

PENGARUH LEVEL ETILEN GLIKOL DALAM PENGECER SPERMAX-KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BABI DUROC

Maria Desinta Ndahus¹, F. M. S Telupere², Agustinus R. Riwu³
ndahusdesi@gmail.com¹, papyt2018@gmail.com², augustrriwu@gmail.com³
Universitas Nusa Cendana

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji pengaruh level etilen glikol dalam pengencer spermax-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa babi duroc. Materi penelitian adalah semen segar berasal dari satu ekor babi duroc berumur 2 tahun dengan motilitas spermatozoa $\geq 70\%$, viabilitas $\geq 80\%$, abnormalitas spermatozoa $\leq 20\%$, dan konsentrasi spermatozoa $\geq 150 \times 10^6$ sel/mL. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan dan lima ulangan yaitu P0= Spermax-KT 100%; P1= P0 + EG (etilen glikol) 2%; P2= P0 + EG (etilen glikol) 4%; P3= P0 + EG (etilen glikol) 6%. Variabel penelitian meliputi: motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup (DTH) spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P2 pada jam ke-60 menghasilkan kualitas spermatozoa babi duroc yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan lainnya, dengan motilitas $44,40 \pm 1,51\%$, viabilitas $47,63 \pm 3,24\%$, abnormalitas $5,27 \pm 0,75\%$, dan daya tahan hidup spermatozoa $65,62 \pm 1,91$ jam. Disimpulkan bahwa penambahan level etilen glikol 4% dalam pengencer spermax-kuning telur memberikan respon yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi duroc.

Kata Kunci: Babi Duroc, Etilen Glikol, Kuning Telur, Spermatozoa, Spermax.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of ethylene glycol levels in spermax-egg yolk diluent on the quality of duroc pig spermatozoa. The research material was fresh semen from one 2year old duroc pig with spermatozoa motility $\geq 70\%$, viability $\geq 80\%$, spermatozoa abnormalities $\leq 20\%$, and spermatozoa concentration $\geq 150 \times 10^6$ cells /mL. The design used was a completely randomized design (CRD) consisted of four treatments and five replications, namely T0=Spermax-egg yolk 100%; T1= T0 + EG (ethylene glycol) 2%; T2 = T0 + EG (ethylene glycol) 4%; T3 = T0 + EG (ethylene glycol) 6%. Research variables include: motility, viability, abnormalities and survival (DTH) of spermatozoa. The results showed that T2 treatment at the 60th hour produced duroc pig spermatozoa quality that was significantly different ($P < 0,05$) from other treatments, with motility of $44,40 \pm 1,51\%$, viability of $47,63 \pm 3,24\%$, abnormality $5,27 \pm 0,75\%$, and spermatozoa survival $65,62 \pm 1,91$ hours. It was concluded that the addition of 4% ethylene glycol in the spermax-egg yolk diluent provided a good response in maintained the quality of duroc pig spermatozoa for up to 60 hours of storage.

Keywords: Duroc Pig, Ethylene Glycol, Egg Yolk, Spermatozoa, Spermax.

PENDAHULUAN

Peternakan babi merupakan salah satu sektor peternakan yang memberikan pengaruh terhadap peningkatan ekonomi bagi masyarakat di Nusa Tenggara Timur. Pemeliharaan ternak babi digunakan untuk pemenuhan kebutuhan akan daging babi dan untuk keperluan acara adat. Namun, jenis usaha peternakan babi di Nusa Tenggara Timur (NTT) masih merupakan peternakan rakyat berskala kecil atau skala rumah tangga, dimana upaya untuk meningkatkan mutu genetik terutama populasi masih kurang diperhatikan. Usaha untuk meningkatkan produksi ternak babi dalam hal ini meningkatkan jumlah populasi dapat dilakukan dengan meningkatkan efisiensi reproduksi melalui teknik inseminasi buatan (IB) dengan menggunakan semen cair yang berasal dari semen babi pejantan superior, unggul, dan terpilih. (Sumardani et al., 2020) Volume semen babi bersifat voluminous

yakni volume yang tinggi mencapai 200-250 mL (Mere, et al., 2019). Namun, semen babi tidak dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama. Oleh karena itu perlu dilakukan pengenceran untuk dapat meningkatkan volume semen serta mempertahankan daya hidup spermatozoa dalam kurun waktu tertentu.

Bahan pengencer semen ini diharapkan mampu memenuhi kebutuhan kimiawi dan fisik spermatozoa sehingga dapat mempertahankan kualitasnya. Agar tidak terjadi hambatan dalam pergerakan spermatozoa dan tidak bersifat racun atau toksik maka diperlukan bahan pengencer yang mampu menyediakan sumber energi dan dapat menjadi penyangga atau buffer bagi spermatozoa. Secara umum pengencer alami yang biasa digunakan dalam pengenceran semen adalah kuning telur. Kuning telur diketahui mengandung asam amino, karbohidrat, vitamin untuk kebutuhan hidup spermatozoa (Siena et al., 2024). Kuning telur juga mengandung glukosa, protein, vitamin yang larut dalam air serta viskositasnya dapat menguntungkan bagi spermatozoa. Kuning telur yang ditambahkan pada pengencer semen terutama berperan sebagai sumber energi serta melindungi spermatozoa dari kejutan dingin. Penambahan kuning telur yang mengandung fosfolipid sebagai krioprotektan diharapkan dapat membantu mencegah terjadinya kerusakan membran spermatozoa babi (Manur et al., 2024).

