

Pemberian Soya dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Simmental Suhu 4°C

Provision of Soya in Coconut Water-Egg Yolk Diluent on Spermatozoa Quality of Simmental Bull at 4°C

Sri Meliana Br Simangunsong*, Dyah Hariani

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

*e-mail: sri.18062@mhs.unesa.ac.id

Abstrak. Efek penyimpanan suhu 4°C mengakibatkan *cold shock* berdampak pada penurunan kualitas spermatozoa. Soya mengandung lestin yang berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler untuk melindungi membran spermatozoa. Tujuan penelitian untuk menganalisis pengaruh konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa 100 ml-10% kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap terdiri atas 5 perlakuan: Pengencer dasar air kelapa 100 ml-10% kuning telur dengan konsentrasi soya 0g; 1,5g; 3g; 4,5g; dan 6g dengan 4 kali pengulangan. Data kualitas spermatozoa sapi Simmental meliputi motilitas, viabilitas dan integritas membran. Uji motilitas diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400×. Uji viabilitas dilakukan menggunakan pewarna eosin-negrosin dan diamati di bawah mikroskop perbesaran 400×. Uji integritas membran dilakukan dengan larutan HOST dan diamati dibawah mikroskop perbesaran 400×. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perlakuan soya optimal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada pengaruh penambahan soya terhadap kualitas spermatozoa semen sapi simmental sangat signifikan ($P < 0,00$). Perlakuan 1,5 g soya menunjukkan hasil motilitas $55,78 \pm 0,26\%$, viabilitas $64,92 \pm 0,13\%$, dan integritas membran $53,97 \pm 0,15\%$ yang optimal dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Disimpulkan bahwa penambahan soya 1,5 g soya merupakan perlakuan optimal dalam mempertahankan kualitas spermatozoa yang disimpan dalam suhu refrigerator 4°C selama 3 hari.

Kata kunci: kuning telur; kualitas spermatozoa; pengencer air kelapa; sapi Simmental; soya

Abstract. The effect of 4°C temperature storage result in *cold shock*, resulting in a decrease in the quality of spermatozoa. Soya contains lestin which functions as an extracellular cryoprotectant to protect the spermatozoa membrane. The purpose of the study was to determine the effect of soya concentration in the basic diluent of coconut water 100 ml-10% egg yolk on the quality of simmental bull spermatozoa. The study using a Complete Randomized Design consisted of 5 treatments: Coconut water base diluent 100 ml-10% egg yolk with a concentration of soya 0g; 1.5g; 3g; 4.5g; and 6g with 4 repetitions. Simmental bull spermatozoa quality data include motility, viability and membrane integrity. The motility test was observed with a 400× magnification under a microscope. The viability test was carried out using eosin-negrosin dye and observed with a 400× magnification under a microscope. The membrane integrity test was carried out using HOST fluid and observed with a 400× magnification under a microscope. The data were analyzed used a one-way ANOVA test and continued with the Duncan's test to determine the optimal soya treatment. The result showed that there was an effect of adding soya on the quality of simmental bull semen spermatozoa very significantly ($P < 0.00$). The treatment of 1.5g of soya showed a motility result of $55,78 \pm 0,26\%$, viability of $64,92 \pm 0,13\%$, and membrane integrity of $53,97 \pm 0,15\%$ which was optimal compared to other treatments. It was concluded that the addition of soya 1.5g of soya is the optimal treatments in maintaining the quality of spermatozoa stored in a refrigerator temperature of 4°C for 3 day.

Keywords: coconut water thinners; egg yolk; simmental bull; soy; spermatozoa quality

PENDAHULUAN

Pertambahan jumlah penduduk di Indonesia mempengaruhi peningkatan kebutuhan manusia akan protein hewani berasal dari hewani. Sumber protein hewani antara lain daging sapi yang mengalami peningkatan setiap tahunnya. Populasi sapi pada tahun 2020 sebanyak 16.930.025 ekor. Namun seiring pertambahan penduduk untuk memenuhi kebutuhan protein hewani perlu adanya pertambahan populasi sapi dengan kualitas lebih baik (Statistik Peternakan dan Kesehatan

Hewan, 2020). Salah satu tipe (*breed*) sapi pedaging di Indonesia yang unggul dan banyak dibudidayakan adalah sapi Simmental. Keunggulan sapi Simmental yaitu pertumbuhan cepat dengan pertambahan berat badan 0,9-1,2 kg per hari, tipe sapi *dual purpose*, memiliki karkas tinggi dengan sedikit lemak (Muada, 2017). Inseminasi buatan merupakan usaha yang dapat dilakukan untuk meningkatkan populasi sapi Simmental dengan melakukan penerapan bioteknologi reproduksi yaitu inseminasi buatan (Sitepu dan Putra, 2017).

Inseminasi buatan (IB) adalah suatu program pemuliaan ternak dengan mendeposisi semen ke dalam saluran reproduksi ternak betina atau vagina dengan bantuan manusia. Kualitas semen yang digunakan merupakan salah satu faktor terpenting dalam melakukan IB (Sitepu dan Putra 2017). Keunggulan IB mampu meningkatkan populasi, produktivitas dan mutu secara genetik ternak (Sa'adah dkk., 2019). Perlindungan spermatozoa harus dilakukan saat sesudah penampungan dengan penambahan pengencer tertentu dan teknik penyimpanan guna menjaga daya fertilitas optimum (Kusumawati., dkk 2016). Menurut Ducha (2018), penyimpanan semen cair dalam refrigerator 4-5°C merupakan teknik penyimpanan alternatif di daerah dengan keterbatasan nitrogen cair yang memiliki keuntungan dibandingkan penyimpanan semen beku yaitu dengan biaya produksi yang lebih terjangkau, proses produksi lebih cepat dan mudah serta mampu bertahan selama 2-4 hari.

