

Pengaruh level gliserol dalam pengencer tris-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa Babi Landrace

The effect of glycerol levels in tris-egg yolk diluent on the quality of Landrace Boar spermatozoa

Damiana Mutiara Jaimun*, Petrus Kune, Ni Made Paramita Setyani, Kirenius Uly

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan Kelautan dan Perikanan,
Universitas Nusa Cendana

Jln. Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia, 850001

*Coressponding author: irajaimun10@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of glycerol (GLY) levels in tris-egg yolk (T-EY) diluent on the quality of landrace boar spermatozoa. The research material was fresh semen from one landrace boar aged two years and two month. The design used was a completely randomized design (RAL) consisting of five treatments and five replications, namely: T0= T-EY, T1=T-EY + GLY 1%, T2= T-EY + GLY 2%, T3= T-EY +GLY 3%, T4=T-EY + GLY 4%. Research variables included motility, viability, abnormalities, and survival of spermatozoa. The data obtained were analyzed by the analysis of variance test (ANOVA one way) and further tested with the Duncan Multiple Range Test (DMRT). The results showed that T2 and T3 treatment resulted in statistically higher spermatozoa quality ($p < 0.05$) than other treatments with motility was: $61.00 \pm 4.18\%$ and $60.00 \pm 3.53\%$, viability $66.00 \pm 4.18\%$ and $63.00 \pm 3.53\%$ and survival spermatozoa 56.80 ± 1.09 and 55.20 ± 1.78 hours. It can be concluded that the addition 2% and 3% of glycerol (GLY) in tris-egg yolk (T-EY) diluent gives a good response in maintaining the quality of Landrace Boar spermatozoa.

Keywords: Egg yolk, Glycerol, Landrace boar, Spermatozoa, Tris.

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) adalah prosedur memasukkan semen ke dalam saluran reproduksi betina saat mengalami estrus menggunakan *Artificial Insemination Gun* (AI Gun) dengan tujuan mencapai kebuntingan dan kelahiran berikutnya. Implementasi injeksi sperma dapat meningkatkan efisiensi reproduksi jantan karena memungkinkan seekor pejantan unggul untuk membuahi beberapa betina (Setyani *et al.*, 2017). Efektivitas IB ditentukan oleh empat faktor utama yaitu keterampilan inseminator, pengetahuan zooteknik inseminator, kesuburan sapi betina, dan kualitas semen yang digunakan (Hoesni, 2022).

Tris-kuning telur (T-KT) adalah bahan pengencer semen yang umum digunakan, yang berfungsi sebagai penyangga, membantu menstabilkan pH, menjaga tekanan osmotik, dan keseimbangan elektrolit. Selain itu, pengencer T-KT dapat memberikan perlindungan kepada spermatozoa dari *cold shock* (Dongkot *et al.*, 2022). T-KT mengandung tris (hidroksimetil aminometana), asam sitrat, dan fruktosa dalam komposisi yang cukup lengkap. Fruktosa adalah gula sederhana dengan berat molekul rendah, mirip dengan glukosa, yang sering digunakan sebagai sumber karbohidrat dan berfungsi sebagai penyedia energi untuk

melaksanakan proses fisiologis spermatozoa seluler selama proses kriopreservasi (Nabila *et al.*, 2018). Namun permasalahan utama kualitas semen yang digunakan adalah adanya radikal bebas yang memiliki potensi merusak membran plasma spermatozoa yang mengandung asam lemak tak jenuh atau lipid, yang mengarah pada peristiwa peroksidasi lipid (Rahmansyah dan Hariani, 2023). Pengencer T-KT memiliki kelemahan karena tidak mengandung antioksidan untuk melawan radikal bebas dan mencegah peroksidasi lipid, karena kuning telur hanya mengandung protein seperti *Glutathione Peroxidase (GPX)* dan *Superoxide Dismutase (SOD)*, yang memiliki efektivitas terbatas dalam mendukung kemampuan antioksidan.