Pengencer komersial yang umum digunakan sebagai pengencer adalah spermax. Spermax berfungsi sebagai sumber energi, mampu menjadi penyangga atau buffer, dapat mencegah pertumbuhan bakteri, melindungi sperma dari kerusakan osmotik dan fisik, serta mencegah kerusakan oksidatif pada sperma. Salah satu krioprotektan yang digunakan dalam penelitian ini adalah krioprotektan intraseluler seperti etilen glikol. Menurut Mohamad et al. (2005) menyatakan bahwa EG ($C_2H_6O_2$) memiliki bobot molekul yang lebih kecil dari krioprotektan yang lainnya yaitu sebesar 62,07 gr/mol. Dengan berat molekul yang lebih kecil, etilen glikol dengan mudah masuk dan keluar sel atau jaringan selama proses equilibrasi dan pencairan kembali. Selain itu, etilen glikol mempunyai kemampuan dalam mengikat air yang kuat, mencegah peningkatan konsentrasi yang ekstrim, mencegah terjadinya kristal es intraseluler sehingga mengurangi kerusakan yang terjadi akibat proses vitrifikasi. Etilen glikol diketahui memiliki efek toksik yang lebih rendah daripada krioprotektan yang lainnya.

Etilen glikol merupakan bahan kimia yang memiliki karakteristik seperti cairan jenuh, tidak berwarna, tidak berbau, dan larut sempurna dalam air serta memiliki viskositas yang rendah. Kandungan yang terdapat di dalam etilen glikol yaitu sukrosa dan asam amino berupa peptida (Zhang et al., 2015). Etilen glikol merupakan salah satu bahan kimia sebagai bahan baku yang jumlahnya belum mencukupi kebutuhan industri di Indonesia. Etilen glikol cocok digunakan sebagai krioprotektan untuk kriopreservasi embrio dan diaplikasikan pada kriopreservasi oosit. Dalam hasil penelitian Saputri dan Ipung (2021) menyatakan bahwa pemberian krioprotektan gliserol, dimetil sulfoksida, dan EG dengan konsentrasi 6% memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap nilai motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa sapi. Berdasarkan hasil penelitian tersebut peneliti telah melakukan penelitian menggunakan spermax-kuning telur dan etilen glikol pada ternak babi dengan judul “Pengaruh Level Etilen Glikol Dalam Pengencer Spermax-Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Duroc”.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan metode penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan lima ulangan sehingga terdapat dua puluh unit percobaan.

Ada beberapa perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini:

P0: Spermax-KT (kuning telur) 100 %

P1: P0 + EG (etilen glikol) 2%

P2: P0 + EG (etilen glikol) 4 %

P3: P0 + EG (etilen glikol) 6 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Babi Duroc

Semen segar yang digunakan pada penelitian ini adalah semen segar yang berasal dari babi jantan berjenis *duroc* yang berumur 2 tahun. Hasil penilaian semen segar merupakan langkah awal untuk menentukan kelayakan semen yang akan diproses lebih lanjut. Semen segar yang digunakan akan dinilai secara makroskopis berupa pengukuran volume, warna, konsistensi, pH semen dan dinilai secara mikroskopis meliputi persentase motilitas, viabilitas, konsentrasi, abnormalitas dan daya tahan hidup.

1. Kualitas makroskopis

Berikut adalah data hasil pemeriksaan semen segar yang digunakan pada penelitian yang di sajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik semen segar babi duroc

Karakteristik Semen	Nilai rata-rata ± Standar deviasi
Makroskopis	
Volume (mL)	207±13,03
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Encer
Derajat Keasaman (pH)	6,52±0,16
Mikroskopis	
Motilitas (%)	77,00±2,73
Viabilitas (%)	92,86±5,19
Konsentrasi (x10 ⁶ sel/mL)	268,40±23,74
Abnormalitas (%)	3,20±0,74

Volume semen babi bersifat *voluminous* yakni volume yang tinggi yaitu mencapai 200-250 mL, dengan motilitas spermatozoa di atas 60% (Mere *et al.*, 2019). Berdasarkan Tabel 1, terlihat bahwa rata-rata volume semen segar ternak babi yang diperoleh sebesar 207±13,03 mL. Hasil penelitian ini hampir sama dengan hasil penelitian Mere *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa rata-rata volume semen ternak babi berkisar 200-250 mL. Namun, lebih rendah dari hasil penelitian oleh Foeh *et al.*, (2019) yang melaporkan bahwa rata-rata volume semen berkisar 240-320 mL. Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya oleh Lawa *et al.*, (2021) yang melaporkan bahwa rata-rata volume semen segar ternak babi yang diperoleh 182,25±26,36 mL. Adanya perbedaan nilai motilitas spermatozoa pada ternak babi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis ternak, metode penampungan, umur ternak, pakan, lingkungan, dan kesehatan reproduksi ternak jantan. Menurut Sumardani *et al.* (2019) melaporkan bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi volume semen cair pada babi pejantan antara lain, pakan, suhu dan musim, frekuensi ejakulasi, penyakit libido, faktor fisik, pengangkutan ternak, umur, dan gerak badan.

Warna semen dapat dijadikan sebagai indikator untuk menduga konsentrasi spermatozoa yang berada di dalam semen secara cepat (Tethool *et al.*, 2022). Warna semen yang diamati selama penelitian ini dengan melakukan penampungan sebanyak lima kali dari satu ekor babi duroc adalah putih susu dengan konsentrasi encer. Hasil yang diperoleh sesuai dengan pendapat Foeh *et al.*, (2019) dan Mere *et al.*, (2019) yang

melaporkan bahwa warna semen babi adalah putih susu dengan konsentrasi encer sedangkan menurut Parera dan Lenda (2022) melaporkan bahwa dalam kondisi normal semakin pekat warna semen yang terlihat, maka semakin kental konsistensi semen tersebut.

