

KUALITAS SPERMATOZA SAPI PERANAKAN ONGOLE DALAM PENGENCER AIR KELAPA SELAMA PENYIMPANAN PADA SUHU 4-5 °C

Dedi Muhammad, Nurul Isnaini¹⁾, Aulia Puspita Anugra Yekti¹⁾, Kuswati¹⁾, H.Y. Lukman²⁾, Muhammad Lutfi²⁾, Trinil Susilawati¹⁾

Program Pasca Sarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

1) Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur

2) Loka Penelitian Sapi Potong

Grati, Pasuruan

Email: dedi.pendidik@gmail.com, trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRAK

Pengencer air kelapa adalah pengencer semen alternatif yang dibuat dengan bahan baku lokal dan murah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa sapi PO (Peranakan Ongole) dalam pengencer air kelapa selama penyimpanan pada suhu 4-5 °C. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan dan Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, pada bulan Maret hingga April 2018. Penelitian ini menggunakan metode percobaan dengan rancangan acak kelompok (RAK). Terdapat 3 perlakuan, P1 = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur, P2 = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur + 0,4% putih telur + fruktosa 0,01 gr/ml. P3 = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur + 0,4% putih telur + fruktosa 0,02 gr/ml dengan 10 ulangan. Hasil menunjukkan bahwa terdapat tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kualitas spermatozoa antara pengencer pengencer air kelapa (P1, P2, P3) selama penyimpanan suhu 4 – 5 °C.

Keywords: air kelapa, motilitas, viabilitas, semen cair

ABSTRACT

Coconut water extender is the alternative semen extender. This extender is made from local and cheap materials. The aims of this research were to examine the quality of Ongole Crossbreed bull sperm in coconut water extender during storage in 4-5 °C. This research was carried out at Beef Cattle Research Center Pasuruan Laboratory and Laboratory of Animal Reproduction of Animal Husbandry Faculty of Brawijaya University on March to April, 2018. The research used laboratory experimental method. The experimental design was Randomized Completely Block Design. The data were analyzed by Analyze of Variance. In this research there are three treatments (P1 = Coconut Water + 20% yolk, P2 = Coconut Water + 20% yolk + 0,4% white egg + fructose 0,01 gr/ml, dan P3 = Coconut Water + 20% yolk + 0,4% white egg + fructose 0,02 gr/ml). There are ten replications of each treatment. The result of this research show were not significant differences in sperm motility, viability, and abnormality between coconut water extenders with variuos level of fructose during chilled storage.

Keywords: chilled emen, coconut water, motility, viability

1. Pendahuluan

Pelaksanaan program IB (Inseminasi Buatan) menggunakan semen cair dapat menurunkan tingkat kerusakan pada spermatozoa. Herdiawan (2004) menjelaskan bahwa spermatozoa yang disimpan pada kondisi beku akan mengalami penurunan kualitas sekitar 30 sampai 60 %. Semen cair cukup efektif untuk menjadi solusi dalam mengatasi keterbatasan persediaan nitrogen cair serta mahalnya prasarana penyimpanan semen beku.

Semen cair merupakan semen yang telah ditambahkan dengan pengencer kemudian disimpan pada suhu 2-4 °C (Susilawati dkk., 2018). Penambahan bahan pengencer bertujuan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi serta menyediakan lingkungan yang sesuai bagi spermatozoa. Selain itu pengencer juga harus mampu melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat suhu, dan dibuat dari bahan yang tidak mahal serta ketersediaanya mudah didapatkan.

Air kelapa dapat dijadikan sebagai pengencer alternatif yang mudah didapatkan karena banyak tersedia di lingkungan sekitar dan harganya terjangkau. Beberapa karbohidrat sederhana, mineral dan zat-zat lain dalam pengencer yang diperlukan oleh spermatozoa dapat dipenuhi dari air kelapa. Menurut Vigliar, Sdepanian, and Neto (2006) air kelapa mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana, seperti: glukosa, sukrosa, dan fruktosa. Farapati dan Sayogo (2014) juga menambahkan bahwa air kelapa mengandung karbohidrat, lemak dan protein yang dapat memenuhi kebutuhan spermatozoa.

