

## Pemberian Soya dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur pada Suhu 3-4°C terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Simmental Sebelum Pembekuan

### *The Effect of Soya on Coconut Water-Egg Yolk Diluent at 3-4°C on Before Freezing Simmental Bull Sperm Quality*

Umi Jazilah Salsabila Mahyuda\*, Dyah Hariani

Universitas Negeri Surabaya (Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya)

\*e-mail: [umi.18048@mhs.unesa.ac.id](mailto:umi.18048@mhs.unesa.ac.id)

**Abstrak.** Penyimpanan semen pada suhu rendah dapat menyebabkan penurunan hingga kerusakan pada spermatozoa akibat *coldshock*, maka dari itu dibutuhkan pengencer dengan fungsi sebagai krioprotektan untuk melindungi spermatozoa, salah satunya ialah soya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur pada suhu 3-4°C terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental sebelum pembekuan. Desain penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan pemberian konsentrasi soya 0g; 1,5g; 3g; 4,5g; dan 6 g yang diamati pada penyimpanan selama 2,5 jam, 5 jam, dan 7,5 jam. Terdapat 3 parameter yang diuji ialah motilitas, viabilitas, dan integritas membran. Parameter diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X pada *slide warmer* bersuhu 37°C. Data dianalisis menggunakan uji Anova dan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan saat pemberian konsentrasi soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental ( $P < 0,05$ ). Pemberian soya konsentrasi 1,5g menghasilkan hasil tertinggi pada variabel motilitas ( $44,27 \pm 1,03\%$ ), viabilitas ( $54,82 \pm 6,79\%$ ), dan integritas membran ( $44,74 \pm 1,3\%$ ). Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian konsentrasi soya 1,5 g pada pengencer air kelapa-kuning telur adalah konsentrasi paling optimal sehingga dapat diaplikasikan dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Simmental.

**Kata kunci:** soya; pengencer air kelapa; kuning telur; sapi simmental; kualitas spermatozoa.

**Abstract.** Storage of semen at low temperatures could decrease until damage to spermatozoa due to *coldshock*. Therefore a diluent as a cryoprotectant is needed to protect spermatozoa, one of which is soy. This study aimed to determine the concentration of soy on coconut water-egg yolk basic diluent at a temperature of 3-4°C in the sperm quality of Simmental Bull before freezing. The research used a completely randomized design with 5 treatments giving 0g soy concentration; 1.5g; 3g; 4.5g; and 6g were observed on storage for 2.5 hours, 5 hours, and 7.5 hours. There are 3 parameters, namely motility, viability, and membrane integrity. Parameters were observed using a light microscope with 400× magnification on a slide warmer at 37°C. Data were analyzed using the Anova test and Duncan test. The results showed that there was a very significant effect when giving the concentration of soy in coconut water-egg yolk diluent on the sperm quality of Simmental Bull ( $P < 0.05$ ). Giving 1.5 g soy concentration had the highest yield in motility ( $44.74 \pm 1.3\%$ ), viability ( $54.82 \pm 6.79\%$ ), and membrane integrity ( $44.74 \pm 1.3\%$ ). The study concluded that 1.5g soya concentration in coconut water-egg yolk diluent was the most optimal concentration could be applied in maintaining sperm quality of Simmental Bull.

**Key words:** soy; coconut water diluent; egg yolk; simmental bull; spermatozoa quality.

## PENDAHULUAN

Perbaikan mutu ternak Indonesia pada saat ini sedang dilakukan karena kebutuhan pangan terus melonjak. Pertumbuhan penduduk Indonesia yang meningkat mempengaruhi kebutuhan pangan sumber hewani sebagai nilai gizi juga ikut meningkat yaitu 58,6g setiap harinya (Badan Pusat Statistik, 2020). Daging sapi merupakan sumber protein hewani yang kaya gizi serta berpotensi tinggi dalam memenuhi kebutuhan pangan (Ariani *et al.*, 2018). Dengan demikian, peternakan sapi potong memiliki peluang tinggi dalam menyediakan pangan sumber protein hewani ini menurut Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan (2020) konsumsi daging sapi nasional mencapai 490,4 ribu ton, 3.495,1 ribu ton untuk ayam broiler, dan 4.753 ribu ton untuk telur ayam. Sapi potong Simmental merupakan salah satu sapi potong yang banyak diuji coba dalam melakukan upaya perbaikan hasil ternak karena kondisi pasokan sapi akibat populasi dan kebutuhan konsumsi nasional tidak seimbang. Selain itu, menurut

Zamuna *et al.* (2015) dan Sunami *et al.* (2017) sapi potong jenis Simmental selain menghasilkan daging yang baik juga dapat menghasilkan volume semen segar banyak dari testis dengan kualitas yang baik. Peran spermatozoa pejantan dalam perbaikan hasil ternak Sapi Simmental perlu dijamin kualitasnya untuk membuahi sapi Simmental betina.

Produksi kualitas spermatozoa yang baik dapat dilihat dari beberapa faktor seperti pakan, musim, dan suhu. Faktor lainnya yang berpengaruh diantaranya umur, libido, frekuensi ejakulasi, penyakit, herediter, dan gerak badan (Hindrawati *et al.*, 2020). Kondisi spermatozoa yang baik sangat penting dalam memperbaiki mutu anakan sapi melalui Inseminasi Buatan (IB). Populasi mutu ternak Indonesia dapat dipercepat dengan beberapa metode seperti Transfer Embrio (TE), *Sexing Sperm* (pemisahan sperma), dan Inseminasi Buatan (IB) (Wahjuningsih *et al.*, 2019). Dalam proses memperbanyak pejantan kualitas unggul dapat menggunakan teknologi IB yang paling banyak dilakukan. Di Indonesia, dalam prosedur IB proses memasukkannya semen ke dalam saluran reproduksi betina dengan bantuan manusia menggunakan *insemination gun* pada saat birahi (Widjaja *et al.*, 2017). Pejantan unggul menjadi salah satu syarat menjadi pejantan yang layak digunakan dalam IB. Dalam proses IB, pejantan unggul diharuskan memenuhi persyaratan teknis baik secara reproduktif maupun kesehatannya, setelah semen diproses dengan penyimpanan pada suhu rendah. Terdapat beberapa syarat yang harus dipenuhi yaitu sapi memiliki tingkat libido yang tinggi, *serving ability* dan *serving capability* (kesanggupan dan kemampuan untuk mengawini) yang baik, dan warna semen berwarna putih susu kekuningan (Sam *et al.*, 2017).

Penyimpanan semen cair pada suhu dingin merupakan solusi dari rendahnya ketahanan semen segar pada suhu ruang. Menurut Kusumawati *et al.* (2018) semen segar pada suhu ruang hanya baik digunakan tidak lebih dari 3 jam. Namun, problema penyimpanan semen berpengaruh pada menurunnya kualitas spermatozoa hingga terjadi adanya *cold shock* terhadap sel spermatozoa. Problema tersebut dapat diatasi dengan penggunaan zat-zat pelindung di dalam pengencer dan penurunan suhu secara gradual (Rahmawati, 2017). Menurut Yunita (2021) dalam menghindari kerusakan spermatozoa dapat dilakukan penyimpanan semen cair suhu refrigerator 3-4 °C yang dapat digunakan untuk menyimpan semen cair. Akibat dari *cold shock* sendiri dapat menyebabkan plasma dan isi sel spermatozoa mengalami kerusakan fisik dan fungsional seperti membran lipid bilayer mengalami cekaman akibat suhu dingin. Kerentanan lipid bilayer pada membran akibat cekaman berhubungan erat dengan ketiga jenis komponen membran yang ikatannya melonggar yaitu fosfolipid, kolesterol, dan glikolipid (Arvioges *et al.*, 2021). Selain itu penurunan suhu juga dapat menyebabkan energi dalam sel spermatozoa berkurang yang diakibatkan usaha sel dalam mempertahankan pergerakannya. Dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Simmental diperlukan adanya pengencer agar menjamin kebutuhan fisik dan kimianya (Sitepu & Putra, 2017).

