

Pengaruh Pemberian Pengencer Ringer Laktat Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali Di Balai Inseminasi Buatan Provinsi Nusa Tenggara Barat

The Effect of Lactated Ringer Diluent on Motility and Viability of Bali Cow Spermatozoa at The Artificial Insemination Center of West Nusa Tenggara Province

Maratun Janah^{1*}, Rizky Wijaya², Laily ‘Ulya Nurul ‘Ilmi¹

¹Departemen Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Pendidikan Mandalika,

²Mahasiswa Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Pendidikan Mandalika

*Corresponding author: maratun.janah@gmail.com

Abstrak

Ringer laktat merupakan larutan yang mengandung elektrolit penting seperti natrium, kalium, kalsium, dan laktat. Larutan ini menciptakan lingkungan stabil bagi spermatozoa. Lama penyimpanan sangat mempengaruhi motilitas dan viabilitas spermatozoa. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian pengencer ringer laktat terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi bali selama penyimpanan. Penelitian ini di laksanakan pada bulan september tahun 2024 di Balai Inseminasi Buatan Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat. Penelitian pengaruh pemberian pengencer ringer laktat terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi bali ini menggunakan metode eksperimental rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan enam kali ulangan. Masing-masing perlakuan yaitu P1, P2, P3, dan P4 dilakukan dengan mencampurkan 0,075 ml semen dan 0,3 ml pengencer ringer laktat yang disimpan dengan waktu 24, 48, 72, dan 96 jam. Data yang diperoleh diolah dengan metode analisis ragam (ANOVA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P1 dengan lama penyimpanan 24 jam menghasilkan nilai rata-rata motilitas dan viabilitas tertinggi yakni sebesar $57,5 \pm 9,354\%$ untuk motilitas dan $74,33 \pm 10,191\%$ untuk viabilitas spermatozoa. Perlakuan P4 dengan lama penyimpanan 96 jam menunjukkan hasil rata-rata motilitas yang menurun secara signifikan dengan nilai motilitas spermatozoa sebesar $10,83 \pm 5,845$ dan viabilitas spermatozoa sebesar $57,33 \pm 2,160$. Dapat di simpulkan bahwa Ringer Laktat hanya mampu mempertahankan motilitas spermatozoa dalam jangka pendek seperti yang terlihat pada P1, sehingga diperlukan optimasi tambahan, seperti modifikasi media pengencer, pengaturan suhu, atau penambahan bahan lain untuk meningkatkan stabilitas motilitas spermatozoa.

Kata kunci: Semen Sapi Bali, Ringer Laktat, Motilitas, Viabilitas

Abstract

Lactated ringer is a solution that contains important electrolytes such as sodium, potassium, calcium, and lactate. This solution creates a stable environment for spermatozoa. Length of storage greatly affects the motility and viability of spermatozoa. The purpose of this study was to determine the effect of lactated ringer diluent on motility and viability of Balinese spermatozoa during storage. This research was conducted in September 2024 at the Banyumulek Artificial Insemination Center, West Nusa Tenggara Province. The study of the effect of lactated ringer diluent on motility and viability of Balinese cow spermatozoa used experimental method of complete randomized design with four treatments and six replications. Each treatment, namely P1, P2, P3, and P4, was carried out by mixing 0.075 ml of semen and 0.3 ml of lactated ringer diluent stored for 24, 48, 72, and 96 hours. The data obtained were processed by the analysis of variance (ANOVA) method. The results showed that treatment P1 with a storage time of 24 hours produced the highest mean value of motility and viability which amounted to $57.5 \pm 9.354\%$ for motility and $74.33 \pm 10.191\%$ for viability of spermatozoa. The P4 treatment with a storage time of 96 hours showed a significantly decreased motility average with a spermatozoa motility value of 10.83 ± 5.845 and spermatozoa viability of 57.33 ± 2.160 . It can be concluded that lactated Ringer is only able to maintain spermatozoa motility in the short term as seen

in P1, so additional optimization is needed, such as modification of diluent media, temperature regulation, or the addition of other ingredients to increase spermatozoa motility stability.

Keywords: first, second, third

Pendahuluan

Sapi bali merupakan salah satu jenis ternak unggulan di Indonesia yang memiliki peran penting dalam pemenuhan kebutuhan daging nasional. Sapi Bali memiliki keunggulan karakteristik seperti fertilitas tinggi, lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik, cepat beradaptasi apabila dihadapkan dengan lingkungan yang baru, cepat berkembang biak, dan kandungan lemak karkas rendah, kelebihan-kelebihan ini menjadikan Sapi Bali sebagai sapi primadona Indonesia (Sampurna dkk., 2010). Pemerintah berusaha meningkatkan populasi, produktivitas, dan kualitas genetik ternak dengan memanfaatkan teknologi reproduksi seperti inseminasi buatan (Sibagriang dkk., 2018). Peternakan sapi bali memerlukan perhatian ekstra untuk menjaga dan meningkatkan jumlah populasinya memerlukan teknologi yang sesuai, mudah diterapkan, dan efisien (Hakim dkk., 2017).