Derajat keasaman (pH) semen sangat menentukan status kehidupan spermatozoa di dalam semen. Semakin rendah atau semakin tinggi (pH) semen dari pH normal akan membuat spermatozoa cepat mati. Derajat keasaman (pH) bervariasi tergantung spesies ternak. Derajat keasaman (pH) semen yang didapatkan selama penelitian ini adalah $6,52 \pm 0,16$. Hasil penelitian ini lebih rendah dari hasil penelitian Yusuf *et al.*, (2017) yaitu sebesar $6,72 \pm 0,10$ dan Marlize *et al.*, (2021) yaitu sebesar $6,62 \pm 0,15$ dan sangat berbeda dengan hasil penelitian Mere *et al.*, (2019) yang melaporkan kisaran pH berkisar 7,3-7,8. Perbedaan nilai pH dipengaruhi oleh perbedaan ras, perbedaan *complex buffer system* yang terdapat pada plasma semen (Toelihere, 1985). Semakin rendah atau semakin tinggi pH semen dari pH normal, dapat membuat spermatozoa lebih cepat mati (Tamoës *et al.*, 2017). Semakin lama semen disimpan maka pH akan meningkat disebabkan karena ketersediaan makanan dalam bahan pengencer semakin berkurang dan terjadi penurunan proses metabolisme menyebabkan peningkatan asam laktat dalam jumlah yang besar (Feka, 2018). Faktor-faktor yang mempengaruhi karakteristik semen segar secara makroskopis adalah kualitas pakan, umur pejantan, frekuensi ejakulasi, dan tingkat stimulasi saat proses penampungan (Foeh dan Gaina, 2017).

2. Kualitas Mikroskopis

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa nilai motilitas semen segar sebesar $77,00 \pm 2,73\%$. Semen segar babi duroc yang digunakan pada penelitian ini memiliki kondisi baik dengan persentase motilitas di atas 50%, konsentrasi spermatozoa di atas 200 juta sel/mL dan abnormalitas di bawah 20% (Patmawan *et al.*, 2020). Nilai motilitas yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian Kaka (2020) yang menyatakan bahwa motilitas semen babi sebesar $71,67 \pm 5,16\%$. Namun, hasil penelitian ini tidak berbeda jauh dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Banamtuan *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa motilitas spermatozoa sebesar $75 \pm 4,08\%$. Berbagai faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa antara lain ras, individu, umur, volume ejakulat, dan perubahan temperatur.

Persentase viabilitas spermatozoa dapat diamati dengan melihat perubahan pada spermatozoa. Spermatozoa yang mati teridentifikasi berwarna merah sedangkan yang hidup berwarna putih. Hasil penilaian viabilitas pada penelitian ini adalah sebesar $92,86 \pm 5,19\%$. Hasil penelitian ini jauh berbeda dengan hasil penelitian yang didapat oleh Parera dan Lenda, (2022) yang menyatakan bahwa persentase viabilitas spermatozoa babi adalah sebesar 98%. Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian Kaka (2020) yang melaporkan bahwa persentase viabilitas spermatozoa sebesar $79,19 \pm 5,85$. Persentase viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi dari motilitas spermatozoa dipengaruhi oleh adanya sebagian spermatozoa yang hidup bergerak progresif. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi persentase viabilitas spermatozoa adalah konsentrasi, motilitas, nilai pH.

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa konsentrasi spermatozoa ternak babi yang diperoleh dalam penelitian ini adalah $268,40 \pm 23,74 \times 10^6$ sel/mL. Hasil penelitian ini lebih rendah dari hasil penelitian Parera dan Lenda (2022) yang melaporkan bahwa konsentrasi spermatozoa yang didapat sebesar 300×10^6 sel/mL. Namun, hasil penelitian ini konsentrasi spermatozoanya lebih tinggi dari hasil penelitian Marlize *et al.*, (2019) yaitu $250,50 \pm 32,56 \times 10^6$ sel/mL. Adanya perbedaan-perbedaan tersebut disebabkan oleh

perbedaan bangsa ternak, umur, teknik penampungan, lingkungan dan pengolahan semen (Kaka, 2020). Perhitungan konsentrasi yang tepat bermanfaat untuk mengoptimalkan dan memperpanjang masa hidup spermatozoa dengan takaran penambahan bahan pengencer yang tepat. Penambahan bahan pengencer bertujuan untuk menurunkan konsentrasi spermatozoa sehingga dapat mempertahankan motilitas spermatozoa dalam waktu yang lama. Faktor yang mempengaruhi kualitas spermatozoa secara mikroskopis adalah genetik induk, jumlah ejakulat yang ditampung, jenis babi, pakan yang diberikan, dan temperatur (Foeh dan Gaina, 2017). Motilitas, konsentrasi, dan abnormalitas spermatozoa saling berkaitan dan dapat digunakan dalam menentukan kualitas spermatozoa karena berkaitan erat dengan kemampuan spermatozoa dalam fertilitas. Sifat biologis spermatozoa babi adalah tidak tahan sinar ultra violet, tidak tahan perubahan suhu, tidak tahan perubahan pH (osmotik), dan tidak tahan benturan (konstruksi fisik rapuh) (Sumardani *et al.*, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian dinyatakan bahwa semen segar memiliki kualitas baik karena memiliki nilai abnormalitas yang rendah dengan rata-rata $3,20 \pm 0,74\%$. Nilai normal abnormalitas spermatozoa adalah di bawah 20%. Abnormalitas spermatozoa dapat dikelompokkan dalam dua bentuk yaitu abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Bentuk abnormalitas primer meliputi bentuk abnormalitas double head. Spermatozoa double head merupakan bentuk kelainan spermatozoa yang memiliki dua buah kepala. Bentuk abnormalitas sekunder adalah coiled. Spermatozoa bentuk coiled merupakan kelainan bentuk ekor spermatozoa yang melingkar

Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan gerak maju spermatozoa ke depan dari spermatozoa secara progresif. Oleh karena tujuan akhir melakukan pengenceran adalah untuk kegiatan inseminasi buatan maka daya gerak spermatozoa secara progresif (maju ke depan) menjadi patokan yang mutlak diperhitungkan. Kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif memiliki hubungan yang positif terhadap tingkat fertilitas spermatozoa, dan oleh karena itu, penilaian motilitas digunakan sebagai ukuran kemampuan spermatozoa 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. Motilitas spermatozoa masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Motilitas spermatozoa babi duroc (%)

