapkan dalam penelitian ini tidak menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap abnormalitas spermatozoa, sebagaimana ditunjukkan oleh nilai $P>0,05$. Rataan nilai abnormalitas pasca *thawing* pada perlakuan P_3 yaitu $8,72\pm1,15\%$ dan P_2 yaitu $9,96\pm2,66\%$ menghasilkan persentase abnormalitas yang relatif tinggi dibandingkan P_1 yaitu $10,47\pm1,78\%$ dan P_4 yaitu $10,01\pm0,93\%$. Kemungkinan besarnya persentase pada P_1 dan P_4 , dimana spermatozoa telah menyesuaikan diri secara efektif terhadap pengencer dan krioprotektan sehingga terjadi keseimbangan osmotik antara bagian dalam dan luar sel. Stabilitas ini membantu menjaga tekanan osmotik selama pembekuan, yang pada akhirnya melindungi membran dan selubung lipoprotein dari kerusakan. Hal ini konsisten dengan pendapat Herdiawan (2004) yang menyatakan bahwa keseimbangan tersebut adalah kunci rendahnya abnormalitas spermatozoa pasca *thawing*. Berbagai faktor seperti genetika,

tekanan lingkungan, suhu, kondisi kesehatan, dan metode penanganan semen dapat berkontribusi terhadap terjadinya abnormalitas pada spermatozoa (Leki *et al.*, 2022).

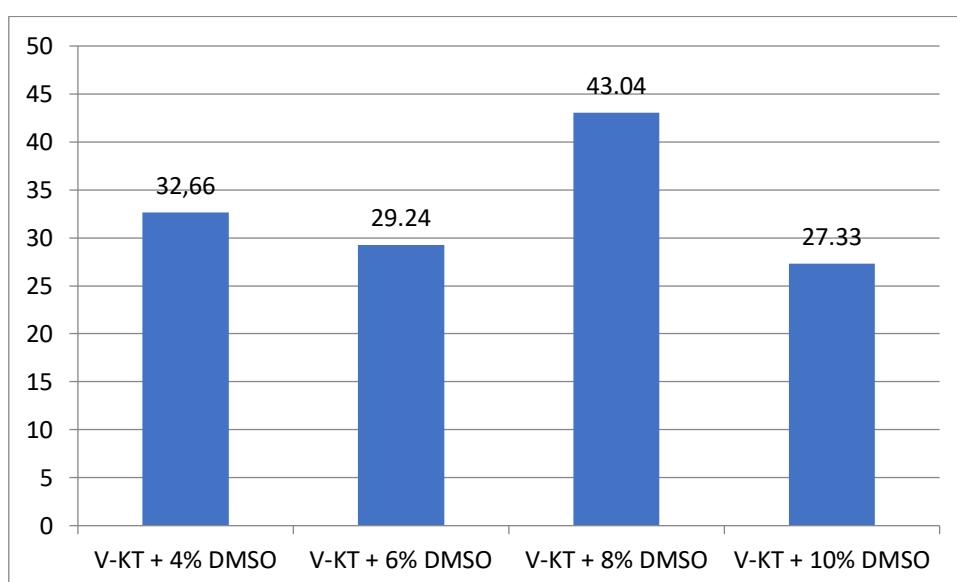
Angka abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini tercatat 10,47% lebih rendah dari rata-rata 11,1% dan 8,0% yang ditemukan oleh Foeh *et al.* (2017) pada spermatozoa babi. Persentase 10,47% ini dinilai masih normal, karena batas normal abnormalitas spermatozoa babi menurut Foeh *et al.* (2015) adalah 11,1% sementara Johnson *et al.* (2000) menyatakan bahwa batas maksimum abnormalitas hingga 20% perejakulat.

Pengaruh Level DMSO terhadap Recovery Rate (RR) Semen Beku Babi Landrace

Tingkat pemulihan motilitas spermatozoa setelah pembekuan, yang dikenal sebagai *recovery rate* (RR), dievaluasi dengan membandingkan motilitas semen segar dan semen setelah proses *thawing* (Marlize *et al.*, 2021). RR adalah indikator krusial dalam

keberhasilan kriopreservasi semen, yang juga mencerminkan efisiensi proses pembekuan. Semakin tinggi RR, semakin baik proses pembekuan yang dilakukan. Suherlan (2015) menyatakan bahwa RR yang tinggi menunjukkan efisiensi pembekuan yang lebih baik, yang

berhubungan langsung dengan terjaganya keutuhan membran plasma spermatozoa untuk mendukung pergerakan. Data *recovery rate* spermatozoa dari penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram *Recovery Rate*

Secara statistik, perlakuan tidak memberikan efek yang signifikan ($P>0,05$) terhadap perbedaan *recovery rate* spermatozoa antar perlakuan. Meskipun demikian, RR tertinggi dicatat pada P₃ dengan nilai 43,04% diikuti oleh P₁ 32,66%, P₂ 29,24%, dan yang terendah pada P₄ 27,33% (detailnya dapat dilihat pada Gambar 1.).