Inseminasi Buatan adalah bioteknologi terapan dalam reproduksi yang diharapkan dapat meningkatkan produktivitas ternak. Teknologi ini menawarkan beberapa keuntungan, antara lain memaksimalkan penggunaan pejantan unggul, menghemat biaya pemeliharaan pejantan, mencegah inbreeding, mengatur jarak kelahiran, mencegah penularan penyakit, dan memperpendek *Calving Rate* (CVR) (Syamlan dkk., 2021). Penggunaan teknologi IB pada spesies ternak besar khususnya sapi Bali (*Bos sondaicus*) membutuhkan semen segar yang digunakan sebagai media transfer materi genetik berisi spermatozoa dan plasma semen dari pejantan. Semen segar sapi Bali hasil ejakulasi dari tubuh pejantan kondisi in vitro membutuhkan nutrisi dengan fungsi mempertahankan kualitas spermatozoa seperti kondisi in vivo. Hal ini disebabkan karena semen segar memiliki masa simpan yang sangat singkat setelah berada dikondisi in vitro (Pamungkas dkk., 2013).

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Hine dkk., (2019), yang mengkaji pengenceran spermatozoa menggunakan air kelapa. Hasil penelitian tersebut menyimpulkan bahwa konsentrasi pelarut dalam pengencer AKm yang optimal untuk mempertahankan kualitas

sperma beku sapi Bali adalah 3%. Penelitian selanjutnya dilakukan oleh Manehat (2021), yang menggunakan sari tebu dan kuning telur sebagai pengencer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan pengencer sari tebu dan kuning telur berdampak positif karena mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa hingga 96 jam.

Penelitian yang dilakukan oleh Ximenes dkk., (2022) menggunakan tris kuning telur dengan penambahan astaxanthin. Hasil penelitian tersebut menyimpulkan bahwa tris kuning telur dengan penambahan astaxanthin merupakan pengencer terbaik yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa, khususnya dalam hal motilitas dan viabilitas. Penelitian selanjutnya dilakukan oleh Janah (2024), yang menggunakan tris kuning telur tanpa penambahan atau campuran bahan apa pun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tris kuning telur tetap cocok digunakan sebagai pengencer, meskipun tanpa tambahan bahan lain, karena mampu mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa selama 96 jam.

Motilitas spermatozoa merupakan salah satu parameter utama dalam menilai kualitas semen yang menentukan keberhasilan inseminasi buatan semen yang baik akan meningkatkan peluang keberhasilan fertilisasi, (Zulyazaini dkk., 2016). Proses pembekuan dapat mengurangi kualitas semen hingga 50% dibandingkan dengan kondisi semen segar, dan yang tersisa memiliki tingkat fertilisasi yang rendah. Penggunaan pengencer yang tepat turut berperan untuk menentukan kualitas semen beku yang di hasilkan (Ariantie dkk., 2013)

Spermatozoa tidak bisa bertahan lama kecuali ada unsur tambahan dalam semen (Kuswanto dkk., 2023), unsur pengencer yang baik berfungsi sebagai penyedia zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Motilitas spermatozoa merupakan salah satu parameter utama dalam menilai kualitas semen yang sangat menentukan keberhasilan inseminasi buatan. Kualitas semen yang baik akan meningkatkan peluang keberhasilan fertilisasi (Zulyazaini dkk., 2016).

Jenis pengencer potensial yang juga dapat di gunakan adalah ringer laktat, larutan yang mengandung elektrolit penting seperti

natrium, kalium, kalsium, dan laktat yang dapat memberikan lingkungan yang stabil bagi spermatozoa agar tidak terjadinya reaksi otokatalitik yang berakibat merusak seluruh fosfolipida membran plasma sel spermatozoa. Semen yang telah diencerkan, umumnya dikemas dalam straw dan dibekukan, penggunaan pengencer yang tepat turut berperan untuk menentukan kualitas semen beku yang dihasilkan (Ariantje dkk., 2013).