Masalah yang sering terjadi pada tren penyimpanan semen pada suhu rendah adalah (*cold shock*). Pendapat Masyitoh dkk., (2018) perubahan suhu dapat menyebabkan membran plasma dan isi sel spermatozoa mengalami kerusakan fisik dan fungsional. Oleh karena itu diperlukan pengencer yang bersifat krioprotektan baik secara ekstraseluler maupun intraseluler. Yatusholikhah dkk (2015) memaparkan bahwa pengencer berfungsi sebagai media yang mampu menyediakan nutrisi secara optimum sebagai sumber tenaga, preservasi maupun kriopreservasi serta dapat mengendalikan pH dan tekanan osmotik bagi spermatozoa. Menurut Muhammad., dkk (2019) air kelapa mampu dimanfaatkan sebagai pengencer alternatif dengan harga terjangkau dan mudah didapatkan di lingkungan sekitar mengandung beberapa karbohidrat sederhana, mineral-mineral dan zat-zat lain didalamnya yang diperlukan oleh spermatozoa.

Air kelapa mengandung beberapa nutrisi yang dapat menunjang kelangsungan hidup dan menjaga integritas akrosom spermatozoa, yaitu karbohidrat, glukosa, mineral, protein dan vitamin (Aziz, 2017). Kandungan karbohidrat dalam air kelapa diharapkan mampu mempertahankan dan menjaga kualitas spermatozoa. Namun mengaplikasikan pengencer air kelapa sendiri tidak mampu melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* sehingga perlu menambahkan krioprotektan yaitu kuning telur dan soya. Kerusakan lipid bilayer pada membran spermatozoa sering terjadi akibat *cold shock*. Lipid bilayer mengandung fosfolipid yang ada pada kuning telur yaitu berupa lestin yang mampu melindungi, mempertahankan membran spermatozoa dan menjaga intensitas sel spermatozoa dalam penurunan suhu dingin secara tiba-tiba (Anwar dkk., 2014; Butta dkk., 2021). Menurut Gamal dkk., (2016) lestin dalam soya mampu berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang mampu memberikan perlindungan pada membran spermatozoa. Chelucci dkk., (2015) menambahkan bahwa soya mengandung asam stearat, oleat dan palmitat berpotensi melindungi membran plasma spermatozoa. Menurut Yodmingkwan dkk., (2016) mengemukakan bahwa dengan penggunaan lestin soya dalam pengencer mampu melindungi sel spermatozoa selama proses penurunan dari suhu ruang 36-37°C ke suhu 4-5°C. Pada penelitian Audia dkk., (2017) menjelaskan bahwa pengencer air kelapa hijau muda + 10% kuning telur bisa mempertahankan motilitas di atas 40% hingga hari ke-2 selama penyimpanan suhu 4-5°C dibandingkan air kelapa hijau tua + 10% kuning telur, hal ini karena kandungan karbohidrat dalam air kelapa hijau muda lebih banyak daripada air kelapa hijau tua. Penelitian sejenis dilakukan oleh Monova dan Ducha (2019) penambahan konsentrasi 4 g soya mampu mempertahankan kualitas spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) dalam penyimpanan suhu 4-5°C menghasilkan persentase motilitas spermatozoa 44,38±1,38%, viabilitas spermatozoa 52,85±2,80% dan integritas membran sel spermatozoanya 50,41±0,42%. Penelitian ini merupakan penelitian pengembangan dengan menggunakan pengencer air kelapa hijau muda dengan pemberian 10% kuning telur dan konsentrasi soya berbeda bertujuan untuk mengetahui konsentrasi soya yang optimal dalam mempertahankan kualitas spermatozoa Sapi Simmental terbaik yang disimpan pada suhu 4-5°C merupakan novelty dalam penelitian ini.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap terdiri atas 5 perlakuan, yaitu 100 ml air kelapa + 10% kuning telur + 0 g

soya; 100 ml air kelapa + 10% kuning telur + 1,5 g soya; 100 ml air kelapa + 10% kuning telur + 3 g soya; 100 ml air kelapa + 10% kuning telur + 4,5 g soya; 100 ml air kelapa + 10% kuning telur + 6 g soya yang diulang sebanyak 4 kali.

Bahan pengencer dasar air kelapa yaitu air kelapa hijau muda, menambahkan 0,5 g penisilin dan 0,5 g streptomisin yang dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan pH-nya. Jika pH-nya asam ditambahkan NaOH 1 M hingga pH menjadi 6,8. Apabila pH-nya basa, maka ditambahkan HCl 1 M hingga pH menjadi 6,8. Kemudian pengencer air kelapa disterilisasi menggunakan *milipore* ukuran 0,22 μ m lalu disuplementasi dengan soya yaitu 0 g; 1,5 g; 3 g; 4,5 g; 6 g. Setelah menambahkan soya (0 g; 1,5 g; 3 g; 4,5 g; 6 g) dalam pengencer dasar air kelapa kemudian dihomogenkan lalu didiamkan selama 3 hari dalam *refrigerator* hingga membentuk dua lapisan yaitu endapan dan supernatan. Lalu mengambil supernatan memakai spuit dan memindahkan dalam erlenmeyer lain.

Penampungan semen segar dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Ungaran Jawa Tengah. Semen segar diperoleh dari pejantan sapi Simmental berusia ± 3 tahun dengan berat badan ± 1000 kg yang ditampung menggunakan metode *Artificial Vagina* (AV). Evaluasi semen segar secara makroskopis melingkupi volume, warna, konsistensi (derajat kekentalan), konsentrasi dan pH. Volume dan warna semen segar diperoleh dari melihat skala tabung yang digunakan ketika penampungan. Mengamati konsistensi semen dengan cara memiringkan secara perlahan tabung penampungan berisi semen segar kemudian ditegakkan kembali, jika laju aliran semen kembali dengan cepat menunjukkan konsistensi sedang ketika semen berpindah dengan lambat menunjukkan konsistensi kental. Mengukur konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan alat *spectrophotometer*. Mengukur pH semen segar menggunakan kertas lakmus dengan cara meneteskan sampel semen segar pada kertas lakmus. Evaluasi secara mikroskopis yaitu motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 \times (Wijayanto dkk., 2019).

Pengenceran semen dilakukan dalam *water bath* suhu 37°C dengan menggabungkan semen segar dalam pengencer dengan perlakuan soya yang bervariasi menggunakan rumus (Ambarsari dan Duchu, 2021):

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan:

V_1 : volume semen segar sapi Simmental (μ)

M_1 : konsentrasi semen segar yang diperoleh ($n \times 10^6$)

V_2 : volume pengencer yang akan dibuat (μ)

M_2 : satuan konsentrasi semen sapi simmental (25×10^6)

Setelah pencampuran pengencer dengan semen, kemudian dimasukkan dalam *water bath* dengan suhu 37°C dan disimpan dalam *refrigerator* menggunakan metode *water jacket* (Soi, 2016).