Salah satu solusi untuk mengatasi masalah ini adalah menggunakan medium pengencer yang mengandung antioksidan, yang berfungsi untuk meningkatkan volume semen serta menyediakan nutrisi dan perlindungan bagi spermatozoa selama proses pembekuan. Sifat kimia dan fisik yang digunakan sebagai pengencer, menunjukkan kemampuan preservasi yang baik, menjaga kesuburan spermatozoa, dan tidak memiliki efek merugikan pada spermatozoa (Rahmansyah dan Hariani, 2023).

Gliserol (GLY) adalah senyawa antioksidan dan dapat berfungsi sebagai *cryoprotectant* yang memiliki kemampuan untuk menembus dan diasimilasi oleh sel sperma. Gliserol ditambahkan ke bahan pengencer yang berfungsi sebagai zat pelindung bagi dinding sel dan memiliki kemampuan untuk berdifusi dan dicerna sebagai sumber energi, khususnya fruktosa. Tingkat fruktosa yang cukup merangsang pergerakan terus-menerus dari spermatozoa. Produksi adenosin triphospat (ATP) yang mengandung fosfat anorganik (Pi) yang kaya energi melibatkan fruktosa. ATP ini digunakan untuk kontraksi fibril, di mana gerakan spermatozoa dihasilkan dan mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa (Tambing *et al.*, 2000).

Menurut Susiana *et al.* (2021) gliserol memiliki kemampuan untuk menembus dan meresap ke dalam sel sperma, memberikan kekuatan pengikat air yang kuat, memungkinkan gliserol untuk melindungi dari dehidrasi yang dihasilkan oleh *cold shock*. Konsentrasi gliserol yang optimal dalam pengencer akan secara efektif melindungi spermatozoa, sementara konsentrasi yang tidak optimal akan berdampak negatif pada kualitas spermatozoa. Selain itu, sel spermatozoa menggunakan gliserol untuk metabolisme oksidatif dan mengeluarkan elektrolit, sehingga mengurangi konsentrasi elektrolit intraseluler dan mengurangi kerusakan oksidatif pada sel spermatozoa, yang mengakibatkan pengurangan kematian sel. Gliserol berdifusi ke dalam sel spermatozoa karena sifat kelarutannya dalam lemak (Hoesni, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian berbagai tingkat glyserol pada kualitas sperma Babi Landrace.

MATERI DAN METODE

Tempat dan materi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Hewan, Fakultas Peternakan, Kelautan dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana Kupang, Desa Penfui, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) selama lima minggu dan dibagi menjadi tiga tahap yaitu tahap persiapan, pengumpulan data, dan analisis data. Bahan yang digunakan yaitu semen yang berasal dari seekor Babi Landrace jantan dengan kriteria antara lain berumur dua tahun dua bulan dan kondisi tubuh sehat. Selanjutnya babai jantan tersebut ditempatkan pada kandang terpisah yang dilengkapi dengan area khusus untuk memberi makan dan minum.

Metode penelitian dan rancangan percobaan

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan-perlakuan

tersebut adalah: P0 (Tris-kuning telur); P1 (Tris-kuning telur + Gliserol 1%); P2 (Tris-kuning telur + Gliserol 2%); P3 (Tris-kuning telur + Gliserol 3%); dan P4 (Tris-kuning telur + Gliserol 4%).

Parameter yang diamati dalam penelitian

Motilitas spermatozoa.

Motilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa dalam melakukan gerakan maju atau progresif (Tamoës *et al.*, 2017). Pengamatan motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Semen kemudian diambil menggunakan pipet, kemudian diteteskan dan diletakkan diatas *objek glass* dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya, pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara mengamati gerak individu yang bergerak progresif. Rumus perhitungan motilitas spermatozoa adalah:

$$\text{Motilitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa yang bergerak progresif}}{\text{jumlah spermatozoa terhitung}} \times 100\%$$

Viabilitas.

