



PENGARUH LAMA PENYIMPANAN PENGECER TRIS KUNING TELUR TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA SAPI SIMENTAL DI BIB BANYUMULEK PROVINSI NUSA TENGGARA BARAT

Maratun Janah^{1*}, Akbar Arifpansyah², Candra Dwi Atma³, Iwan Doddy Dharmawibawa⁴

^{1,2,3,4}Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Pendidikan Mandalika, Indonesia

*Email: maratun_janah@undikma.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.14109>

Submit: 01-12-2024; Revised: 27-12-2024; Accepted: 30-12-2024; Published: 30-12-2024

ABSTRAK: Tris kuning telur merupakan pengencer yang dapat digunakan untuk mempertahankan dan melindungi spermatozoa selama penyimpanan agar dapat digunakan dalam proses inseminasi buatan. Lama penyimpanan sangat mempengaruhi motilitas dan viabilitas spermatozoa dalam semen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan pengencer tris kuning telur terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi simental. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat pada bulan Juli sampai dengan Desember 2024. Penelitian pengaruh lama penyimpanan pengencer tris kuning telur terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi simental ini menggunakan metode eksperimental rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan dan enam kali ulangan. Masing-masing perlakuan yaitu P1, P2, P3, dan P4 dilakukan dengan mencampurkan 0,075 ml semen dan 0,3 ml pengencer tris kuning telur yang disimpan dengan waktu 24, 48, 72, dan 96 jam. Data yang diperoleh diolah dengan metode analisis ragam (ANOVA) dan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P1 dengan lama penyimpanan 24 jam menghasilkan nilai rata-rata motilitas dan viabilitas tertinggi yakni sebesar $63,33 \pm 6,055$ % untuk motilitas dan $63,50 \pm 6,892$ % untuk viabilitas spermatozoa. Perlakuan P4 dengan lama penyimpanan 96 jam masih menunjukkan nilai rata-rata yang baik dengan nilai motilitas sebesar $40,83 \pm 7,360$ % dan viabilitas spermatozoa sebesar $53,50 \pm 12,112$ %. Dengan demikian, tris kuning telur cocok digunakan sebagai pengencer semen untuk inseminasi buatan karena mampu mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa meskipun dalam waktu yang lama yaitu 96 jam.

Kata kunci: semen sapi simental, tris kuning telur, motilitas, viabilitas.

ABSTRACT: Tris yolk is a diluent that can be used to maintain and protect spermatozoa during storage so that they can be used in the process of artificial insemination. The length of storage greatly affects the motility and viability of spermatozoa in semen. The purpose of this study was to determine the effect of long storage of egg yolk tris diluent on the motility and viability of simental bovine spermatozoa. This research was carried out at the Banyumulek Artificial Insemination Center Laboratory, West Nusa Tenggara Province, from July to Desember 2024. The study of the effect of long storage of egg yolk tris diluent on the motility and viability of simental bovine spermatozoa used a randomized experimental method complete with four treatments and six repeats. Each treatment, namely P1, P2, P3, and P4, was carried out by mixing 0.075 ml of semen and 0.3 ml of egg yolk tris diluent stored for 24, 48, 72, and 96 hours. The data obtained were processed by variety analysis method (ANOVA) and Duncan's further test. The results showed that P1 treatment with a storage period of 24 hours resulted in the highest average motility and viability values of 63.33 ± 6.055 % for motility and 63.50 ± 6.892 % for spermatozoa viability. P4 treatment with a storage period of 96 hours still showed a good mean value with motility values of 40.83 ± 7.360 % and spermatozoa viability of 53.50 ± 12.112 %. Thus, egg yolk tris is suitable for use as a semen thinner for artificial insemination because it is able to maintain the motility and viability of spermatozoa even for a long time of 96 hours.

Keywords: simental cow semen, egg yolk tris, motility, viability.



How to Cite: Janah, M., Arifpansyah, A., Atma, C., & Dharmawibawa, I. (2024). Pengaruh Lama Penyimpanan Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Simental di BIB Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(2), 2726-2737. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i2.14109>



Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya geraknya yang di jadikan patokan atau cara yang paling sederhana dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan. Motilitas (pergerakan) spermatozoa terjadi karena adanya selubung mitokondria pada bagian tengah ekor spermatozoa yang berperan sebagai tempat sintesis energi untuk pergerakan (Feradis, 2010). Pergerakan ekor spermatozoa bergantung pada produksi ATP oleh mitokondria dengan sumber energi metabolisme berasal dari fruktosa yang terkandung dalam pengencer (Amaralat *et al.*, 2013).

