



Pengaruh Substitusi Sari Tebu (*Saccharum Officinarum*) dalam Pengencer Sitrat-Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Babi Landrace

(The Effect of Sugarcane Juice (*Saccharum officinarum*) Substitution in Citrate–Egg Yolk Diluent on the Quality of Frozen Semen of Landrace Boars)

Paskalis Baylon^{1*}, Wilmintje Marlene Nalley¹, Alvrado Bire Lawa¹, Petrus Kune¹

¹Fakultas Peternakan, Kelautan Dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana

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

*Penulis Korespondensi (delonbaylon17@gmail.com)

Dikirim (*received*): 6 Mei 2026; dinyatakan diterima (*accepted*): 25 Mei 2026; terbit (*published*): 31 Mei 2026.

Artikel ini dipublikasi secara daring pada

https://ejournal.unib.ac.id/index.php/buletin_pt/index

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of sugarcane juice substitution in a citrate–egg yolk diluent (CE-Y) on the quality of frozen semen of landrace boars. The semen used in this study was collected from four landrace boars aged between 2–2.5 years using the glove gland method. The study employed a Completely Randomized Design with five treatments and four replications, namely T0 = 100% S-KT + 0% sugarcane juice, T1 = 90% S-KT + 10% sugarcane juice, T2 = 80% S-KT + 20% sugarcane juice, T3 = 70% S-KT + 30% sugarcane juice, and T4 = 60% S-KT + 40% sugarcane juice. All treatments were supplemented with 6% glycerol. Semen was evaluated macroscopically and microscopically. After evaluation, a holding time of 2 hours was applied in S-KT diluent with a ratio of 1:1 at a temperature of 24–26°C. The semen was then centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes. The pellet was diluted using a base diluent and then distributed into tubes containing the treatment diluent. The semen was packaged in 0.5 mL straws and equilibrated for 2 hours at 3–5°C. After equilibration, the straws were frozen at a distance of 10 cm above the surface of liquid nitrogen for 10 minutes. The straws were then plunged into liquid nitrogen and stored in a liquid nitrogen container. Thawing was carried out by immersing the frozen semen straws in warm water at 37°C for 30 seconds. After dilution and equilibration, sperm quality was evaluated based on motility, viability, and abnormalities. Post-thaw evaluation included motility, viability, abnormalities, and recovery rate. All obtained data were analyzed using SPSS 27.0. The results showed that sugarcane juice substitution had no significant effect ($P>0.05$) on motility, viability, abnormalities, and RR. It was concluded that the substitution of sugarcane juice with the addition of citrate–egg yolk diluent did not affect the quality of frozen spermatozoa of landrace boars at the stages of post-dilution, post-equilibration, and post-thawing.

Key words: Citrate Egg Yolk, Frozen Semen, Landrace Boar Semen, Sugarcane Juice, Semen Quality.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh substitusi sari tebu dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) terhadap kualitas semen beku babi landrace. Semen yang digunakan berasal dari 4 ekor babi landrace dengan kisaran umur 2-2,5 tahun yang ditampung menggunakan teknik glove gland method. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, yakni P0=100% S-KT +0% sari tebu, P1= 90% S-KT+10% sari tebu, P2= 80% S-KT+ 20% sari tebu, P3= 70% S-KT+30% sari tebu, dan P4= 60% S-KT+40% sari tebu. Semua perlakuan ditambahkan dengan gliserol 6%. Semen dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis, setelah dievaluasi dilakukan holding time selama 2 jam dalam pengencer S-KT dengan perbandingan 1:1 dengan suhu 24-26oC. Kemudian disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit, selanjutnya pelet diencerkan menggunakan

pengencer dasar, kemudian dibagikan ke setiap tabung yang berisi pengencer perlakuan. Selanjutnya semen dikemas dalam straw 0,5 mL diekuilibrasikan selama 2 jam pada suhu 3-5°C. Setelah ekuilibrasikan straw-straw dibekukan dengan jarak 10 cm dari permukaan N₂ cair selama 10 menit. Kemudian straw dicemplung dalam N₂ cair dan disimpan dalam container nitrogen cair. Thawing dilakukan dengan merendam straw semen beku di air hangat dengan suhu 37°C selama 30 detik. Setelah pengenceran, ekuilibrasikan di evaluasi terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas dan pasca pencairan diuji motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan recovery rate. Seluruh data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS 27.0. Hasil penelitian menunjukkan bahwa substitusi sari tebu tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan RR. Disimpulkan bahwa substitusi sari tebu dengan penambahan pengencer S-KT belum dapat melindungi spermatozoa beku babi landrace.

Kata kunci: Kualitas Semen, Sari Tebu, Sitrat-Kuning Telur, Semen Babi Landrace, Semen Beku

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) berperan penting dalam meningkatkan mutu genetik dan efisiensi reproduksi, merupakan suatu cara untuk memasukan mani (spermatozoa atau semen) ternak jantan ke dalam saluran kelamin betina dengan menggunakan metode dan alat khusus yang disebut *insemination gun* (Afianti, 2013). Semen beku memiliki keunggulan dalam memaksimalkan penggunaan pejantan dan mengawetkan spermatozoa dalam waktu yang lama. Namun demikian, proses pembekuan dan pencairan (*thawing*) semen dapat menyebabkan penurunan kualitas spermatozoa. Kerusakan tersebut umumnya disebabkan oleh *cold shock*, perubahan tekanan osmotik, serta pembentukan kristal es yang dapat merusak membran plasma spermatozoa. Akibatnya, motilitas, viabilitas, dan integritas membran spermatozoa dapat menurun, sehingga berdampak pada rendahnya tingkat keberhasilan IB. Untuk mengurangi terjadinya penurunan ini, diperlukan bahan pengencer yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia selama proses pendinginan, pembekuan maupun pada saat *thawing* (Yusuf et al., 2017). Syarat bahan pengencer adalah harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, dapat memungkinkan spermatozoa bergerak secara progresif, tidak bersifat racun, menjadi penyangga, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin pada saat proses pembekuan semen (Malik, 2017).