Jam Pengamatan	PERLAKUAN				P-Value
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	
0	77,00±2,73 ^a	77,00±2,73 ^a	77,00±2,73 ^a	77,00±2,73 ^a	1,00
12	63,00±2,82 ^a	67,20±2,58 ^{bc}	70,40±0,89 ^c	67,00±2,73 ^b	0,00
24	52,00±2,73 ^a	59,60±0,89 ^b	65,00±2,23 ^c	58,00±3,08 ^b	0,00
36	41,80±2,04 ^a	51,00±2,23 ^b	58,80±2,28 ^c	49,00±4,18 ^b	0,00
48	34,00±3,08 ^a	44,20±3,19 ^b	52,20±2,28 ^c	42,00±2,73 ^b	0,00
60	26,60±2,07 ^a	34,00±2,23 ^b	44,40±1,51 ^c	32,00±2,73 ^b	0,00
72	23,00±2,73 ^a	31,00±2,23 ^b	35,00±1,58 ^c	25,00±3,53 ^a	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) P_0 =Spermax-KT 100%; P_1 = P_0 +EG 2%; P_2 = P_0 +EG 4%; P_3 = P_0 +EG 6%.

Berdasarkan Tabel 2, motilitas spermatozoa yang diencerkan dengan bahan pengencer spermax-kuning telur dengan level etilen glikol 4% (P_2) dengan hasil terbaik yang bertahan sampai 60 jam penyimpanan yakni mencapai $44,40 \pm 1,51\%$ sehingga masih layak untuk melakukan inseminasi buatan, karena motilitas spermatozoanya berada di atas standar yang telah ditetapkan, yaitu 40%. Penambahan level etilen glikol dalam pengencer

spermax-kuning telur sebesar 4% pada perlakuan P_2 mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa sehingga mampu bertahan dari kejutan dingin dan mampu mencegah efek toksisitas yang dipengaruhi oleh dehidrasi berlebih dan terbentuknya es intraseluler. Menurut Mohamad *et al.* (2005) melaporkan bahwa berat molekul etilen glikol yang rendah (62,07 gr/mol) dapat memberikan efek yang menguntungkan berupa permeabilitas yang lebih tinggi. Dengan berat molekul yang lebih kecil, etilen glikol tidak kesulitan untuk masuk dan keluar sel atau jaringan selama proses pengenceran. Selain itu, etilen glikol memiliki kemampuan dalam mengikat air yang kuat, mencegah peningkatan konsentrasi yang ekstrim, serta mengurangi kerusakan membran sel.

Rataan nilai motilitas spermatozoa pada perlakuan P_0 , P_1 dan P_3 pada jam ke-60 sudah di bawah 40%. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh adanya kekurangan atau kelebihan fruktosa dan perbedaan kualitas *buffer* pengencer semen. Rendahnya nilai motilitas pada perlakuan P_0 dipengaruhi oleh nutrisi yang terdapat pada P_0 lebih rendah atau lebih sedikit yang hanya mengandalkan nutrisi yang berasal dari spermax-kuning telur serta tanpa adanya bahan pelindung yang dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa sedangkan rendahnya nilai motilitas pada P_1 dan P_3 walaupun ditambahkan dengan etilen glikol dapat disebabkan karena terjadinya toksisitas terhadap sel spermatozoa. Pada konsentrasi tertentu, etilen glikol dapat bersifat toksik terhadap sel spermatozoa. Meskipun digunakan dalam jumlah yang lebih tinggi untuk tujuan kriopreservasi, peningkatan konsentrasi etilen glikol dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel sperma, yang pada gilirannya mempengaruhi motilitas. Oleh karena itu, penting untuk menentukan konsentrasi yang optimal yang memberikan perlindungan yang maksimal tanpa memberikan efek samping negatif yang signifikan (Hezavehei *et al.*, 2018). Menurut Tamoies *et al.* (2017) bahwa spermatozoa mamalia kaya akan asam lemak tidak jenuh dan sangat mudah terkena *reaktive oxygen spesies* (ROS) yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa serta meningkatkan kerusakan morfologi yang berpengaruh terhadap kapasitas spermatozoa dan reaksi akrosom sehingga menyebabkan fungsi membran selnya menurun akibat fosfolipid pada membran sel direduksi, sehingga sel mengalami kerusakan permanen. Peroksidasi lemak pada membran plasma merupakan mekanisme kunci dari ROS yang mengakibatkan kerusakan spermatozoa dan infertilitas.

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada penyimpanan jam ke-0 tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) antara perlakuan. Fakta ini menunjukkan bahwa penambahan etilen glikol dalam pengencer spermax-kuning telur tidak akan merubah kondisi pengencer yang memiliki fisiologis yang sama dengan spermatozoa babi duroc. Namun, mulai jam ke-12 hingga jam ke-72 perlakuan berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kualitas spermatozoa. Pada pengamatan jam ke-12 sampai dengan pengamatan jam ke-72 terlihat bahwa persentase motilitas pada semua perlakuan menurun. Secara umum, adanya penurunan motilitas setelah penyimpanan yang lama dipengaruhi oleh berkurangnya zat makanan spermatozoa dan pengaruh zat toksik dari hasil metabolisme spermatozoa. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pada pengamatan jam ke-12, terlihat bahwa pada perlakuan P_1 tidak berbeda nyata ($P<0,05$) terhadap perlakuan P_2 dan P_3 , Namun, berbeda nyata ($P<0,05$) terhadap perlakuan P_0 . Pada pengamatan jam ke-24 sampai dengan jam ke-60, perlakuan P_1 tidak berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap perlakuan P_3 . Namun, berbeda nyata ($P<0,05$) terhadap P_0 dan P_2 . Lain halnya pada pengamatan jam ke-72, terlihat bahwa perlakuan P_0 tidak berbeda nyata

($P > 0,05$) dengan perlakuan P_3 . Namun berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan P_1 dan P_2 .