Pengencer semen merupakan bahan-bahan yang digunakan untuk mempertahankan dan melindungi spermatozoa selama penyimpanan agar dapat digunakan dalam proses Inseminasi Buatan. Pengenceran semen dilakukan untuk mengurangi kepadatan dan menjaga kelangsungan hidup spermatozoa. Pengenceran merupakan tahapan kritis karena semen segar adalah barang rapuh dan tidak dapat tahan lama, maka dari itu diperlukan bahan pengencer yang mampu mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa yang lebih lama, mudah diperoleh, cepat, dan murah (Yusuf *at al*, 2006). Pengencer yang digunakan harus memiliki syarat-syarat tertentu untuk menjamin proses metabolisme dan respirasi spermatozoa tetap berlangsung dengan baik. Komponen yang harus dimiliki oleh pengencer adalah bersifat isotonik (280-310 mOsm/kg), kemampuan sebagai buffer (untuk mengatur pH), melindungi dari *cold shock*, sebagai sumber energi, mampu mengontrol kontaminasi mikroba, memberikan perlindungan selama pembekuan dan thawing serta mempertahankan kesuburan spermatozoa (Raheja *at al.*, 2018).

Tris Kuning telur sebagai pengencer mengandung asam amino dan berperan menjaga integritas selubung lipoprotein membran spermatozoa (Aboagla & Terada, 2004). Kandungan lainnya yang dimiliki kuning telur adalah karbohidrat, vitamin dan mineral yang berfungsi untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa. Senyawa lipoprotein dan lesitin yang terdapat di dalam kuning telur berperan untuk melindungi spermatozoa dari *cold shock*. Glukosa dan vitamin yang dimiliki kuning telur juga mudah larut dalam air, sehingga menguntungkan bagi spermatozoa (Tarig *at al.*, 2017).

Feradis (2010) menyatakan bahwa *cold shock* dapat mengakibatkan pergerakan mundur dan melingkar pada spermatozoa. Jika spermatozoa tersebut memiliki gerakan berayun atau berhenti bergerak maka dianggap mati. Standar Nasional Indonesia (SNI) mensyaratkan bahwa standar minimal motilitas untuk Inseminasi Buatan (IB) adalah 40%. Standar ini bertujuan untuk memberikan jaminan kepada konsumen dan produsen akan mutu benih semen beku sapi dan



meningkatkan produktivitas sapi di Indonesia (BSN, 2005). Berdasarkan uji lanjut Duncan yang dilakukan oleh Manehat *et.al* (2021) menunjukkan bahwa perlakuan dengan lama penyimpanan 24 jam tingkat motilitas spermatozoa masih tinggi karena spermatozoa masih banyak mendapatkan suplai makanan dari bahan pengencer, sedangkan apabila semakin lama semen cair ini disimpan maka motilitasnya semakin menurun.

Thomas *at al.*, 2019, melakukan penelitian pengenceran spermatozoa dengan menggunakan air kelapa yang di mana hasil penelitian menyimpulkan bahwa konsentrasi pelarut dalam pengencer AKm yang optimal untuk mempertahankan kualitas sperma beku sapi bali adalah 3%. Penelitian selanjutnya di lakukan oleh Fransiskus (2021), dengan menggunakan sari tebu dan kuning telur, hasil yang di peroleh dalam penggunaan pengencer sari tebu dan kuning telur berdampak positif karna mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa dalam waktu 96 jam. Penelitian yang di lakukan oleh (Agustinus *at al.*, 2022), menggunakan Tris kuning telur dengan penambahan Astaxanthin, dengan hasil yang di dapatkan dari penelitian tersebut adalah tris kuning telur dengan penambahan Astaxanthin sebagai pengencer terbaik yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan pengencer tris kuning telur terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Simental. Kuning telur dapat dijadikan bahan pengencer semen karena selain harganya yang murah dan mudah di dapat, kuning telur sendiri mempunyai banyak kandungan nutrisi diantaranya protein, vitamin, mineral, lemak di mana komponen ini juga ada pada semen dan dibutuhkan oleh spermatozoa.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu dilakukan empat perlakuan dengan enam kali ulangan. Populasi penelitian ini adalah sapi simental dengan sampel penelitian 4 ekor sapi simental dengan jenis kelamin jantan dengan umur 4 tahun dan berat badan rata- rata $\pm$ 500 kg.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli sampai Desember 2024 bertempat di Laboratorium BIB Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi kertas saring, timbangan analitik, batang pengaduk, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *object glass* dan *deck glass*, erlenmeyer, pipet tetes, pipet steril, *refrigerator*, *cool box*, bunsen, *handtally counter*, mikroskop, termometer, dan aluminium foil. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi sapi simental, kristal tris (*hydroxymethyl*) *aminomethane*, asam sitrat, telur, fruktosa, penisilin, streptomisin, akuabides, ky jelly, dan air hangat.

Preparasi Sampel

Persiapan awal yang dilakukan adalah menyiapkan sapi simental yang hendak ditampung semennya. Ternak jantan yang akan ditampung semennya terlebih dahulu distandarisasikan manajemen pakannya sehingga kualitas semen yang dihasilkan maksimal. Pakan yang diberikan berupa hijauan dan konsentrat dengan perbandingan 70 % : 30%.



