

PENGARUH PENAMBAHAN VIRGIN COCONUT OIL DALAM PENGECER TRIS KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI SELAMA PRESERVASI

(INFLUENCE ADDITION VIRGIN COCONUT OIL IN TRIS EGG YOLK ON THE QUALITY OF BALI BULL SPERMATOZOA DURING PRESERVATION)

Jernih Blegur*, Wilmientje M. Nalley, Thomas Mata Hine

Fakultas Peternakan - Universitas Nusa Cendana Kupang – Jln. Adisucipto, Penfui

*Correspondence author, email: jernihblegur21@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh penambahan berbagai dosis virgin coconut oil terhadap kualitas spermatozoa sapi bali selama preservasi. Semen ditampung dua kali seminggu menggunakan metode vagina buatan dari dua ekor sapi bali jantan berumur 3-4 tahun dengan kondisi tubuh dan organ reproduksi yang normal. Semen yang memiliki motilitas > 70%, konsentrasi > 1000×10⁶, dan abnormalitas < 15% diencerkan dengan pengencer Tris-kuning telur (T-KT) yang ditambahkan dengan virgin coconut oil (VCO) pada konsentrasi: 0 % (P0), 2% (P1), 4% (P2), dan 6% (P3). Semen yang telah diencerkan di simpan pada suhu 3-5° C. dievaluasi setiap 24 jam terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya hidup spermatozoa hingga motilitas minimal 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semen yang diencerkan dengan Tris-kuning telur pada perlakuan P3 (VCO 6%) mempunyai kualitas yang lebih tinggi (P<0,05) dibandingkan dengan ketiga perlakuan lainnya, yaitu motilitas mencapai (43,10±2,83%), viabilitas (48,68±1,59%), abnormalitas (5,92±0,90%) dan daya tahan hidup (6,00±0,00 hari). Kesimpulan dari penelitian ini adalah penambahan virgin coconut oil 6% dalam pengencer Tris- kuning telur lebih efektif dalam mempertahankan kualitas semen cair sapi bali.

Kata kunci: tris kuning telur, virgin coconut oil, sperma, sapi bali

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the effect of adding various doses of virgin coconut oil to the quality of bali bull spermatozoa during preservation. Semen is accommodated twice a week using an artificial vaginal method from two 3-4 year old bali bull with normal body condition and reproductive organs. Semen with motility > 70%, concentration > 1000 × 10⁶, and abnormality < 15% was diluted with Tris-egg yolk (T-KT) diluent added with virgin coconut oil (VCO) at a concentration of: 0% (T0), 2 % (T1), 4% (T2), and 6% (T3). The diluted semen was stored at 3-5°C. Evaluated every 24 hours for motility, viability, abnormalities and vitality of spermatozoa up to a motility of at least 40%. The results showed that semen diluted with T-EY with 6% VCO (T3) had a higher quality (P < 0.05) compared to the other three treatments, with motility reaching (43.10 ± 2, 83%), viability (48.68 ± 1.59%), abnormalities (5.92 ± 0.90%) and survival (6.00 ± 0.00 days). The conclusion of this study is the addition of 6% virgin coconut oil in Tris-egg yolk diluent is more effective in maintaining the quality of bali cattle liquid semen.

Keywords: tris egg yolk, virgin coconut oil, spermatozoa, bali bull.

PENDAHULUAN

Spermatozoa yang berada diluar tubuh ternak aktivitas metabolismenya mencapai maksimum jika disimpan pada suhu 37°C, namun dapat dipertahankan pada suhu 3-5°C. Selama penyimpanan spermatozoa akan mengalami kerusakan membran yang disebabkan oleh *Reactive oxygen species* (ROS) dan stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan penyebab utama kerusakan dari spermatozoa sehingga menghambat proses fosforilasi.

Oksidasi fosforilasi yang terganggu menyebabkan peningkatan ROS, kadar ROS yang tinggi dalam sel dapat mengoksidasi lipid, protein dan DNA. Membran plasma spermatozoa memiliki fosfolipid kadar yang tinggi menyebabkan sperma sangat rentan terhadap ROS (Sanoeka dan Kurpisz, 2004).