Proses pengenceran semen dapat menimbulkan turunnya konsentrasi zat-zat yang terkandung dalam plasma semen seperti kadar asam amino, dan ion-ion yang dapat merubah keseimbangan tekanan osmose pada pengencer yang nantinya bisa mempengaruhi motilitas dan daya hidup (Adnani, Bebas, Budiasa, 2012). Penambahan sumber energi berupa fruktosa dan penambahan zat makromolekul berupa protein eksogenus dalam pengencer air kelapa diharapkan dapat mensubstitusi kehilangan beberapa zat dari plasma semen akibat proses pengenceran sehingga dapat menunjang kehidupan spermatozoa.

Pengencer dengan bahan dasar air kelapa dengan suplementasi kuning telur sebagai krioprotektan, fruktosa sebagai sumber energi tambahan dan putih telur sebagai makromolekul diharapkan dapat mempertahankan kualitas spermatozoa seoptimal mungkin. Hasil penelitian Audia dkk. (2017) tentang penggunaan pengencer air kelapa hijau dapat mempertahankan persentase motilitas spermatozoa kambing boer di atas 40% sampai penyimpanan hari ke-2 selama penyimpanan suhu 4 - 5 °C. Berdasarkan uraian tersebut perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh berbagai formulasi pengencer dasar air kelapa terhadap kualitas semen cair sapi PO selama simpan dingin.

2. Materi dan Metode

Pengencer air kelapa

Pengencer air kelapa dibuat dengan bahan dasar air kelapa dengan usia buah 5 – 8 bulan. Air kelapa dipanaskan terlebih pada suhu 56 °C selama 20 menit dengan tujuan untuk menonaktifkan enzim-enzim yang terdapat pada air kelapa. Kemudian ditambahkan kuning telur ayam 20%, NaHCO₃ 1 mg/ml, antibiotik penicillin 1 mg/ml, streptomycin sulfat 1 mg/ml, dan sebagai perlakuan yaitu putih telur ayam 0,4%, fruktosa 10 dan 20 mg/ml.

Semen sapi PO

Semen yang digunakan adalah semen sapi bangsa PO yang dipelihara di Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan. Adapun kriteria motilitas massa $\geq 2+$, motilitas individu $\geq 70\%$. Frekuensi penampungan dua kali per minggu untuk setiap individu. Semen ditampung menggunakan metode vagina buatan.

Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan dan 10 ulangan. Pengelompokan dilakukan berdasarkan waktu penampungan yang berbeda. Sedangkan perlakuan terdiri dari: Perlakuan pertama (P1) = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur. Perlakuan kedua (P2) = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur + 0,4% putih telur + fruktosa 0,01 gr/ml. Perlakuan ketiga (P3) = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur + 0,4% putih telur + fruktosa 0,02 gr/ml.

Pengamatan motilitas spermatozoa

Pengamatan motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Semen cair diambil satu tetes menggunakan ose, diletakkan diatas *object glass* dan ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara mengamati gerak individu spermatozoa yang bergerak secara progresif (Hafez, 2008; Garner and Hafez, 2008; Susilawati, 2011).

Pengamatan viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Nilai viabilitas dinyatakan dalam persentase jumlah spermatozoa yang hidup dihitung dari 200

pengamatan spermatozoa dalam 1 hingga 5 bidang pandang. Setetes semen diletakkan diujung *object glass*, kemudian setetes larutan eosin-negrosin diletakkan berdekatan dan dihomogenkan. *Object glass* lainnya digunakan untuk menggeser larutan yang telah dicampur tersebut dengan sudut kemiringan 30° dan dikeringkan di atas lampu bunsen, kemudian diamati menggunakan mikroskop. (Susilawati, 201).

Pengamatan abnormalitas spermatozoa

Perhitungan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara membuat preparat ulas terlebih dahulu. Spermatozoa abnormal bisa dilihat dari bentuk morfologi pada bagian kepala, leher dan ekor. Perhitungan persentase abnormalitas dapat dihitung dengan cara menghitung jumlah spermatozoa abnormal dibagi jumlah spermatozoa yang diamati kemudian dikalikan 100 % (Susilawati, 2013).

Analisis data

Data yang diperoleh dilakukan transformasi terlebih dahulu kemudian dianalisa menggunakan analisis varian. Setelah itu dilakukan pengujian lanjut menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*).