Secara umum, adanya penurunan motilitas spermatozoa setelah penyimpanan yang lama lebih dipengaruhi oleh menurunnya zat makanan spermatozoa dan pengaruh zat toksik hasil sampingan dari proses metabolisme spermatozoa (Fafo *et al.*, 2016). Penurunan motilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan oleh semakin berkurangnya zat-zat makanan di dalam pengencer, disamping itu spermatozoa mengalami cekaman dingin dan terjadinya perubahan pH akibat terbentuknya asam laktat di dalam bahan pengencer (Tamoës *et al.*, 2014). Adanya penurunan motilitas juga dapat disebabkan oleh adanya kejutan dingin dan peningkatan konsentrasi asam laktat. Menurut Tamoës *et al.* (2014) melaporkan bahwa pengaruh utama dari kejutan dingin terhadap sel spermatozoa adalah penurunan motilitas dan daya hidup, permeabilitas dan perubahan komponen lipid pada membran. Suasana asam yang disebabkan oleh penimbunan asam laktat menyebabkan kerusakan organel-organelnya sehingga metabolisme sebagai upaya untuk memperoleh energi terganggu. Berkurangnya metabolisme mengakibatkan berkurangnya energi yang dihasilkan dan akan menurunkan motilitas (Fafo *et al.*, 2016).

Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa

Tabel 3. Viabilitas spermatozoa babi duroc (%)

Jam Pengamatan	PERLAKUAN				P- Value
	P_0	P_1	P_2	P_3	
0	92,73±5,30 ^a	92,59±5,30 ^a	92,57±5,13 ^a	91,06±4,15 ^a	0,94
12	75,69±3,40 ^a	79,88±1,94 ^{bc}	82,70±0,96 ^c	78,99±1,79 ^b	0,00
24	61,35±2,02 ^a	67,24±2,27 ^b	72,40±1,52 ^c	66,73±2,79 ^b	0,00
36	52,43±3,54 ^a	61,36±3,59 ^b	67,95±3,23 ^c	58,73±2,08 ^b	0,00
48	41,35±2,73 ^a	51,49±1,95 ^b	59,30±4,30 ^c	49,83±3,18 ^b	0,00
60	32,09±3,85 ^a	42,25±2,97 ^b	51,68±1,71 ^c	40,52±3,02 ^b	0,00
72	25,62±5,18 ^a	37,64±4,67 ^b	47,63±3,24 ^c	28,78±5,21 ^a	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) P_0 =Spermax-KT 100%; P_1 = P_0 +EG 2%; P_2 = P_0 +EG 4%; P_3 = P_0 +EG 6%.

Dari Tabel 3, dapat dilihat bahwa setiap perlakuan mengalami penurunan viabilitas spermatozoa pasca pengenceran hingga 72 jam penyimpanan. Namun sama seperti pada penurunan motilitas, kecepatan penurunan viabilitas dari tiap perlakuan berbeda-beda. Hal ini mungkin disebabkan adanya kemampuan dari setiap pengencer yang berbeda dalam menyumbangkan zat-zat makanan yang dibutuhkan untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa dan dapat memperlambat penurunan derajat keasaman yang dipengaruhi oleh adanya aktivitas metabolisme spermatozoa.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rataan viabilitas sperma tertinggi setelah disimpan selama 72 jam terdapat pada perlakuan P_2 dengan level etilen glikol 4% yang mencapai 47,63±3,24% dan masih layak digunakan untuk keperluan inseminasi buatan sesuai dengan pendapat Bili *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa semen yang layak untuk inseminasi buatan (IB) harus memiliki persentase hidup di atas 40%. Hal ini disebabkan oleh komposisi spermax yang mengandung nutrisi berupa glukosa dan fruktosa yang berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa dan natrium bikarbonat yang berfungsi sebagai penyangga untuk menstabilkan pH untuk kelangsungan hidup spermatozoa serta memiliki zat antibiotik seperti gentamisin atau tiamulin yang berperan untuk mencegah pertumbuhan bakteri. Selain itu, etilen glikol yang bertindak sebagai krioprotektan yang paling mudah dan cepat menyerap air di dalam oosit sehingga dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa. Nilai persentase viabilitas biasanya lebih tinggi

dari persentase motilitas (Acharya *et al.*, 2020). Hal ini disebabkan karena permatozoa yaang tidak motil progresif tetapi sebenarnya masih hidup tidak akan menyerap warna dari larutan eosin yang digunakan. Persentase hidup ditandai oleh kepala berwarna putih (bening), sedangkan yang mati kepalanya berwarna merah atau merah muda karena menyerap zat pewarna.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa pada jam ke-0 tidak berbeda nyata ($P>0,05$) antara perlakuan. Sementara itu, pada jam ke-12, perlakuan P_1 tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap P_2 dan P_3 . Namun, berpengaruh nyata terhadap perlakuan P_0 . Pada pengamatan jam ke-24 sampai dengan jam ke-60, terlihat bahwa P_0 berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap perlakuan P_1 , P_2 , dan P_3 . namun P_1 tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap P_3 . Lain halnya pada pengamatan jam ke-72, terlihat bahwa perlakuan P_0 tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan P_3 . Namun, berpengaruh nyata terhadap perlakuan P_1 dan P_2 . Penurunan viabilitas spermatozoa yang terjadi secara perlahan dikarenakan kerusakan spermatozoa yang diawali dengan hilangnya motilitas, terganggunya aktivitas sel, rusaknya membran plasma dan terakhir adalah viabilitas spermatozoa yang rendah (Butta *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa evaluasi viabilitas pada jam pengamatan ke-72 memperoleh hasil yang lebih rendah pada perlakuan P_0 , P_1 , dan P_3 . Hal ini disebabkan oleh waktu penyimpanan dapat mempengaruhi viabilitas spermatozoa. Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa nilai viabilitas spermatozoa pada P_0 sangat rendah. Hal tersebut disebabkan karena pada P_0 tidak ada penambahan etilen glikol yang dapat memberikan perlindungan bagi spermatozoa. Sementara rendahnya viabilitas spermatozoa pada perlakuan P_1 , dan P_3 , disebabkan karena interaksi antara spermax-kuning telur dan etilen glikol belum optimal. Hal ini bisa mengurangi efektivitas perlindungan yang diberikan oleh kuning telur, sehingga spermatozoa lebih rentan terhadap kerusakan (Sariozkan *et al.*, 2010).