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa yang diamati dengan cara pewarnaan differensial serta menggunakan zat pewarna eosin. Mekanismenya yaitu dengan cara meneteskan semen diatas gelas objek, kemudian satu tetes semen ditambahkan lagi pada gelas objek yang sudah ditetesi dengan pewarna eosin. Selanjutnya, mencampurkannya secara merata, lalu diulasi menggunakan objek gelas lainnya. Kemudian amati viabilitas spermatozoa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Sperma yang hidup ditandai dengan kepala sperma tidak berwarna, karena sperma yang hidup tidak menyerap warna, sedangkan sperma mati ditandai dengan kepala sperma berwarna merah karena dapat menyerap warna (Tamoës *et al.*, 2017). Adapun rumus perhitungan viabilitas spermatozoa yaitu:

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

Abnormalitas.

Pengamatan abnormalitas spermatozoa dapat dilakukan dengan menggunakan pewarna differensi eosin-negrosin, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 10x40. Spermatozoa abnormal dapat dilihat dari bentuk morfologi pada bagian kepala, leher, dan ekor (Tamoës *et al.*, 2017). Rumus untuk menghitung jumlah spermatozoa abnormal adalah:

$$\text{Abnormalitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa yang bergerak progresif}}{\text{jumlah spermatozoa yang diamat}} \times 100\%$$

Daya Tahan Hidup (DTH).

Daya tahan hidup ditandai dengan adanya motilitas dan daya gerak yang dijadikan patokan atau cara yang mudah dan sederhana dalam penilaian semen untuk IB. Gerakan individu yang terbaik terlihat dengan gerakan maju kedepan, sedangkan persentase motilitas spermatozoa di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik dan sering dihubungkan dengan infertilitas (Tamoës *et al.*, 2017). Daya tahan hidup dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{DTH} = \left[\left(\frac{A-B}{A-C} \right) \times D \right] + E$$

Keterangan:

A = Motilitas diatas standar

B = Motilitas standar

C = Motilitas dibawah standar

D = Rentang waktu pengamatan

E = Lama preservasi

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji analisis sidik ragam (*Analisis of Varians*). Jika terdapat perbedaan nyata diantara perlakuan, maka diuji lanjut dengan Uji Jarak Berganda Duncan. Data disajikan dalam nilai rata-rata \pm standar deviasi. Semua data diolah dengan menggunakan software SPSS for Windows 26 version.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh level gliserol terhadap motilitas spermatozoa

Motilitas mengacu pada pergerakan spermatozoa yang maju ke depan. Pengenceran semen untuk inseminasi buatan, sangat penting untuk mempertimbangkan motilitas spermatozoa sebagai persyaratan mendasar. Pergerakan progresif spermatozoa berhubungan positif dengan tingkat kesuburannya, sehingga penilaian motilitas merupakan indikator yang krusial untuk mengetahui kemampuannya dalam membuahi sel telur atau ovum. Sifat morfologi dan pola metabolisme khusus yang dimiliki oleh spermatozoa menyebabkan spermatozoa mampu bergerak maju ke depan pada lingkungan cair.

Pengamatan pada jam ke-0, motilitas spermatozoa pada semua perlakuan adalah sama yaitu $84,00 \pm 2,24\%$, hal ini menunjukkan bahwa belum ada perubahan kualitas dari spermatozoa yang dipreservasi. Pengamatan pada jam ke-12 sampai jam ke-60 terjadi penurunan motilitas spermatozoa dengan tingkat penurunan yang berbeda-beda pada setiap perlakuan (Tabel 1). Penurunan persentase motilitas spermatozoa ini diduga terjadi karena ketersediaan energi dalam bahan pengencer semakin berkurang seiring dengan lama waktu penyimpanan. Selain itu, zat-zat nutrisi pada pengencer dapat menjadi toksik karena mengalami reaksi oksidasi selama penyimpanan, membentuk racun berupa radikal bebas. Adanya radikal bebas dapat merusak keutuhan membran plasma semen, bertambahnya konsentrasi asam laktat, sehingga derajat keasaman meningkat yang dapat menyebabkan spermatozoa rusak atau mati. Spermatozoa mati ini dapat menjadi racun bagi spermatozoa lain (Tamoës *et al.*, 2017).