Natrium sitrat-kuning telur merupakan penyangga yang mampu mempertahankan kestabilan pH pengencer, lipoprotein dan lesitin dari kuning telur dapat digunakan sebagai krioprotektan extraseluler yang berfungsi sebagai penyedia makanan, sumber energi, serta pelindung spermatozoa dari *cold shock* atau kejutan dingin (Dwitarizki et al., 2015). Selain pengencer dasar, gliserol merupakan krioprotektan permeabel yang dapat masuk ke dalam sel spermatozoa untuk mengikat sebagian air bebas, sehingga kristal-kristal es yang terbentuk di dalam medium pengencer pada waktu pembekuan dapat dicegah (Azizah dan Arifiantini, 2009). Gliserol akan memberikan perlindungan yang efektif terhadap spermatozoa bila konsentrasinya di dalam pengencer optimal, dan bila tidak optimal akan menimbulkan gangguan pada spermatozoa berupa penurunan kualitas spermatozoa. Pengencer sitrat-kuning telur yang dikombinasikan dengan gliserol masih membutuhkan sumber energi tambahan untuk menunjang keberlangsungan kehidupan spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan maupun pencairan (*thawing*). Salah-satu sumber energi yang mudah dijangkau ialah sari tebu.

Sari tebu merupakan salah satu bahan pengencer yang memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi. Erwinda et al.

(2014), melaporkan bahwa kandungan sukrosa (18,08%) dalam air tebu merupakan yang paling tinggi diantara kandungan gula invers lainnya (0,54%). Sukrosa dalam air tebu dapat berfungsi sebagai sumber energi sekaligus sebagai krioprotektan ekstraseluler terhadap perubahan suhu, sehingga dapat melindungi spermatozoa selama proses pengolahan semen cair maupun semen beku. Penggunaan air tebu sebagai bahan pengencer didukung oleh penelitian Arsyad *at al.* (2021) melaporkan penggunaan air tebu 20% dapat ditambahkan dalam pengencer ringer laktat kuning telur untuk mempertahankan motilitas total dan motilitas progresif spermatozoa ayam hutan merah selama penyimpanan 24 jam, penelitian dari Bardan *at al.* (2009) menunjukkan penggunaan air tebu 30% hingga 40% dengan kombinasi kuning telur dapat mempertahankan motilitas, daya tahan hidup dan membran plasma utuh spermatozoa yang disimpan pada suhu 5°C hingga 96 jam.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan di lapangan Laboratorium Happy Farm, Tilog Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur selama 6 minggu yang dibagi dalam periode persiapan dan periode pengumpulan data.

Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan semen segar yang diperoleh dari empat ekor babi pejantan landrace yang telah dewasa kelamin dengan umur berkisar 2-2,5 tahun. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yakni Semen segar babi landrace, pengencer semen sitrat, kuning telur ayam ras, air tebu, gliserol, antibiotik (*penicilin* dan *streptomycin*), bahan pewarnaan spermatozoa eosin 2,0%, aquades, dan alkohol 70%.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap dengan 5 kali perlakuan yaitu P0 = 100% Sitrat-kuning telur (S-KT) + 0% Sari Tebu (ST); P1 = 90% S-KT+ ST 10% +; P2 = 80% S-KT + ST 20%; P3 = 70% S-KT + ST 30%; dan P4 = 60% S-KT + ST 40% dan 4 kali ulangan dalam pengencer Sitrat-kuning telur sebagai pengencer dasar dengan penambahan 6% gliserol pada semua perlakuan.

Penyiapan sari tebu

Tebu yang digunakan untuk bahan pengencer adalah tebu yang berwarna kuning, umur muda, sehat, dan bersih. Sebelum dikupas dan diblender, batang tebu dibersihkan terlebih dahulu menggunakan air, kemudian dilap kering menggunakan tisu dan dikupas serta dibelah menjadi beberapa bagian agar mudah diblender. Setelah batang tebu diblender, airnya disaring agar terpisah dari ampasnya. Sari tebu yang telah disaring dimasukan ke dalam tabung perlakuan kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan sarinya, supernatan diambil dan sari tebu siap digunakan.

Penyiapan kuning telur

Telur yang tersedia dibersihkan dengan menggunakan kapas yang telah dibasahi oleh alkohol 70%, kemudian telur dipecahkan pada bagian yang lancip atau sudut yang runcing. Tuangkan semua putih telur dan pisahkan dari kuningnya. Kuning telur yang masih terbungkus dengan selaput vitelinya diletakan diatas kertas saring, kemudian dimiringkan dan berputar secara perlahan sampai semua putih telur terserap habis. Pecahkan selaput vitelinnya, lalu tuangkan kuning telurnya ke dalam gelas ukur dan di tutup dengan kertas aluminium. Kuning telur siap digunakan sesuai kebutuhan.

Penyiapan sitrat-kuning telur

Timbangkan natrium sitrat sebanyak 2,9 gram lalu larutkan dalam 100 mL aquadest, kemudian tuangkan larutan penyanggah sitrat 80 mL dan kuning telur 20 mL ke dalam tabung erlemeyer dihomogenkan menggunakan stirrer yang dilengkapi dengan spin bar. Setelah kedua bahan tersebut dihomogenkan, tambahkan antibiotik penicillin 1000 IU/mL dan streptomycin 0,5 µg/mL (sebagai pengencer dasar) kemudian tambahkan krioprotektan gliserol 6% dan dihomogenkan, selanjutnya dibagi dalam 5 tabung sebagai pengencer perlakuan.