Pengamatan motilitas spermatozoa dengan cara meneteskan sampel Sapi Simmental pada *object glass* setelah itu ditutup dengan *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop menggunakan perbesaran 40 \times 10 di atas *thermal plate* pada suhu 37°C untuk mengamati dan mengestimasi spermatozoa yang bergerak aktif maju kedepan (progresif) (Azzahra dkk., 2016). Spermatozoa progresif menunjukkan pergerakan aktif ke depan, bukan gerakan berputar dan mundur (Tethool dan Purwaningsih, 2019).

Pengamatan viabilitas spermatozoa dengan mencampur semen dengan pewarna *eosin-nigrosin* dibuat apusan spermatozoa dengan meletakkan di atas *object glass* secara merata dan tipis. Preparat diamati menggunakan mikroskop menggunakan perbesaran 40 \times 10. Spermatozoa hidup ditandai dengan sel berwarna putih, sedangkan spermatozoa mati menyerap warna ditandai sel spermatozoa berwarna merah-keunguan. Hasil yang diperoleh dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Spermatozoa Hidup}}{\text{Spermatozoa Hidup} + \text{Spermatozoa Mati}} \times 100\% \text{ (Audia dkk., 2017)}$$

Pengamatan integritas membran menggunakan metode *Hypoosmotic Swelling Test* (HOST) dengan mencampurkan larutan HOST dengan 0,2 ml semen dan menginkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit dalam tabung *ependorf*. Kemudian membuat preparat ulas tipis pada *object glass* dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 \times 10. Spermatozoa dengan sel melingkar atau menggulung menandakan membran plasma utuh, sedangkan membran plasma rusak memiliki ciri ekor sel spermatozoa lurus (Swelum dkk., 2018).

Data yang diperoleh berupa motilitas, viabilitas, dan integritas membran yang kemudian ditransformasi dalam bentuk *Archin*. Data kemudian dianalisis dengan uji normalitas menggunakan

Kolmogorov-Smirnov kemudian dilanjutkan dengan uji statistika parametrik ANOVA satu arah untuk mengetahui homogenitas selanjutnya dilakukan uji Duncan untuk mengetahui beda nyata dan perlakuan soya optimal menggunakan SPSS 23.0 Data volume, warna, konsistensi, konsentrasi, dan pH dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Hasil evaluasi semen segar Sapi Simmental volume semen yang dihasilkan 5,5 ml, berwarna krem dan konsistensinya (derajat kekentalan) kental. Konsentrasi spermatozoa 1559×10^6 , derajat keasaman (pH) 6,8 dan motilitas 80% (Tabel 1). Semen segar yang dihasilkan dapat dikategorikan normal menunjukkan bahwa semen segar Sapi Simmental memenuhi Standart Nasional Indonesia dengan minimum motilitasnya sebesar 70%. Semen Sapi Simmental tersebut dapat dilanjutkan ke tahap pengenceran dan penyimpanan pada suhu refrigerator 4°C.

Tabel 1. Hasil pengamatan semen segar sapi Simmental

Parameter	Nilai
Volume (ml)	5,5 ml
Warna	Krem
Konsistensi	Kental
Konsentrasi (ml)	1559×10^6
pH	6,8
Motilitas Massa	2+
Motilitas Individu (%)	80%

Hasil penelitian pemberian pengencer air kelapa 100 ml-10% kuning telur dengan penambahan soya 0 g sampai dengan 6 g pada hari ke-0 menghasilkan motilitas spermatozoa Sapi Simmental sebesar $55,78 \pm 0,26\%$ sampai dengan $14,01 \pm 0,23\%$. Pada hari ke-0 penambahan konsentrasi 0 g sampai dengan 6 g soya mengalami penurunan nilai motilitas. Pada tren konsentrasi soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur yang semennya disimpan pada penyimpanan hari ke-1, ke-2 maupun hari ke-3 seperti halnya penyimpanan pada hari ke-0. Lama penyimpanan semen dalam menunjukkan bahwa semakin lama semen disimpan dalam refrigerator (4°C) semakin menurun motilitasnya (Tabel 2).

Tabel 2. Motilitas spermatozoa sapi Simmental dengan penambahan soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur selama penyimpanan dalam refrigerator (Suhu 4°C).

Perlakuan	Rata-rata Motilitas Selama Penyimpanan (%) \pm Standar Deviasi Hari Ke-			
	0	1	2	3
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+0 g Soya	$55,10 \pm 0,32^d$	$44,16 \pm 0,59^c$	$34,93 \pm 0,35^c$	$23,93 \pm 0,54^d$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+1,5 g Soya	$55,78 \pm 0,26^d$	$50,08 \pm 0,27^d$	$39,82 \pm 0,40^d$	$35,12 \pm 0,19^e$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+3 g soya	$49,95 \pm 0,36^c$	$44,95 \pm 0,25^c$	$30,01 \pm 0,41^b$	$19,87 \pm 0,28^c$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+4,5 g Soya	$44,29 \pm 0,63^b$	$39,82 \pm 0,33^b$	$20,55 \pm 0,71^b$	$15,11 \pm 0,27^b$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+6 g Soya	$39,86 \pm 0,34^a$	$29,67 \pm 0,33^a$	$19,93 \pm 0,44^a$	$14,01 \pm 0,23^a$

*Keterangan: Notasi abjad berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian konsentrasi soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur selama penyimpanan dalam refrigerator (suhu 4°C) terhadap motilitas spermatozoa semen Sapi Simmental sangat signifikan ($P < 0,00$). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan air kelapa 100 ml + 10% kuning telur + 1,5 g soya menghasilkan

motilitas tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya baik pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2 maupun hari ke-3 ($P < 0,05$) yang disimpan dalam refrigerator 4°C (Tabel 2).