Tabel 1: Motilitas spermatozoa babi landrace

Jam	ke-	Motilitas (%)					Nilai P
		P0	P1	P2	P3	P4	
0		84,00 \pm 2,24 ^a	84,00 \pm 2,24 ^a	84,00 \pm 2,24 ^a	84,00 \pm 2,24 ^a	84,00 \pm 2,24 ^a	1,000
12		71,00 \pm 4,18 ^b	72,00 \pm 2,73 ^b	78,00 \pm 2,73 ^a	76,00 \pm 4,18 ^{ab}	72,00 \pm 4,47 ^b	0,032
24		65,00 \pm 6,12 ^b	67,00 \pm 2,73 ^b	74,00 \pm 4,18 ^a	71,00 \pm 4,18 ^{ab}	67,00 \pm 4,47 ^b	0,031
36		60,00 \pm 6,12 ^b	62,00 \pm 2,73 ^{ab}	68,00 \pm 6,70 ^a	66,00 \pm 4,18 ^{ab}	62,00 \pm 4,47 ^{ab}	0,116
48		55,00 \pm 6,12 ^{ab}	56,00 \pm 2,23 ^{ab}	61,00 \pm 4,18 ^a	60,00 \pm 3,53 ^{ab}	53,00 \pm 7,58 ^b	0,104
60		23,00 \pm 2,73 ^b	24,00 \pm 2,23 ^b	31,00 \pm 4,18 ^a	26,00 \pm 6,51 ^{ab}	23,00 \pm 2,73 ^b	0,025

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), P0=TKT, P1=TKT + GLY 1%, P2=TKT + GLY 2%, P3=TKT + GLY 3%, P4=TKT + GLY 4%.

Pengamatan pada jam ke-48, P2 memiliki spermatozoa yang bergerak lebih cepat ($p < 0,05$) dibanding P4 ($61,00 \pm 4,18\%$ vs. $53,00 \pm 7,58\%$). Sebaliknya, angka motilitas

spermatozoa pada perlakuan P0, P1, P3, dan P4 tidak menunjukkan perbedaan nyata ($p > 0,05$). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa jumlah gliserol yang digunakan pada P2 (T-KT + GLY 2%) merupakan dosis optimum untuk mempertahankan motilitas spermatozoa dalam kondisi baik. Mega *et al.*, (2022) menyatakan bahwa konsentrasi gliserol yang optimum mampu mempertahankan motilitas spermatozoa karena gliserol dapat masuk dengan mudah ke dalam sel-sel spermatozoa, menciptakan keseimbangan jumlah elektrolit di dalam dan di luar sel.

Penambahan gliserol hingga 4% (P4) justru menunjukkan angka motilitas yang lebih rendah dibanding dengan perlakuan kontrol dan dosis dibawahnya. Hal ini mungkin disebabkan oleh konsentrasi gliserol yang berlebihan sehingga menimbulkan efek toksik pada sperma. Setiono *et al.* (2015) melaporkan bahwa gliserol yang terlalu banyak dapat memberikan dampak negatif bagi spermatozoa, karena dapat menghambat pergerakan spermatozoa. Sebaliknya, jika gliserol digunakan dalam jumlah yang lebih sedikit, spermatozoa tidak akan memiliki cukup energi untuk metabolismenya. Hasil penelitian ini melaporkan bahwa konsentrasi penggunaan gliserol terbaik adalah sebanyak 2% atau penggunaan gliserol tidak boleh lebih dari 3% Hal ini sesuai dengan pernyataan Malcervelli *et al.* (2020) yang melaporkan bahwa konsentrasi gliserol dapat mempengaruhi pergerakan fosfatidilserin dan potensi membran mitokondria pada spermatozoa babi hutan, dimana persentase terbaik penggunaan gliserol adalah 3%.