3. Hasil dan Pembahasan

Kualitas semen sapi PO

Pemeriksaan semen sapi PO sebelum diencerkan meliputi pemeriksaan makroskopis yang terdiri dari volume, pH, warna, dan konsistensi spermatozoa. Kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopis yang meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi, dan total spermatozoa motil. Rataan dan simpangan baku kualitas semen sapi PO yang dinilai dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Kualitas Semen Sapi PO

Parameter	Rata-rata ± sd
Makroskopis	
Volume per ejakulat (ml)	4,00 ± 1,22
Warna	Putih – krem
pH	6,48 ± 0,11
Konsistensi	Sedang - kental
Mikroskopis	
Motilitas Massa	++
Motilitas Individu (%)	72,00 ± 2,74
Viabilitas (%)	92,20 ± 2,32
Abnormalitas (%)	2,59 ± 0,67
Konsentrasi (juta/ml)	1208,00 ± 179,78

Rata-rata hasil pengamatan volume semen dari sapi PO yang digunakan untuk penelitian adalah 4,00 ± 1,22 ml. Hasil tersebut termasuk rendah jika dibandingkan dengan pernyataan Garner and Hafez (2008) bahwa volume semen sapi hasil penampungan berkisar antara 5-8 ml. Warna semen sapi PO yang didapatkan dalam penelitian adalah putih hingga krem. Susilawati (2011) menjelaskan bahwa semen sapi pada umumnya berwarna putih kekuning-kuningan atau hampir seputih susu dikarenakan karena adanya riboflavin di dalam semen. Adapun pH semen rata-rata 6,48 ± 0,11. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa pH semen yang digunakan untuk penelitian adalah normal. Ax *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa pH semen sapi berkisar antara 6,4 sampai 7,8.

Sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi. Rata-rata persentase motilitas massa semen sapi PO yang digunakan untuk penelitian adalah 2+. Persyaratan motilitas massa agar semen dapat diproses minimal 2+ (Ducha dkk., 2013). Rataan motilitas individu semen segar sapi PO yang digunakan adalah 72,00 ± 2,74 %. Muhammad dkk. (2016) menyatakan bahwa syarat minimal nilai motilitas semen untuk diencerkan

adalah 70%. Nilai konsentrasi spermatozoa semen sapi PO yang digunakan adalah $1208,00 \pm 179,78$ juta/ml. Garner *and* Hafez (2008) bahwa konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1.000-1.800 juta spermatozoa setiap milliliter atau 800-2.000 juta spermatozoa setiap milliliter.

Rata-rata viabilitas spermatozoa sapi PO yang digunakan untuk penelitian adalah $92,20 \pm 2,32$ %. Hal tersebut memiliki arti bahwa semen sapi PO yang digunakan dalam penelitian termasuk memenuhi syarat untuk digunakan. Ducha dkk., (2013) yang menyatakan bahwa semen segar yang akan diencerkan paling tidak minimal jumlah spermatozoa yang hidup 70%. Rata-rata persentase abnormalitas semen sapi PO yang digunakan untuk penelitian adalah $2,59 \pm 0,67$ %. Angka tersebut menunjukkan bahwa spermatozoa yang memiliki morfologi normal adalah 97,41%. Itu artinya persentase normalitas semen sapi PO yang digunakan memiliki kategori yang baik. Sebagaimana yang dijelaskan oleh Ismaya (2014) bahwa semen termasuk jelek dan daya fertilisasinya rendah jika persentase abnormalitasnya lebih dari 20%.

Motilitas semen cair berbagai perlakuan

Motilitas adalah peremeter penting dalam prosesing semen untuk program inseminasi buatan. Rata-rata dan simpang baku motilitas semen cair sapi PO dengan berbagai perlakuan pengencer dasar air kelapa ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Motilitas Spermatozoa Sapi PO Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C

Perlakuan	Rata-rata motilitas selama penyimpanan (%) \pm Simpang baku								
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9
P1	70,0	69,0	67,0	66,0	57,0	37,0	27,0	6,0	4,5
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	0,0	2,1	3,5	3,9	9,5	5,4	9,5	6,6	6,0
P2	70,5	69,5	67,0	66,0	58,5	39,0	27,5	6,5	3,5
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	1,6	1,6	3,5	3,9	7,5	3,9	7,2	3,4	3,4
P3	71,0	68,5	67,0	65,5	57,5	37,5	27,0	6,0	3,5
	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
	2,1	2,4	4,2	4,4	7,2	5,4	8,2	2,1	2,4

Keterangan: : P = Perlakuan, H = Hari penyimpanan. Tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$)

Hasil analisis ragam persentase motilitas spermatozoa antar pengencer yang berbeda pada bangsa sapi PO selama disimpan dalam suhu 2-5 oC menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) pada penyimpanan hari ke-1 hingga hari ke-9 antar perlakuan P1, P2, dan P3 .