Materi dan Metode

Penelitian yang di gunakan merupakan Penelitian Eksperimental Labolatoris. Desain penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), yaitu desain yang melibatkan beberapa perlakuan yang disusun secara acak untuk setiap unit percobaan. Dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) ini, dilakukan pengujian pengencer Ringer Laktat dan semen segar dengan enam perlakuan dan enam ulangan yang terdiri dari 0,3 mL pengencer dan 0,075 mL semen segar (Manehat, 2021). Campuran ini disimpan dalam lemari pendingin dengan variasi waktu penyimpanan 24, 48, 72, dan 96 jam. Kemudian dilihat motilitas massa dan motilitas individu.

Penilaian motilitas massa

Metode yang digunakan untuk melihat motilitas massa berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Novita dkk. 2019), untuk mengamati motilitas massa spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes semen langsung di atas objek kaca tanpa ditutup penutup kaca. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Kualitas semen dievaluasi berdasarkan penilaian gerakan massa sperma sebagai berikut:

Sangat baik (+++): Gerakan spermatozoa membentuk gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal, aktif, dan bergerak cepat serta berpindah-pindah tempat.

Baik (++): Gerakan spermatozoa terlihat sebagai gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas, dan bergerak lambat.

Cukup (+): Tidak terlihat gerakan massa sperma sebagai gelombang, tetapi hanya gerakan individual yang aktif dan progresif.

Buruk (Necrospermia, 0): Hanya sedikit atau tidak ada gerakan individual spermatozoa sama

sekali, menunjukkan kondisi yang tidak normal (necrospermia).

Penilaian motilitas individu

Penilaian motilitas individu spermatozoa dilakukan dengan cara mengambil satu tetes semen dan menempatkannya di atas objek kaca yang ditutup dengan penutup kaca. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Motilitas individu yang dianggap normal minimal mencapai 70%. Berdasarkan motilitas individu ini, kualitas spermatozoa dinilai menggunakan skor 0-5 dengan kriteria sebagai berikut:

Skor 0: Spermatozoa imotil atau tidak bergerak sama sekali.

Skor 1: Gerakan spermatozoa berputar di tempat.

Skor 2: Gerakan spermatozoa melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif, dan tidak ada gelombang yang terlihat.

Skor 3: Antara 50% hingga 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa.

Skor 4: Spermatozoa bergerak secara progresif, membentuk gelombang dengan minimal 90% spermatozoa motil.

Skor 5: Gerakan spermatozoa sangat progresif, membentuk gelombang yang sangat cepat, dan menunjukkan bahwa 100% sperma motil

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dengan menggunakan *Softwer Komputer* jika terdapat perbedaan nilai antar perlakuan diuji lanjut menggunakan uji Duncan's selang kepercayaan 95%.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan semen sapi bali secara makroskopis di sajikan dalam Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 Hasil evaluasi makroskopis semen segar sapi bali menunjukkan bahwa volume semen segar yang diperoleh yaitu berkisar antara 2-7 ml berwarna putih susu, berbau khas sperma ternak, konsistensi atau derajat kekentalannya sedang, dan derajat keasaman atau ph semen segar yang diperoleh adalah 4,2 dan 6,4.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan semen sapi bali secara makroskopis.

Ulangan	Volume	Warna	Bau	pH	konsistensi
1	2,6	Putih susu	Khas	6,2	Sedang
2	3,8	Putih susu	Khas	6,4	Sedang
3	2,9	Putih susu	Khas	6,4	Sedang
4	4,1	Putih susu	khas	4,1	Sedang
5	7,4	Putih susu	khas	6,2	Sedang
6	3,4	Putih susu	khas	6,4	sedang

Berdasarkan Tabel 2 hasil evaluasi semen segar sapi bali secara mikroskopis menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi sperma pada semen segar mencapai 0,97616

sel/ml, gerakan massa semen segar sangat baik dengan nilai +++, gerakan individu dengan skor 1-3, dan rata-rata motilitas semen segar sebesar 70 %.

Tabel 2. hasil pemeriksaan semen sapi bali secara mikroskopis

Ulangan	Konsentrasi x10 ⁴ /ml	Gerakan massa	Gerakan Individu	Motility (%)
1	1,078	+++	2	70
2	1,068	+++	3	70
3	1,104	+++	1-2	65
4	0,578	+++	3	70
5	0,913	+++	3	70
6	1,116	+++	2	75



Gambar 1. Motilitas spermatozoa sapi bali hasil penelitian. Keterangan: panah warna merah spermatozoa normal, panah warna kuning spermatozoa abnormal.

Spermatozoa yang bermotilitas baik akan terlihat bergerak aktif di bawah mikroskop, tampak "berenang" dengan gerakan maju yang cepat yang biasanya linier, yaitu bergerak lurus atau sedikit melengkung menuju satu arah, sedangkan spermatozoa yang tidak bergerak sama sekali dapat mengindikasikan adanya sel

yang mati atau mengalami penurunan fungsi akibat faktor eksternal seperti kualitas media pengencer, suhu, atau waktu penyimpanan. Hasil rata-rata motilitas spermatozoa sapi bali yang telah diencerkan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 4.3. Rataan dan simpangan baku persentase motilitas spermatozoa sapi bali yang telah diencerkan.