Pengaruh level gliserol terhadap viabilitas spermatozoa

Perbedaan spermatozoa yang mati dan hidup dapat dilihat dengan warnanya setelah diberi penanda cairan eosin. Spermatozoa hidup berwarna jernih, limfatik atau tidak berwarna, sedangkan spermatozoa mati berwarna merah (Ndeti *et al.*, 2015). Pengamatan pada jam ke-0, viabilitas tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), sedangkan pada jam ke-12 sampai jam ke-60 perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0,05$).

Tabel 2: Viabilitas spermatozoa babi landrace

Jam	ke-	Viabilitas (%)					Nilai Probability
		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	1,000
12		74,00±4,18 ^b	75,00±2,73 ^b	83,00±2,73 ^b	79,00±4,18 ^{ab}	76,00±4,47 ^a	0,007
24		68,20±6,34 ^b	72,20±5,76 ^b	79,00±4,18 ^{ab}	74,00±4,18 ^{ab}	71,00±5,09 ^a	0,043
36		63,60±5,94 ^b	65,40±2,88 ^b	73,00±6,70 ^b	69,20±4,14 ^{ab}	65,80±4,60 ^a	0,058
48		58,00±6,12 ^b	59,20±2,16 ^b	66,00±4,18 ^{ab}	63,00±3,53 ^{ab}	56,20±7,66 ^a	0,043
60		27,20±2,38 ^b	30,00±5,52 ^b	35,00±3,31 ^{ab}	29,40±6,26 ^{ab}	27,00±2,82 ^a	0,056

Keterangan: Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), P0=T-KT, P1=TKT + GLY 1%, P2=TKT + GLY 2%, P3=TKT + GLY 3%, P4=TKT + GLY 4%.

Rata-rata viabilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer T-KT dengan gliserol pada jam pengamatan ke-0 sampai ke-60 mengalami penurunan. Setelah pendinginan, viabilitas spermatozoa menurun perlahan dan berbeda menurut kelompok perlakuan. Penurunan viabilitas spermatozoa disebabkan oleh perubahan struktural membran fosfolipid plasma selama penyimpanan dingin. Perubahan ini merusak fungsi dan permeabilitas membran sel plasma (Laos *et al.*, 2021). Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan gliserol dalam pengencer dapat membantu spermatozoa bertahan hidup.

Pada jam pengamatan ke-48, P2 dan P3 memiliki tingkat viabilitas tertinggi dengan masing-masing nilai sebesar (66,00±4,18% dan 63,00±3,53%). Sedangkan P1 memiliki viabilitas 59,20±2,16%, P0 58,00±6,12%, dan P4 56,20±7,66%. Rataan viabilitas tertinggi yang diperoleh pada P2 sebesar 66,00±4,18% dan P3 sebesar 63,00±3,53% diduga karena

gliserol sudah berdifusi kedalam sel spermatozoa sehingga tercapainya keseimbangan konsentrasi elektrolit intra dan ekstra sel serta spermatozoa sudah dapat memanfaatkan semaksimal mungkin penggunaan laktosa dari gliserol untuk menghasilkan energi berupa *adenosin triphosphate* (ATP) (Mega *et al.*, 2022). Gliserol dalam media pelarut dapat menurunkan konsentrasi elektrolit (Tambing *et al.*, 2000). Peningkatan konsentrasi gliserol juga dapat mempengaruhi viabilitas pada P4 dengan menyebabkan karakteristik toksik gliserol dan efek metabolik yang merugikan. Setiono *et al.*, (2015) mengaitkan penurunan viabilitas spermatozoa ini dengan toksisitas gliserol. Gliserol dapat meningkatkan tekanan osmotik pelarut dan merusak metabolisme energi, terutama pada dosis besar. Tekanan osmotik yang berlebihan dapat menyebabkan dehidrasi. Dalam penelitian ini, menambahkan 2% gliserol ke dalam pelarut tris kuning telur dan menyimpannya selama 48 jam dapat memaksimalkan daya tahan hidup spermatozoa babi.