Pembuatan Bahan Pengencer

Metode yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan pada metode yang dilakukan oleh Pratiwi (2015) dengan sedikit modifikasi. Larutan tris sebagai *buffer* dibuat dengan dimasukkan kristal tris (*hydroxymethyl*) *aminomethane* (3,634 g), asam sitrat (1,99 g), dan fruktosa (0,5 g) ke dalam tabung erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan 80 ml akuabides. Larutan antibiotik kemudian dibuat dengan dicampurkan penisilin (1 g) dan streptomisin (1 g), yang kemudian dilarutkan dalam 10 mL akuabides. Larutan *buffer* dan antibiotik diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan kuning telur ayam (20 ml) di setiap larutan campuran *buffer* antibiotik dan diaduk kembali hingga homogen.

Proses Persiapan Vagina Buatan

Proses persiapan vagina buatan dimulai dari pemasangan selongsong karet tipis ke dalam tabung luar kemudian ujung selongsong karet tipis ditarik ke kiri dan ke kanan lalu dipasang pada bibir tabung luar. Kedua ujung selongsong karet tipis kemudian dieratkan pada tabung luar menggunakan karet gelang, setelah itu pasang corong dari karet tipis disalah satu ujung dari tabung dan dieratkan dengan karet gelang, Tabung penampung dipasang di ujung corong karet tersebut dan dieratkan menggunakan karet gelang. Air hangat dengan suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ kemudian dimasukkan melalui lubang yang ada hingga penuh, setelah itu diisi udara dengan cara ditiup melalui lubang udara yang ada hingga vagina buatan keras dan rapat lalu oleskan ky jelly sebagai pelicin $\pm 3/4$ bagian tabung dan vagina buatan siap digunakan.

Proses Penampungan Semen

Sapi simental jantan yang akan ditampung semennya perlu dimandikan terlebih dahulu agar ternak jantan menjadi lebih segar. Penampungan semen dilakukan dengan cara sapi betina pemancing dimasukkan ke dalam kandang jepit. Kurang lebih satu jam sebelum ditampung semennya sapi simental jantan didekatkan ke betina pemancing untuk mempertinggi libido ternak jantan, sehingga kualitas dan kuantitas semen yang dihasilkan bisa maksimal. Jika sapi simental pertama kali naik, jangan langsung ditampung semennya, tetapi penis dibelokkan sehingga penis tidak masuk ke vagina betina pemancing dan akhirnya sapi simental akan turun dengan sendirinya. Penaikan untuk ketiga atau keempat kalinya, penampungan semen dilakukan dengan cara mengarahkan vagina buatan ke penis sapi simental hingga penis sapi simental masuk ke dalam vagina buatan dan mengeluarkan semen ke dalam vagina buatan tersebut.

Pengamatan Makroskopis

Pengamatan makroskopis yang dilakukan meliputi volume, warna, bau, pH, dan konsistensi semen.

Pengenceran Semen

Metode yang digunakan berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Manehat *et al*, 2021). Pengenceran semen dilakukan menggunakan 4 tabung reaksi, yang mana setiap tabung reaksi berisi campuran pengencer tris kuning telur dan semen segar dengan masing-masing perlakuan yaitu 0,3 ml pengencer dan 0,075 ml semen segar yang disimpan dalam *refrigerator* dengan variasi waktu 24, 48, 72, dan 96 jam. Langkah selanjutnya adalah mengevaluasi secara mikroskopis untuk mengetahui motilitas spermatozoa.



Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa merupakan jumlah spermatozoa yang hidup, mati maupun abnormal. Persentasi spermatozoa yang hidup dihitung dengan menggunakan mikroskop cahaya pada besaran objektif 400 kali. Evaluasi menggunakan zat pewarna eosin-negrosin. Spermatozoa yang hidup tidak berwarna sedangkan yang mati berwarna merah. Evaluasi menggunakan sistem skor 0 % sampai 100 % (Herdis, 2012).

Motilitas Massa Spermatozoa

Metode yang digunakan berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Novita *et al* (2019), yang mana motilitas massa spermatozoa diamati dengan cara meletakkan semen sebanyak satu tetes di atas objek glass tanpa ditutup cover glass kemudian diamati di bawah mikroskop perbesaran 100 kali.

Motilitas Individu

Penilaian motilitas individu diamati dengan mengambil satu tetes semen dan diletakkan di atas objek glass dan ditutup dengan *cover glass*, lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Motilitas individual yang normal adalah minimal motilitasnya 70%. Berdasarkan motilitas individual, maka penilaian terhadap kualitas spermatozoa adalah dengan skor 0-5.

Analisis Data

Data dari penelitian ini dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) satu arah dengan menggunakan *Software Statistical Package For The Social Sciences* (SPSS. 26), selanjutnya dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *General Linear Model (Repeated Measures)*. Apabila terdapat pengaruh yang nyata antar perlakuan maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan Semen Sapi Simental Sebelum Pengenceran

Hasil evaluasi semen segar sapi simental secara makroskopis menunjukkan bahwa volume sperma segar yang diperoleh yaitu berkisar antara 2-5 ml. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Hartanti *et al* (2012), yang mengatakan bahwa volume semen sapi normal berkisar 3,2-7,3 ml setiap ejakulasi. Volume sperma setiap ejakulasi ini berbeda-beda disebabkan oleh berbagai faktor seperti umur, suhu, bangsa, tingkatan makanan, frekuensi penampungan, ukuran testis, dan tubuh ternak.