Pengenceran, pembekuan, dan penyimpanan

Semen berkualitas dibagi ke dalam satu tabung perlakuan yang telah terisi dengan pengencer dasar, dengan perbandingan 1:1 *holding time* pada suhu 24-26°C selama 2 jam. Selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Setelah sentrifus supernatan dibuang dan pellet diencerkan kembali dengan pengencer dasar, selanjutnya dibagi ke dalam 5 tabung perlakuan. Semen yang telah diencerkan dikemas dalam straw 0,5 mL, dengan konsentrasi 200 juta/0,5 mL, dilanjutkan kemas kemudian disusun dalam rak pembekuan dan diekuilibrasikan pada suhu 3-5°C selama dua jam, kemudian semen yang diekuilibrasikan dilakukan evaluasi. Setelah itu dilanjutkan dengan pra pembekuan semen sesuai perlakuan, kemudian semen disimpan dengan suhu $\pm$ -110°C di atas uap nitrogen cair pada jarak 10 cm selama 10 menit. Setelah waktu pra pembekuan, semen di simpan dalam N₂ cair. *Straw-straw* yang sudah beku dimasukkan dalam goblet dan simpan dalam tabung yang berisi N₂ cair dengan suhu $\pm$ -196°C hingga kondisi pembekuan stabil. Evaluasi semen beku pasca pembekuan dilakukan minimal 24 jam setelah penyimpanan, dengan cara *straw* semen beku dicairkan kembali (*thawing*) dalam *waterbath* dengan suhu 37°C selama 30 detik. Setelah itu dilakukan pemeriksaan meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa.

Tahapan evaluasi semen

Pemeriksaan semen yang di peroleh dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis yang bertujuan untuk mengetahui kualitas semen yang dihasilkan sebagai uji layak atau tidaknya untuk dilanjutkan ketahap pembekuan semen. Evaluasi semen segar secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH, dan evaluasi secara mikroskopis meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas, konsentrasi spermatozoa.

Variabel Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan *recovery rate*, yaitu :

1. Motilitas spermatozoa adalah kemampuan sperma untuk bergerak maju secara progresif. Perhitungan motilitas dilakukan untuk mengetahui spermatozoa yang hidup dan yang mati. Spermatozoa yang tidak menunjukkan pergerakan maju atau hanya bergerak di tempat itu disebut sebagai spermatozoa mati, sementara spermatozoa yang memperlihatkan pergerakan progresif menunjukkan sperma yang hidup. Penilaian motilitas dilakukan secara subjektif dengan memperkirakan persentase sperma yang bergerak progresif dalam sepuluh bidang pandang mikroskop, dengan rentang nilai 0-100% dan interval skala 5%.
2. Viabilitas spermatozoa (%) dinilai dengan menggunakan metode pewarnaan eosin-negrosin. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan kepala tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa yang mati menyerap warna. Rumus perhitungan viabilitas spermatozoa adalah :

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

3. Abnormalitas spermatozoa (%) dinilai dengan menggunakan pewarnaan eosin nigrosin lalu diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Abnormalitas spermatozoa dapat dilihat dari bentuk morfologi pada bagian kepala, leher, dan ekor. Rumus perhitungan abnormalitas spermatozoa adalah :

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

4. *Recovery rate* spermatozoa merupakan kemampuan pemulihan spermatozoa setelah pembekuan dengan cara membandingkan motilitas spermatozoa pasca thawing dengan motilitas semen segar. *Recovery rate* merupakan salah satu indikator penting untuk menilai suatu keberhasilan dalam kriopreservasi semen. Selain itu, RR juga menunjukan efisiensi dari proses pembekuan yang dilakukan. Semakin tinggi nilai RR, mak proses pembekuan yang dilakukan semakin baik.

$$\text{Recovery Rate} = \frac{\text{Nilai motilitas pasca thawing}}{\text{Nilai motilitas semen segar}} \times 100\%$$

Analisis Data

Analisis data diawali dengan menghitung rata-rata dan standar deviasi kemudian dilanjutkan dengan Uji Analisis Of Variance (ANOVA) dengan menggunakan software SPSS. 27. Jika terdapat perbedaan dapat dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar Babi Landrace

Penilaian semen segar menggunakan dua metode penilaian yakni, penilaian secara mikroskopis dan makroskopis. Hasil pemeriksaan makroskopis dalam penelitian ini adalah volume semen $122,50 \pm 17,08$ mL,

berwarna putih, konsistensinya encer dengan pH $6,47 \pm 0,15$.

Tabel 1. Karakteristik semen babi landrace

Karakteristik semen	Nilai rata-rata
Makroskopis	
Volume (mL)	$122,50 \pm 17,07$
pH	$6,47 \pm 0,15$
Warna	Putih susu
Konsistensi	Encer
Mikroskopis	
Motilitas (%)	$82,50 \pm 2,88$
Viabilitas (%)	$93,81 \pm 2,17$
Abnormalitas (%)	$5,31 \pm 0,91$
Konsentrasi (10^6 sel/mL)	$243,50 \pm 37,11$

Hasil rata-rata volume semen pada penelitian ini cukup rendah bila dibandingkan dengan hasil yang telah dilakukan oleh Yusuf *et al.* (2017), melaporkan volume semen $254,80 \pm 44,50$ mL dan Nahak *et al.* (2022) melaporkan volume semen 200 mL. Namun, hasil yang diperoleh dalam penelitian ini masih tergolong normal sesuai dengan pernyataan dari (Arifiantini, 2012) bahwa volume normal semen segar adalah 100-300 mL. Johnson *et al.* (2000) menyatakan bahwa faktor yang memengaruhi volume, pH, warna, dan konsistensi adalah variasi umur, tingkat rangsangan, frekuensi ejakulasi, dan kualitas pakan. Warna semen yang diperoleh dalam penelitian ini adalah putih susu dengan konsistensi encer. Sedangkan pH dalam penelitian ini 6,47, ini masih tergolong normal yakni berkisar 6,4-7,8 (Nahak *et al.*, 2022).