Hasil yang menunjukkan tidak adanya perbeda antar perlakuan pada pengencer berbahan dasar air kelapa dengan penambahan fruktosa dengan jumlah yang berbeda memiliki arti bahwa suplementasi fruktosa paa pengencer semen dengan bahan dasar air kelapa tidak memperikan pengaruh yang nyata terhadap motilitas spermatozoa sapi PO. Spermatozoa dalam mempertahankan hidup membutuhkan energi berupa ATP yang didapatkan dari proses anabolisme sumber energi. Secara alami didalam plasma semen dan air kelapa terdapat sumber energi berupa fruktosa. Sehingga jika selama penyimpanan hingga hari ke 9 kebutuhan sumber energi spermatozoa sudah terpenuhi dari plasma semen dan air kepala maka penambahan fruktosa tidak akan memberikan pengaruh yang nyata terhadap motilitas spermatozoa. Susilawati (2011) menyatakan bahwa fruktosa adalah gula dasar dari seminal. Fruktosa merupakan sumber energi yang baik bagi spermatozoa karena jalur metabolisme yang lebih pendek yaitu melalui proses fruktoliasis dibandingkan dengan glikolisis yang lebih panjang.

Perlakuan P1, P2, P3 merupakan pengencer yang berbasis air kelapa. Hasil pengamatan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa motilitas bertahan diatas 40% hingga penyimpanan hari ke 5. Meskipun dalam hal menjaga motilitas spermatozoa masih lebih singkat dibandingkan pengencer CEP atau Tris

Aminomethan, akan tetapi air kelapa berpotensi untuk dikembangkan menjadi pengencer semen dengan kualitas yang baik. Farapati dan Sayogo (2014) menyatakan bahwa air kelapa dapat menjadi bahan pengencer alternatif yang mudah didapatkan karena banyak tersedia di lingkungan sekitar dan harganya terjangkau. Kandungan air kelapa berbeda-beda tergantung varietas, umur dan faktor iklim. Kewilaa, Ondho, dan Setiatin (2014) menegaskan bahwa air kelapa adalah salah satu bahan yang bisa digunakan untuk pengencer semen yang memenuhi kriteria, karena buah kelapa di negara-negara tropik seperti Indonesia sangat mudah diperoleh dengan harga murah dibandingkan dengan bahan-bahan kimia sintetik. Air kelapa mengandung karbohidrat yang dapat menjadi sumber energi bagi kehidupan spermatozoa.

Viabilitas semen cair berbagai perlakuan

Persentase viabilitas (daya hidup) spermatozoa dapat diketahui dengan pewarnaan eosin-negrosin. Spermatozoa yang hidup masih memiliki membran yang dapat berfungsi dengan baik. Sedangkan spermatozoa yang mati membrannya tidak dapat berfungsi dengan baik, sehingga saat dilakukan pewarnaan menggunakan eosin-negrosin spermatozoa yang mati akan berwarna merah, sedangkan yang hidup berwarna transparan.

Susilawati (2013) menyatakan bahwa spermatozoa yang hidup dan yang mati dapat dibedakan reaksinya terhadap warna tertentu. Spermatozoa yang hidup membrannya masih baik, sehingga pewarna tidak masuk, sedangkan spermatozoa yang mati membrannya tidak berfungsi sehingga pewarna dapat masuk ke dalam sel spermatozoa.

Rata-rata dan simpang baku viabilitas spermatozoa sapi PO dalam pengencer dasar air kelapa ditunjukkan pada Tabel 3. Rata-rata viabilitas sapi PO dengan nilai tertinggi terdapat pada perlakuan P2 yaitu sebesar 77,66%, kemudian diikuti P1 sebesar 76,85%, dan P3 sebesar 76,71%. Ducha dkk., (2013) menyatakan bahwa penggunaan pengencer CEP-2 dengan penambahan kuning telur 20% memberikan hasil yang sangat baik dalam mempertahankan persentase viabilitas spermatozoa sapi selama pendinginan.