Warna semen segar yang diperoleh adalah putih kuning dan putih susu. Hasil ini didukung oleh Seuk (2018) yang menyatakan bahwa semen sapi biasanya berwarna keputih-putihan atau krem dan ada beberapa jenis sapi yang semennya berwarna agak kuning. Warna semen putih susu masih dikatakan normal, hal ini didukung oleh pendapat Feradis (2010) bahwa semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh. Bau yang berdasarkan hasil penelitian adalah normal berbau khas sperma ternak. Hal ini sesuai dengan pendapat Nur (2019) yang menyatakan bahwa semen yang normal pada umumnya memiliki bau khas disertai dengan bau dari ternak itu sendiri. Bau tersebut menunjukkan semen tersebut dalam keadaan normal dan tidak terkontaminasi.

Konsistensi atau derajat kekentalan semen segar yang diperoleh termasuk dalam kategori sedang. Konsistensi sedang pada semen segar bangsa simmental

tergolong normal. Hal ini didukung oleh penelitian Adhyatma *et al* (2013) bahwa konsistensi sapi simmental dengan bobot badan yang berbeda memiliki konsistensi semen yang sedang, sehingga memiliki konsentrasi spermatozoa yang tinggi. Derajat keasaman atau pH semen segar yang diperoleh adalah 6,4 dan 6,7. Hasil ini sesuai dengan hasil yang diperoleh Mila *et al* (2021) yakni pH semen sapi berkisar antara 6,2-6,8. Derajat kesamaan sangat berpengaruh pada daya tahan hidup dari spermatozoa. Aisah *et al* (2017), menyatakan bahwa pH semen segar sapi simmental ini tergolong dalam keadaan normal karena berada pada kisaran 6,28- 7,0.

Hasil evaluasi semen segar sapi simmental secara mikroskopis menunjukkan bahwa konsentrasi sperma pada semen segar dari hasil penelitian ini mencapai 1.406,00 sel/ml. Hasil ini masih termasuk dalam kisaran normal sesuai dengan pernyataan Feradis (2010) yang menjelaskan bahwa konsistensi sedang hingga kental maka konsentrasi spermatozoa berkisar 1.000-2.000 Juta spermatozoa/ml. Gerakan massa semen segar sapi simmental yang diperoleh bergerak sangat baik dengan nilai +++, sedangkan gerakan individu yang diperoleh yaitu dengan skor 1-4. Rosnizar *et al* (2021) mengatakan bahwa spermatozoa yang berkualitas sangat baik mempunyai ciri-ciri gerakan massa dan motilitas dengan daya gerak yang progresif. Gerakan massa spermatozoa merupakan cerminan dari motilitas dan gerakan individu. Semakin aktif dan banyak spermatozoa yang bergerak kedepan, maka gerakan massa akan semakin baik dan membentuk gelombang tebal seperti awan hitam pekat, aktif dan cepat bergerak.

Ducha *et al* (2013) menyatakan bahwa persyaratan gerakan massa semen yang layak untuk ineseinasi buatan minimal ++. Motilitas semen segar yang diperoleh dalam penelitian ini rata-rata sebesar 63,33 %, yang mana nilai ini cukup tinggi dan dalam kisaran normal. Hasil ini didukung dengan pernyataan Muhammad *et al* (2016) bahwa motilitas individu semen segar yaitu berkisar antara 50-80 %. Berdasarkan hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis yang diperoleh, maka semen segar sapi simmental memiliki kualitas yang baik dan layak digunakan sebagai bahan perlakuan dalam penelitian.

Pemeriksaan Semen Sapi Simmental Setelah Pengenceran **Motilitas spermatozoa sapi simmental**



Gambar 1. Motilitas Spermatozoa Sapi Simmental dengan Pembesaran 400x

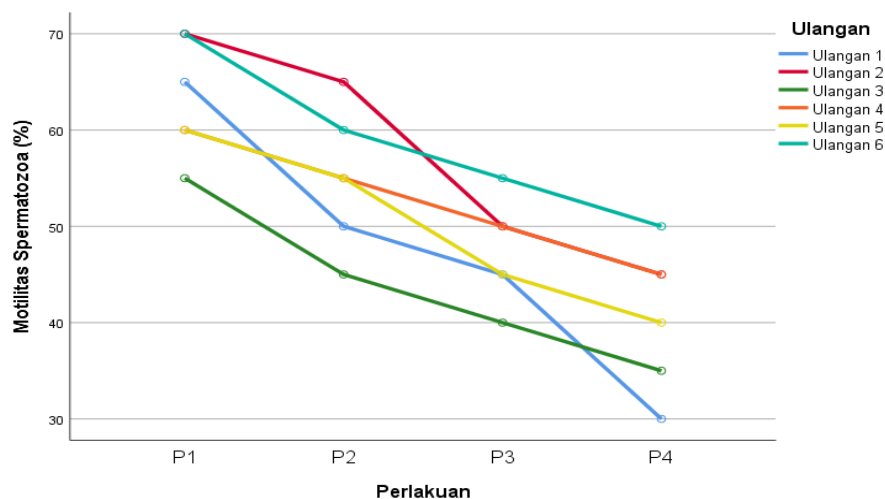
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil rata-rata motilitas spermatozoa sapi simmental yang telah diencerkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan dan Simpangan Baku Persentase Motilitas Spermatozoa Sapi Simental yang Telah Diencerkan.