Hasil penelitian pemberian pengencer air kelapa 100 ml-10% kuning telur dengan penambahan soya 0 g sampai dengan 6 g pada hari ke-0 menghasilkan viabilitas spermatozoa Sapi Simmental sebesar $64,92 \pm 0,13\%$ sampai dengan $15,02 \pm 0,27\%$. Pada hari ke-0 penambahan konsentrasi 0 g sampai dengan 6 g soya mengalami penurunan nilai viabilitas spermatozoa. Pada hari ke-0 penambahan konsentrasi 0 g sampai dengan 6 g soya mengalami penurunan nilai viabilitas. Pada tren konsentrasi soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur yang semennya disimpan pada penyimpanan hari ke-1, ke-2 maupun hari ke-3 seperti halnya penyimpanan pada hari ke-0. Lama penyimpanan semen dalam menunjukkan bahwa semakin lama semen disimpan dalam refrigerator (4°C) semakin menurun nilai viabilitasnya (Tabel 3).

Tabel 3. Viabilitas spermatozoa sapi Simmental dengan penambahan soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur selama penyimpanan dalam suhu 4°C

Perlakuan	Rata-rata Viabilitas Selama Penyimpanan (%) \pm Standar Deviasi Hari Ke-			
	0	1	2	3
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+0 g Soya	$57,59 \pm 0,43^d$	$46,90 \pm 0,33^c$	$36,93 \pm 0,35^d$	$27,93 \pm 0,42^d$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+1,5 g Soya	$64,92 \pm 0,13^e$	$61,02 \pm 0,45^d$	$49,86 \pm 0,25^e$	$44,90 \pm 0,17^e$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+3 g Soya	$52,95 \pm 0,15^c$	$46,67 \pm 0,18^c$	$33,96 \pm 0,25^c$	$24,67 \pm 0,26^c$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+4,5 g Soya	$47,00 \pm 0,12^b$	$42,90 \pm 0,15^b$	$32,91 \pm 0,09^b$	$17,03 \pm 0,41^b$
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+6 g Soya	$43,15 \pm 0,27^a$	$33,88 \pm 0,15^a$	$19,97 \pm 0,13^a$	$15,02 \pm 0,27^a$

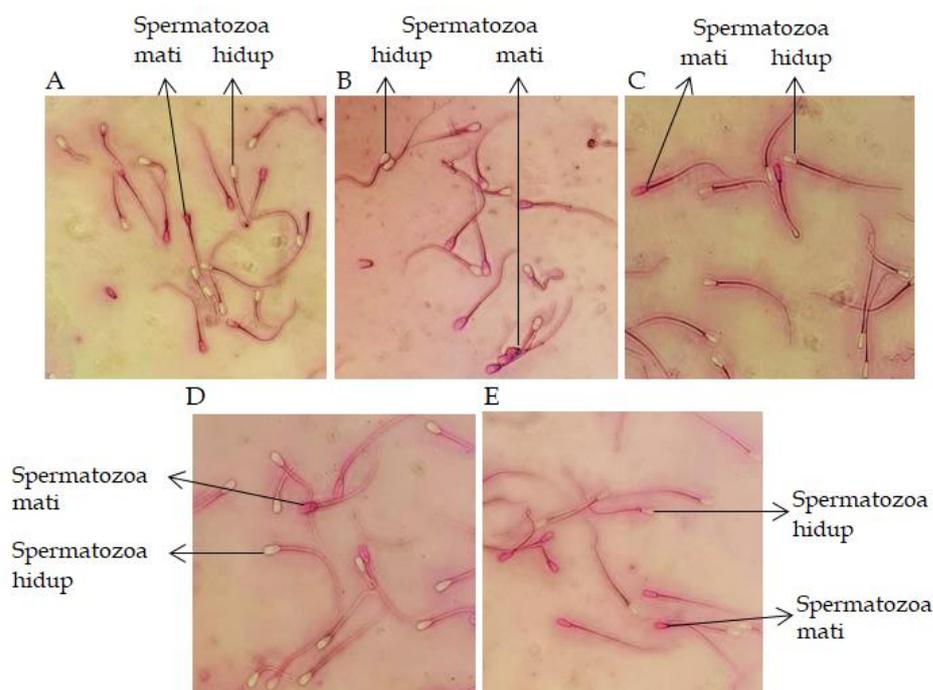
*Keterangan: Notasi abjad berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$).

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian konsentrasi soya terhadap viabilitas spermatozoa Sapi Simmental sangat signifikan ($P < 0,00$). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan air kelapa + 10% kuning telur + 1,5 g soya paling optimal menghasilkan viabilitas spermatozoa tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2 maupun pada hari ke-3 ($P < 0,05$) yang disimpan pada refrigerator 4°C (Tabel 3).

Berdasarkan hasil pengamatan viabilitas spermatozoa dapat dilihat pada (Gambar 1) yang menandakan bahwa perlakuan air kelapa 100 ml-10% kuning telur + 1,5 g soya menghasilkan jumlah spermatozoa hidup lebih banyak daripada yang mati dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hasil penelitian pemberian pengencer air kelapa 100 ml-10% kuning telur dengan penambahan soya 0 g sampai dengan 6 g pada hari ke-0 menghasilkan integritas membran spermatozoa Sapi Simmental sebesar $53,97 \pm 0,15\%$ sampai dengan $14,00 \pm 0,22\%$. Pada hari ke-0 penambahan konsentrasi 0 g sampai dengan 6 g soya mengalami penurunan nilai integritas membran spermatozoa. Pada hari ke-0 penambahan konsentrasi 0 g sampai dengan 6 g soya mengalami penurunan nilai integritas membran. Pada tren konsentrasi soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur yang semennya disimpan pada penyimpanan hari ke-1, ke-2 maupun hari ke-3 seperti halnya penyimpanan pada hari ke-0. Lama penyimpanan semen dalam menunjukkan bahwa semakin lama semen disimpan dalam refrigerator (4°C) semakin menurun nilai integritas membrannya (Tabel 4).

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian konsentrasi soya terhadap integritas membran spermatozoa Sapi Simmental sangat signifikan ($P < 0,00$). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa perlakuan air kelapa + 10% kuning telur + 1,5 g soya paling optimal menghasilkan integritas membran spermatozoa tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-2 maupun pada hari ke-3 ($P < 0,05$) yang disimpan pada refrigerator 4°C (Tabel 4).