Suatu pengencer berfungsi sebagai krioprotektan dalam artian melindungi spermatozoa dari penurunan kualitas hingga kerusakan dalam proses penyimpanan dalam suhu refrigerator yakni 3-4°C. Air kelapa memiliki potensi dijadikan campuran dalam pengencer alternatif yang mudah didapat dan harganya terjangkau. Air kelapa juga mengandung zat-zat yang diperlukan sebagai pengencer seperti karbohidrat sederhana, dan mineral sebagai sumber energi spermatozoa. Air kelapa bersifat sebagai penyangga (*buffer*) (Wicahyo, 2018). Kuning telur juga perlu ditambahkan untuk memperkuat pada kandungan pengencer. Kuning telur memiliki lipoprotein, lesitin, protein, serta glukosa dan viskositas yang efektif bagi spermatozoa (Amaliah, 2022).

Namun, air kelapa saja tidak dapat melindungi spermatozoa yang disimpan pada suhu rendah sehingga dibutuhkan Soya sebagai upaya melindungi spermatozoa dengan baik. Bahan alami sumber nabati juga dapat digunakan sebagai kombinasi bahan pengencer semen seperti soya (Immelda *et al.*, 2019). Soya tersebut mengandung lesitin berfungsi dalam melindungi membran spermatozoa selama penyimpanan suhu refrigerator (Gamal *et al.*, 2016). Menurut Masluchah & Ducha (2021) soya dapat melindungi spermatozoa karena mampu mencegah pembentukan kristal es intraseluler dan dapat melindungi membrane spermatozoa dari kerusakan mekanis selama proses pendinginan.

Penelitian Monova & Ducha (2019) menjelaskan bahwa pengaruh penambahan soya sebanyak 4 g dalam pengencer dasar air kelapa sebagai konsentrasi terbaik dapat menghasilkan motilitas spermatozoa sebesar 63,75±0,86%; viabilitas spermatozoa 52,85±2,80%; dan 50,41±0,42% untuk integritas membran sel spermatozoa pada domba ekor gemuk (DEG) disimpan suhu 4-5°C. Pada penelitian Immelda *et al.* (2019) menunjukkan bahwa penambahan soya sebanyak 15% pada pengencer semen domba Sapudi merupakan hasil optimal dengan hasil viabilitas 84,3±1,96%.

Berdasarkan hasil penelitian dari kedua peneliti di atas yang meneliti tentang pengaruh pemberian berbagai konsentrasi soya terhadap kualitas spermatozoa perlu diperbarui dengan

pengencer dasar yang berbeda. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian pengembangan dengan pemberian konsentrasi soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental yang disimpan pada suhu refrigerator 3-4°C sebelum pembekuan karena belum banyak diteliti dan perlu dilakukan penelitian ini merupakan novelty. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pemberian konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental pola faktorial menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Faktor penambahan soya sebanyak 5 perlakuan; air kelapa (100 ml)+ kuning telur (10%) + soya (0 g), air kelapa (100 ml)+ kuning telur (10%) + soya (1,5 g), air kelapa (100 ml)+ kuning telur (10%) + soya (3 g), air kelapa (100 ml)+ kuning telur (10%) + soya (4,5 g), air kelapa (100 ml)+ kuning telur (10%) + soya (6 g) yang diamati dengan lama penyimpanan 2,5 jam; 5 jam; dan 7,5 jam dengan 2 kali pengulangan.

Penelitian dimulai dari menyiapkan semua bahan dan alat yang sudah steril. Alat alat yang digunakan dalam pembuatan pengencer yaitu meliputi *erlenmeyer*, *beaker glass*, *gelas ukur*, *magnetic stirrer*, *sputit*, mikropipet, timbangan digital, kertas pH, aluminium foil, miliphore, gunting, dan pengaduk. Sterilisasi peralatan dilakukan dengan dicuci bersih menggunakan sabun *antibacterial* dan lap hingga kering. Setelah kering, peralatan disterilisasi dengan oven hingga mencapai suhu 116°C.

Penampungan semen pejantan sapi Simmental berumur 7 tahun dengan berat  $\pm 1000$ kg dilakukan di kandang penampungan BIB Ungaran, Semarang, Jawa Tengah. Penampungan dilakukan menggunakan alat bantu yaitu vagina buatan atau *Artificial Vagina (set AV)* yang dibuat menyerupai kondisi vagina sapi sesungguhnya yaitu dengan suhu 36°C. Semen segar yang telah ditampung diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

Pemeriksaan semen atau evaluasi semen dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi semen secara makroskopis meliputi pH, warna, volume, konsistensi dan konsentrasi. Sedangkan evaluasi secara mikroskopis meliputi motilitas individu dan motilitas massa (Hine *et al.*, 2019).

Pembuatan pengencer dasar air kelapa ditambahkan soya dengan masing-masing perlakuan dengan cara menghomogenkan 0,5 g penisilim dan 0,5 g streptomisin ke dalam 500 ml air kelapa muda menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah larutan homogen, pH larutan dicek, jika larutan terlalu asam maka larutan ditambahkan NaOH 1 M, seangkan jika larutan terlalu basah maka larutan ditambahkan HCl 1M hingga pH menjadi 6,8-7. Sterilisasi larutan dilakukan menggunakan milipore hingga larutan menjadi bening. Hasil sterilisasi pengencer dibagi menjadi 5 sesuai perlakuan dengan jumlah masing-masing 100 ml. suplementasi dilakukan dengan penambahan soya 0g; 1,5 g; 3 g; 4,5 g; 6 g. suplementasi dibiarkan dalam suhu refrigerator 3°C-4°C selama 3 hari hingga terbentuk endapan. Pengencer yang digunakan adalah supernatant dari larutan tersebut. Penggunaan pengencer dimasukkan terlebih dahulu dalam *waterbath* dengan suhu 27°C agar tidak terjadi *cold shock* pada saat pencampuran. Pengenceran semen dilakukan dengan memasukkan pengencer dalam *waterbath* bersuhu 27°C hingga suhu pengencer mencapai suhu tersebut. Pencampuran semen dengan pengencer dilakukan dengan perhitungan *spektrofotometer* sesuai konsentrasi semen yang didapat. Pencampuran semen segar dengan pengencer berbagai macam konsentrasi soya dapat menggunakan rumus (Ambarsari & Ducha, 2021):

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

Keterangan:

$V_1$ : volume semen segar sapi Simmental ( $\mu$ )

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

$V_2$ : volume pengencer yang akan dibuat ( $\mu$ )

$M_2$ : satuan konsentrasi semen sapi Simmental ( $25 \times 10^6$ )

Penyimpanan semen dilakukan setelah semen segar dan pengencer telah dicampur. Namun, proses penyimpanan dimulai dari peletakkan semen yang diberi pengencer ke dalam *beaker glass* berisi air bersuhu 27°C saat dimasukkan dalam *cool top*. hal ini perlu dilakukan agar semen tidak mengalami *cold shock* akibat penurunan suhu yang drastis karena penyimpanan pada *cool top* dengan suhu 3-4°C. Proses penyimpanan dilakukan dengan lama waktu 2,5 jam; 5 jam; dan 7,5 jam. Setelah beberapa

perlakuan waktu penyimpanan tersebut dilakukan dan dilakukan pemeriksaan semen atau evaluasi semen secara mikroskopis.