Pengaruh level gliserol terhadap abnormalitas spermatozoa

Persentase spermatozoa yang mengalami abnormalitas sangat penting karena sel-sel yang cacat dapat menghambat proses pembuahan (Wawang *et al.*, 2024). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa persentase abnormalitas pada semua perlakuan tidak berpengaruh signifikan ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa gliserol dalam pelarut tris kuning telur memberikan pengaruh yang relatif sama dan cukup baik dalam menghambat terjadinya peningkatan abnormalitas spermatozoa babi landrace. Angka abnormalitas disebabkan tidak hanya pada saat pembuatan preparat sebelum dilakukan pengamatan namun juga disebabkan oleh adanya peroksidasi lipid (Amtiran *et al.*, 2020).

Tabel 3: Abnormalitas spermatozoa babi landrace

Jam ke-	Abnormalitas (%)					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	3,00±1,22	3,00±1,22	3,00±1,22	3,00±1,22	3,00±1,22	1,000
12	4,40±0,54	4,20± 0,83	3,40±0,89	4,00±0,70	4,20±0,83	0,328
24	5,40±0,54	5,40±0,54	4,60 ±0,54	4,80±0,83	5,40±0,54	0,133
36	6,40±0,54	6,40±0,54	5,60±0,54	5,80±0,83	6,40±0,54	0,133
48	7,40±0,54	7,40±0,54	6,60±0,54	5,80±0,83	7,40±0,54	0,133
60	8,40±0,54	8,40±0,54	7,60±0,54	7,80±0,83	8,40±0,54	0,133

Keterangan: P0=T-KT, P1=TKT + GLY 1%, P2=TKT + GLY 2%, P3=TKT + GLY 3%, P4=TKT + GLY 4%.

Dalam penelitian ini rata-rata nilai abnormalitas spermatozoa berada di antara 3,00±7,60%. Sedangkan dalam penelitian Leki *et al.*, (2022), spermatozoa mengalami abnormalitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian ini dengan nilai sebesar 10,5%. Hasil penelitian ini masih baik dan layak karena menurut laporan Leki *et al.*, (2022) persentase abnormalitas babi mencapai 11,1%. Pengencer tris-kuning telur dengan level gliserol 2% dan 3% dapat melindungi spermatozoa dengan baik. Gliserol menyeimbangkan keseimbangan osmotik medium pelarut spermatozoa. Spermatozoa yang berkepala besar dan kepala dua dengan satu ekor merupakan bentuk abnormalitas primer yang ditemukan dalam penelitian ini. Sedangkan spermatozoa dengan kepala yang retak, ekor spermatozoa yang membentuk huruf U, ekor spermatozoa yang bergeser, dan ekor spermatozoa yang tampak seperti retak merupakan bentuk abnormalitas sekunder dan yang palingan dominan dalam penelitian ini. Penelitian ini memenuhi standar Inseminasi Buatan (IB) yang menyatakan bahwa batas maksimum abnormalitas spermatozoa yang dapat digunakan untuk IB harus kurang dari 20% (SNI, 2023).

Pengaruh level gliserol terhadap daya tahan hidup spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup selama penyimpanan (Armangun *et al.*, 2022). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap daya tahan hidup sperma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya tahan hidup spermatozoa terbaik terdapat pada P2 dengan konsentrasi gliserol 2%, yaitu bertahan selama $56,80 \pm 1,09$ jam. Semakin bertambah penggunaan level gliserol, maka daya tahan hidup spermatozoa akan menurun. Hal ini karena gliserol dapat menjadi toksik untuk spermatozoa.