Hasil pemeriksaan mikroskopis dalam penelitian ini menunjukan bahwa motilitas spermatozoa adalah 82,50%. Hasil ini lebih tinggi dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Mega *et al.* (2022) yang menunjukan bahwa nilai motilitas spermatozoa adalah 70,00% dan konsentrasi semen dalam penelitian ini adalah $243,50 \times 10^6$ sel/ml tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian dari Marlize

Tabel 2. Rata-rata nilai motilitas spermatozoa beku dengan berbagai level sari tebu

Perlakuan	Tahap Evaluasi (%)		
	Pasca Pengenceran	Pasca Ekuilibrase	Pasca Thawing
P0	81,25±2,28 ^a	77,50±2,04 ^a	25,00±7,88 ^a
P1	81,25±2,28 ^a	77,50±2,04 ^a	20,47±6,90 ^a
P2	81,25±2,28 ^a	77,50±2,04 ^a	22,82±4,11 ^a
P3	81,25±2,28 ^a	77,50±2,04 ^a	22,49±7,27 ^a
P4	81,25±2,28 ^a	77,50±2,04 ^a	19,65±3,54 ^a
P-value	1,00	1,00	0,28

Keterangan : ^a superskip yang sama pada baris yang sama menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P>0,05$). P0=S-KT+0% air tebu, P1=S-KT+10% air tebu+6% gliserol, P2=S-KT+20% air tebu+6% gliserol, P3=S-KT+30% air tebu+6% gliserol, dan P4=S-KT+ 40% air tebu+6% gliserol

et al. (2021) yakni konsentrasi $250,50 \times 10^6$ sel/mL.

Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa yang masih hidup dapat ditandai dengan bagian kepala sperma yang transparan atau tidak menyerap warna, sedangkan sperma yang sudah mati ditandai dengan bagian kepala sperma yang menyerap warna merah karena ada kerusakan membran sel dari spermatozoa itu sendiri. Nilai viabilitas dari hasil penelitian ini adalah 93,81% tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian dari Kii *et al.* (2025) serta lebih tinggi dari hasil penelitian Bebas dan Gorda (2020) yakni dengan nilai viabilitas 86,00%.

Abnormalitas pada sperma biasanya terjadi karena perubahan di bagian kepala, ekor, atau leher sperma. Rataan abnormalitas yang dihasilkan pada penelitian adalah 5,31%, rendahnya angka abnormalitas ini menunjukkan bahwa proses pembentukan spermatogenesis pada babi jantan berlangsung secara normal tanpa diganggu oleh faktor suhu dan lingkungan, pakan, dan status fisiologis.

Pengaruh Level Sari Tebu terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan parameter penting dalam penilaian kualitas semen karena hanya spermatozoa yang motil yang memiliki

kemampuan untuk mencapai dan membuahi ovum. Johnson *et al.* (2000) menyatakan motilitas berkorelasi erat dengan keberhasilan fertilisasi, terutama dalam program inseminasi buatan. Tabel 2 menunjukkan rata-rata nilai motilitas spermatozoa beku dengan berbagai level sari tebu

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa, tidak ditemukan perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P>0,05$) baik pada waktu pasca pengenceran, pasca ekuilibrase maupun *pasca Thawing*. Penurunan nilai motilitas untuk semua perlakuan pada pasca pengenceran ke pasca ekuilibrase sebesar 3,75%. Hal ini menunjukkan bahwa pengencer dasar S-KT+ Gliserol yang tanpa penambahan sari tebu maupun yang ditambahkan sari tebu masih mampu melindungi spermatozoa dari penurunan suhu pada saat ekuilibrase. Hal ini di dukung oleh pengencer S-KT memiliki bahan penyangga serta kandungan dari kuning telur lipoprotein dan lesitin yang dapat melindungi spermatozoa dari cekaman dingin. Selain itu, gliserol dengan konsentrasi 6% mampu melindungi spermatozoa dari proses pendinginan dan pembekuan. Gliserol berperan sebagai krioprotektan penetratif yang mampu

masuk ke dalam sel spermatozoa, menggantikan sebagian air intraseluler, serta menurunkan pembentukan kristal es yang dapat merusak membran selama pendinginan. Gliserol juga menjaga keseimbangan osmotik sehingga mencegah dehidrasi berlebihan dan mempertahankan integritas membran serta aktivitas metabolik yang berhubungan dengan motilitas. Temuan ini sejalan yang dilaporkan oleh Susiana *et al.* (2021) bahwa gliserol sebagai krioprotektan intraseluler dapat mempertahankan motilitas spermatozoa babi pada saat post thawing serta dapat mencegah kematian dari spermatozoa pada saat dibekukan. Gliserol akan masuk ke dalam membran plasma dengan jalan menyeimbangkan konsentrasi intra dan ekstraseluler. Akibatnya air yang tadinya keluar dari membran dengan cara eksoosmosis, akan masuk kembali ke dalam membran dan selanjutnya akan menyeimbangkan kandungan air intra dan ekstraseluler sama seperti sebelum ada gliserol (Widaningsih *et al.*, 2024)

Hasil evaluasi *pasca thawing* menunjukkan terjadinya penurunan motilitas yang sangat drastis dibandingkan dengan nilai motilitas pasca ekluibrasi yaitu P0: 25,00% P1: 20,47%, P2: 22,82%, P3: 22,49%, dan P4: 19,65%. Hal ini diduga penambahan sari tebu pada P1, P2, P3, dan P4 itu dapat meningkatkan tekanan osmotik serta dapat memicu stres oksidatif, yang berpotensi menyebabkan kerusakan pada membran serta mengurangi produksi energi (ATP). Situasi ini sejalan dengan temuan yang dilaporkan oleh Watson (2000) yang menunjukkan bahwa ketidakstabilan osmolaritas dan aktivitas antioksidan dapat mengakibatkan penurunan motilitas semen beku.