Pengamatan motilitas dilakukan dengan pengambilan perlakuan yang masih berada dalam *cool top* menggunakan mikropipet kemudian diteteskan dalam *object glass* dan ditutup *cover glass*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x10 dan disetting pada suhu 37 °C agar preparat berisi tetesan perlakuan tetap terjaga dan pergerakan motilitas dalam satuan persen (%) dapat terbaca dengan baik. Pengamatan viabilitas dilakukan saat perlakuan dalam *cool top* menggunakan mikropipet kemudian diteteskan dalam *object glass* dan ditutup *cover glass*. Pengamatan integritas membran dilakukan dengan metode *Hypoosmotic Swelling Test* (HOS Test) untuk mengetahui keutuhan membran plasma (MP) mengacu prosedur Purwoistri *et al.* (2013) yang dimodifikasi dengan melarutkan sampel ke dalam larutan hiposmotik (1:10) yang dibuat dengan menghomogenkan 1,3g fruktosa (Sigma, USA) dan 0,7g asam sitrat (Sigma, USA) ke dalam 100 mL aquades steril (Mili-Q-Water). Selanjutnya sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan diletakkan pada *object glass*, lalu ditutup *cover glass*. Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Spermatozoa yang memiliki membran normal akan menunjukkan ekor melingkar sedangkan membran spermatozoa rusak akan menunjukkan ekor lurus (Wijayanto *et al.*, 2019).

Hasil evaluasi yang didapat selanjutnya diuji normalitas menggunakan uji *Kolmogorof-Smirnov*, dilanjutkan dengan uji Anova untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur terhadap mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Simmental. Hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perlakuan terbaik dari semua perlakuan. Analisis data menggunakan aplikasi SPSS 25.0 for windows.

## HASIL

Hasil evaluasi semen segar Sapi Simmental secara makroskopis maupun mikroskopis yang didapat sebelum dilakukannya perlakuan. Hasil evaluasi tersebut terdapat pada **Tabel 1** berupa nilai berdasarkan parameter volume, warna, konsistensi, konsentrasi, pH, dan gerak massa.

**Tabel 1.** Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis (20X10) semen segar Sapi Simmental.

Parameter	Nilai
Volume (ml)	8
Warna	Krem
Konsistensi	Kental
Konsentrasi (sel/ml)	$1559 \times 10^6$
pH	6,4
Gerak massa	2+
Motilitas Individu	70%

Hasil evaluasi makroskopis semen segar pada sapi Simmental berumur 7 tahun dengan berat badan  $\pm 1000$  kg berupa volume, warna, konsistensi dan pH, gerak massa dan motilitas individu menunjukkan hasilnya baik dan normal yaitu mampu menghasilkan 8 ml semen segar yang berwarna krem, konsistensi kental, konsentrasinya  $1559 \times 10^6$  dengan pHnya 6,4 gerak massa dengan nilai 2+ dan motilitas individunya sebesar 70%. Semen segar tersebut dapat diproses untuk diencerkan dan disimpan pada suhu refrigerator yakni 3-4°C.

Hasil analisis **Tabel 2** menunjukkan pemberian berbagai konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur berpengaruh signifikan terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental ( $P < 0,05$ ). Parameter motilitas perlakuan air kelapa+10% kuning telur+0 g soya/100 ml ke perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya/100 ml selama penyimpanan 7,5 jam menunjukkan hasil yang lebih baik. Terdapat kecenderungan penurunan motilitas pada penambahan konsentrasi soya yang terlalu banyak. Penurunan hasil motilitas spermatozoa juga terjadi jika waktu penyimpanan spermatozoa semakin lama. Hasil analisis pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya /100 ml merupakan hasil motilitas spermatozoa yang optimal yaitu sebesar  $44,27 \pm 1,03\%$  ( $P < 0,05$ ). Namun pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+0 g soya/100 ml sebagai kontrol menunjukkan hasil motilitas spermatozoa terendah yaitu sebesar  $24,90 \pm 0,14\%$ . Sedangkan perlakuan air kelapa+10% kuning telur+6g g soya/100 ml manunjukkan hasil motilitas paling rendah diantara penambahan konsentrasi lain yaitu  $28,92 \pm 0,28\%$ . Penambahan konsentrasi soya dan lama penyimpanan menunjukkan nilai motilitas spermatozoa sapi Simmental semakin menurun.

**Tabel 2.** Motilitas spermatozoa sapi Simmental penambahan soya dalam pengencer Air Kelapa-Kuning Telur selama penyimpanan

Perlakuan	Motilitas Spermatozoa Sapi Simmental (%) Selama Penyimpanan		
	2,5 jam	5 jam	7,5 jam
S1 (Soya 0 g)	39,22±0,33 <sup>a</sup>	39,35±0,60 <sup>a</sup>	24,90±0,14 <sup>a</sup>
S2 (Soya 1,5 g)	60,40±0,65 <sup>b</sup>	50,54±0,38 <sup>b</sup>	44,27±1,03 <sup>b</sup>
S3 (Soya 3 g)	59,91±0,21 <sup>ab</sup>	49,84±1,16 <sup>ab</sup>	24,95±0,55 <sup>ab</sup>
S4 (Soya 4,5 g)	48,34±1,25 <sup>a</sup>	40,47±0,57 <sup>a</sup>	30,30±0,14 <sup>a</sup>
S5 (Soya 6 g)	42,54±3,69 <sup>a</sup>	34,68±1,61 <sup>a</sup>	28,92±0,28 <sup>a</sup>

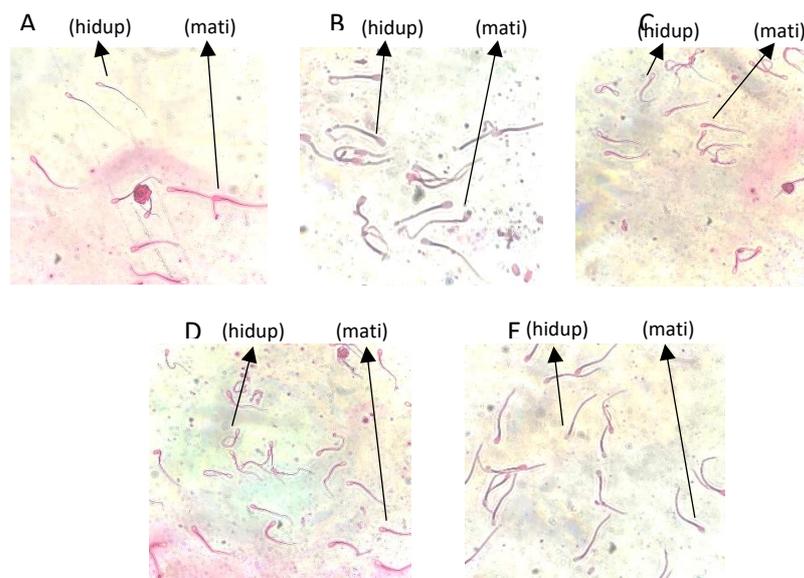
\*)Keterangan: Notasi abjad berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $P<0,05$ ), sedangkan notasi abjad sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ )

Hasil analisis pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur berpengaruh signifikan terhadap viabilitas sel spermatozoa sapi Simmental ( $P<0,05$ ). Parameter viabilitas perlakuan air kelapa+10% kuning telur+0 g soya/100 ml ke perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya/100 ml selama penyimpanan 7,5 jam menunjukkan hasil yang lebih baik. Terdapat kecenderungan penurunan viabilitas pada penambahan konsentrasi soya yang terlalu banyak. Penurunan hasil viabilitas spermatozoa juga terjadi jika waktu penyimpanan spermatozoa semakin lama. Hasil analisis pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya/100 ml merupakan hasil viabilitas spermatozoa yang optimal yaitu sebesar 54,82±6,79% ( $P<0,05$ ). Namun pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+0 g soya/100 ml sebagai kontrol menunjukkan hasil viabilitas spermatozoa terendah yaitu sebesar 28,41±1,82%, sedangkan perlakuan air kelapa+10% kuning telur+6g g soya/100 ml menunjukkan hasil viabilitas paling rendah diantara penambahan konsentrasi lain yaitu 31,78±0,31%. Penambahan konsentrasi soya dan lama penyimpanan menunjukkan nilai viabilitas spermatozoa sapi Simmental semakin menurun.

**Tabel 3.** Viabilitas spermatozoa sapi Simmental penambahan soya dalam pengencer Air Kelapa-Kuning Telur selama penyimpanan

Perlakuan	Viabilitas Spermatozoa Sapi Simmental (%) Selama Penyimpanan		
	2,5 jam	5 jam	7,5 jam
S1 (Soya 0 g)	43,15±0,22 <sup>a</sup>	43,49±0,56 <sup>a</sup>	28,41±1,82 <sup>a</sup>
S2 (Soya 1,5 g)	66,71±1,17 <sup>b</sup>	57,22±5,97 <sup>b</sup>	54,82±6,79 <sup>b</sup>
S3 (Soya 3 g)	59,91±0,21 <sup>ab</sup>	55,11±2,18 <sup>ab</sup>	38,65±0,45 <sup>ab</sup>
S4 (Soya 4,5 g)	47,95±6,83 <sup>a</sup>	45,70±3,33 <sup>a</sup>	33,97±0,95 <sup>a</sup>
S5 (Soya 6 g)	44,95±0,27 <sup>a</sup>	38,055±0,21 <sup>a</sup>	31,78±0,31 <sup>a</sup>

\*)Keterangan: Notasi abjad berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $P<0,05$ ), sedangkan notasi abjad sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ( $P>0,05$ ).



**Gambar 1.** Viabilitas spermatozoa dalam berbagai perlakuan perbesaran 40x10. Ket: A= Air kelapa + 10% kuning telur + 0g soya; B= Air kelapa + 10% kuning telur + 1,5g soya; C= Air kelapa + 10% kuning telur + 3g soya; D= Air kelapa + 10% kuning telur + 4,5g soya; E= Air kelapa + 10% kuning telur + 6g soya.

**Gambar 1** menunjukkan bahwa perlakuan pemberian air kelapa+10% kuning telur+1,5g soya menghasilkan viabilitas tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Jumlah sel spermatozoa yang hidup ditunjukkan dengan warna kepala spermatozoa putih lebih banyak dibanding sel spermatozoa mati yang ditunjukkan dengan warna kepala ungu akibat pewarnaan.

Hasil analisis **Tabel 4** menunjukkan bahwa pemberian berbagai konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur berpengaruh signifikan terhadap kualitas spermatozoa sapi simmental ( $P < 0,05$ ). Parameter integritas membran perlakuan air kelapa+10% kuning telur+0 g soya/100 ml ke perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya/100 ml selama penyimpanan 7,5 jam menunjukkan hasil yang lebih baik. Terdapat kecenderungan penurunan integritas membran pada penambahan konsentrasi soya yang terlalu banyak. Penurunan hasil integritas membrane spermatozoa juga terjadi jika waktu penyimpanan spermatozoa semakin lama. Pada **Tabel 4** juga menunjukkan bahwa pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya /100 ml merupakan hasil integritas membran spermatozoa yang optimal yaitu sebesar  $23,56 \pm 0,79\%$  ( $P < 0,05$ ). Namun pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+0 g soya/100 ml sebagai kontrol menunjukkan hasil integritas membran spermatozoa terendah yaitu sebesar  $23,56 \pm 0,79\%$ . Sedangkan perlakuan air kelapa+10% kuning telur+6g g soya/100 ml manunjukkan hasil integritas membran paling rendah diantara penambahan konsentrasi lain yaitu  $23,99 \pm 0,42\%$ . Penambahan konsentrasi soya dan lama penyimpanan menunjukkan nilai integritas membran spermatozoa sapi Simmental semakin menurun.

**Tabel 4.** Integritas membran spermatozoa sapi Simmental penambahan soya dalam pengencer Air Kelapa-Kuning Telur selama penyimpanan

Perlakuan	Integritas Membran Spermatozoa Sapi Simmental (%) Selama Penyimpanan		
	2,5 jam	5 jam	7,5 jam
S1 (Soya 0 g)	$38,84 \pm 1,19^a$	$37,59 \pm 1,00^a$	$23,56 \pm 0,79^a$
S2 (Soya 1,5 g)	$59,55 \pm 0,48^b$	$49,47 \pm 0,60^b$	$44,74 \pm 1,3^b$
S3 (Soya 3 g)	$60,04 \pm 0,24^{ab}$	$50,21 \pm 0,48^{ab}$	$30,04 \pm 0,33^{ab}$
S4 (Soya 4,5 g)	$47,40 \pm 1,93^a$	$39,02 \pm 0,65^a$	$29,36 \pm 0,06^a$
S5 (Soya 6 g)	$38,50 \pm 0,84^a$	$35,38 \pm 3,99^a$	$23,99 \pm 0,42^a$

\* Keterangan: Notasi abjad berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ), sedangkan notasi abjad sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, menunjukkan soya yang ditambahkan dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur terhadap kualitas semen sapi Simmental sebelum pembekuan. Soya termasuk bahan alternatif yang gampang ditemukan sebagai pengencer dengan fungsi krioprotektan dan nutrisi dalam mempertahankan kualitas spermatozoa. Pada penelitian terdapat beberapa parameter untuk menentukan kualitas spermatozoa yaitu motilitas (pergerakan spermatozoa), viabilitas (spermatozoa hidup), integritas membran (keutuhan membran). Dari hasil uji Anova menunjukkan bahwa terdapat pengaruh signifikan ( $P < 0,05$ ) pada perlakuan penambahan soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental. Perlakuan penambahan soya 1,5g memiliki presentase motilitas, viabilitas, dan integritas membran paling tinggi terhadap kualitas spermatozoa sebelum pembekuan.