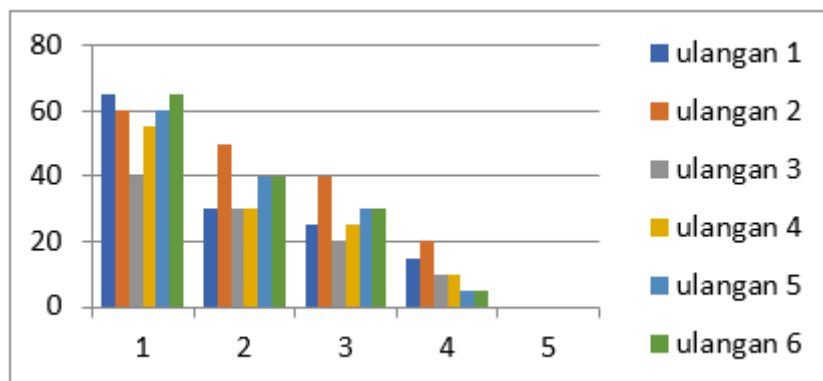
$\bar{x} \pm SD$	Perlakuan (%)			
	P1	P2	P3	P4
	57,5±9,354 ^a	36,66±8164 ^b	28,33±6,831 ^{bc}	10,83±5,845 ^c

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

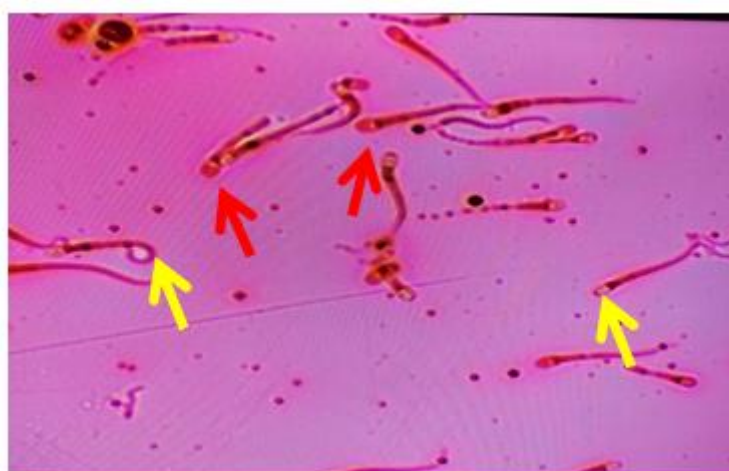
Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase motilitas tertinggi ditunjukkan oleh P1 kemudian secara berurutan diikuti oleh P2, P3, dan P4. Berdasarkan uji anova diperoleh hasil

P1 (24 jam) berbeda nyata dengan persentase motilitas spermatozoa pada P2, P3, dan P4. Grafik penurunan motilitas spermatozoa

sapi bali yang diencerkan dengan Ringer Laktat disajikan pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Grafik Motilitas Spermatozoa Sapi Bali



Gambar 3. Viabilitas spermatozoa sapi bali menggunakan pewarna Eosin-Nigrosin 2%. Keterangan: panah warna merah spermatozoa normal, panah warna kuning spermatozoa abnormal.

Spermatozoa hidup tidak menyerap pewarna karena membran selnya masih utuh dan tampak transparan atau bening di bawah mikroskop. Spermatozoa mati menyerap

pewarna, sehingga kepala spermatozoa tampak berwarna merah atau pink. Hasil rata-ran viabilitas spermatozoa sapi bali yang telah diencerkan dapat dilihat pada tabel 4.

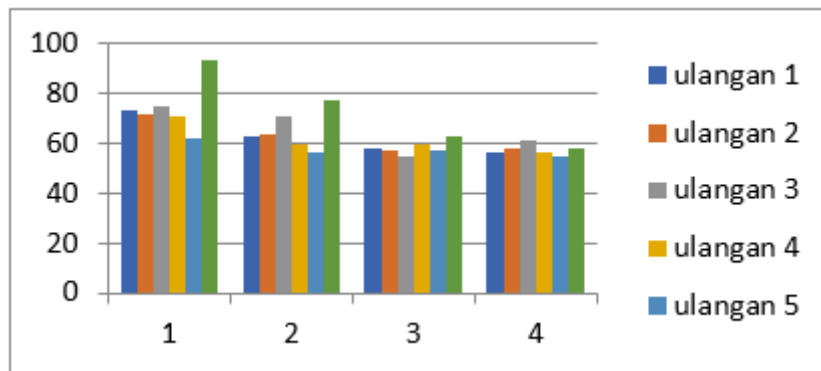
Tabel 4. Rataan dan simpangan baku persentase viabilitas spermatozoa sapi bali yang telah diencerkan.