Untuk mengurangi kerusakan sel selama penyimpanan, maka diperlukan penambahan antioksidan, yang dapat menghambat reaksi

peroksidasi lipid, dan dapat mengikat senyawa radikal bebas. Virgin coconut oil (VCO) merupakan produk olahan asli Indonesia, dengan kandungan antioksidan yang sangat tinggi 0,5 mg/ 100 g minyak kelapa murni yang bersifat sebagai antioksidan untuk mengurangi tekanan oksidatif yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen (Hernanto *et al.*, 2008).

Spermatozoa sapi umumnya dapat diencerkan dengan Tris yang dikombinasikan dengan kuning telur, dengan fungsi utamanya sebagai *buffer* untuk mempertahankan pH, serta sebagai sumber energi, meminimalkan kejutan

dingin selama penyimpanan (Nalley *et al.*, 2007). Penambahan VCO kedalam pengencer Tris- kuning telur diharapkan dapat meminimalkan kerusakan sperma akibat radikal bebas dan dengan cara demikian meningkatkan kualitas spermatozoa baik viabilitas, daya tahan hidup dan terutama motilitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh penambahan berbagai dosis virgin coconut oil terhadap kualitas spermatozoa sapi bali serta mendapatkan dosis terbaiknya dalam pengencer Tris-kuning telur.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Ternak yang digunakan sebagai sumber semen adalah dua ekor sapi bali jantan dengan umur 3 - 4 tahun yang berada dalam kondisi sehat, mempunyai organ reproduksi normal dan telah terlatih untuk ditampung semennya. Ternak tersebut dipelihara dalam kandang individu yang dilengkapi dengan tempat makan dan minum. Pakan hijauan diberikan 10% dari berat badan dan penambahan 0,5 kg konsentrat dan air minum secara *ad libitum*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan rancangan percobaan adalah Rancangan Acak Lengkap, terdiri dari empat perlakuan dan enam ulangan sehingga terbentuk dua puluh empat unit percobaan. Keempat perlakuan tersebut adalah: Tris-kuning telur (T-KT)+ virgin coconut oil (VCO) 0 % (P0), T-KT

+ VCO 2 % (P1), T-KT + VCO 4 % (P2), T-KT + VCO 6 % (P3).

Pembuatan Bahan Pengencer

Penyiapan kuning telur yaitu : (1) Telur dibersihkan dengan alkohol 70%, agar bersih dan steril lalu dipecahkan bagian yang lancip dan pisah kuning telur dengan putih telur. (2) Kuning telur yang terbungkus selaput *vitellin* diletakkan pada kertas saring agar menyerap sisa putih telur. (3) Kuning telur dipecahkan dengan cara menyobek jaringan *vitellin* dengan pisau steril, lalu kuning telur dituangkan ke dalam gelas ukur. (4) Kuning telur siap digunakan.

Tris [*Tris (hydroxymethyl) aminomethane*] ditimbang sebanyak 3,634 gram dan larutkan dengan aquadest hingga 100 mL, dalam tabung erlemeyer, selanjutnya ambil 80 mL Tris dan tambahkan 20 mL kuning telur kemudian homogenkan Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer perlakuan (100 mL)

Bahan Pengencer	P0	P1	P2	P3
Tris (ml)	80	80	80	80
Kuning telur (mL)	20	20	20	20
Penisilin (IU)	1000	1000	1000	1000
Streptomisin (mg mL-1)	1	1	1	1
VCO (%)	0	2	4	6

Penampungan dan Evaluasi Semen

Penampungan semen menggunakan metode *vagina buatan*, semen segar yang diperoleh segera dilakukan evaluasi secara makroskopis dan secara mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis meliputi: Volume semen dapat

dibaca secara langsung, dengan melihat pada tabung penampung berskala dan atau dapat diukur menggunakan pipet berskala. Konsistensi atau derajat kekentalan dapat diketahui dengan cara memiringkan tabung yang berisi semen secara perlahan-lahan sambil melihat gerakan

perpindahan semen ke posisi semula. Jika pergerakan semen dalam tabung gerakannya lambat maka semen memiliki konsistensi kental, dan jika gerakannya agak cepat maka semen memiliki konsistensi sedang, sedangkan gerakannya sangat cepat maka semen memiliki konsistensi encer. Derajat keasaman semen dapat diketahui dengan cara meneteskan semen diatas kertas indikator pH berskala 1-14. Perubahan warna pada kertas pH tersebut disesuaikan dengan standar warna pada kertas indikator pH.