Meskipun nilai viabilitas dari pengencer berbahan dasar air kelapa memberikan hasil masih diatas 70% hingga hari ke-7. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengencer dengan bahan dasar air kelapa memiliki kemampuan yang baik dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa. Hal tersebut dikarenakan air kelapa memiliki kandungan sumber energi yang dibutuhkan spermatozoa untuk metabolisme. Kewilaa, dkk., (2014) menegaskan bahwa air kelapa merupakan bahan yang bisa digunakan untuk pengencer semen karena mengandung karbohidrat yang dapat menjadi sumber energi bagi kehidupan spermatozoa. Kurniawan, Basuki, Susilawati (2013) menambahkan bahwa karbohidrat yang berupa glukosa dan fruktosa dapat dijadikan sumber energi bagi spermatozoa dan diharapkan mampu mempertahankan kehidupan spermatozoa.

Persentase viabilitas spermatozoa dapat mengalami penurunan selama penyimpanan. Pereira, Becker, Siqueira, Ferreira, Severo, Truzzi, Oliveira, and Goncalves (2010) menyatakan bahwa persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan karena terjadi kerusakan membran plasma dan membran akrosom akibat dari pengaruh cold shock. Susilawati (2011) juga menegaskan bahwa membran merupakan bagian terluar spermatozoa yang berfungsi untuk melindungi spermatozoa, sehingga apabila membran rusak maka spermatozoa akan mati, dan hanya spermatozoa yang memiliki membran utuh yang akan mampu melakukan fertilisasi. Sedangkan Indriani, Susilawati, Wahyuningsih (2013) menyatakan bahwa jumlah spermatozoa yang mati dan rusak yang mengakibatkan penurunan persentase viabilitas disebabkan oleh keterbatasan energi yang dibutuhkan spermatozoa. Oleh karena itu penambahan fruktosa dalam pengencer menjadi salah satu solusi untuk mengatasi keterbatasan sumber energi.

Tabel 3. Rata-rata Viabilitas Spermatozoa Sapi PO Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C

Perlakuan	Rata-rata viabilitas selama penyimpanan (%) ± Simpang baku								
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9
P1	91,1	90,4	90,3	82,1	76,4	75,4	71,4	63,0	51,4

	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	4,7	4,8	5,9	6,9	6,9 ^a	5,9	7,5	8,9	9,5
P2	91,7	91,0	89,3	81,7	81,4	75,8	74,5	62,9	50,7
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	4,2	5,5	5,0	6,3	5,0 ^b	11,0	7,8	6,9	10,4
P3	91,0	90,3	86,4	79,0	79,1	76,2	72,9	64,5	51,1
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	4,7	7,2	5,1	7,4	5,1 ^{ab}	6,8	14,1	6,4	8,7

Keterangan: P = Perlakuan, H = Hari penyimpanan. Notasi yang berbeda menunjukkan perberbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$)

Abnormalitas semen cair berbagai perlakuan

Abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini dapat dijumpai terdapat beberapa macam. Susilawati (2013) menyatakan bahwa spermatozoa abnormal antara lain kepala terlalu besar, kepala dua dalam satu ekor spermatozoa, ekor putus, ekor bercabang, ekor melingkar, dan lain sebagainya.

Hasil analisis ragam persentase abnormalitas spermatozoa sapi PO dalam pengencer yang berbeda selama penyimpanan pada suhu 2-5 °C menunjukkan bahwa antar perlakuan P1, P2, dan P3 tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) pada penyimpanan hingga hari ke-9. Data rata-rata abnormalitas antar pengencer dasar air kelapa dengan berbagai formulasi menunjukkan hasil yang baik yaitu dibawah 10% (Tabel 4.). Ax et al., (2008) yang menyatakan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa apabila sudah lebih dari 20%, maka fertilitas pejantan diragukan. Semen yang mempunyai abnormalitas 15% atau lebih tidak dapat digunakan untuk inseminasi buatan. Susilawati (2011) menambahkan bahwa semen kualitas tinggi memiliki persentase abnormalitas sebesar $< 10\%$.