$\bar{x} \pm SD$	Perlakuan (%)			
	P1	P2	P3	P4
	74,33±10,191 ^a	65,16±7,626 ^a	58,33±2,804 ^a	57,33±2,160 ^b

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

Persentase viabilitas tertinggi ditunjukkan oleh P1 kemudian secara berurutan diikuti oleh P2, P3, dan P4. Berdasarkan uji anova 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. Grafik penurunan viabilitas spermatozoa sapi bali yang diencerkan dengan ringer laktat disajikan pada gambar 4 dibawah ini.



Gambar 4. Grafik Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali

Kualitas spermatozoa sapi Bali yang baik ditandai dengan volume sekitar 3-6 ml per ejakulasi, hasil evaluasi semen segar sapi bali secara makroskopis menunjukkan bahwa volume sperma segar yang diperoleh yaitu berkisar antara 5-7 ml. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Fazrien dkk., (2020). Yang menyatakan bahwa rerata volume semen yang dihasilkan sapi Bali adalah 5.5-6.9 ml.

Warna semen segar yang di peroleh berwarna putih susu hasil ini di dukung oleh Wiguna dkk., (2024) yang menyatakan bahwa warna semen segar sapi bali yang baik pada saat semen diamati secara makroskopis setelah penampungan, adalah semen yang bewarna putih susu. Bau spermatozoa segar berdasarkan hasil penelitian yang kami lakukan 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 tesebut menunjukan semen tersebut dalam keadaan normal dan tidak terkontaminasi.

Konsistensi atau derajat kekentalan semen segar yang diperoleh termasuk dalam kategori sedang. Suyadi dkk., (2012) menjelaskan bahwa warna, konsistensi dan konsentrasi spermatozoa mempunyai hubungan yang sangat erat satu dengan yang lain, artinya jika semen semakin encer maka konsentrasi spermatozoa semakin rendah dan warnanya semakin pucat penelitian Ismaya (2014) menjelaskan bahwa konsistensi spermatozoa juga berkaitan dengan warna spermatozoa yang dapat digunakan untuk memprediksi konsentrasi spermatozoa. konsistensinya sedang hingga kental atau warna krem maka konsentrasi spermatozoa berkisar 1.000-2.000 sel/mL

Derajat keasaman atau pH semen segar yang diperoleh adalah 6,2 dan 6,4. Derajat keasaman semen sapi bali menurut penelitian yaitu berkisar 6,2 6,5. Menurut Mila dkk (2021) yakni pH semen sapi berkisar antara 6,2-6,8. Derajat kesamaan sangat berpengaruh pada daya tahan hidup dari spermatozoa.

Hasil evaluasi semen segar sapi bali secara mikroskopis menunjukkan bahwa konsentrasi sperma pada semen segar dari hasil penelitian ini mencapai 0,976,16. Gerakan massa semen segar sapi bali yang diperoleh bergerak sangat baik dengan nilai +++, sedangkan gerakan individu yang diperoleh yaitu dengan skor 1-3. Menurut Rosnizar dkk., (2021), spermatozoa yang memiliki kualitas sangat baik ditandai oleh gerakan massa dan motilitas dengan kemampuan bergerak secara progresif. Gerakan massa spermatozoa mencerminkan motilitas serta gerakan individu. Semakin banyak dan aktif spermatozoa yang bergerak maju, semakin baik gerakan massanya, yang akan tampak seperti gelombang tebal menyerupai awan hitam pekat, aktif, dan bergerak dengan cepat.

Gerakan massa spermatozoa dikategorikan dalam 3 golongan, yaitu gerakan cepat berpindah, awan tebal dan gelap, celah antara gumpalan awan satu dengan yang lainnya sedikit atau rapat (+++), gerakan cepat, terbentuk awan tetapi agak terang gumpalannya (++), dan terlihat gerakan sperma sendiri, tidak ada gumpalan awan (+). (Nalley, dkk., 2020). Persyaratan gerakan massa semen yang layak untuk ineseinasi buatan minimal ++. (Ducha dkk., 2013). Motilitas semen segar yang diperoleh dalam penelitian ini rata-rata sebesar 70%, Nilai ini berada dalam kisaran normal dan memenuhi syarat untuk proses pengenceran serta pembekuan, dengan persyaratan minimal motilitas individu sebesar