Penampungan semen segar pejantan sapi Simmental volumenya sebanyak 8 ml; pH 6,4; berwarna krem, konsistensi kental, nilai konsentrasi  $1559.10^6$  sel/ml, motilitas massa 2+, dan motilitas individu 70%. Menurut Diwyanto *et al.* (2006) Hasil evaluasi semen segar tersebut memiliki kondisi semen dari pejantan sapi Simmental normal yang memenuhi standar motilitas minimum 70% sesuai dengan SNI 4869:1. Pejantan sapi Simmental berumur 7 tahun dengan berat badan  $\pm 1000$  kg yang sudah dikategorikan dewasa dengan menghasilkan semen segar sebanyak 8 ml. Diduga produksi semennya sudah mengalami penurunan karena faktor usia. Sesuai dengan pendapat Nyuwita *et al.* (2015) bahwa faktor yang dapat mempengaruhi produksi semen salah satunya ialah kondisi tubuh seperti berat badan dan umur. Konsentrasi semen segar yang diperoleh menunjukkan hasil  $1559.10^6$  dengan konsistensi pekat/kental yang berarti menunjukkan semen yang dihasilkan menunjukkan kualitas yang baik dan dapat menghasilkan kualitas semen yang baik pula. Dapat dikatakan bahwa semakin pekat konsistensi semen, maka konsentrasi semen juga semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Prihatin *et al.* (2021) bahwa konsistensi semen berkaitan erat dengan tingkat konsentrasi spermatozoa dan motilitas progresif spermatozoa yang dihasilkan juga semakin tinggi. Kategori penilaian konsentrasi semen yaitu encer ( $> 1000.10^6$  spermatozoa/ml semen), sedang ( $1000.10^6 - 1500.10^6$  spermatozoa/ml semen), dan pekat ( $> 1500.10^6$  spermatozoa/ml semen). Menurut pendapat Wijayanto

*et al.* (2019) Syarat semen dapat diproses motilitasnya 70% dan setelah diproses minimal 50% yang sudah sesuai dengan SNI 4869:1. Selain motilitas individu motilitas massa juga penting dalam menentukan kualitas semen. Kualitas semen motilitas massa yang didapat ialah menunjukkan hasil dengan nilai 2+. Menurut Sulistyowati *et al.* (2018) semen segar dikategorikan normal dan bisa diproses, jika mempunyai motilitas massa 2+ atau lebih dapat digunakan untuk IB. Derajat kesamaan (pH) dari semen sapi Simmental yang ditampung menunjukkan hasil 6,4 yang berarti cenderung asam. Menurut Ma'ruf (2018), pH pada semen sapi cenderung asam dikarenakan terjadinya penguraian fruktosa.

Pemberian pengencer pada proses penyimpanan semen di suhu 3-4°C membutuhkan komposisi yang tepat. Pada penelitian ini, soya ditambahkan pada pengencer dasar air kelapa dan 10% kuning telur. Masluchah & Ducha (2021) berpendapat bahwa soya memiliki kandungan lesitin yang membentuk pelindung spermatozoa untuk melindungi membran spermatozoa dari kerusakan mekanis selama proses pendinginan. Selain itu, soya juga dapat berperan sebagai sumber nutrisi, mempertahankan tekanan osmotik pengencer serta keutuhan membran plasma. Menurut Nugraha (2015), pengencer dasar air kelapa memiliki kandungan karbohidrat yang dapat menjadi sumber energi bagi kehidupan spermatozoa. Selain itu, kuning telur berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang melindungi spermatozoa dari *cold shock* sekaligus sebagai sumber energi dengan komposisi air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin (Munzir *et al.*, 2017). Audia *et al.* (2017) juga menambahkan bahwa karbohidrat dalam pengencer air kelapa dan kuning telur berfungsi sebagai krioprotektan, mempertahankan tekanan osmotik pengencer serta keutuhan membran plasma, dan menyediakan substrat untuk kebutuhan energi spermatozoa selama penyimpanan.

Penambahan konsentrasi soya harus dengan takaran yang tepat dikarenakan penambahan soya yang terlalu sedikit tidak dapat membantu sel spermatozoa dalam mempertahankan kualitasnya, namun pemberian konsentrasi soya yang terlalu banyak juga tidak baik karena dapat bersifat toksik pada pengencer untuk sel spermatozoa. Penambahan konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur dapat mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Simmental dibanding perlakuan control tanpa penambahan konsentrasi soya. Hal ini ditunjukkan pada pemberian konsentrasi soya sebanyak 1,5g pada pengencer dasar air kelapa + 10% kuning telur menunjukkan hasil yang optimal untuk mempertahankan motilitas sel spermatozoa akibat *coldshock*. Penambahan konsentrasi soya dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock*, sesuai dengan pendapat Monova dan Ducha (2019) bahwa pada penambahan konsentrasi soya 4g dalam pengencer dapat menjaga kualitas spermatozoa dari penurunan suhu yang dapat menyebabkan *cold shock* sehingga spermatozoa mengalami penurunan kualitas hingga terjadi kematian. Menurut Butta *et al.* (2021), *cold shock* dapat terjadi dengan mekanisme deposisi saat terjadi penurunan suhu. Penyimpanan semen pada suhu refrigerator (3-4°C) dapat merusak membran plasma yang berdampak pada penurunan ATP (Adenosin Tripospat) yang keluar dari dalam sel mengakibatkan produksi ATP dan motilitas terhambat. *Cold shock* menyebabkan kurangnya nutrisi sebab proses respirasi pada suhu rendah refrigerator (3-4°C) masih dapat berlangsung. Adanya *cold shock* dapat merusak spermatozoa karena penyimpanan dalam suhu dingin menyebabkan terjadinya akumulasi dari sisa-sisa hasil metabolisme, misalnya asam laktat dari proses respirasi dapat menyebabkan berkurangnya aktivitas motilitas progresif serta kematian sel spermatozoa. Lamanya penyimpanan semen pada suhu rendah dapat menimbun asam laktat yang dihasilkan saat terjadi proses metabolisme glikolisis yang menyebabkan pH semen dalam kondisi asam, sehingga terjadi penurunan motilitas, viabilitas, dan integritas membran pada spermatozoa sapi.

Hasil persentase rata-rata motilitas dari kelima konsentrasi soya yang ditambahkan pada pengencer dasar air kelapa dengan 10% kuning telur pada **Tabel 2** memiliki hasil tidak beda nyata pada perlakuan S1, S4, dan S5 namun perlakuan tersebut beda nyata dengan perlakuan S2. Hasil motilitas optimal yang ditunjukkan pada **Tabel 2** yaitu pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya. Hasil rata-rata motilitas pada perlakuan penambahan konsentrasi soya 1,5 g (S4) berturut-turut dari lama penyimpanan 2,5 jam; 5 jam; dan 7,5 adalah  $60,40 \pm 0,65\%$ ;  $50,54 \pm 0,38\%$  dan  $44,27 \pm 1,03\%$ . Semakin lama semen disimpan dalam suhu dingin, nilai motilitas semakin menurun. Menurunnya motilitas dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti spermatozoa yang mati akibat suhu dingin, ketersediaan energi pengencer makin berkurang, dan meningkatnya tingkat keasaman (pH) semen (Dasrul & Lubis, 2014). Penambahan konsentrasi soya sebanyak 1,5 g merupakan pemberian konsentrasi soya terbaik, sedangkan hasil rata-rata motilitas paling rendah adalah pada perlakuan penambahan konsentrasi soya 0 g sebagai perlakuan kontrol dan penambahan konsentrasi soya 6 g. Penambahan konsentrasi soya 6 g mengalami penurunan drastis menurut Cabrita *et al.* (2009) diduga terlalu banyak konsentrasi pengencer dapat merusak membran plasma akibat perubahan tekanan osmotik pengencer yang akan menyebabkan keluarnya cairan yang ada dalam sel spermatozoa ke luar dari selnya yang merupakan

nutrisi dari sel tersebut. Perubahan tekanan osmotik yang semakin dapat memberi efek toksik pada kualitas spermatozoa akibat penambahan gliserol terlalu banyak menyebabkan kerusakan membran plasma. Menurut Noviansyah *et al.* (2017) larutan isotonik dapat melindungi spermatozoa saat proses metabolisme sel pada transfer air yang dapat menyebabkan kematian spermatozoa, namun jika penambahan lesitin yang terlalu banyak juga dapat menyebabkan timbulnya sifat toksik yang ditandai dengan adanya akumulasi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ).