Recovery Rate (RR) yang tinggi di P₃ mengindikasikan banyaknya spermatozoa yang tetap motil pasca *thawing*. Ini berarti membran plasma spermatozoa tetap utuh, memungkinkan metabolisme yang baik untuk gerakan

spermatozoa yang efektif. Jelas, jika motilitas menurun, RR pun akan ikut turun. Marlize *et al.* (2021) mendukung hal ini, menegaskan bahwa RR yang tinggi berbanding lurus dengan jumlah spermatozoa yang motil progresif.

RR dalam penelitian ini lebih tinggi daripada 40,18% yang dilaporkan oleh Mega *et al.* (2022) pada penggunaan pengencer durasperm yang dimodifikasi dengan air buah lontar pada semen Babi Landrace. Namun, hasil ini serupa dengan 43,74% RR yang ditemukan Marlize *et al.* (2021) pada semen Babi Landrace yang menggunakan pengencer durasperm termodifikasi dengan waktu ekuilibrasi.

pengencer vitasem dapat mempertahankan spermatozoa pasca *thawing* dengan perlakuan terbaik pada P₃ dengan nilai motilitas 39,43%, viabilitas 64,84%, abnormalitas 8,72%, dan *recovery rate* (RR) 43,04%.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan level *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) yang berbeda dalam

DAFTAR PUSTAKA

- Baku, A., Dethan, A. A., dan Tahuk, P. K. 2022. Quality of Landrace Semen in Yolk Citrate Cement which Plus Glucose with Different Concentrations. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1), 42–55. <https://doi.org/10.32938/jtast.v4i1.1268>

- Bebas, W., dan Gorda, W. 2020. Kadar

- Krioprotektan Gliserol dan Dimethylsulfoxide Terbaik pada Pengencer Astaxanthin Fosfat Kuning Telur Bebek Terhadap Kualitas Semen Beku Babi. *Jurnal Veteriner Maret*, 21(1), 2477–5665.
<https://doi.org/10.19087/jveteriner.2020.21.1.115>
- Da Silva Passarelli, M., Pavaneli, A. P. P., Ravagnani, G. M., Martins, M. P., Pedrosa, A. C., Martins, S. M. M. K., de Alcântara Rocha, N. R., Rigo, V. H. B., Yasui, G., dan Yeste, M. 2020. Effects of different equilibration times at 5 °C on boar sperm cryotolerance. *Animal Reproduction Science*, 219, 106547.
- Feka, W. 2018. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas dan pH Semen Babi Landrace yang di Encerkan Menggunakan Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur. *Jas*, 3(1), 14–15.
<https://doi.org/10.32938/ja.v3i1.543>
- Foeh, N., Arifiantini, R., dan Yusuf, T. L. 2015. Kualitas semen beku babi dalam pengencer BTS dan MIII menggunakan krioprotektan dimethylacetamide dan gliserol dengan sodium dodecyl sulphate. *Institut Pertanian Bogor*.
- Foeh, NDFK., Arifiantini, R. I., dan Yusuf, T. L. 2017. the Quality of Boar Frozen Semen Diluted in Bts® and Mii® With Different Cryoprotectant Supplemented With Sodium Dodecyl Sulphate. *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 11(1), 6–10.
<https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v11i1.5809>
- Garner, D. L., dan Hafez, E. S. E. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. *Reproduction in Farm Animals*, 96–109.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/978119265306.ch7>
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *Jitv*, 9(2), 98–107.
- Hine, T. M., Uly, K., Nalley, W. M., dan Armadianto, H. 2019. Kualitas Sperma Beku Sapi Bali dalam Pengencer Air Kelapa Modifikasi dengan Berbagai Aras Dimethyl Sulfoxide. *Jurnal Veteriner*, 20(1), 93.
<https://doi.org/10.19087/jveteriner.2019.20.1.93>
- Johnson, L. A., Weitze, K. F., Fiser, P., dan Maxwell, W. M. C. 2000. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1–3), 143–172.
- Junaedi, J., Arifiantini, R., Sumantri, C., dan Gunawan, A. 2016. Penggunaan Dimethyl Sulfoxide Sebagai Krioprotektan dalam Pembekuan Semen Ayam Kampung. *Jurnal Veteriner*, 17(2), 300–308.
<https://doi.org/10.19087/jveteriner.2016.17.2.300>
- Kaka, A. 2020. Karakteristik dan Daya Fertilitas Spermatozoa Babi Peranakan Landrace. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 22(3), 277.
<https://doi.org/10.25077/jpi.22.3.277-283.2020>
- Amfotis, Telupere, F. M. S., Made, N., Setyani, P., 2025. Efek Penambahan Kuning Telur Omega-3 Pada Pengencer Air Kelapa Muda Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. 9(1), 1–13.
- Knox, R. V. 2006. Semen processing, extending dan storage for artificial insemination in swine. *Dept Anim. Sci. Univ. Ill.*
- Leki, P., Dethan, A. A., dan Kia, W. 2022. Kualitas Semen Babi Landrace Dalam Pengencer Semen Sitrat-Kuning Telur yang Ditambah Glukosa Dengan Konsentrasi Berbeda. 7(2502), 12–15.
- Lestari, S. A., Darmawan, dan Rosadi, B. 2022. Toksisitas gliserol dan kualitas spermatozoa glycerol toxicity and quality of frozen-thawed. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 25(2), 79–84.
- Loka, K., Nalley, W. M., dan Kune, P. 2024. Pengaruh Kombinasi Pengencer Susu