$\bar{x} \pm SD$	PERLAKUAN (%)			
	P1	P2	P3	P4
	63,33±6,055 ^A	55,00±7,071 ^B	47,50±5,244 ^{BC}	40,83±7,360 ^C

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Hasil uji Duncan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan P1 (24 jam) menghasilkan motilitas spermatozoa sapi simental tertinggi yakni sebesar 63,33 % dan diikuti perlakuan P2 (48 jam) sebesar 55,00 %, perlakuan P3 (72 jam) sebesar 47,50 %, dan terendah pada perlakuan P4 (96 jam) sebesar 40,83 %. Grafik penurunan motilitas spermatozoa sapi simental yang diencerkan dengan tris kuning telur disajikan pada Gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Grafik Motilitas Spermatozoa Sapi Simental

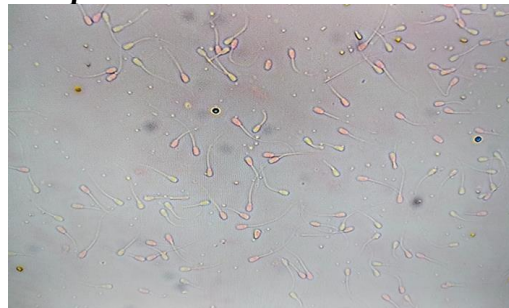
Hasil ini membuktikan bahwa pengencer tris kuning telur mampu mempertahankan kualitas motilitas spermatozoa selama proses penyimpanan. Hal tersebut karena komposisi pengencer lebih lengkap bila dibandingkan dengan pengencer lainnya, yakni bahan pengencer tris mengandung asam sitrat sebagai bahan penyangga dan fruktosa sebagai sumber energi sehingga dapat mencegah perubahan pH akibat asam laktat dan tekanan osmotik, serta melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*), sedangkan keberadaan kuning telur dalam pengencer dapat mempertahankan motilitas spermatozoa selama penyimpanan (Novita *et al.*, 2019). Hal ini didukung oleh penelitian Bergeron *et al* (2004) bahwa keberadaan kuning telur atau fraksi lipid kuning telur yaitu *low density lipoprotein* (LDL) dapat melindungi motilitas spermatozoa sapi selama penyimpanan.

Rata-rata motilitas spermatozoa dalam penelitian ini cenderung mengalami penurunan sesuai lama penyimpanan dalam perlakuan yang dikenakan. Perlakuan P1 dengan lama penyimpanan 24 jam menghasilkan nilai motilitas tertinggi karena spermatozoa masih banyak mendapatkan suplai makanan dari bahan pengencer tris kuning telur sehingga tingkat motilitas spermatozoa masih

tinggi (Manehat *et al.*, 2021). Perlakuan P2, P3, dan P4 menunjukkan persentase motilitas spermatozoa yang semakin menurun akibat dari perubahan kondisi larutan pengencer dan berkurangnya cadangan makanan yang tersedia di dalam semen sebagai sumber energi. Rosnizar *et al* (2021) menyatakan bahwa energi yang digunakan untuk motilitas spermatozoa ini berasal dari perombakan ATP (Adenosin tri fosfat) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi-reaksi penguraiannya menjadi ADP (adenosin difosfat) dan AMP (adenosin monofosfat), yang mana energi yang dihasilkan tersebut akan digunakan sebagai pergerakan spermatozoa.

Penurunan persentase motilitas spermatozoa seiring dengan bertambahnya aktu penyimpanan ini didukung oleh pernyataan Solihati dan Kune (2009), bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka dapat menyebabkan bertambahnya jumlah spermatozoa yang rusak dan mati akibat suhu dingin, ketersediaan energi dalam bahan pengencer semakin berkurang, semakin menuanya umur sperma, dan meningkatnya tingkat keasamaan (pH) semen. Meskipun demikian, perlakuan lama penyimpanan terlama P4 (96 jam) dalam penelitian ini menunjukkan motilitas spermatozoa masih dikategorikan baik yaitu sebesar $40,83 \pm 7,360$ %. Hal ini didukung oleh pernyataan Lodu *et al* (2021) bahwa syarat persentase semen untuk pelaksanaan inseminasi buatan (IB) berdasarkan standar SNI adalah motilitas spermatozoa minimal 40 %. Berdasarkan hal tersebut, maka pengencer tris kuning telur ini cocok digunakan sebagai pengencer semen untuk inseminasi buatan karena mampu memberikan nilai motilitas spermatozoa ≥ 40 %.