Hasil persentase rata-rata viabilitas dari kelima konsentrasi soya yang ditambahkan pada pengencer dasar air kelapa dengan 10% kuning telur pada **Tabel 3** memiliki hasil tidak beda nyata pada perlakuan S1, S4, dan S5 namun perlakuan tersebut beda nyata dengan perlakuan S2. Hal ini dikarenakan viabilitas dapat juga digunakan sebagai penentu tingkat persentase hidup spermatozoa yang berkorelasi dengan motilitas yang ditentukan oleh kekuatan membran plasma spermatozoa dengan cara dilakukan pewarnaan menggunakan eosin-negrosin (Azzahra *et al.*, 2016). Menurut Soi (2016) guna pewarnaan dalam evaluasi viabilitas ialah mengetahui hidup atau mati spermatozoa dari warnanya. Zat warna eosin akan mewarnai spermatozoa yang mati menyerap zat warna yang diekspresikan warna selnya menjadi merah atau merah mudah, sedangkan zat warna negrosin memberi latar biru hitam. Menurut Susilawati (2013) membran sel yang menyerap zat warna eosin-negrosin jika dicampur menjadi warna ungu atau biru hitam tersebut dianggap sebagai spermatozoa mati. Hasil yang optimal pada evaluasi viabilitas spermatozoa yaitu pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya (S2). Hasil rata-rata viabilitas dengan konsentrasi soya 1,5g dengan penyimpanan suhu refrigerator 3-4°C selama 2,5 jam; 5 jam; dan 7,5 jam berturut-turut ialah  $66,71\pm 1,17\%$ ;  $57,22\pm 5,97\%$ ; dan  $54,82\pm 6,79\%$ . Menurut Purwaningsih *et al.* (2013) daya hidup (viabilitas) spermatozoa sangat dipengaruhi oleh keutuhan membran. Keutuhan membran sendiri dipengaruhi oleh kurangnya cadangan makanan atau tidak seimbangnya cairan elektrolit akibat metabolisme. Rusaknya membran spermatozoa menyebabkan terganggunya proses metabolisme intraseluler sehingga spermatozoa melemah hingga terjadi kematian (Aslam, 2014). Pernyataan Herdis *et al.* (2016) gula yang terkandung dalam soya dapat menjadi sumber energi melalui proses metabolisme glikolisis dan siklus Krebs hingga dihasilkan ATP (Adenosin Tripospat) digunakan untuk pergerakan sel dan kehidupan selnya, selain itu juga sebagai krioprotektan ekstraseluler dalam melindungi membran sel dari kerusakan selama proses penyimpanan dengan suhu refrigerator (3-4°C).

Hasil rata-rata integritas membran juga memiliki korelasi dengan motilitas dan viabilitas. Evaluasi integritas membran bisa juga disebut IPM (*integritas plasma membrane*) yang merupakan penentuan terhadap keutuhan membran spermatozoa dan keutuhan akrosomnya (Maisarah, 2018). Cara kerja evaluasi integritas membran ialah dengan pengujian metode *hyhypo-osmotic test* (HOST) hingga spermatozoa terlihat perubahan pada ekornya. Membran plasma utuh pada spermatozoa ditunjukkan oleh penampakan ekor yang *swelling* atau menggelembung, sedangkan membran plasma yang rusak ekornya akan tetap lurus dan tidak menggelembung (Sutama *et al.*, 2015). Hasil optimal untuk integritas membran juga pada perlakuan air kelapa+10% kuning telur+1,5 g soya (S2). Hasil presentase rata-rata integritas membran dari kelima konsentrasi soya yang ditambahkan pada pengencer dasar air kelapa dengan 10% kuning telur pada **Tabel 4** memiliki hasil tidak beda nyata pada perlakuan S1, S4, dan S5 namun perlakuan tersebut beda nyata dengan perlakuan S2. Hasil rata-rata integritas membran pada **Tabel 4** dengan konsentrasi soya 1,5g dari penyimpanan selama 2,5 jam; 5 jam; dan 7,5 jam berturut-turut ialah  $59,55\pm 0,48\%$ ;  $49,47\pm 0,60^b \%$ ; dan  $44,74\pm 1,3\%$ . Membran spermatozoa memiliki susunan utama yaitu *phospholipid bilayer*. *Cold shock* berpengaruh pada keutuhan *phospholipid* sebagai penyusun membran sel spermatozoa. Hal tersebut didukung oleh Butta *et al.*, (2021) menjelaskan kerusakan membran plasma berdampak pada enzim (*aspartat-aminotrasferas*) utama dalam produksi ATP yang ke luar dari dalam sel mengakibatkan produksi ATP terhambat. Oleh karena itu, diperlukan bahan pengencer yang mengandung lesitin sehingga dapat mempertahankan kualitas membran sel spermatozoa. Membran plasma yang fungsional akan membengkak dikarenakan larutan hipoosmotik akan masuk dalam sel melewati membran plasma spermatozoa sehingga ekor spermatozoa akan menggelembung (Puteri *et al.*, 2019).

Pada perlakuan penambahan konsentrasi soya 1,5 g pada pengencer dasar air kelapa + 10% kuning telur (S4) didapatkan hasil yang optimal dibanding dengan perlakuan lainnya. Penggunaan soya+air kelapa+kuning telur dalam pengencer dapat membantu spermatozoa dari kerusakan akibat disimpan pada suhu 3-4°C. Hal ini dikarenakan soya berperan sebagai krioprotektan dan kandungan lesitinnya yang dapat melindungi spermatozoa dengan mencegah dari kerusakan membran selnya agar cairan intraseluler tidak banyak ke luar saat semen disimpan pada suhu tersebut (Putra & Ducha, 2019). Di samping itu penggunaan pengencer dasar air kelapa muda dengan 10% kuning telur juga berperan

penting dalam mempertahankan kualitas spermatozoa. Pengencer dasar air kelapa juga memiliki kandungan nutrisi bagi spermatozoa (Wulansari & Ducha, 2019). Hal ini didukung juga oleh pernyataan Faizal (2016) bahwa kandungan yang dimiliki air kelapa yaitu berupa mineral, karbohidrat sederhana, mineral, fraksi gula seperti sukrosa, glukosa, fruktosa, galaktosa, manosa, sorbitol dan zat-zat lain yang dibutuhkan oleh spermatozoa dalam mempertahankan membran spermatozoa dengan bantuan lesitin kuning telur dan soya yang berperan sebagai membran *coating*. Oleh sebab itu diperlukan bahan pengencer yang tepat untuk menghindari penurunan kualitas spermatozoa secara drastis. Hal ini didukung oleh Pamungkas dan Krisnan (2017) bahwa penambahan konsentrasi soya berfungsi sebagai pelindung membran spermatozoa selama penyimpanan suhu rendah karena adanya kandungan lestin sebagai membran *coating* yang berfungsi menjaga konfigurasi normal lipid bilayer pada membran spermatozoa. Namun, penambahan konsentrasi soya yang terlalu banyak menyebabkan penurunan motilitas, viabilitas, dan integritas membran karena terjadi perubahan sifat toksik pada pengencer. Efek toksik yang ditimbulkan ialah perubahan osmolaritas secara drastis seiring bertambahnya dosis gliserol sehingga komposisi lipid membran plasma menjadi rusak dan dapat menurunkan kualitas spermatozoa (Cabrita *et al.*, 2009). Adanya perubahan tekanan larutan osmotik menyebabkan sel mengalami dehidrasi dan menyebabkan kematian sel yang dapat ditandai dengan bentuk ekor melingkar, menurunkan nilai motilitas, viabilitas, dan integritas membran (Siswanto, 2006). Selain adanya osmolaritas, aglutinasi pada spermatozoa juga dapat terjadi dengan tanda antar kepala yang saling menempel (Ikegami *et al.*, 2001). Menurut Harayama *et al.* (1998) aglutinasi akan terjadi saat akrosom diinkubasi sehingga menyebabkan spermatozoa tidak dapat bergerak bebas.