70%. Menurut Muhammad dkk., (2016), motilitas individu semen segar berkisar antara 50–80%, yang menunjukkan bahwa kualitas motilitas ini dapat bervariasi tergantung pada faktor-faktor seperti spesies, kondisi fisiologis, metode pengumpulan, serta pengelolaan semen. Kisaran ini digunakan sebagai acuan untuk menilai kelayakan semen dalam berbagai proses, seperti inseminasi buatan, pengenceran, atau pembekuan, guna memastikan keberhasilan aplikasi reproduksi yang optimal. Hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa semen segar sapi Bali memiliki kualitas yang baik, ditandai dengan parameter-parameter seperti volume, warna, konsistensi, serta motilitas dan viabilitas sperma yang memenuhi standar. Hal ini menunjukkan bahwa semen tersebut layak untuk digunakan sebagai bahan perlakuan dalam penelitian, dan juga memiliki potensi untuk aplikasi lebih lanjut dalam program reproduksi, seperti inseminasi buatan dan kriopreservasi.

Motilitas merupakan kemampuan gerak spermatozoa yang digunakan sebagai indikator utama dalam menilai kualitas spermatozoa untuk inseminasi buatan (Bintara, 2011). Kemampuan ini sangat penting bagi spermatozoa untuk melewati cervix uteri dan uterotubal junction, serta lebih krusial lagi dalam menembus sel-sel kumulus dan zona pelusida ovum. Oleh karena itu, evaluasi motilitas menjadi faktor penting untuk menentukan keberhasilan suatu proses perkawinan.

Hasil penelitian pengenceran ringer laktat menunjukkan terdapat pengaruh yang **berbeda nyata ($P < 0,05$)** pada masing-masing perlakuan terhadap persentase motilitas spermatozoa sapi bali yang telah diencerkan berdasarkan perlakuan yang diberikan. Diantaranya Perlakuan P1 memiliki persentase motilitas tertinggi, yaitu $57,5 \pm 9,354\%$, menunjukkan motilitas terbaik di antara semua perlakuan. Perlakuan P2 memiliki persentase motilitas sebesar $36,66 \pm 8,164\%$, yang berada di urutan kedua. Perlakuan P3 menunjukkan persentase motilitas sebesar $28,33 \pm 6,831\%$, lebih rendah dari P1 dan P2. Perlakuan P4 memiliki persentase motilitas terendah, yaitu $10,83 \pm 5,845\%$.

Penurunan persentase motilitas spermatozoa pada P2, P3, dan P4 disebabkan karena **ringer laktat** mengandung elektrolit (Na^+ , K^+ , Cl^- , dan laktat) yang berfungsi untuk

menjaga keseimbangan osmotik. Namun, ringer laktat tidak menyediakan sumber protein atau lipoprotein yang penting untuk melindungi membran sel spermatozoa dari kerusakan oksidatif, sehingga terjadi penurunan motilitas spermatozoa sapi bali secara signifikan. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh (Janah dkk., 2024) yang menggunakan tris kuning telur karena mampu mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa dalam waktu yang lama yaitu 96 jam. Tris kuning telur memiliki sumber protein yang bermanfaat sebagai penyangga (*buffer*) yang baik (Arifiantini, dkk., 2010),

Berdasarkan **uji Duncan** perlakuan **P1** (24 jam) berbeda nyata dengan P2 (48 jam), P3 (72 jam), dan P4 (96 jam), yang menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada P1 (24 jam) secara signifikan lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perbedaan nyata ini mengindikasikan bahwa perlakuan yang diberikan pada P1 lebih efektif dalam mempertahankan motilitas spermatozoa dibandingkan perlakuan lainnya. Ringer Laktat hanya mampu mempertahankan motilitas spermatozoa dalam jangka pendek seperti yang terlihat pada P1 karena, ringer laktat tidak menyediakan sumber protein atau lipoprotein sehingga pada penyimpanan yang lebih lama seperti yang terlihat pada (P2, P3, P4), efektivitasnya menurun, sehingga diperlukan optimasi tambahan, seperti modifikasi media pengencer, pengaturan suhu, atau penambahan bahan lain untuk meningkatkan stabilitas motilitas spermatozoa.

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa, semakin tinggi presentase viabilitas semen maka semakin baik kualitas semen tersebut (Sukmawati dkk, 2014). Sel spermatozoa yang hidup menunjukkan kemampuan mempertahankan fungsi biologisnya, seperti bergerak aktif dan memfasilitasi proses fertilisasi. Evaluasi viabilitas menjadi relevan terutama dalam penelitian reproduksi dan teknologi inseminasi buatan, di mana kualitas spermatozoa memengaruhi tingkat keberhasilan pembuahan. Pengukuran viabilitas biasanya dilakukan menggunakan pewarnaan vital, seperti pewarna eosin-negrosin.