Viabilitas spermatozoa sapi simental



Gambar 3. Viabilitas Spermatozoa Sapi Simental dengan Pembesaran 400x

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil rata-rata viabilitas spermatozoa sapi simental yang telah diencerkan dapat dilihat pada Tabel 2.

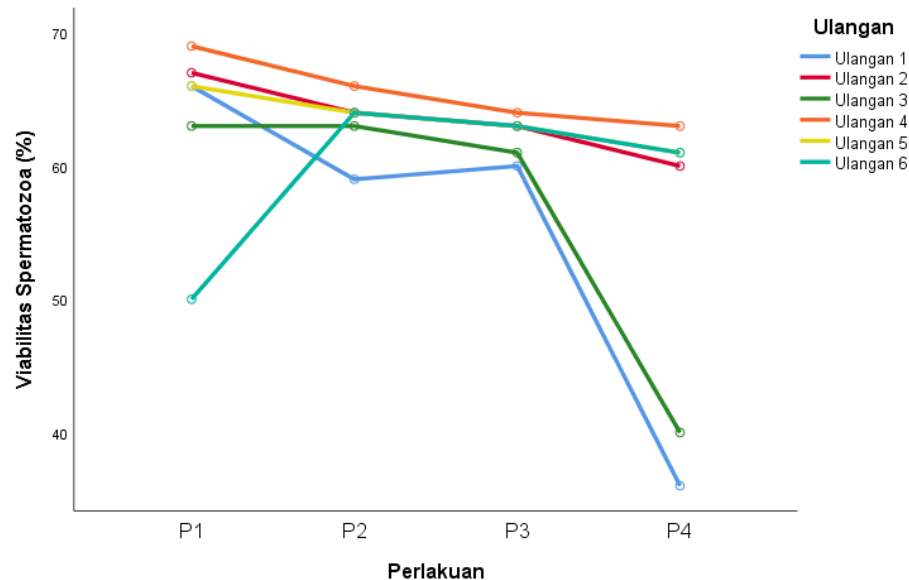
Tabel 2. Rataan dan Simpangan Baku Persentase Viabilitas Spermatozoa Sapi Simental yang telah diencerkan.

$\bar{x} \pm SD$	PERLAKUAN (%)			
	P1	P2	P3	P4
	63,50 $\pm$ 6,892 ^A	63,33 $\pm$ 2,338 ^A	62,33 $\pm$ 1,506 ^A	53,50 $\pm$ 12,112 ^B

Keterangan: superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Hasil uji Duncan pada tabel 2 menunjukkan bahwa pada perlakuan P1 (24 jam) menghasilkan viabilitas spermatozoa sapi simental tertinggi yakni sebesar 63,50 % dan diikuti perlakuan P2 (48 jam) sebesar 63,33 %, perlakuan P3

(72 jam) sebesar 62,33 %, dan terendah pada perlakuan P4 (96 jam) sebesar 53,50 %. Hasil ini membuktikan bahwa pengencer tris kuning telur mampu mempertahankan kualitas viabilitas spermatozoa selama proses penyimpanan. Grafik penurunan viabilitas spermatozoa sapi simental yang diencerkan dengan tris kuning telur disajikan pada Gambar 4 dibawah ini.



Gambar 4. Grafik Viabilitas Spermatozoa Sapi Simental

Perlakuan lama penyimpanan terlama P4 (96 jam) dalam penelitian ini menunjukkan motilitas spermatozoa masih dikategorikan baik yaitu sebesar $40,83 \pm 7,360$ %. Hal ini didukung oleh Susilawati (2011) menyatakan bahwa lipoprotein dan lesitin yang terkandung dalam kuning telur mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung membran plasma spermatozoa sehingga dapat menekan kerusakan membran plasma pada spermatozoa, namun dengan bertambah lamanya penyimpanan akan menyebabkan terjadinya penurunan kualitas spermatozoa.

Meskipun terjadi penurunan, perlakuan lama penyimpanan terlama P4 (96 jam) dalam penelitian ini masih menunjukkan viabilitas spermatozoa layak digunakan untuk keperluan inseminasi buatan karena memiliki nilai sebesar $53,50 \pm 12,112$ %. Ini didukung oleh pernyataan Rizal *et al* (2020) bahwa syarat persentase spermatozoa hidup untuk pelaksanaan inseminasi buatan (IB) adalah minimal 50 %. Berdasarkan hal tersebut, maka pengencer tris kuning telur ini cocok digunakan sebagai pengencer semen untuk inseminasi buatan karena mampu memberikan nilai viabilitas spermatozoa ≥ 50 %.