Tabel 4: Daya tahan hidup spermatozoa babi landrace

Perlakuan	Daya Tahan Hidup/jam
P0	$53,60 \pm 0,89^{bc}$
P1	$54,00 \pm 0,00^{bc}$
P2	$56,80 \pm 1,09^a$
P3	$55,20 \pm 1,78^{ab}$
P4	$52,80 \pm 2,68^c$
Nilai P	0,006

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$), P0=T-KT, P1=TKT + GLY 1%, P2=TKT + GLY 2%, P3=TKT + GLY 3%, P4=TKT + GLY 4%.

Gliserol yang berlebihan dapat mengurangi viabilitas spermatozoa yang akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Penggunaan gliserol yang tinggi dapat merusak metabolisme energi dan membunuh spermatozoa (Setiono *et al.*, 2015). Toksisitas krioprotektan dalam pengencer untuk bergantung pada komposisi, pencampuran, akumulasi, pendinginan, dan pembekuan (Melisa, 2016). Campuran nutrisi T-KT dan gliserol dapat membantu spermatozoa bertahan dalam perlakuan dengan melawan radikal bebas. Gliserol dapat mencapai membran plasma sel spermatozoa selama pembekuan dan dicerna untuk menghasilkan energi dan fruktosa (Setiawan, 2016). Fruktosa yang cukup akan menyebabkan spermatozoa tetap bergerak, karena fruktosa berperan menghasilkan energi berupa ATP yang mengandung fosfat anorganik (Pi) kaya energi dan akan digunakan untuk kontraksi fibril-fibril serta menghasilkan gerak spermatozoa dan digunakan untuk mempertahankan daya hidupnya (Tambing *et al.*, 2000). Gliserol mempertahankan keseimbangan elektrolit intrasel dan ekstrasel, memungkinkan sel spermatozoa melanjutkan aktivitas metabolik dan mengurangi kematian sel (Tambing *et al.*, 2000). Gliserol menjaga membran plasma selama pembekuan. Yuniar *et al.*, (2021) melaporkan bahwa gliserol lebih baik dalam menjaga struktur membran plasma spermatozoa dibandingkan dengan krioprotektan lainnya. Kondisi membran plasma yang baik menyebabkan proses metabolisme dapat berjalan dengan lancar sehingga dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan gliserol dengan level 2% dan 3% dalam pengencer tris-kuning telur memberikan respon yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace.

DAFTAR PUSTAKA

Amtiran DE, Hine TM, dan Uly K. 2020. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Pengencer Tris-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc (Effect of addition of vitamin e in tris-egg yolk on sperm quality of duroc pig). *Jurnal Peternakan*