Evaluasi kualitas semen secara mikroskopis meliputi :Gerakan massa spermatozoa dikategorikan dalam 3 golongan, yaitu gerakan cepat berpindah, awan tebal dan gelap, celah antara gumpalan awan satu dengan yang lainnya sedikit atau rapat (+++), gerakan cepat,terbentuk awan tetapi agak terang gumpalannya (++), dan terlihat gerakan sperma sendiri, tidak ada gumpalan awan (+). Konsentrasi spermatozoa menunjukkan jumlah sel spermatozoa tiap satuan volume semen dengan cara diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 40×10. Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan *haemocytometer*. Perhitungan konsentrasi: Konsentrasi spermatozoa = $X \times \text{volume spermatozoa} \times 10^6$ sperma/ml. X = jumlah spermatozoa hasil perhitungan.

Persentase motilitas spermatozoa ditentukan melalui pengamatan spermatozoa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran lensa objektif 40×10. Penilaian terhadap persentase spermatozoa motil adalah spermatozoa yang bergerak progresif ditentukan secara subjektif pada sepuluh lapang pandang yang berbeda, nilai yang diberikan berkisaran antara 0% dan 100% dengan skala 5%. Viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan differensial eosin-nigrosin, spermatozoa hidup ditandai dengan spermatozoa tidak menyerap warna merah (bening atau putih), sedangkan spermatozoa mati akan terlihat penyerapan warna merah ungu dari eosin-nigrosin. Pengamatan dilakukan

menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40×10, hitung spermatozoa dengan total 200 spermatozoa atau pada 10 lapang pandang yang berbeda. Perhitungan nilai viabilitas diperoleh sesuai rumus:

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100 \%$$

Abnormalitas spermatozoa sama dengan evaluasi viabilitas dapat diketahui dengan cara semen diwarnai dengan melihat bentuk morfologi spermatozoa yang tidak normal baik abnormalitas primer maupun sekunder. Abnormalitas =

$$\frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100 \%$$

Pengenceran dan Penyimpanan Semen

Semen segar yang digunakan harus memiliki motilitas > 70%, konsentrasi > 1000×10⁶, dan abnormalitas < 15% (Jahnsen *et al.*,2000), selanjutnya diencerkan menggunakan Tris-KT dengan suplementasi virgin coconut oil pada berbagai konsentrasi. Semen yang telah diencerkan, disimpan pada suhu 3-5°C dan dilakukan evaluasi setiap 24 jam terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas,dan daya tahan hidup (DTH) spermatozoa.

Variabel Penelitian

Variabel yang diukur dalam penelitian adalah: (1) motilitas spermatozoa (%), (2) Viabilitas spermatozoa (%), (3) Abnormalitas spermatozoa (%), (4) Daya tahan hidup spermatozoa (hari) diukur dengan lama spermatozoa dapat bertahan dalam penyimpanan, dengan presentase motilitas minimal 40%.

Analisis Data

Keseluruhan data yang terkumpul dianalisis dengan *Analysis of variance* (anova) dan jika terdapat perbedaan dari perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Duncan dengan program software SPSS 22.0 *for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar Sapi Bali

Karakteristik semen segar yang diperoleh selama penelitian ini ditampilkan pada Tabel 2. Rerata volume semen segar pejantan sapi bali dalam penelitian adalah 4,00 ± 0,79 mL dengan kisaran 3-5 mL. Hasil ini sesuai dengan

pendapat Garner and Hafez (2000) yang melaporkan bahwa volume semen sapi bervariasi setiap penampungan antara 1-15 mL atau 5-8 mL per ejakulasi. Volume semen per ejakulasi berbeda-beda, hal ini bisa disebabkan

oleh umur, suhu, bangsa, tingkatan makanan, frekuensi penampungan.