Gambar 1. Viabilitas spermatozoa dalam berbagai perlakuan perbesaran 40×10. Keterangan: A= Air kelapa 100ml + 10% kuning telur + 0g soya; B= Air kelapa 100ml + 10% kuning telur + 1,5g soya; C= Air kelapa 100ml + 10% kuning telur + 3g soya; D= Air kelapa 100ml + 10% kuning telur + 4,5g soya; E= Air kelapa 100ml + 10% kuning telur + 6g soya.

Tabel 4. Integritas membran spermatozoa sapi Simmental dengan penambahan soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur selama penyimpanan dalam suhu 4°C

Perlakuan	Rata-rata Integritas Membran Selama Penyimpanan (%) ± Standar Deviasi Hari Ke-			
	0	1	2	3
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+0 g Soya	52,86 ± 0,17 ^d	43,10 ± 0,23 ^c	33,92 ± 0,27 ^c	23,85 ± 0,32 ^d
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+1,5 g Soya	53,97 ± 0,15 ^e	48,83 ± 0,19 ^e	38,11 ± 0,32 ^d	34,15 ± 0,31 ^e
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+3 g Soya	48,92 ± 0,16 ^c	43,95 ± 0,42 ^d	28,98 ± 0,18 ^b	18,87 ± 0,28 ^c
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+4,5 g Soya	43,66 ± 0,43 ^b	38,98 ± 0,17 ^b	28,91 ± 0,14 ^b	14,00 ± 0,22 ^b
Air Kelapa 100ml +10% Kuning Telur+6 g Soya	39,66 ± 0,31 ^a	28,88 ± 0,19 ^a	18,08 ± 0,19 ^a	13,01 ± 0,16 ^a

*Keterangan: Notasi abjad berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

PEMBAHASAN

Semen segar yang dihasilkan pejantan Sapi Simmental berumur 4 tahun dengan berat badan ±1000 kg volume semen yang dihasilkan 5,5 ml, berwarna krem dan konsistensinya (derajat kekentalan) kental. Konsentrasi spermatozoa 1559×10^6 , derajat keasaman (pH) 6,8 dan motilitas 80%. Semen segar yang dihasilkan dapat dikategorikan normal. Semen segar ini dapat diproses ke tahap pengenceran dan penyimpanan pada suhu refrigerator 4°C. Hal ini sesuai dengan SNI (2017) standar minimum motilitas semen segar yaitu 70% dan untuk standar minimum motilitas setelah pengenceran minimal 50%.

Berdasarkan uji Anova menyatakan bahwa ada pengaruh sangat signifikan ($P < 0,00$) penambahan soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa Sapi Simmental. Perlakuan air kelapa 100 ml-10% kuning telur + 1,5 g soya menghasilkan nilai motilitas

sebesar $55,78 \pm 0,26\%$; $50,08 \pm 0,27\%$; $39,82 \pm 0,40\%$; $35,12 \pm 0,19\%$ berurut mulai hari ke-0 hingga hari ke-3 yang merupakan perlakuan dengan nilai tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Nilai motilitas yang tinggi diduga karena kandungan karbohidrat dan lesitin pada pengencer air kelapa-kuning telur dan soya. Menurut Tih dkk., (2017) dalam pengencer air kelapa mengandung beberapa fraksi gula seperti sukrosa, sorbitol, glukosa, fruktosa, galaktosa, xilosa, manosa dan mineral yang dibutuhkan spermatozoa dan berfungsi sebagai sumber energi. Dalam 100 ml air kelapa hijau muda terkandung 7,25 mg glukosa; 9,18 mg sukrosa; dan 5,25 mg fruktosa (Cahyani dkk., 2019). Audia dkk., (2017) pengencer dasar air kelapa dan 10% kuning telur mampu dijadikan sumber energi bagi spermatozoa. Menurut Standart Nasional Indonesia (2017) nilai minimum motilitas setelah pengenceran adalah 50%. Coester dkk., (2019) berpendapat bahwa kandungan lestin mampu melindungi membran sel spermatozoa selama penyimpanan pada suhu rendah. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan pengencer air kelapa-10% kuning telur + 1,5 g soya mampu mempertahankan motilitas spermatozoa rata-rata dalam kisaran normal atau sesuai standar hanya hingga hari ke-1 setelah pengenceran. Hal ini diduga karena peningkatan tekanan osmotik, sesuai dengan pernyataan Maulida (2014) bahwa peningkatan tekanan osmotik atau hipertonik dapat sehingga permeabilitas membran plasma sperma menurun dan terjadi perpindahan cairan dari dalam sel sperma menuju keluar tubuh sperma, menyebabkan persentase kematian sel sperma meningkat.

Perlakuan air kelapa 100 ml-10% kuning telur + 6 g soya menghasilkan nilai motilitas sebesar $39,86 \pm 0,34\%$; $29,67 \pm 0,33\%$; $19,93 \pm 0,44\%$; $14,01 \pm 0,23\%$ berurut mulai hari ke-0 hingga hari ke-3 yang merupakan hasil dengan nilai rerata terendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya baik pada hari ke-0 hingga hari ke-3. Namun terjadi penurunan motilitas setelah dilakukan penyimpanan pada hari ke-1, ke-2 maupun hari ke-3. Hal ini membuktikan bahwa semen yang disimpan pada suhu 4°C akan mengalami cekaman dingin (*cold shock*) yang dapat menimbulkan terdegradasinya motilitas spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sudarmanto dkk., (2016) Saat terjadi penurunan suhu spermatozoa akan menyesuaikan diri dengan melakukan homeostatis untuk menyeimbangkan cairan di sekitar sel-sel spermatozoa yaitu cairan ekstrasel yang merupakan *interface* antara sel dan lingkungan luar. Ketika perubahan suhu terjadi transisi dari membran lipid terpisah dan penurunan sifat permeabilitas dari membran sel hidup. Pubiandara dkk., (2016) menambahkan bahwa kejutan dingin berpengaruh pada *fosfolipida* yang menyebabkan kerusakan membran plasma sehingga ion-ion seperti kalsium bebas masuk ke dalam sel. Menurut Priyanto dkk., (2015) kerusakan spermatozoa dapat terjadi akibat pengencer semen yang mengandung krioprotektan yang bersifat hiperosmotik, bahan pengencer yang mengandung krioprotektan dengan tekanan osmotik di atas 100 mOsm kg^{-1} sedangkan tekanan osmotik semen segar adalah antara $250\text{-}350 \text{ mOsm kg}^{-1}$.