Perlakuan P0 (tanpa air tebu) menunjukkan motilitas tertinggi sebesar 25,00% diikuti P2= 22,82%, P1= 22,49%, dan P3= 20,47%, sedangkan P4 memiliki nilai terendah sebesar 19,65%. Tingginya nilai motilitas pada perlakuan P0 dibandingkan dengan perlakuan

lainnya itu mungkin pada P0 telah memiliki kandungan

yang ideal untuk mempertahankan kestabilan membran spermatozoa selama proses pembekuan dan pencairan. Sitrat berfungsi menjaga pH dan osmolaritas yang seimbang, sedangkan fosfolipid dari kuning telur berperan dalam melindungi membran dari kerusakan akibat *cold shock*. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh De Mercado *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa pengencer sitrat-kuning telur sangat efektif dalam menjaga integritas membran spermatozoa babi.

Nilai motilitas yang diperoleh dalam penelitian lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Bardan *et al.* (2009), yang menggunakan kombinasi pengencer air tebu dengan kuning telur pada penggunaan 30 % air tebu dan 20 % kuning telur dalam pengencer semen sapi bali yang menghasilkan motilitas 68.91% dan laporan Rahayu dan Ducha (2022) yang melaporkan nilai motilitas pada penggunaan air tebu 20% menghasilkan $30,08 \pm 0,16\%$ *after freezing* dalam pengencer CEP terhadap kualitas spermatozoa sapi friesian holstein selama penyimpanan beku.

Pengaruh Level Sari Tebu terhadap Viabilitas Spermatozoa

Pengukuran viabilitas spermatozoa sangat penting dilakukan untuk mengetahui persentase sel sperma yang masih hidup dan memiliki membran plasma yang utuh. Spermatozoa yang hidup memiliki membran plasma yang utuh, sedangkan spermatozoa yang mati mengalami kebocoran membran dan kehilangan kemampuan metabolik. Rerata nilai viabilitas dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa, tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P > 0,05$) baik pada tahap

Tabel 3. Rata-rata nilai viabilitas spermatozoa beku dengan berbagai level sari tebu

Perlakuan	Tahap Evaluasi (%)		
	Pasca Pengenceran	Pasca Ekuilibrase	Pasca Thawing
P0	91,22±1,50 ^a	87,90±1,76 ^a	43,56±11,28 ^a
P1	92,60±3,64 ^a	86,53±3,30 ^a	35,42±12,62 ^a
P2	91,49±2,04 ^a	87,11±2,48 ^a	40,11±9,57 ^a
P3	91,98±2,93 ^a	88,22±3,07 ^a	37,48±14,07 ^a
P4	91,71±2,6 ^a	87,44±1,97 ^a	34,43±9,74 ^a
P-value	0,54	0,41	0,33

Keterangan : ^a superskip yang sama pada baris yang sama menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P>0,05$). P0=S-KT+0% air tebu, P1=S-KT+10% air tebu+6% gliserol, P2=S-KT+20% air tebu+6% gliserol, P3=S-KT+30% air tebu+6% gliserol, dan P4=S-KT+ 40% air tebu+6% gliserol.

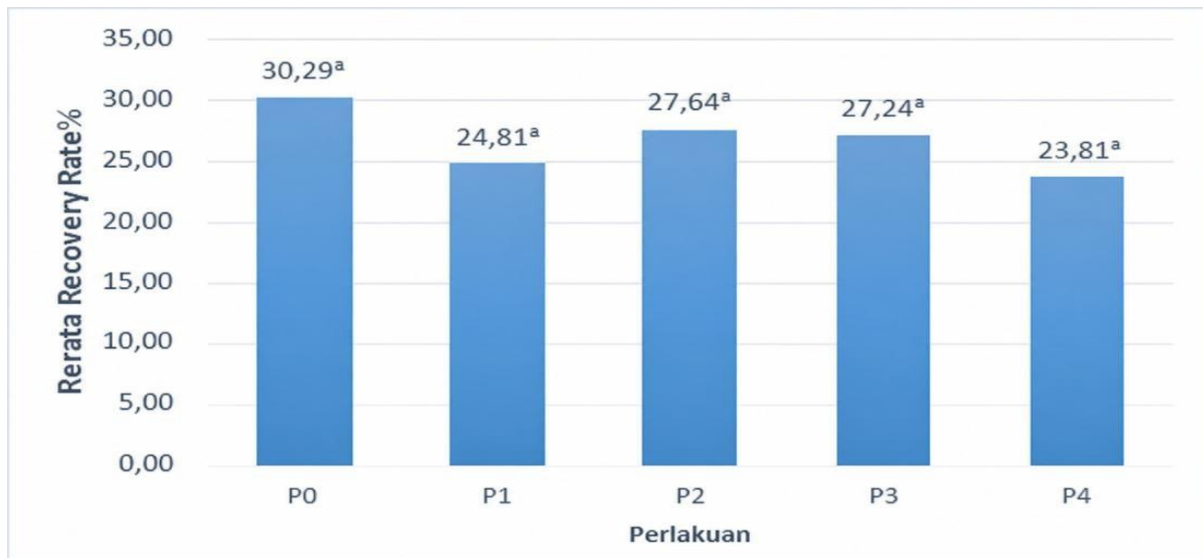
Tabel 4. Rata-rata nilai abnormalitas spermatozoa beku dalam berbagai level sari