Rendahnya viabilitas spermatozoa tersebut, diduga disebabkan karena menurunnya kualitas pengencer yang semakin asam akibat pengaruh penimbunan asam laktat hasil proses metabolisme dan dipengaruhi oleh terbentuknya radikal bebas. Menurut Bili *et al.* (2023) menyatakan bahwa proses metabolisme secara normal akan menghasilkan radikal bebas. Reaksi radikal bebas dikenal dengan terbentuknya peroksidasi lipid yang menyebabkan terganggunya integritas membran plasma spermatozoa. Kerusakan membran plasma akan berlanjut pada bagian internal sel sehingga dapat menurunkan kualitas spermatozoa yaitu terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Membran plasma yang rusak dapat menghambat aktivitas metabolisme untuk motilitas dan pada akhirnya akan mempercepat kematian spermatozoa. Semakin tinggi atau semakin rendah penambahan pengencer spermax-kuning telur dengan etilen glikol semakin tinggi pula penurunan viabilitas spermatozoa. Hal ini disebabkan oleh semakin pekat atau kentalnya pengencer sehingga berakibat pada sulitnya spermatozoa bergerak. Jika larutan pengencer semakin pekat maka membutuhkan energi yang semakin banyak. Semakin tinggi penambahan etilen glikol dalam pengencer spermax-kuning telur maka derajat keasaman juga akan meningkat sehingga akan menyebabkan spermatozoa mati.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Tabel 4. Abnormalitas spermatozoa babi duroc (%)

Jam Pengamatan	PERLAKUAN				P- Value
	P_0	P_1	P_2	P_3	
0	3,23±1,00 ^a	3,33±0,97 ^a	3,13±0,89 ^a	3,38±0,82 ^a	0,97
12	3,57±0,92 ^a	3,64±0,98 ^a	3,51±0,88 ^a	3,67±0,83 ^a	0,99
24	3,86±0,96 ^a	3,95±0,99 ^a	3,81±0,80 ^a	3,98±0,83 ^a	0,98
36	4,10±0,97 ^a	4,20±0,98 ^a	4,10±0,73 ^a	4,26±0,83 ^a	0,98

48	4,35±0,97 ^a	4,54±0,93 ^a	4,40±0,81 ^a	4,87±0,96 ^a	0,80
60	4,65±1,01 ^a	4,78±0,93 ^a	4,67 ±0,81 ^a	5,01 ±0,85 ^a	0,92
72	5,06±1,28 ^a	5,28±0,75 ^a	5,27 ±0,75 ^a	5,52 ±0,67 ^a	0,88

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$) P_0 =Spermax-KT 100%; P_1 = P_0 +EG 2%; P_2 = P_0 +EG 4%; P_3 = P_0 +EG 6%.

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat berdampak terjadinya gangguan dan hambatan pada saat fertilitas, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan (Widiantoro *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan etilen glikol dalam pengencer spermax-kuning telur dapat meningkatkan abnormalitas spermatozoa babi duroc berdasarkan waktu pengamatan. Namun berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap abnormalitas spermatozoa babi duroc. Hal ini di duga bahwa semakin tinggi atau semakin rendah level etilen dalam pengencer spermax-kuning telur tidak memberikan pengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa babi duroc.

Persentase abnormalitas spermatozoa yang diperoleh dalam penelitian berkisar antara 3,13±0,89% sampai dengan 5,27±0,75%. Hal ini diduga karena penambahan etilen glikol dalam pengencer spermax kuning telur tidak mempengaruhi abnormalitas spermatozoa babi duroc, disebabkan karena etilen glikol yang berfungsi sebagai krioprotektan serta lipoprotein dan lesitin yang terkandung di dalam kuning telur mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung membrane plasma spermatozoa dari kejutan dingin. Faktor penyebab terjadinya abnormal sekunder kemungkinan karena penyimpanan pada suhu dingin ataupun pada saat pembuatan preparat ulas (Sholikah dan Susilowati, 2022). Abnormalitas spermatozoa terjadi diduga karena adanya tekanan yang keras pada saat penarikan preparat, pemanasan, dan mungkin terjadi karena terkontaminasi dengan urine, air atau kuman (Bili *et al.*, 2023).

Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Tabel 5. Daya tahan hidup spermatozoa babi duroc

Perlakuan	Waktu (jam)
P_0	37,36±1,63 ^a
P_1	40,63±0,54 ^b
P_2	65,62±1,91 ^d
P_3	50,00±2,82 ^c
P-Value	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata

($P<0,05$). P_0 =Spermax-KT 100%; P_1 = P_0 +EG 2%; P_2 = P_0 +EG 4%; P_3 = P_0 +EG 6%.

Hasil uji duncan menunjukkan bahwa daya hidup spermatozoa dengan penambahan level etilen glikol 4% dalam pengencer spermax-kuning telur yang terdapat pada perlakuan P_2 menghasilkan daya hidup yang lebih baik yaitu 65,62 jam penyimpanan dan berbeda nyata ($P<0,05$) dengan perlakuan lainnya. Persentase daya tahan hidup spermatozoa pada perlakuan P_0 lebih rendah dari perlakuan lainnya yaitu hanya mampu bertahan hidup hingga masa penyimpanan 37 jam. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki daya tahan hidup yang lebih lama dari penelitian (Koelima *et al.*, 2022) pengaruh lama ekuilibrisasi terhadap kualitas semen beku babi duroc dalam pengencer tris-modifikasi dengan penambahan krioprotektan mempunyai daya tahan hidup hingga 55,86±5,41 jam. Semen yang memiliki kualitas yang baik memiliki nilai motilitas di atas 40% (BSN 2023). Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan P_0 memiliki daya tahan hidup yang lebih rendah dari perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan

karena spermatozoa belum mendapatkan suplai nutrisi yang cukup yang terkandung di dalam spermax dan kuning telur sehingga spermatozoa tidak dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama. Spermatozoa yang belum cukup mendapatkan suplai nutrisi dan bahan pelindung dari kejutan dingin maka spermatozoa cenderung tidak dapat bertahan hidup dan cepat mati yang dipengaruhi oleh kehabisan energi karena hanya mengandalkan bahan-bahan yang terdapat di dalam plasma semen maupun di dalam sel spermatozoa seperti fruktosa dan plasmolagen yang ketersediaannya terbatas.