- Lahan Kering*. 2(4):1111–1118.
- Armangun AF, Uly K, Kihe JN, Belli HLL, dan Nalley WM. 2022. Kualitas semen sapi bali dengan penambahan vitamin c dan mineral zn (zink) dalam pengencer sitrat kuning.telur (Quality of bali bulls semen with the addition of vitamin c and mineral zn (zinc) in egg yolk citrate). *Jurnal Nukleus Peternakan*. 9(2):176–186. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i2.7953>.
- Dongkot S, Marawali A, Hine TM, Nalley WM. 2022. Kualitas Semen Beku Babi Duroc Dalam Pengencer Tris Modifikasi Dengan Waktu Ekuilibrasi Yang Berbeda. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 9(1):72–84. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i1.5491>.
- Feka WV, Dethan AA, dan Beyleto VY. 2016. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas dan pH Semen Babi Landrace yang Diencerkan Menggunakan Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur. In *Journal of Animal Science International Standard of Serial Number*. 3 (1):14-15.
- Hoesni F. 2016. Pengaruh Penggunaan Tris Dalam Pengencer Susu Skim Terhadap Resistensi Spermatozoa Sapi Simmental Pasca Pembekuan. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 19(2):77–82.
- Hoesni F. 2022. Analisis Skore Kondisi Tubuh (SKT) terhadap Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) pada Sapi di Kabupaten Tebo. *Jurnal Ilmiah Universitas Batang hari Jambi*. 22(3):2117–2121. <https://doi.org/10.33087/jiubj.v22i3.3026>.
- Laos R, Marawali A, Kune P, Belli HLL, dan Uly K. 2021. Pengaruh Penambahan Filtrat Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Ke Dalam Pengencer Tris-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Kacang. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 8(2):124–135. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v8i2.4872>.
- Leki P, Dethan AA, dan Kia W. 2022. Kualitas Semen Babi Landrace Dalam Pengencer Semen Sitrat-Kuning Telur yang Ditambah Glukosa Dengan Konsentrasi Berbeda. *Journal of Animal Science*. 7(2502):12–15.
- Malcervelli DM, Torres P, Suhevic JF, Cisale H, dan Fischman ML. 2020. Effect of different glycerol concentrations on phosphatidylserine translocation and mitochondrial membrane potential in chilled boar spermatozoa. *Journal Pre-proof*. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.05.012>.
- Melisa A. 2016. Pengaruh Level Gliserol Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Daya Hidup Dan Tudung Akrosom Utuh Sperma Kambing Peranakan Etawah Post Thawing. *Students e-Journal*. 5(2).
- Mega MG, Nalley WM, Marawali A, Belli HLL. 2022. Semen Beku Babi Landrace Dalam Pengencer Durasperm. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 9(1):57–65.
- Nabilla A, Arifiantini RI, Purwantara B. 2018. Kualitas Semen Segar Sapi Bali Umur Produktif dan Non-produktif serta Penentuan Konsentrasi Krioprotektan dalam Pengencer Tris Kuning Telur. 19(36):242–250. <https://doi.org/10.19087/JurnalVeteriner.2018.19:2-242>.
- Ndeta AK, Belli HLL, Uly K. 2015. Pengaruh Sari Wortel dengan Level yang Berbeda pada Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Motilitas, Viabilitas, Derajat Keasaman Spermatozoa Babi Landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 2(2):117-128.
- Rahmansyah A, dan Hariani D. 2023. Pengaruh Penambahan Filtrat Biji Kelor Dalam Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Brahman Effect of Moringa Seed Filtrate Addition in Tris Citric Egg Yolk Diluent on Brahman Cattle Spermatozoa Quality. *journal.unesa.ac.id* 12:29–40.
- Standar Nasional Indonesia. 2023. Semen cair babi. Badan Standardisasi Nasional.

- Setyani NMP, Sarini NP, dan Oka IGL. 2017. Heterogenitas Kuantitas Dan Kualitas Semen Sapi Bali Pejantan Di Unit Pelaksana Teknis Balai Inseminasi Buatan Daerah Baturiti, Tabanan. *Jurnal Of Tropical Animal Science*. 91–104.
- Setiono N, Suharyati S, dan Santosa PE. 2015. The research was conducted at the Technical Service Unit Area-Regional Artificial Insemination Center of Lampung, Terbanggi Besar District. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3(2):61–69.
- Tambing SN, Toelihere MR, Yusuf TL, dan Utama IK. 2000. Pengaruh gliserol dalam pengencer tris terhadap kualitas semen beku kambing Peranakan Etawah. *JITV*, 5(2):1–8.
- Tamoes JA, Nalley WM, dan Hine TM. 2017. Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco dengan Susu Kacang Kedelai. *Sains Peternakan*. 12(1): 20. <https://doi.org/10.20961/sainspet.v12i1.4772>.
- Wawang SK, Nalley M, dan Hine TM. 2024. Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur dengan Substitusi Sari Buah Melon . *Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. 3(11): 4689–4699.
- Yuniar TU, Mulyadi D, dan Mugiyono S. 2021. Pengaruh Penambahan Kuning Telur pada Pengencer Susu Skim dan Lama Penyimpanan pada Suhu 5oC Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Pelung The Effect of Addition of Egg Yolk to Skim Milk Diluent and Storage Time at 5OC on Spermatozoa Quality of Pelung Rooster. *Journal Of Animal Science And Technology*. 3(1):29–46.