Tujuan dari dilakukannya evaluasi kualitas spermatozoa dengan parameter motilitas, viabilitas, dan integritas membran setelah dilakukan perlakuan yaitu untuk mengetahui apakah pemberian konsentrasi soya berpengaruh untuk mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Simmental. Dari hasil analisis data uji yang didapat, diketahui bahwa pemberian konsentrasi soya pada pengencer dasar air kelapa+ 10% kuning telur berpengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kualitas motilitas, viabilitas, dan integritas membran spermatozoa sapi Simmental. Penelitian pemberian soya dalam pengencer dasar air kelapa-kuning telur dalam mempertahankan kualitas spermatozoa dengan hasil optimal pemberian konsentrasi soya 1,5 g + air kelapa + 10% kuning telur sampai lama penyimpanan jam ke 3 menghasilkan motilitas  $44,27 \pm 1,03\%$ ; viabilitas  $54,82 \pm 6,79\%$ ; dan integritas membran  $44,74 \pm 1,3\%$  ini dapat diimplementasikan kepada peternak khususnya peternak yang membutuhkan jangkauan biaya lebih rendah dikarenakan nilai yang dihasilkan termasuk spermatozoa yang dapat digunakan sesuai standar SNI. Pada penelitian sebelumnya oleh Setyawan *et al.* (2019) dan Monova & Ducha (2019) pemberian optimal didapat pada pemberian konsentrasi soya 4 g dengan lama penyimpanan 2 jam sebelum pembekuan menghasilkan motilitas  $63,75 \pm 0,86\%$  hingga  $76,00 \pm 2,66\%$ . Pada penelitian Monova & Ducha (2019) presentasi viabilitas spermatozoa menghasilkan  $79,03 \pm 1,42\%$  hingga penurunan  $57,59 \pm 1,80\%$ . Nilai integritas yang didapat adalah  $78,52 \pm 1,24\%$  hingga  $54,07 \pm 0,57\%$ . Hasil yang didapat dari penelitian sebelumnya memiliki nilai dengan standar SNI.

## SIMPULAN

Pemberian soya dalam pengencer air kelapa-kuning telur berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental. Perlakuan penambahan konsentrasi soya 1,5g merupakan perlakuan optimal dari evaluasi motilitas, viabilitas, dan integritas membran sel spermatozoa pejantan sapi Simmental. Hasil evaluasi motilitas, viabilitas, dan integritas membran sel spermatozoa sapi Simmental yang optimal berturut-turut menunjukkan nilai motilitas  $44,27 \pm 1,03\%$ ;  $54,82 \pm 6,79\%$ ; dan  $44,74 \pm 1,3\%$ . Saran untuk penelitian selanjutnya ialah evaluasi semen untuk setiap sapi dilakukan sesering mungkin untuk mengetahui *history* dan mengetahui besar kemungkinan kerusakan spermatozoa saat proses penyimpanan. Pemberian soya 1,5 g dalam pengencer air kelapa-kuning telur dapat diimplementasikan sebagai pengencer semen sapi Simmental.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amaliah R, 2022. Kualitas Semen Sapi Bali Hasil Sexing Menggunakan Media Albumin Freeze Dried (*Doctoral Dissertation, Universitas Hasanuddin*).
- Ambarsari EV dan Ducha, 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. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*; 10(2): 207-212.

- Ariani M, Suryana A, Suhartini SH, dan Saliem HP, 2018. Keragaan Konsumsi Pangan Hewani Berdasarkan Wilayah Dan Pendapatan Di Tingkat Rumah Tangga. *Analisis Kebijakan Pertanian*; 16(2): 143-158.
- Arvioges A, Anwar P, dan Jiyanto J, 2021. Efektifitas Suhu Thawing Terhadap Keadaan Membran Plasma Utuh (Mpu) Dan Tudung Akrosom Utuh (Tau) Spermatozoa Sapi Bali. *Green Swarnadwipa: Jurnal Pengembangan Ilmu Pertanian*; 10(2): 342-350.
- Aslam H, 2014. Pengaruh Penambahan Vitamin C Dalam Pengencer Andromed® Terhadap Persentase Motilitas Dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Sapi. *Jurnal Medika Veterinaria*; 8(1).
- 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. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*; 18(1): 58-68.
- Badan Pusat Statistik, 2020. Rata-Rata Harian Konsumsi Protein Per Kapita Dan Konsumsi Kalori Per Kapita Tahun 1990-2019. Jakarta.
- Badan Pusat Statistik, 2020. Rataan Tingkat Konsumsi Daging, Telur Dan Susu Bagi Masyarakat Indonesia Per-Tahun. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- 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.
- Cabrera E, Robles V, and Herráez P, 2009. Methods in Reproductive Aquaculture Marine and Freshwater Species. Ebook. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Dasrul R dan Lubis TM, 2014. Pengaruh penambahan sari buah tomat dalam media pengencer terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Boer yang disimpan pada suhu 3-5 C. *Jurnal Ilmiah Peternakan*; 97324.
- Diwyanto K, 2006. Application of Sexing Technology in The Artificial Insemination Program and Cow Calf Operation.
- Faizal M, 2016. Pengaruh penggunaan kuning telur angsa (*Cignus olor*) dan air kelapa muda (*Cocos nucifera*) terhadap kualitas sperma kambing boer dengan waktu equilibrasi yang berbeda (*Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim*).
- 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.
- Harayama H, Miyake M, Shidara O, Iwamoto E, dan Kato S, 1998. Effects of calcium and bicarbonate on head-to-head agglutination in ejaculated boar spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*; 10(5): 445-450.
- Hazti NS, 2021. Pengaruh Pemberian Gonadotropin Releasing Hormon (Gnrh) Terhadap Kualitas Sperma Pada Sapi Bali Polled= The Effect Of Gonadotropin Releasing Homone (Gnrh) On The Quality Of Bali Polled Bull Sperm (*Doctoral Dissertation, Universitas Hasanuddin*).
- Herdis H, Darmawan IWA, dan Rizal M, 2016. Penambahan Beberapa Jenis Gula Dapat Meningkatkan Kualitas Spermatozoa Beku Asal Epididimis Ternak Domba (Addition Of Various Sugars In Improving Quality Of Frozen Thawed Epididymal Spermatozoa Of Ram). *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal Of Veterinary Sciences*; 10(2): 200-204.
- Hindrawati S, Ciptadi G, dan Chuzaemi S, 2020. Kajian Suplementasi Zinc Organik Terhadap Kualitas Semen Pejantan Sapi Bos Indicus. *Ternak Tropika. Journal Of Tropical Animal Production*: 21(2): 237-245.
- Hine TM, Uly K, Nalley WM, dan Armadianto H, 2019. Frozen sperm quality of bali bulls in modified coconut water extender with different Dimethyl Sulfoxide concentration. *Jurnal Veteriner*; 20(1): 93-100.
- Ikegami T, Okada T, Ohki I, Hirayama J, Mizuno T, & Shirakawa M, 2001. Solution structure and dynamic character of the histidine-containing phosphotransfer domain of anaerobic sensor kinase ArcB from *Escherichia coli*. *Biochemistry*; 40(2): 375-386.
- Immelda KH, Susilowati S, dan Yudaniyanti IS, 2019. Pengaruh bahan pengencer sari kacang kedelai (Glycine max) terhadap viabilitas dan nekrosis spermatozoa domba Sapudi. *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction*: 8(1): 36-42.
- Kusumawati ED, Betu H, Krisnaningsih ATN, dan Rahadi S, 2018. Kualitas Semen Segar Sapi Limousin Pada Lama Simpan yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*; 3(1): 1-9.
- Ma' ruf A, 2018. Perbandingan Kuantitas Dan Kualitas Semen Segar Dan Recovery Rate Sapi Limousin Dan Sapi Bali (*Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya*).
- Maisarah S, 2018. Abnormalitas Dan Integritas Plasma Membran Spermatozoa Kambing Kacang Yang Diberikan Suplement Sari Kurma Peroral Pada Suhu Ruang (27°C) (*Doctoral Dissertation, Universitas Mataram*).
- Masluchah M dan Ducha N, 2021. Pengaruh Penambahan Royal Jelly dalam Pengencer Dasar Soya terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Sebelum dan Sesudah Ekuilibrasi. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*; 9(3): 218-225.
- 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: Berkala Ilmiah Biologi*; 8(3): 150- 154.
- Munzir II, Suharyati S, dan Hartono M, 2017. Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa Dalam Pengencer Susu Skim Terhadap Motilitas, Persentase Hidup Dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*; 4(4).