Penurunan daya tahan hidup spermatozoa diduga karena terbatasnya ketersediaan nutrisi untuk metabolisme yang akan dirombak menjadi energi sehingga dapat menurunkan nilai motilitas spermatozoa dan belum terjadinya proteksi spermatozoa yang optimal oleh etilen glikol terhadap cekaman dingin, akibat etilen glikol belum mampu menyerap secara optimal ke dalam sel spermatozoa serta spermatozoa belum mampu memanfaatkan spermax-kuning telur sebagai sumber energi dan sebagai krioprotektan ekstraseluler secara sempurna. Penurunan daya tahan hidup dengan penambahan level etilen glikol dalam pengencer spermax-kuning telur di duga dipengaruhi oleh pada perlakuan P_0 tidak ditambahkan krioprotektan etilen glikol sehingga tidak mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung membran plasma spermatozoa dari kejutan dingin. Spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH terutama pH rendah (Mumu, 2009). Hal ini juga akan berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa, penambahan level etilen glikol sebesar 4% dalam pengencer spermax-kuning telur memberikan respon yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi duroc, yaitu motilitas 44,40%, viabilitas 47,63%, abnormalitas 5,27,0,75% dan memiliki daya tahan hidup sampai jam ke- 65,62.

Saran

Perlu dilakukan aplikasi etilen glikol sebesar 4% dengan menggunakan pengencer spermax-kuning telur untuk menunjang keberhasilan dalam IB.

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, M., Burke, J. M., dan Rorie, R. W. 2020. Pengaruh Semen Extender dan Suhu Penyimpanan terhadap Motilitas Spermatozoa Ram. 14–30. <https://doi.org/10.4236/arsci.2020.81002>
- Banamtuan, A. N., Nalley, W. M., dan Hine, T. M. (2021). Kualitas Semen Cair Babi Duroc dalam Pengencer Durasperm yang Disuplementasi Air Buah Lontar dan Sari Tebu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(1), 41–48. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.1.41-48>
- Bili, H. K., Dethan, A. A., dan Tahuk, P. K. (2023). The effect of use of egg citrate-yellow threatener with young coconut water level on quality Spermatozoa of the sheep. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 5(1), 34–46. <https://doi.org/10.32938/jtast.v5i1.3271>
- Butta, C. A., Gaina, C. D., dan Foeh, N. D. (2021). Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur Ayam Kampung. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 4(1), 3-3.
- Fafo, M., Mata Hine, T., dan Nalley, M. (2016). Pengujian Efektivitas Ekstrak Daun Kelor dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Babi. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), 184–195.
- 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>

- Feka, W. V., Dethan, A. A., dan Beyleto, V. Y. (2016). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Viabilitas dan pH Semen Babi Landrace yang Diencerkan Menggunakan Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur. *JAS*, 1(3), 34-35.
- Foeh, N. D. F. K., dan Gaina, C. D. (2017). Sari Buah Lontar Sebagai Pengencer Alami dalam Mempertahankan Kualitas Spermatozoa Babi. *Kajian Veteriner*, 5, 52–58.
- Foeh, N., Gaina, C. D., Titong, A. P., Butta, C. A., dan Bei, M. S. (2019). Daya Tahan Spermatozoa dalam Semen Cair Babi Landrace Pada Metode Penyimpanan Berbeda. *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), 47-52.
- Henry, D., Ackerman, M., Sancelme, E., Finon, A., Esteve, E., Nwabudike, L. C., Brancato, L., Itescu, S., Skovron, M. L., Solomon, G., Winchester, R., Learning, M., Cookbook, R., Husain, Z., Reddy, B. Y., Schwartz, R. A., Brier, J., Neal, D. E., Feit, E. M., Rello, J. 2020. No Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 34(8), 709.e1-709.e9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2013.01.032>
- Johnson LA, Weitze KF, FiserP, Maxwell WMC. 2000. Storage of Boar Semen. *Anim Sci* 62: 143-172
- 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>
- Koelima, B. V., Belli, H. L., Kihe, J. N., dan Nalley, W. M. (2022). Pengaruh Lama Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Babi Duroc Dalam Pengencer Tris-Modifikasi Dengan Penambahan Krioprotektan (Effect of equilibration time on frozen sement quality of the duroc pig in tris diluents modification With..... *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), 92-100.
- Kurnia Wawang, S., Nalley, M., dan Mata Hine, T. (2024). Kualitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur dengan Substitusi Sari Buah Melon (*Cucumis melo* L). *COMSERVA: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 3(11), 4689–4699.
- Lawa, A. B., Hine, T. M., dan Nalley, W. M. (2021). Penganruh Penambahan Virgin Coconut Oil, Minyak Ikan dan Minyak Zaitun dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas Semen Cair Babi Landrace. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(2), 135–141. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.2.135-141>
- Manur, F. (2024). Pengaruh Substitusi Kuning Telur Bebek dalam Pengencer Semen Life Terhadap Kualitas Spermatozoa Babi Landrace. *COMSERVA: Jurnal Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat*, 3(12), 4928–4938. <https://doi.org/10.59141/comserva.v3i12.1278>
- Marlize, S., Hine, T. M., dan Nalley, W. M. (2021). Pengaruh Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas Semen Beku Babi Landrace Dalam Pengencer Durasperm Termodifikasi (Effect of equilibration time on the quality of landrace boar frozen semen in modified durasperm extender). *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(2), 150–160.
- Mere, C. Y. L., Gaina, C. D., dan Foeh, N. D. F. K. (2019). Air kelapa dan air buah lontar sebagai modifikasi pengencer alternatif pada semen babi landrace. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 2(2), 20–30. <http://ejurnal.undana.ac.id/JVN>
- Mohamad, K., Djuwita, I., Boediono, A., dan Supriatna, I. (2005). Vitrifikasi ovarium mencit menggunakan etilen glikol dan DMSO sebagai krioprotektan dan viabilitasnya pasca autotransplantasi di subkapsula ginjal. *Media Kedokteran Hewan*, 21(1).
- Mohamad, K., Djuwita, I., Boediono, A., dan Supriatna, I. (2005). Vitrifikasi ovarium mencit menggunakan etilen glikol dan DMSO sebagai krioprotektan dan viabilitasnya pasca autotransplantasi di subkapsula ginjal. *Media Kedokteran Hewan*, 21(1), 23–27.
- Mumu, M.I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental Yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol. *Journal Agroland* 16 (2): 172-179.
- Nahak, P. L., Dethan, A. A., dan Kia, K. W. (2022). Kualitas Semen Babi Landrace dalam Pengencer Semen Sitrat-Kuning Telur yang Ditambah Glukosa dengan Konsentrasi Berbeda. *Jas*, 7(1), 12–15.
- Nugroho, Y., Susilawati, T., dan Wahyuningsih, S. (2014). Kualitas semen Sapi Limousin selama pendinginan menggunakan pengencer CEP-2 dengan penambahan berbagai konsentrasi kuning telur dan sari buah jambu biji (*Psidium guajava*). *TERNAK TROPIKA Journal of*