Persentase motilitas spermatozoa mempengaruhi persentase viabilitas. Azzahra dkk., (2016) menjelaskan bahwa viabilitas berkorelasi dengan motilitas yang ditentukan oleh kekuatan membran plasma spermatozoa. Ratnawati dkk., (2018) menambahkan bahwa salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa selama proses pengenceran adalah viabilitas. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan nyata pada setiap perlakuan. Penambahan 1,5 g soya menunjukkan rerata tertinggi selama penyimpanan hari ke-0 hingga ke-3 yaitu sebesar $64,92 \pm 0,13\%$; $61,02 \pm 0,45\%$; $49,86 \pm 0,25\%$; $44,90 \pm 0,17\%$ secara berurut. Nilai rerata terendah ditunjukkan pada penambahan 6 g soya selama penyimpanan hari ke-0 hingga ke-3 yaitu sebesar $43,15 \pm 0,27\%$; $33,88 \pm 0,15\%$; $19,97 \pm 0,13\%$; $15,02 \pm 0,27\%$ secara berurut (Tabel 3). Semakin lama waktu penyimpanan semakin berkurang sumber energi yang terdapat dalam pengencer yang menyebabkan turunnya daya hidup spermatozoa. Menurut Rizal dan Riyadhi (2016) menyatakan bahwa bahan pengencer semen substrat energi harus selalu tersedia selama penyimpanan karena hal itu akan menjamin berlangsungnya proses glikolisis untuk menghasilkan energi berupa ATP sehingga pergerakan (motilitas) spermatozoa dapat dipertahankan.

Gambar 1. Menunjukkan viabilitas spermatozoa setiap perlakuan yang dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran $400\times$. Spermatozoa hidup ditunjukkan dengan kepala tidak berwarna atau transparan, sedangkan spermatozoa mati ditunjukkan dengan kepala berwarna merah (Pratama dkk., 2018). Penambahan konsentrasi soya berfungsi sebagai pelindung membran spermatozoa selama penyimpanan suhu rendah karna adanya kandungan lestin sebagai membran *counting* berfungsi menjaga konfigurasi normal lipid bilayer pada membran spermatozoa (Pamungkas dan Krisna, 2017). Namun pemberian konsentrasi soya berlebihan menyebabkan efek toksik. Hal ini ditandai dengan adanya akumulasi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang merupakan senyawa penyebab kematian spermatozoa (Noviansyah dkk., 2017). Berlebihnya suplementasi lestin mengakibatkan efek toksik yang berpengaruh terhadap persentase viabilitas spermatozoa. Fariedah dan Widodo

(2020) menjelaskan ketika larutan bersifat non-isotonik akan berpengaruh pada transfer air di proses metabolisme sel yang akan menyebabkan kematian sel spermatozoa. Lama waktu penyimpanan semen cair mempengaruhi persentase motilitas karena semakin lama waktu penyimpanan maka energi yang dikeluarkan dan nutrisi yang dibutuhkan untuk respirasi semakin tinggi hingga menyebabkan penurunan motilitas.

Integritas membran menunjukkan keutuhan membran spermatozoa agar tetap terjaga terhadap transport air dari luar sel tidak masuk ke dalam sel (Rizal dan Herdis, 2016). Keutuhan membran sel yang layak digunakan untuk inseminasi buatan sebesar 50% (Solihati dkk., 2018). Pengujian keutuhan membran plasma diukur dengan metode *hyhypo-osmotic test* (HOST) (Sutama dkk., 2015). Hasil uji integritas membran menunjukkan penambahan konsentrasi 6 g soya memiliki nilai rerata terendah dibandingkan konsentrasi soya lainnya yaitu sebesar 39,66±0,31%; 28,88±0,19%; 18,08±0,19%; 13,01±0,16% mulai hari ke-0 hingga hari ke-3 secara berurutan. Pada penambahan konsentrasi 1,5 g soya mampu mempertahankan keutuhan membran dengan nilai rerata tertinggi dibandingkan konsentrasi lainnya yaitu sebesar 53,97±0,15%; 48,83±0,19%; 38,11±0,32%; 34,15±0,31% mulai hari ke-0 hingga ke-3 secara berurutan dan mengalami penurunan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Coester dkk., (2019) bahwa lipoprotein dalam kuning telur mampu melindungi keutuhan selubung lipoprotein. Noviansyah dkk (2017) menambahkan adanya soya yang mengandung lestin juga bersifat *counting* guna menjaga konfigurasi serta keutuhan membran plasma spermatozoa. Namun lama waktu penyimpanan juga mempengaruhi kualitas spermatozoa meliputi motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa karena semakin tinggi nya energi dan nutrisi yang digunakan untuk respirasi yang mengakibatkan penurunan kualitas spermatozoa setiap harinya. Butta dkk., (2021) menjelaskan kerusakan membran plasma berdampak pada enzim (*aspartat-aminotrasferas*) utama dalam produksi ATP (*Adenosin Trifosfat*) yang ke luar dari dalam sel mengakibatkan produksi ATP dan motilitas terhambat. Oleh karena itu komposisi bahan pengencer sangat berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa dengan menekan nilai penurunan. Kandungan lestin bersifat *coating* untuk menjaga *phospholipid bilayer* yang merupakan susunan utama membran spermatozoa. Hal ini didukung Puteri (2019) menyatakan bahwa membran plasma yang fungsional akan membengkak dikarenakan larutan hipoosmotik akan masuk dalam sel melewati membran plasma spermatozoa sehingga ekor spermatozoa menggelembung.