Rata-rata viabilitas spermatozoa dalam penelitian ini cenderung mengalami penurunan sesuai lama penyimpanan dalam perlakuan yang dikenakan, meskipun tidak begitu besar tingkat penurunannya. Lama penyimpanan semen dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa, yang mana semakin lama semen disimpan setelah diencerkan maka akan semakin rendah daya hidup spermatozoa. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya spermatozoa yang rusak dan mati akibat kekurangan energi selama proses penyimpanan serta terjadinya perubahan suhu



penyimpanan (Lodu *et al.*, 2021).

Selain jenis pengencer, lama waktu ekulibrasi juga dapat mempengaruhi kualitas semen. Menurut Toelihere (1985), waktu ekuilibrasi adalah periode yang diperlukan spermatozoa untuk menyesuaikan diri dengan pengencer, sehingga efek *Cool shock* dan tingkat motilitas pada saat pembekuan dapat di minimalkan. Waktu ekuilibrasi dapat diberikan selama beberapa jam dalam suhu rendah dan dilaksanakan segera setelah semen diencerkan dengan pengencer. Toelihere (1985) berpendapat bahwa untuk mendapatkan fertilitas yang tinggi maka spermatozoa harus dipreservasi atau diawetkan untuk beberapa lama sesudah penampungan dan dicampur dengan bahan pengencer. Suhu optimum untuk penyimpanan semen encer adalah 5°C atau lebih rendah lagi tergantung pada peningkatan pendinginan, sedangkan suhu diatas 5°C dapat menghambat aktivitas metabolisme dan motilitas spermatozoa. Hal ini bertujuan untuk menyeimbangkan cairan intraseluler dan ekstraseluler sebelum proses pembekuan dimulai (Novianto *et al.*, 2014).

Semen yang digunakan untuk IB diambil dari spermatozoa sapi jantan yang unggul. Pengenceran dapat memperbanyak volume semen sehingga memungkinkan untuk melakukan IB terhadap betina dalam jumlah lebih banyak dari satu ejakulasi. Bahan pengencer yang baik adalah murah, sederhana, praktis dibuat dan memiliki daya preservasi yang tinggi (Parerah *et al.*, 2009). Syarat setiap bahan pengencer adalah harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, harus memungkinkan sperma dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun, dapat menjadi penyanggah bagi sperma, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*Cold shock*) baik untuk semen beku maupun semen yang tidak dibekukan (Soliati & Kune, 2009).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa berdasarkan uji Duncan diperoleh hasil P1 (24 jam) berbeda nyata dengan persentase motilitas spermatozoa pada P2, P3, dan P4. Persentase motilitas spermatozoa pada P2 (48 jam) berbeda nyata dengan persentase motilitas spermatozoa pada P1 dan P4, namun tidak berbeda nyata dengan P3. Persentase motilitas spermatozoa pada P3 (72 jam) berbeda nyata dengan persentase motilitas spermatozoa pada P1, namun tidak berbeda nyata dengan P2 dan P4. Persentase motilitas spermatozoa pada P4 (96 jam) berbeda nyata dengan persentase motilitas spermatozoa pada P1 dan P2, namun tidak berbeda nyata dengan P3. Pada uji viabilitas menunjukkan bahwa persentase viabilitas tertinggi ditunjukkan oleh P1 kemudian secara berurutan diikuti oleh P2, P3, dan P4. Berdasarkan uji Duncan viabilitas spermatozoa menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata pada P1, P2, dan P3, namun P1, P2, dan P3 ini berbeda nyata dengan persentase viabilitas spermatozoa pada P4.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan agar dilakukan penelitian mengenai pengaruh jenis dan karakteristik telur yang digunakan sebagai pengencer serta pengaruh berbagai faktor, seperti pakan, fraksi,



ejakulasi serta suhu saat pengambilan sampel dan saat pengujian terhadap kualitas semen sapi Simental maupun sapi bangsa lain. Agar didapatkan hasil yang terbaik untuk pengencer semen beku sapi, sehingga produksi semen beku sapi semakin maksimal. Serta direkomendasikan kepada Balai Inseminasi Buatan (BIB) Banyumulek agar menggunakan pengencer tris kuning telur sebagai pengencer semen sapi, karena kandungan pengencer tris kuning telur yang sesuai dengan kebutuhan spermatozoa serta spermatozoa secara individual dapat lebih mudah di observasi di bawah mikroskop. Disarankan juga diteliti lebih lanjut terkait pengaruh lama penyimpanan pengencer tris kuning telur terhadap spermatozoa hewan lain