- Tropical Animal Production, 15(1), 31-42.
- Parera, H. dan Ienda, V (2022). Motilitas Spermatozoa Babi Dalam Berbagai Modifikasi Pengencer yang Disimpan Pada Suhu 13°C Selama 4 Hari. In Prosiding Seminar Nasional Hasil-Hasil Penelitian (Vol. 5, No. 1).
- Patmawan, E. F., Gaina, C. D., dan Foeh, N. D. (2020). Morfologi abnormalitas spermatozoa babi landrace dan babi duroc dengan pewarnaan carbofuchsin. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 3(2), 113-119.
- Robert VK. 2006. Semen processing, extending and storage for 1artificial insemination in swine. Departement of Animal Science University of illinois
- Saputri, D. dan Ipung, R. 2021. Pengaruh krioprotektan gliserol, DMSO, dan EG terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa sapi. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan*, 10(4), 300-310.
- Sholikah, N., Susilowati, S., Tribudi, Y. A., dan Sulistyowati, D. (2022). Kualitas Semen Cair Kambing Boer dalam Pengencer Air Kelapa Muda dengan Penambahan Sari Kedelai. *Jurnal Veteriner*, 23(2), 202–210. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2022.23.2.202>
- Siena, S. M., Hine, T. M., Nalley, W. M., dan Marawali, A. (2024). Pengaruh Level Zink Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Angus (The Effect Of Zinc Level In The Tris Egg Yolk Extender On The Quality Of Angus Liquid Semen). *JURNAL NUKLEUS PETERNAKAN*, 11(1), 24-34.
- Sumardani, N. L. G., Budaarsa, K., Putri, T. I., dan Puger, A. W. (2019). Umur Memengaruhi Volume Semen dan Motilitas Spermatozoa Babi Landrace di Balai Inseminasi Buatan Baturiti, Tabanan, Bali (Age Affects Semen Volume dan Motility of Spermatozoa Landrace Boar's Of Baturiti Artificial Insemination Center, Tabanan, Bali). *Jurnal Veteriner*, 20(3), 324.
- Sumardani, N. L. G., Budaarsa, K., Putri, T. I., dan Puger, A. W. (2020). Kaji Banding Peningkatan Produksi Ternak Babi di Provinsi Bali Menggunakan Teknologi Inseminasi Buatan dan Kawin Alam. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 23(1), 35-38.
- Susilawati T. 2011. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi peranakan ongole. *Journal of Tropical Animal Production*, 12(2) : 15-24.
- Tamoes, J. A., Nalley, W. M., dan Hine, T. M. (2014). Fertilitas Spermatozoa Babi Landrace dalam Pengencer Modifikasi Zorlesco dengan Susu Kacang Kedelai. *Sains Peternakan*, 12(1), 20.
- Tethool, A. N., Ciptadi, G., Wahjuningsih, S., dan Susilawati, T. (2022). Karakteristik dan Jenis Pengencer Semen Sapi Bali: Suatu Review. *Jurnal Ilmu Peternakan Dan Veteriner Tropis (Journal of Tropical Animal and Veterinary Science)*, 12(1). <https://doi.org/10.46549/jipvet.v12i1.214>
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Widiantoro, K., Madyawati, S. P., Sardjito, T., Hernawati, T., Triana, I. N., dan Warsito, S. H. (2021). Kualitas post-thawing semen domba Merino dalam bahan pengencer berbasis susu skim-kuning telur yang ditambah isolat crude protein Tirosine Kinase. *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction*, 10(2), 39. <https://doi.org/10.20473/ovz.v10i2.2021.39-45>
- Yendraliza, P., Anwar, P., dan Rodiallah, M. (2015). Evaluasi semen. *Bioteknologi Reproduksi & Yogyakarta, Indonesia*, 2-23.
- Yusuf, T., Arifiantini, R., Dapawole, R., dan Nalley, W. (2017). Kualitas Semen Beku Babi dalam Pengencer Komersial yang Disuplementasi dengan Trehalosa (The Quality Of Boar Frozen Semen In Commercial Extender Supplemented With Trehalose). *Jurnal Veteriner*, 18(1), 69–75.
- Zhang, X., Zhang, Q., Zhang, Z., Chen, Y., Xie, Z., Wei, J., dan Zhou, Z. (2015). Rechargeable Li–CO₂ batteries with carbon nanotubes as air cathodes. *Chemical Communications*, 51(78), 14636-14639.