Perlakuan	Tahap Evaluasi (%)		
	Pasca Pengenceran	Pasca Ekuilibrase	Pasca Thawing
P0	5,60±1,25 ^a	6,22±1,09 ^a	13,72±2,05 ^{ab}
P1	5,41±0,99 ^a	6,13±1,12 ^a	13,38±2,02 ^{ab}
P2	6,09±0,91 ^a	6,78±0,79 ^a	13,56±1,02 ^{ab}
P3	6,02±1,26 ^a	7,27±0,83 ^a	12,19±1,56 ^b
P4	5,68±0,99 ^a	6,62±1,19 ^a	15,09±0,42 ^a
P-value	0,43	0,16	0,16

Keterangan : ^{a b c} superskip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P<0,05$). P0=S-KT+0% air tebu, P1=S-KT+10% air tebu+6% gliserol, P2=S-KT+20% air tebu+6% gliserol, P3=S-KT+30% air tebu+6% gliserol, dan P4=S-KT+ 40% air tebu+6%

pasca pengenceran, pasca ekuilibrase maupun pasca thawing. Pada tahap pengenceran terlihat bahwa nilai dari setiap perlakuan tidak ditemukan perbedaan, hal ini menunjukkan bahwa pada tahap ini pengencer dasar S-KT dan gliserol 6% mampu mempertahankan kehidupan spermatozoa. Temuan ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Wu *et al.* (2019) menyatakan bahwa sperma dari babi landrace biasanya menunjukkan tingkat viabilitas yang tinggi setelah dilakukan proses pengenceran, hal ini disebabkan oleh karakteristik fisiologis semen yang mampu bertahan terhadap perubahan media. Terlihat lagi penurunan nilai viabilitas dari tahap pengenceran ke tahap ekuilibrase dan

penurunannya tidak terlalu besar, kejadian ini menandakan bahwa spermatozoa mengalami stres dingin, namun spermatozoa masih dalam tahap beradaptasi dengan bahan pengencer, serta perubahan kondisi selama tahap ekuilibrase berlangsung. Meskipun terlihat ada penurunan, nilai viabilitas ini masih tergolong normal yakni $<80\%$ (Ax *et al.*, 2000). Selanjutnya, jika dibandingkan persentase motilitas dan persentase viabilitas spermatozoa, pada umumnya viabilitas cenderung lebih tinggi daripada motilitas karena jumlah spermatozoa yang hidup belum tentu semua motil



Keterangan : ^a superskip yang sama pada baris yang sama menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan ($P > 0,05$). P0=S-KT+0% air tebu, P1=S-KT+10% air tebu+6% gliserol, P2=S-KT+20% air tebu+6% gliserol, P3=S-KT+30% air tebu+6% gliserol, dan P4=S-KT+ 40% air tebu+6% gliserol

Gambar 1. *Recovery rate* spermatozoa babi landarce

progresif (Dede et al., 2025).

Evaluasi pasca thawing menunjukkan bahwa terjadi penurunan viabilitas dari pasca ekuilibrasi yang sangat drastis yaitu P0: 43,56%, P1: 35,42%, P2: 40,11%, P3: 37,48%, dan P4: 34,43%. Hal ini diduga karena penambahan sari tebu pada setiap perlakuan menyebabkan peningkatan kadar gula sederhana yang meningkatkan tekanan osmotik pada pengencer, sehingga mengakibatkan dehidrasi sel dan membuat membran lebih rentan rusak. Di samping itu, senyawa fenolik dalam sari tebu pada konsentrasi tinggi dapat bersifat prooksidatif saat pembekuan dan pencairan, yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan pada membran spermatozoa, sehingga banyak spermatozoa mengalami kematian setelah pencairan. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan sari tebu dalam konsentrasi tinggi tidak dapat bekerja sama dengan gliserol dan kuning telur dalam melindungi spermatozoa, bahkan dapat memperburuk stabilitas membran, sehingga mengakibatkan kelangsungan hidup pasca pencairan yang lebih rendah.

Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi level sari tebu yang ditambahkan, viabilitas cenderung menurun. Kemungkinan disebabkan oleh meningkatnya osmolaritas larutan pengencer akibat kandungan gula pada sari tebu. Temuan ini sejalan yang dilaporkan oleh Yildiz et al. (2000) bahwa jenis dan jumlah gula yang ditambahkan ke dalam pengencer memengaruhi kualitas spermatozoa, dan kadar gula yang tinggi serta perubahan osmolaritas media dapat berdampak negatif terhadap viabilitas dan integritas sperma saat proses ekuilibrasi dan pembekuan berlangsung.

Penelitian ini tidak berbeda jauh dengan laporan Bebas dan Gorda (2020) melaporkan nilai viabilitas post thawing 40,80% pada penambahan gliserol 8% dalam pengencer astaxanthin fosfat kuning telur bebek terhadap kualitas semen beku babi. Penelitian ini juga lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan oleh Rahayu dan Ducha (2022) pada penggunaan sari tebu 15% menghasilkan

nilai viabilitas after freezing 37,98% dalam pengencer CEP terhadap kualitas spermatozoa sapi friesian holstein selama penyimpanan beku.

Pengaruh Level Sari Tebu terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa memiliki peran yang sangat penting karena spermatozoa yang tidak normal bisa memengaruhi kualitas spermatozoa yang akan digunakan saat IB. Penilaian terhadap abnormalitas spermatozoa merujuk pada bentuk morfologis yang tidak normal, baik pada kepala, bagian tengah (midpiece), maupun ekor, dan rerata nilai abnormalitas disajikan pada Tabel 4.