Spermatozoa yang mati memiliki membran plasma yang telah rusak, sehingga molekul pewarna seperti eosin dapat menembus masuk ke dalam sel dan mewarnai

sitoplasmanya. Akibatnya, spermatozoa mati tampak berwarna merah saat diamati di bawah mikroskop. Sebaliknya, spermatozoa yang hidup memiliki membran plasma yang masih utuh, sehingga pewarna tidak dapat masuk ke dalam sel. Oleh karena itu, spermatozoa hidup tetap tidak terwarnai dan tampak transparan atau pucat.

Berdasarkan hasil uji Duncan ditemukan bahwa setidaknya ada satu perlakuan yang menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan perlakuan lainnya, menunjukkan adanya pengaruh signifikan pada viabilitas spermatozoa. Hasil penelitian pengenceran ringer laktat terhadap viabilitas spermatozoa sapi bali menunjukkan rata-rata dan simpangan baku persentase yang tidak berbeda nyata pada perlakuan P1, P2 dan P3 perbedaan nyata hanya pada perlakuan P1 (24 jam) - P4 (96 jam), viabilitas spermatozoa sapi bali pada empat perlakuan (P1, P2, P3, P4) perlakuan ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh terhadap viabilitas spermatozoa yang telah diencerkan. P1 memiliki rata-rata viabilitas tertinggi ($74,33 \pm 10,191\%$). P2 dan P3 memiliki viabilitas yang lebih rendah ($65,16 \pm 7,626\%$ dan $58,33 \pm 2,804\%$). P4 memiliki viabilitas terendah ($57,33 \pm 2,160\%$). Dari tabel, terdapat perbedaan signifikan antara kelompok P4 dibandingkan dengan P1, P2, dan P3. Namun, P1, P2, dan P3 tidak menunjukkan perbedaan nyata satu sama lain.

Lama penyimpanan semen dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa, yang mana semakin lama semen disimpan setelah diencerkan maka akan semakin rendah daya hidup spermatozoa. Perlakuan P4 (96 jam) memiliki nilai viabilitas terendah karena ringer laktat tidak memiliki kandungan lipoprotein dan lesitin, yang dapat menyebabkan spermatozoa selama penyimpanan tidak mempunyai sumber energi bagi spermatozoa yang akan menyebabkan meningkatnya spermatozoa yang rusak dan mati karena kekurangan energi selama proses penyimpanan serta terjadinya perubahan suhu penyimpanan (Lodu dkk., 2021).

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa: Pengaruh lama penyimpanan pengencer ringer laktat menunjukkan terjadi perbedaan nyata terhadap motilitas spermatozoa sapi bali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P1

dengan lama penyimpanan 24 jam menghasilkan nilai rata-rata motilitas tertinggi yakni sebesar $57,5 \pm 9,354\%$. Pengaruh lama penyimpanan pengencer ringer laktat menunjukkan hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P1 dengan lama penyimpanan 24 jam menghasilkan nilai viabilitas tertinggi $74,33 \pm 10,191\%$ untuk viabilitas spermatozoa.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Ariantje, O. S., Yusuf, T. L., Sajuthi, D., & Arifiantini, R. I. (2014). Effect of glycerol and dimethylformamide cryoprotectants on buck Etawah Crossbreed frozen semen using modified tris diluents. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 18(4), 239-250.
- Bintara, S. (2011). Rasio spermatozoa x: y dan kualitas sperma pada kambing Kacang dan Peranakan Ettawa. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 9(2), 65-71.
- Ducha, N., Susilawati, T., & Wahyuningsih, S. (2013). Motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan pada refrigerator dalam pengencer CEP-2 dengan suplementasi kuning telur. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 7(1).
- Fazrien, W. A., Herwijanti, E., & Isnaini, N. (2020). Pengaruh variasi individu terhadap kualitas semen segar dan beku pejantan unggul Sapi Bali. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 18(1), 60-65.
- Feradis. 2014. E-Book Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Alfabeta Bandung.
- Hakim, L., Suyadi, S., Nuryadi, N., Susilawati, T., & Nurgartiniingsih, A. (2008). Pengembangan sistem manajemen breeding sapi bali. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 6(1), 9-17.
- Hine, T. M., Uly, K., Nalley, W. M., & Armadio, H. (2019). Kualitas Sperma Beku Sapi Bali dalam Pengencer Air Kelapa Modifikasi