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini bisa terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhyatma, M., Isnaini, N., dan Nuryadi. (2013). Pengaruh Bobot Badan Terhadap Kualitas dan Kuantitas Semen Sapi Simental. *Jurnal Ternak Tropika*, 14(2), 53-62.
- Aisah, S., Isnaini, N., dan Wahyuningsih, S. (2017). Kualitas Semen Segar dan Recovery Rate Sapi Bali pada Musim yang berbeda. *Jurnal Ilmu- Ilmu Peternakan*, 27(1), 63-79.
- Amaral, A., Lourence, B., Marques, M., dan Santos, J. R. (2013). Mitochondria Functionality and Sperm Quality. *Journal Reproduction*, 146(1), 163-174.
- Bergeron, A., Crete, M. H., Brindle, Y., dan Manjunath, P. (2004). Low Density Lipoprotein from Hen's Egg Yolk Decreases the Binding of the Major Proteins of Bovine Seminal Plasma to Sperm and Prevents Lipid Efflux from the Sperm Membrane. *Biol Reprod*, 70(3), 708-717.
- Ducha, N., Susilawati, T., Aulanni'am, dan Wahyuningsih, S. (2013). Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Refrigerator dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 7(1), 5-8.
- Feradis. (2010). *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Alfabeta.
- Hartanti, D., Setiatin, E. T., dan Sutopo. (2012). Perbandingan Penggunaan Pengencer Semen Sitrat Kuning Telur dan Tris Kuning Telur terhadap Persentase Daya Hidup Spermatozoa Sapi Jawa Brebes. *Animal Agriculture Journal*, 1(1), 33-42.
- Herdis. (2012). Pengaruh Waktu Penampungan Semen terhadap Gerakan Massa Spermatozoa dan Tingkah Laku Kopulasi Pejantan Domba Garut. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 14(1), 38-43.
- Lodu, A. J., Kaka, A., dan Sirappa, I. P. (2021). Karakteristik dan Kualitas Semen Sapi Sumba Ongole dalam Pengencer BTS yang Dimodifikasi dengan Susus Kedelai. *Jurnal Sains dan Teknologi Peternakan*, 2(2), 64-73.
- Manehat, F. X., Dethan, A. A., dan Tahuk, P. K. (2021). Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas Spermatozoa dan pH Semen Sapi Bali dalam Pengencer Sari Air Tebu-Kuning Telur yang Disimpan dalam Waktu yang Berbeda.



- Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 3(2), 76-90.
- Mardiyah, E. (2001). Teknik Pengenceran pada Pembuatan Chilling Semen Sapi. *Makalah Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian*, 1(1), 1-6.
- Mila, F. H., Kaka, A., dan Ina, Y. T. (2021). Karakteristik dan Kualitas Semen Sapi Ongole dalam Pengencer Tris yang Disuplementasi dengan Susu Skim yang Disimpan pada Suhu 3-5 °C. *Jurnal Sains dan Teknologi Peternakan*, 3(1), 12-18.
- Muhammad, D., Susilawati, T., dan Wahjuningsih, S. (2016). Pengaruh Penggunaan CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi FH (*Frisian Holstein*) Kualitas Rendah Selama Penyimpanan Suhu 4-5°C. *Jurnal Ternak Tropika*, 17(1), 66-76.
- Novita, R., Karyono, T., dan Rasminah. (2019). Kualitas Semen Sapi Brahman pada Persentase Tris Kuning Telur yang Berbeda. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*, 14(4), 351-358.
- Nur, N. E. (2019). *Pengaruh Pengencer Tris Kuning Telur Itik dan Konsentrasi Spermatozoa Berbeda Terhadap Kualitas Semen Bali*. Skripsi: Fakultas Peternakan Universitas Hasanudin.
- Pratiwi, D. N. E., Soeparna., dan Solihati, N. (2015). Pengaruh Level Madu di dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Daya Hidup dan Keuturan Membran Plasma Sperma Domba Lokal. *Jurnal Universitas Padjadjaran*, 1(1), 1-12.
- Rizal, M., Riyadhi, M., dan Thahir, M. (2020). Viabilitas Spermatozoa Kerbau Kalimantan Selatan yang Dipreservasi dengan Pengencer Nira Aren dan Beberapa Konsentrasi Gliserol. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 5(3), 223-228.
- Rosnizar, R., Nurfajri, Dasrul, D., Amalia, dan Eriani, K. (2021). Evaluasi Kualitas Spermatozoa pada Beberapa Frekuensi Ejakulasi Terhadap Kerbau Lokal (*Bubalus bubalis*). *Jurnal Bioleuser*, 5(1): 1-7.
- Seuk, M. O. (2018). Pengaruh Frekuensi Penampungan terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Portal Jurnal Unimor*, 3(4), 51-53.
- Solihati, N., dan Kune, P. (2009). Pengaruh Jenis Pengencer Terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Semen Sapi Simental. *Jurnal Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran*, 1(1), 1-6.
- Susilawati, T. (2011). Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*, 12(2), 15-25.
- Toha, W. K., dan Yusrina, A. (2019). Kualitas Larutan Pengencer dan Kualitas Semen Domba pada Temperatur Penyimpanan yang Berbeda. *Jurnal Kandaga*, 1(1), 1-7.
- Yusuf, T. L., Arifiantini, R. I., dan Muliadi, Y. (2006). Efektivitas Waktu Pemaparan Gliserol terhadap Motilitas Spermatozoa pada Pembekuan Semen Domba Lokal Menggunakan Pengencer Tris Kuning Telur. *Animal Production*, 8(3), 168-173.