- 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): 12-16.
- Nugraha M, 2015. Perbedaan Kandungan Karbohidrat Dan Elektrolit (Natrium, Kalium) Pada Sport Drink Berbahan Dasar Air Kelapa Hijau (*Cocos Nucifera L*) Dan Madu (*Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya*).
- Nyuwita A, Susilawati T, dan Isnaini N, 2015. Kualitas semen segar dan produksi semen beku sapi Simmental pada umur yang berbeda. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*; 16(1): 61-68.
- 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.
- Prihatin KW, Suharyanta S, Winarto B, Zulchaidi Z, dan Kurniawan I, 2021. Evaluasi Keberhasilan Inseminasi Buatan Serta Penerapannya Pada Kambing Betina Dara Dan Induk. In Prosiding Seminar Teknologi Agribisnis Peternakan (Stap) Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman; 8: 52-57.
- Purwaningsih R, Ondho YS, dan Sutopo S, 2013. Efektivitas Prefreezing Semen Sapi Jawa sebagai Parameter Keberhasilan Processing Semen Beku. *Animal Agriculture Journal*; 2(1): 44-50.
- Purwoistri RF, Susilawati T, dan Rahayu S, 2013. Membran Spermatozoa Hasil Seksing Gradien Albumin Berpengencer Andromed dan Cauda Epididymal Plasma-2 Ditambahkan Kuning. *Jurnal Veteriner*; 14(3): 371-378.
- Putra LM, dan Ducha N. Viabilitas Spermatozoa Kambing Boer Pasca Pembekuan dalam Pengencer Tris Dasar Soya dengan Kombinasi Gula yang Berbeda.
- Rahmawati A, 2017. Deteksi Kerusakan DNA Spermatozoa Sapi Pasca Pembekuan Dengan Pewarna Acridine Orange. *Prosiding Snasppm*; 1(1): 88-91.
- Sam AF, Pudjihastuti E, Hendrik MJ, Ngangi LR, dan Raka IG, 2017. Penampilan tingkah laku seksual sapi pejantan Limousin dan Simmental di balai inseminasi buatan lembang. *ZOOTEC*; 37(2): 276-285.
- Setyawan F, Suprayogi TW, Prastiya RA, Imam T, Restiadi ALS, dan Agustono B, 2019. Pengaruh Perbedaan Waktu Ekuilibrasi Sebelum Pembekuan Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Rambon Banyuwangi Menggunakan Pengencer Tris Kuning Telur. *Jurnal Medik Veteriner*; 2(2): 101-107.
- Siswanto, 2006. Kualitas Semen di dalam Pengencer Tris dan Natrium Sitrat dengan Berbagai Sumber Karbohidrat dan Level Gliserol Pada Proses Kriopreservasi Semen Rusa Timor (*Cervus timorensis*). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- 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. *JAS*; 1(2): 28-29.
- Sulistiyowati D, Faris MA, Yekti APA, Wahjuningsih S, dan Susilawati T, 2018. Kualitas semen cair sapi Peranakan Ongole pada pengencer tris aminomethan kuning telur tanpa raffinosa yang disimpan pada media yang berbeda suhu. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*; 19(1): 38-45.
- Sunami S, Isnaini N, dan Wahjuningsih S, 2017. Kualitas Semen Segar Dan Recovery Rate (RR) Sapi Limousin Pada Musim Yang Berbeda. *Ternak Tropika Journal Of Tropical Animal Production*; 18(1): 36-50.
- Susilawati T, 2013. Pedoman inseminasi buatan pada ternak. Universitas Brawijaya Press.
- Wahjuningsih S, Susilawati T, Ihsan MN, Busono W, Isnaini N, dan Yekti APA, 2019. Teknologi Reproduksi Ternak. Universitas Brawijaya Press.
- Wicahyo J, 2018. Kualitas Semen Cair Sapi Peranakan Ongole Pada Berbagai Formulasi Pengencer Dasar Air Kelapa Hijau Muda Selama Pendinginan 2-5 Oc (*Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya*).
- Widjaja N, Akhdiat T, dan Purwasih D, 2017. Pengaruh Deposisi Semen Terhadap Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) Sapi Peranakan Ongole. Sains Peternakan: *Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*; 15(2): 49-51.
- 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: Berkala Ilmiah Ilmu-ilmu Pertanian*; 37(2).
- Wulansari A dan Ducha N, 2019. Pengaruh Penambahan Kuning Telur Berbagai Jenis Unggas dalam Pengencer Dasar Air Kelapa Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Limousin Pada Penyimpanan Suhu 4-5 C. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*; 8(3): 273-277.
- Yunita Y, 2021. Pengaruh Penambahan Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Dalam Pengencer Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali (*Doctoral Dissertation, Universitas Hasanuddin*).
- Zamuna KK, Susilawati T, Ciptadi G, dan Marjuki M, 2015. Perbedaan Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku Pada Berbagai Bangsa Sapi Potong. *Ternak Tropika Journal Of Tropical Animal Production*; 16(2): 01-06.

**Article History:**

*Received:* 30 Juli 2022

*Revised:* 03 Februari 2023

*Available online:* 4 Maret 2023

*Published:* 31 Mei 2023

**Authors:**

Umi Jazilah Salsabila Mahyuda, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: [umi.18048@unesa.ac.id](mailto:umi.18048@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](mailto:dyahhariani@unesa.ac.id)

**How to cite this article:**

Mahyuda UJS, Hariani D, 2023. Pemberian Soya dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur pada Suhu 3-4°C terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Simmental Sebelum Pembekuan. *LenteraBio*; 12(2): 150-161.