- dengan Berbagai Aras Dimethyl Sulfoxide. *Jurnal Veteriner*, 20(1), 93-100.
- Ismaya, I. (2014). Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau (Biotechnology of Artificial Insemination on Cattle and Buffalo). UGM PRESS.
- Janah, M., Arifpansyah, A., Atma, C. D., & Dharmawibawa, I. D. (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.
- Kuswanto, A., Ningtyas, N. S. I. I., & Tirtasari, K. (2023). Analisa Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) Berdasarkan Conception Rate (Cr) Pada Ternak Sapi Betina Potong Produktif Di Kecamatan Tarano Kabupaten Sumbawa NTB. *Mandalika Veterinary Journal*, 3(1), 16-23.
- Lodu, A. U. J., Kaka, A., & Sirappa, I. P. (2021). Karakteristik dan kualitas semen sapi Sumba Ongole dalam pengencer BTS yang dimodifikasi dengan susu kedelai. *Jurnal Sains dan Teknologi Peternakan*, 2(2), 64-73.
- Manehat, F. X. (2021). *Motilitas, viabilitas, abnormalitas spermatozoa dan pH semen sapi bali dalam pengencer sari air tebu-kuning telur yang disimpan dalam waktu yang berbeda* (Doctoral dissertation, Universitas Timor).
- Mila, F. N. H., Kaka, A., & Ina, Y. T. (2021). Karakteristik dan kualitas semen sapi Sumba Ongole dalam pengencer tris yang disuplementasi dengan susu skim pada suhu 3-5 °C. *Jurnal Sains dan Teknologi Peternakan*, 3(1), 12-18.
- Muhammad, D., Susilawati, T., & 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. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 17(1), 66-76.
- Novita, R., Karyono, T., & Rasminah, R. (2019). Kualitas semen sapi Brahman pada persentase tris kuning telur yang berbeda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 14(4), 351-358.
- Nur, N. E. (2019). Pengaruh pengencer tris kuning telur itik dan konsentrasi spermatozoa berbeda terhadap kualitas semen sapi bali (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin).
- Pamungkas, dan Anwar. (2013). *Flobamora Biological jurnal*. 1 (1) 2022, 36.
- Rosnizar, R., Nurfajri, N., Dasrul, D., Amalia, A., & Eriani, K. (2021). Evaluasi Kualitas Spermatozoa Pada Beberapa Frekuensi Ejakulasi Terhadap Kerbau Lokal (Bubalus bubalis). *Jurnal Bioleuser*, 5(1).
- Sampurna, I. P., & Suatha, I. K. (2010). Pertumbuhan alometri dimensi panjang dan lingkaran tubuh sapi bali jantan. *Jurnal veteriner*, 11(1), 46-51.
- Sibagariang, M., Lubis, Z., & Hasnudi, H. (2010). Analisis pelaksanaan inseminasi buatan (IB) pada sapi dan strategi pengembangannya di Provinsi Sumatera Utara. *Jurnal Agrica*, 3(2), 104-112.
- Sukmawati, E. (2014). Daya tahan spermatozoa terhadap proses pembekuan pada berbagai jenis sapi pejantan unggul. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. *JITV*, 19(3):168-175.
- Suyadi, S., & Rachmawati, A. (2012). Effect of $\hat{\pm}$ -Tocopherol in Tris-Aminomethane $\hat{\pm}$ “Egg Yolk on the Semen Quality during Cold Storage in Boer goats. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 22(3), 15-26.
- Syamlan, A., Janah, M., Atma, C. D., & Tirtasari, K. (2021). Perbandingan Waktu Post Thawing Motility (PTM) Semen Beku Sapi Bali Terhadap Media Air Dengan Suhu 37°C. *Mandalika Veterinary Journal*, 1(2), 13-18.
- Wiguna, A., Janah, M., Atma, C. D., & Munawaroh, M. (2024). Pengaruh Pengencer Skim Milk Pada Semen Sapi Bali Dengan Waktu Penyimpanan Berbeda Terhadap Kualitas Spermatozoa Di Balai Inseminasi Buatan Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat. *Mandalika Veterinary Journal*, 4(2), 7-16.

- Ximenes, A., Telnoni, S. P., & Eryah, H. P. (2022). Kualitas Semen Cair Sapi Bali (Bos Sondaicus) dalam Pengencer Tris Kuning Telur dengan Penambahan Astaxanthin. *Flobamora Biological Journal*, 1(1), 35-44.
- Zulyazaini, Z., Dasrul, D., Wahyuni, S., Akmal, M., & Abdullah, M. A. N. (2016). Karakteristik semen dan komposisi kimia plasma seminalis sapi aceh yang dipelihara di BIBD Saree Aceh Besar. *Jurnal Agripet*, 16(2), 121-130.