Pengencer dasar air kelapa mampu mempertahankan motilitas di bawah 10% hingga penyimpanan hari ke-9. Itu artinya bahwa salah satu komponen pengencer yang ada pada pengencer air kelapa berupa kuning telur sebagai krioprotektan, mampu melindungi spermatozoa dari kerusakan morfologi akibat pengaruh suhu. Kuning telur digunakan sebagai bahan krioprotektan yang berfungsi sebagai penyedia makan, sumber energi, dan pelindung eskraseluler spermatozoa dari *cold shock* karena mengandung lipoprotein dan lesitin (Dwitarizki, Ismaya dan Asmarawati, 2015).

Tabel 4. Rata-rata Abnormalitas Spermatozoa Sapi PO Selama Penyimpanan Suhu 4-5 °C

Perlakuan	Rata-rata abnormalitas selama penyimpanan (%) ± Simpang baku								
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9
P1	2,6	1,8	3,0	3,8	3,9	3,3	2,9	3,9	5,2
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
P2	1,7	1,2	1,8	1,1	1,6	1,7	1,4	1,2	2,1
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
P3	2,5	2,3	2,4	4,0	3,6	3,1	2,9	4,2	5,3
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
P3	1,1	1,6	1,1	1,5	1,3	1,6	1,9	1,4	2,0
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
P3	2,6	2,3	3,4	4,1	3,4	3,3	3,0	4,9	4,9
	±	±	±	±	±	±	±	±	±
	1,5	1,3	0,7	1,5	1,9	1,7	1,4	0,8	0,6

Keterangan: P = Perlakuan, H = Hari penyimpanan. Tidak terdapat berbeda yang nyata ($P > 0,05$)

Total spermatozoa motil

Total spermatozoa motil adalah hasil kali antara motilitas spermatozoa dengan konsentrasi spermatozoa dalam suatu semen cair. Hal ini sesuai dengan Nikbakht *and* Saharkhiz (2011) yang menyatakan bahwa jumlah spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan persentase spermatozoa yang motil progresif dengan konsentrasi spermatozoa. Apabila total spermatozoa yang motil diketahui, maka dapat diketahui pula apakah semen cair yang digunakan memenuhi syarat untuk inseminasi buatan.

Tabel 5. Rata-rata Total Spermatozoa Motil Sapi PO pada Penyimpanan Suhu 4-5 °C pada Hari Ke-6

Perlakuan	Rata-rata total spermatozoa motil (juta/ml) ± sd
P1	42,8 ± 8,6
P2	44,5 ± 4,9
P3	43,0 ± 9,1
Nilai Harapan	40,0

Keterangan : P = Perlakuan, H = Hari penyimpanan. Tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$)

Tabel 5 memperlihatkan bahwa rata-rata total spermatozoa motil sapi PO pada penyimpanan hari ke 6 dari terbesar hingga terkecil secara berurutan yaitu P2 sebesar 44,5 juta/ml, P3 sebesar 43,0 juta/ml, dan P1 sebesar 42,8 juta/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa perlakuan P2 mampu mempertahankan total spermatozoa motil terbaik. Sedangkan total spermatozoa motil terendah pada bangsa sapi pada bangsa sapi PO adalah P1.

Semua perlakuan (P1, P2 dan P3) pada penyimpanan hari ke-6 memiliki nilai yang lebih tinggi dari pada nilai yang diharapkan yaitu 40 juta/ ml. Hal tersebut berarti bahwa semen cair sapi PO dengan pengencer dasar air kelapa berdasarkan nilai total spermatozoa yang motil pada penyimpanan hari ke-6 masih memenuhi standart SNI sebagai semen untuk IB. Penentuan nilai harapan 40 juta/ ml ditetapkan berdasarkan ketentuan SNI tentang semen beku sapi. Standart SNI untuk konsentrasi spermatozoa dalam dosis straw adalah 25 juta/dosis staw mini (100 juta/ ml) dengan motilitas individu sebesar 40%. Salim dkk. (2012) menyatakan bahwa total spermatozoa motil sangat mempengaruhi peluang terjadinya fertilisasi. Muhammad, Susilawati, Wahjungsih (2016) menambahkan bahwa semen cair dengan nilai total spermatozoa motil masih diatas 40 juta/ml baik digunakan untuk IB.