Blengur dkk., (2020) menjelaskan spermatozoa yang sudah mati berpotensi menjadi toksik bagi spermatozoa lain yang masih hidup, hal ini yang menyebabkan nilai kualitas spermatozoa pada perlakuan dengan penambahan soya cenderung lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan penambahan 1,5 g soya. Yahaq dkk., (2019) menjelaskan kematian sel sperma terjadi dikarenakan kondisi asam pengencer yang dapat meningkatkan tekanan osmotik pada cairan semen, yang mengakibatkan ketidakseimbangan tekanan osmotik antara di dalam dan diluar sel. Pamungkas dan Krisna (2017) menambahkan bahwa susunan utama membran spermatozoa yaitu *phospholipid bilayer* yang memerlukan kandungan lestin yang bersifat sebagai membran *coating* selama proses penyimpanan. Namun lama waktu penyimpanan juga mempengaruhi kualitas spermatozoa meliputi motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa karena semakin tinggi nya energi dan nutrisi yang digunakan untuk respirasi yang mengakibatkan penurunan kualitas spermatozoa setiap harinya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi soya 1,5g adalah yang optimal dalam pengencer dasar air kelapa 100 ml + 10% kuning telur dalam menjaga kualitas spermatozoa yakni motilitas, viabilitas dan integritas membran spermatozoa selama 3 hari dalam suhu penyimpanan refrigerator (4°C) dan dapat diimplementasikan sebagai pengencer spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarsari EV, dan Duchan N, 2021. Pengaruh Albumin Telur dari Berbagai Jenis Unggas sebagai Pengganti BSA (Bovine Serum Albumin) dalam Pengencer CEP Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (PE) Pada Suhu Penyimpanan 4-5° C. *Lentera Bio*; 10(2): 207-212.
- Anwar P, Ondho Y, dan Samsudewa D, 2014. Pengaruh Pengencer Ekstrak Air Tebu dengan Penambahan Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Peternakan*; 11(2): 48-58.
- Audia RP, Salim MA, Isnaini N, dan Susilawati T, 2017. Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau sebagai Bahan Pengencer yang ditambah 10% Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika*; 18(1): 58-68.

- Aziz AF, 2017, Pemanfaatan Air Kelapa Tua Berbeda Varietas sebagai Pengencer Terhadap Kualitas Semen Kambing boer pada Penyimpanan 3-5°C. *Doctoral Dissertation*. Tidak Dipublikasikan. Malang: Universitas Brawijaya Malang.
- Azzahra FY, Setiatin ET, dan Samsudewa D, 2016. Evaluasi Motilitas dan Pesentase Hidup Semen Segar Sapi PO Kebumen Pejantan Muda. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*; 11(2) 99-107.
- Butta CA, Gaina CD, dan Foeh ND, 2021. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur Ayam Kampung. *Jurnal Veteriner Nusantara*; 4(1): 3-3.
- Cahyani SO, Dwiloka B, dan Rizqiati H, 2019. Perubahan Sifat Fisikokimia dan Mutu Hedonik Kefir Air Kelapa Hijau (*Cocos nucifera* L.) dengan Penambahan High Fructose Syrup (HFS). *Jurnal Teknologi Pangan*; 3(1): 96-103.
- Chelucci S, Pasciu V, Succu S, Addis D, Leoni GG, Manca ME, dan Berlinguer F, 2015. Soybean Lecithin Based Extender Preserves Spermatozoa Membrane Integrity and Fertilizing Potential During Goat Semen Cryopreservation. *Theriogenology*; 83(6): 1064-1074.
- Coester JS, Sulaiman A, dan Rizal M, 2019. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang dipreservasi dengan Pengencer Tris dan Berbagai Konsentrasi Sari Kedelai. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*; 6(2): 175-180.
- Ducha N, 2018. The Test About Blood Serum Capabilities in Maintaining The Quality of Bull Spermatozoa During Storage in CEP Diluent at Refrigerator Temperature. *Earth and Environmental Science*; 130(1): 1-5.
- Fariedah F, dan Widodo MS, 2020. Kombinasi Ekstender Larutan Sari Kurma (*Phoenix dactylifera*) dan Ringer Laktat dalam Kualitas Spermatozoa Beberapa Ikan Air Tawar. *Journal of Aquaculture and Fish Health*; 9(3): 182-188.
- Gamal A, El-Nattat WS, El-Sheshtawy RI, dan El-Maaty AMA, 2016. Substitution of Egg Yolk with Different Concentrations of Soybean Lecithin in Tris-based Extender During Bulls Semen Preservability. *Asian Pacific Journal of Reproduction*; 5(6): 514-518.
- Kusumawati ED, Leondro H, Krisnaningsih ATN, Susilawati T, Isnaini N, dan Widhad R, 2016. Pengaruh Suhu dan Lama Simpan Semen Segar Terhadap Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (PE). *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian*. 199-208.
- Masyitoh H, Suprayogi TW, Praja RN, Srianto P, Madyawati SP, dan Saputro AL, 2018. Persentase Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Sopera Dalam Pengencer Tris Kuning Telur dan Susu Skim Kuning Telur Before Freezing. *Jurnal Medik Veteriner*; 1(3): 105-112.
- Maulida AN, 2014. Evaluasi Post Thawing Motility (PTM) Pada Semen Beku Sapi Simental Produksi BIB Ungaran. *Doctoral Dissertation*. Tidak Dipublikasikan. Universitas Diponegoro.
- Monova HA, dan Ducha N, 2019. Pengaruh Penambahan Soya dalam Pengencer Dasar Air Kelapa (*Cocos nucifera*) terhadap Motilitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) pada Penyimpanan di Suhu 4-5° C. *LenteraBio*; 8(3): 150-154.
- Muada DB, Papatungan U, Hendrik MJ, dan Turangan SH, 2017. Karakteristik Semen Segar Sapi Bangsa Limousin dan Simmental di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Zootek*; 37(2): 360-369.
- Muhammad D, Isnaini N, Kuswati K, Yekti APA, Aryogi A, Lutfi M, dan Susilawati T, 2019. Pengaruh Berbagai Formulasi Pengencer Dasar Air Kelapa Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi PO (Peranakan Ongole) Selama Simpan Dingin. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*; 29(1): 1-8.
- Noviansyah L, Tjandrakirana T, dan Ducha N, 2017. Pengaruh Penambahan Soya dalam Pengencer Dasar Tris-Citric Acid-Fructose (TCF) terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Boer Pasca Pembekuan. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*; 6(1): 23-26.
- Pamungkas FA, dan Krisnan R, 2017. Pemanfaatan Sari Kedelai Sebagai Bahan Pengencer Pengganti Kuning Telur Untuk Kriopreservasi Spermatozoa Hewan. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*; 36(1): 21-27.
- Pratama JWA, Sari DAK, dan Sigit M, 2018. Pengaruh Beberapa Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simental. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*; 3(2): 35-38.
- Priyanto L, Arifiantini RI, dan Yusuf TL, 2015. Deteksi Kerusakan DNA Spermatozoa Semen Segar dan Semen Beku Sapi Menggunakan Pewarnaan *Toluidine Blue*. *Jurnal Veteriner*; 6(1): 48-55.
- Pubiandara S, Suharyati S, dan Hartono M, 2016. Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur terhadap Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*; 4(4): 292-299.
- Puteri LO, 2019. Kualitas Semen Sapi Limousin Berdasarkan Lingkar Skrotum Yang Berbeda. *Doctoral Dissertation*. Tidak Dipublikasikan. Universitas Brawijaya.
- Ratnawati D, Isnaini N, dan Susilawati T, 2018. Character Motility of Liquid Semen on Ongole Crossbreed (PO), Bali and Madura Bulls with Different Diluents at Cold Storage. *Asian Journal Of Microbiol Env*; 20(1): 21-28.
- Rizal M, dan Riyadhi M, 2016. Fertilitas Semen Kerbau Rawa (*Bubalus bubalis carabanensis*) yang diencerkan dengan Pengencer Nira Aren. *Jurnal Veteriner*; 17(3): 457-467.
- Rozi MFF, dan Ducha N, 2020. Pengaruh Konsentrasi Gliserol dalam Pengencer Tris-Soya terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Boer Sebelum dan Sesudah Pembekuan. *LenteraBio*; 9(1): 12-16.