Evaluasi pasca thawing menunjukkan bahwa terjadi peningkatan nilai abnormalitas yang sangat tinggi mencapai 12,19%-15,09%. Peningkatan nilai ini terjadi saat proses pembekuan yang merusak membran plasma, midpiece, dan akrosom, diikuti dengan dehidrasi cepat saat thawing menyebabkan volume sel berubah secara mendadak sehingga membran menjadi rentan pecah dan deformasi pada kepala, midpiece, maupun ekor spermatozoa meningkat. Hal ini sejalan dengan laporan Sharafi *et al.* (2022) melaporkan pembekuan menyebabkan perubahan tekanan osmotik yang cepat saat thawing, dimana sel spermatozoa yang semula dehidrasi selama pembekuan akan cepat rehidrasi. Hal ini menyebabkan pembengkakan sel mendadak, rusaknya struktur membran, serta gangguan integritas kepala, midpiece, dan ekor. Selain itu, peningkatan radikal bebas (ROS) pasca thawing sangat memengaruhi kerusakan spermatozoa. ROS seperti superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil dihasilkan akibat gangguan mitokondria selama pembekuan, transisi fase lipid membran, serta reaktivasi metabolisme sel saat thawing (Aitken dan Curry, 2011). ROS berlebihan menyebabkan peroksidasi lipid membran, kerusakan DNA, dan kerusakan akrosom, yang secara langsung meningkatkan

abnormalitas morfologi dan menurunkan motilitas sperma. Pada umumnya, berbagai faktor dapat menyebabkan kelainan pada spermatozoa, termasuk faktor keturunan, tekanan (stres), suhu lingkungan, adanya penyakit, bahkan proses pembekuan semen itu sendiri (Nahak *et al.*, 2022).

Meskipun terjadi peningkatan yang sangat tinggi, akan tetapi nilai abnormalitas abnormalitas pada penelitian ini masih tergolong baik karena, SNI (2024) melaporkan bahwa abnormalitas spermatozoa dikatakan baik <20%. Nilai abnormalitas dalam penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian dari Tanii (2022) yang menggunakan pengencer ekstrak air tebu dalam sitrat-kuning telur yang menghasilkan nilai abnormalitas sebesar 6,37%, serta tidak berbeda jauh dengan penelitian dari Heros *et al.* (2021) yang mencatat 12,50% abnormalitas spermatozoa dengan pengencer kuning telur dan air kelapa hijau.

Pengaruh Level Sari Tebu terhadap Recovery Rate Spermatozoa

Recovery rate (RR) spermatozoa adalah kemampuan untuk memulihkan spermatozoa setelah melalui proses pembekuan dengan cara membandingkan motilitas spermatozoa *pasca thawing* dengan motilitas semen segar. *Recovery rate* adalah salah satu parameter yang sangat penting untuk mengevaluasi keberhasilan kriopreservasi semen. Selain itu, RR juga menggambarkan seberapa efektif proses pembekuan yang dilakukan. Semakin tinggi nilai RR, maka semakin baik proses pembekuan yang dilaksanakan. Rerata nilai RR dapat disajikan pada Gambar 1

Berdasarkan hasil analisis statistik terhadap nilai RR, diketahui bahwa penambahan sari tebu pada berbagai level 10%, 20%, 30%, dan 40% tidak

memberikan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) dibandingkan dengan perlakuan tanpa sari tebu (P0). Nilai RR tertinggi terdapat pada P0 (30,29%) dan nilai terendah terdapat pada P4 (23,81%), tingginya nilai RR pada P0 (tanpa Sari Tebu) dikarenakan kombinasi S-KT dengan gliserol masih bisa mempertahankan kelangsungan hidup spermatozoa. Kuning telur memberikan fosfolipid dan lipoprotein yang berfungsi melindungi membran dari kerusakan akibat paparan suhu rendah, sementara gliserol bertindak sebagai krioprotektan untuk mencegah pembentukan kristal es yang dapat merusak membran sel.

Rendahnya nilai RR pada perlakuan P1(24,81%), P2 (27,64%), P3 (27,24%), dan P4 (23,81%) dengan penambahan sari tebu, dikarenakan kandungan dari sari tebu belum cukup optimal dalam melindungi spermatozoa serta kandungan gula yang berlebihan meningkatkan tekanan osmotik pengencer. Tekanan osmotik yang terlalu tinggi dapat menyebabkan stres osmotik pada spermatozoa. Selain itu, viskositas pengencer yang meningkat pada konsentrasi gula tinggi dapat menghambat pergerakan spermatozoa dan meningkatkan kerusakan membran akibat rehidrasi *pasca thawing* (Bailey et al., 2000; Watson, 2000 dan Medeiros et al., 2002).

KESIMPULAN

Disimpulkan bahwa substitusi sari tebu dengan penambahan pengencer sitrat-kuning telur belum dapat melindungi spermatozoa beku babi landrace.