- Kacang Kedelai Sangrai dan Sitrat Modifikasi terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *Animal Agricultura*, 2(1), 407–416.
<https://doi.org/10.59891/animacultura.v2i1.59>
- Malik, A., Fauzi, R., Zakir, M. I., dan Sakiman, S. 2018. Subtitusi Madu Asli Pengganti Gliserol dalam Pembekuan pada Kualitas Pasca-thawing Spermatozoa Sapi Bali. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 5(2), 98–104.
<https://doi.org/10.29244/avi.5.2.98-104>
- Manur, F. 2024. Pengaruh Substitusi Kuning Telur Bebek dalam Pengencer Semen Life Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 3(12), 4928–4938.
<https://doi.org/10.59141/comserva.v3i12.1278>
- Maria G. Mega, Wilmientje M. Nalley, Aloysius Marawali, H. L. L. B. 2022. Semen Beku Babi Landrace Dalam Pengencer Durasperm. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), 57–65.
- Marlize, S., Hine, T. M., dan Nalley, W. M. 2021. Pengaruh Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Babi Landrace Dalam Pengencer Durasperm Termodifikasi. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(2), 150–160.
<https://doi.org/10.35508/nukleus.v8i2.4867>
- Pratiwi, R. I., Suharyati, S., dan Hartono, M. 2014. Analisis kualitas semen beku sapi Simmental menggunakan pengencer andromed dengan variasi waktu pre freezing. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(3), 8–15.
- Solihati, N., Idi, R., Rasad, S. D., Rizal, M., dan Fitriati, M. 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan Ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5 C. *Animal Production*, 10(1), 22–29.
- Standar, R., dan Indonesia, N. 2024. *Semen beku – Bagian 4: Babi*.
- Suberata, I. W., Artiningsih, N. M., Sumardani, N. L. G., Putra, W., dan Umiarti, A. T. 2014. Pengaruh bahan pengencer biologis terhadap kualitas semen babi Hampshire. *Prosiding Fakultas Peternakan Universitas Udayana-Denpasar*.
- Suherlan, N. E. 2015. Pengaruh penambahan berbagai tingkat DMF (dimethylformamide) sebagai agen krioprotektan terhadap kestabilitas membran plasma dan recovery rate semen beku domba lokal. *Students E-Journal*, 4(4).
- Sumardani, N. L. G. 2007. Viabilitas dan fertilitas spermatozoa dalam modifikasi pengencer BTS dan zorlesco dengan penyimpanan berbeda dalam rangkaian inseminasi buatan pada babi. *Thesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Sumardani, N., Tuty, L., dan Siagian, P. 2008. Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer BTS (Beltsville Thawing Solution) yang Dimodifikasi pada Penyimpanan Berbeda. *Jurnal Media Peternakan*, 31(2), 81–86.
- Yusuf, T., Arifiantini, R., Dapawole, R., dan Nalley, W. 2017. Kualitas 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>