4. Kesimpulan

- 1) Penambahan fruktosa dan putih telur pada pengencer pengencer berbasis air kelapa (P1, P2, P3) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan.
- 2) Pengencer berbasis air kelapa (P1, P2, P3) mampu mempertahankan motilitas, viabilitas, abnormalitas spermatozoa sesuai dengan standart untuk digunakan dalam pelaksanaan IB hingga hari ke-5.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didukung oleh Kemenristek DIKTI sebagai pemberi dana dengan skema PUPTN dan LPDP Kementerian Keuangan melalui program Beasiswa Pendidikan Indonesia (BPI). Serta Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan sebagai penyedia tempat dan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnani, Luh P. D. H, W. Bebas, M. K. Budiasa. 2012. Penambahan bovine serum albumin pada pengencer kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(4), 519 – 529.
- Audia, R. P., M. A. Salim, N. Isnaini dan T. Susilawati. 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.

- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, Hafez, and M. Bellin. 2008. *Semen Evaluation*. In *Reproduction in Farm Animal* (7th edition). Edited by Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA: 365-370.
- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, dan S. Wahjuningsih. 2013. Motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan pada refrigerator dalam pengencer CEP-2 dengan suplementasi kuning telur. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 7(1), 5-8.
- Dwitarizki, N. D, Ismaya, dan Asmarawati W. 2015. Pengaruh pengenceran sperma dengan air kelapa dan aras kuning telur itik serta lama penyimpanan terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa domba Garut pada penyimpanan 5°C. *Buletin Peternakan*, 39(3), 149-156.
- Farapati dan S. Sayogo. 2014. Air kelapa muda pengaruhnya terhadap tekanan darah. *Cermin Dunia Kedokteran*, 41(12), 896-900.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2008. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In *Reproduction in Farm Animals* (7th edition). Edited by E.S.E Hafez and B. Hafez. 2008. Lippincott & Williams. Baltimore, Marryland. USA: 96-109.
- Hafez, E.S.E. 2008. Preservation and Cryopreservation of Gamet and Embryos. In *Reproduction in Farm Animal*. E.S.E. Hafez and B. Hafez (editors) 7th Edition. Blackwell Publishing: 431-442.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 9(2), 98-107.
- Indriani, T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2013. Daya hidup spermatozoa sapi limousin yang dipreservasi dengan metode water jacket dan *free water jacket*. *Jurnal Veteriner September*, 14 (3), 379-386.
- Ismaya. 2014. Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. ISBN 979-420-848-5.
- Kewilaa, A. I., Y. S. Ondho, dan E. T. Setiatin. 2014. Efisiensi penambahan kuning telur dalam pembuatan pengencer air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa pada semen cair Domba Ekor Tipis (DET). *Agrilan*, 2(2), 1-12.
- Kurniawan, I.Y., F. Basuki, dan T. Susilawati. 2013. Penambahan air kelapa dan gliserol pada penyimpanan sperma terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 2(1), 51-56.
- Muhammad, D., T. Susilawati, S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh penggunaan CEP-2 dengan suplementasi kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi FH (Frisian Holstein) kualitas rendah selama penyimpanan suhu 4-5°C. *Jurnal Ternak Tropika*, 17(1), 66-76.
- Nikbakht, R. and N. Saharkhiz. 2011. The influence of sperm morphology, total motile sperm count of semen and the number of motile sperm inseminated in sperm samples on the success of intrauterine insemination. *International Journal of Fertility and Sterility*, 5(3), 168-173.
- Pereira, G.R., E.G. Becker, L.C. Siqueira, R. Ferreira, C.K. Severo, V.S. Truzzi, J.F.C. Oliveira, and P.B.D. Goncalves. 2010. Assesment of bovine spermatozoa viability using different cooling protocols prior to cryopreservation. *Italian Journal of Animal Science*, 9(4), 234-237.
- Salim, M. A., T. Susilawati, S. Wahjuningsih. 2012. Pengaruh metode thawing terhadap kualitas semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *Jurnal Agripet*, 12(2), 14-19.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-8960-04-5.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-203-458-2.

- Susilawati, T., D. Ratnawati, N. Isnaini, Kuswati and A. P. A. Yekti. 2018. Character of liquid semen motility in various diluents on Balinese cattle during cold storage. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, 20 (1), 166-172.
- Vigliar R., V. L. Sdepanian, U. Fagundes-Neto. 2006. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an Inland Region. *Jornal de Pediatria*, 82 (4), 308-312.