DAFTAR PUSTAKA

Aitken, R. J., dan B. J. Curry. 2011. Redox regulation of human sperm function: from the physiological control of sperm capacitation to the etiology of infertility and DNA damage in the germ line. *Journal of Clinical Investigation*, 14(3):367-381. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3186>

Arifiantini, R. I. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Ax, R. L. M., B. A. Dally, R. W. Didion, C. C. Lenz, D. D. Love, B. Varner, Hafez, dan M. E. Bellin. 2000. Semen evaluation. In: E. S. E. Hafez dan B. Hafez (Eds). *Reproduction in farm animals*. 7th Ed Williams dan Wilkins, USA <https://doi.org/10.1111/rda.13254>

Bailey, J. L., J. F. Bilodeau, dan N. Cormier. 2000. Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomenon. *Journal of Andrology*, 21(1):1-7. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2000.tb03268.x>

Bardan, B., F. Feradis, dan T. Adelina. 2009. Penggunaan air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur sebagai pengencer semen sapi bali. *Jurnal Peternakan*, 6(2):36-43. <http://dx.doi.org/10.24014/jupet.v6i2.371>

Bebas W, dan W. Gorda. 2020. Kadar krioprotektan gliserol dan dimethylsulfoxide terbaik pada pengencer astaxanthin fosfat kuning telur bebek terhadap kualitas semen beku babi. *Jurnal Veteriner*, 21(1): 115-123. [10.19087/jveteriner.2020.21.1.115](https://doi.org/10.19087/jveteriner.2020.21.1.115)

De Mercado, E., A. Rodríguez, E. Gómez, dan E. Sanz. 2010. Kriopreservasi spermatozoa babi Iberia. Perbandingan berbagai pengencer pembekuan berdasarkan kualitas sperma pasca pencairan. *Ilmu Reproduksi Hewan*, 118 (1):54-61. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.06.006>

Dede M. S, W. M. Nalley, A. Marawali, dan N. M. P. Setyani. 2025. Kualitas spermatozoa beku babi Landrace dalam pengencer sitrat-kuning telur dengan konsentrasi gliserol yang berbeda. *Jurnal Sains Peternakan*, 13(1):52-62. <https://doi.org/10.21067/jsp.v13i1.12169>

- Heros, M. N. L., W. Bebas, I. G. N. B. Trilaksana. 2021. Viability and motility of cemani rooster spermatozoa in egg yolks and green coconut water diluent at room temperature stored. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1): 116–124. <https://doi.org/10.19087/imv.2021.10.1.116>
- Johnson, L. A., K. F. Weitze, P. Fiser, dan W. M. C. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3):143-172. 10.1016/s0378-4320(00)00200-1
- Kii, M. B., T. M. Hine, Y. Y. Bette, dan W. M. Nalley. 2025. Evaluasi kualitas semen beku babi Landrace dalam pengencer sperma modifikasi dengan waktu pre-freezing yang berbeda. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 12(1):57-67. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v12i1.22385>
- Marlize, S., T. M. Hine, dan W. M. Nalley. 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>
- Medeiros, C. M. O., F. Forell, A. T. D. Oliveira, dan J. L. Rodrigues. 2002. Current status of sperm cryopreservation: Why isn't it better? *Theriogenology*, 57(1):327–344. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00674-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00674-4)
- Mega, M. G., W. M. Nalley, A. Marawali, dan H. L. Belli. 2022. Pengaruh perbedaan waktu ekuilibrasi terhadap kualitas semen beku babi landrace dalam pengencer durasperm modifikasi dengan air buah lontar. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1): 57-65. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i1.4988>
- Nahak, P. L., A. A. Dethan, dan K. W. Kia. 2022. Kualitas spermatozoa babi Landrace dalam pengencer spermatozoa sitrat-kuning telur yang ditambah glukosa dengan konsentrasi berbeda. *Jas*, 7(1) :12–15. <https://doi.org/10.32938/ja.v7i1.1593>
- Rahayu, J. D., N. dan Ducha. 2022. Pengaruh substitusi air tebu sebagai kandidat pengganti fruktosa dalam pengencer CEP terhadap mutu spermatozoa Sapi Friesian Holstein selama penyimpanan beku. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 10(2):209–231. <https://dx.doi.org/10.23960/jipt.v10i2.p209-231>
- Sharafi, M., S. M. Borghei-Rad, M. Hezavehei, A. Shahverdi, dan J. D. Benson. 2022. Cryopreservation of semen in domestic animals: A review of current challenges, applications, and prospective strategies. *Animals*, 12 (23):3271. <https://doi.org/10.3390/ani12233271>
- Solihati, N., R. Idi, S. D. Rasad, M. Rizal, dan M. Fitriati. 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. <http://journal.uinsgd.ac.id/index.php/biodjati>
- Standardisasi Nasional Indonesia. 2024. SNI 8034:2024 Semen Beku Babi. Informasi penetapan dapat diakses melalui BSIP Pertanian
- Susiana, S., U. Kalsum, dan S. Sumartono. 2021. Pengaruh berbagai konsentrasi gliserol pada pengencer skim kuning telur terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa beku sapi Limousin. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 3(2) : 98–104. <https://doi.org/10.33474/rekasatwa.v3i2.13133>
- Tanii, R. Y., A. A. Dethan, dan T. I. Purwantiningsih. 2022. Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dalam sitrat-kuning telur terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, serta

- pH semen sapi Bali. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1) : 56–65.
<https://doi.org/10.32938/jtast.v4i1.1098>
- Watson, P. F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60–61 : 481–492.
[https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00099-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3)
- Widaningsih, R., D. Widianingrum, dan R. Somanjaya. 2024. Kualitas spermatozoa dari semen beku sapi Pasundan post-thawing dengan jenis pengencer yang berbeda. *Tropical Livestock Science Journal*, 3(1) : 38–48.
<https://elibrary.ru/item.asp?id=74739049>
- Wu, Y., C. Wang, J. Tan, H.-K. Wei, H. Sun, dan J. Peng. 2019. Analisis regresi logistik faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas sperma dan morfologi sperma abnormal pada babi jantan. *Animals*, 9(12) : 1004.
<https://doi.org/10.3390/ani9121004>
- Yildiz, C., A. Kaya, M. Aksoy, dan T. Tekeli. 2000. Pengaruh suplementasi gula pada pengencer terhadap motilitas, viabilitas dan integritas akrosom spermatozoa anjing selama pembekuan. *Theriogenology*, 54(4) : 579–585.
[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00373-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00373-3)