- Sa'adah I, Mukson M, dan Ondho YS, 2019. Pengukuran Tingkat Kepuasan Peternak dalam Pelayanan Inseminasi Buatan Menggunakan Analisis Customer Satisfaction Index (CSI) dan Importance Performance Analysis (IPA). *Jurnal Ekonomi Pertanian dan Agribisnis*; 3(3): 557-567.
- Sitepu SA, dan Putra A, 2017. Pengaruh Penambahan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis Pada Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Post-Thawing Sapi Simmental. *Jurnal Peternakan Indonesia*; 19(3): 149-155.
- Soi MNJ, 2016. Uji Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali Jantan dengan Menggunakan Larutan Natrium Clorida (NACL) yang Berbeda Level. *Journal of Animal Science*; 1(2): 28-29.
- Solihati N, Rasad SD, Setiawan R, dan Nurjanah S, 2018. Pengaruh Kadar Gliserol Terhadap Kualitas Semen Domba Lokal. *Jurnal Biodjati*; 3(1): 63-71.
- Standart Nasional Indonesia. (2017). Semen Beku-Bagian 1 : Sapi. Diakses melalui [http://bibit.ditjenpkh.pertanian.go.id/sites/default/files/SNI %204869-1-2017%20Semen%20beku%20-%20Bagian%201%20Sapi.pdf](http://bibit.ditjenpkh.pertanian.go.id/sites/default/files/SNI%204869-1-2017%20Semen%20beku%20-%20Bagian%201%20Sapi.pdf) pada tanggal 28 Maret 2022.
- Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2020. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Kementerian Pertanian. Diakses melalui <https://ditjenpkh.pertanian.go.id/> pada tanggal 26 Agustus 2021.
- Sudarmanto S, Susilawati T, dan Isnaini N, 2016. Pengaruh Lama Gliserolisasi Terhadap Keberhasilan Produksi Semen Beku Sapi Simmental. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*; 25(2): 43-48.
- Sutama IK, Setiadi B, Budiarsana IGM, Kostaman AT, Wahyuarman, Hidayat MS, Mulyawan R, Sukmana dan Bachtiar, 2015. Pembentukan Kambing Persilangan Boereta untuk Meningkatkan Produksi Daging dan Susu. Depok: Penebar Swadaya
- Swelum AAA, Saadeldin IM, Ba-Awadh H, and Alowaimer AN, 2018. Effects of Melatonin Implants on The Reproductive Performance and Endocrine Fuction of Camel (*Camelus dromedarius*) Bulls During The Non Breeding and Subsequent Breeding Seasons. *Theriogenology*; 119: 18-27
- Tethool AN, dan Purwaningsih, 2019. Efek Pemberian Ekstrak Kayu Akway (*Drymis* Sp) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L). *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis*; 9(1): 24-31.
- Tih FTF, Pramono H, Hasianna ST, Naryanto ET, Haryono AG, dan Rachman O, 2017. Efek Konsumsi Air Kelapa (*Cocos nucifera*) terhadap Ketahanan Berolahraga Selama Latihan Lari Pada Laki-laki Dewasa bukan Atlet. *Global Medical & Health Communication*; 5(1): 33-38.
- Wijayanto FS, Ondho YS, dan Setiatin ET, 2019. Pengaruh Frekuensi Penampungan Terhadap Kualitas Semen Segar Sapi Po Kebumen yang dievaluasi Secara Makroskopis dan Mikroskopis. *Agromedia* ; 37(2): 26-33
- Yahaq MA, Ondho YS, dan Sutiyono B, 2019. Pengaruh Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Semen Sapi Limousin yang dibekukan terhadap Kualitas Post Thawing. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*;14(4): 380-386.
- Yodmingkwan P, Guntaprom S, Jaksamrit J, dan Lertchunhakiat K, 2016. Effects of Extenders on Fresh and Freezing Semen of Boer Goat. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*; 11: 125-130.

Article History:

Received: 24 Juni 2022

Revised: 21 Juli 2022

Available online: 31 Januari 2023

Published: 31 Januari 2023

Authors:

Sri Meliana Br Simangunsong, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: sri.18062@mhs.unesa.ac.id

Dyah Hariani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: dyahhariani@unesa.ac.id

How to cite this article:

Simangunsong SM, Hariani D, 2023. Pemberian Soya dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Simmental Penyimpanan Suhu 4°C. *LenteraBio*; 12(1): 60-69.