Warna semen segar sapi bali hasil penelitian adalah krem, hasil ini sesuai dengan pendapat Feradis, (2010) yang menyatakan bahwa semen sapi normal berwarna seperti putih susu atau krem, keputih-putihan dan keruh. Kira-kira 10% sapi menghasilkan semen yang

normal dengan warna kekuning-kuningan, yang disebabkan oleh riboflavin yang dibawa oleh satu gen autosom resesif dan tidak mempunyai pengaruh terhadap fertilitas. Semen sapi mempunyai volume rendah tetapi konsentrasi spermanya tinggi sehingga memperlihatkan warna krem atau warna putih susu.

Tabel 2. Karakteristik semen segar sapi bali

Karakteristik semen	Rerata
Makroskopis :	
Volume (mL)	4,00±0,79
Warna	krem
Konsistensi	Sedang - Kental
pH	6,58±0,16
Mikroskopis :	
Gerakan Massa	+++
Konsentrasi (x 10 ⁶ sel/mL)	994,20±105,02
Motilitas (%)	76,00±4,18
Viabilitas (%)	81,07±3,23
Abnormalitas (%)	2,19±1,63

Konsistensi semen hasil penelitian termasuk kategori sedang - kental, Suyadi *et al.* (2012) menjelaskan bahwa warna, konsistensi dan konsentrasi spermatozoa mempunyai hubungan yang sangat erat satu dengan yang lain, artinya jika semen semakin encer maka konsentrasi spermatozoa semakin rendah dan warnanya semakin pucat. Konsentrasi semen segar dalam penelitian ini sebanyak 994,20 ± 105,02 juta/mL. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Ismaya (2014) menjelaskan bahwa konsistensi spermatozoa juga berkaitan dengan warna spermatozoa yang dapat digunakan untuk memprediksi konsentrasi spermatozoa. Ketika konsistensinya sedang hingga kental atau warna krem maka konsentrasi spermatozoa berkisar 1.000-2.000 juta spermatozoa/mL. Derajat keasaman semen sapi bali hasil penelitian yaitu 6,5± 0,16, sedikit berbeda dengan pendapat Nursyam (2007) yang melaporkan bahwa pH semen 6,0-6,5 tidak dipengaruhi oleh musim baik musim kemarau ataupun musim hujan. Perbedaan ini didukung oleh Feradis (2010) bahwa setiap bangsa sapi mempunyai nilai pH semen segar yang berbeda - beda. Gerakan massa semen segar sapi bali yang diperoleh memiliki nilai ++ - +++. Hasil ini tidak berbeda dengan hasil penelitian Arifiantini *et al.* (2006)

yang menyatakan bahwa gerakan massa pada sapi lokal lainnya seperti sapi bali diperoleh rata-rata sebesar 2,7 setara dengan (+++/+++), yang disebabkan karena kondisi ternak maupun lingkungan.

Motilitas adalah daya gerak spermatozoa yang dapat dijadikan sebagai acuan dalam penilaian kualitas spermatozoa untuk inseminasi buatan (Bintara, 2011). Motilitas sangat penting bagi spermatozoa untuk melewati cervix uteri dan *uterotubal junction*, dan lebih penting lagi untuk menembusi sel-sel kumulus dan zona pelusida sel telur. Oleh karena itu, motilitas sangat penting untuk dievaluasi demi keberhasilan dari suatu perkawinan. Motilitas spermatozoa sapi bali adalah 76,00 ± 4,18 % hasil ini sedikit berbeda dengan pendapat (Ratnawati *et al.* 2008) yang melaporkan bahwa motilitas individu spermatozoa sapi bali mencapai 88,7%, menurut Garner and Hafez (2000) motilitas spermatozoa sapi berkisar antara 40-75%, untuk dapat dilakukan proses pengenceran dan pembekuan, semen segar harus memenuhi syarat minimal 70%.

Viabilitas spermatozoa semen segar sapi yang diperoleh rata-rata 81,07 ± 3,23 % hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian (Rizal, 2009), yang melaporkan bahwa viabilitas

spermatozoa sapi bali sebesar 86,75%, (Ratnawati *dkk.* 2017) sapi madura 85% (Pratiwi *et al.* 2007) dan sapi Peranakan Ongole 97%. Viabilitas spermatozoa untuk pembuatan semen yang diencerkan atau semen beku minimal memiliki 60 % sampai 75% spermatozoa hidup (Garner dan Hafez, 2000). Nilai spermatozoa abnormal yang diperoleh dalam penelitian ini rata-rata $2,19 \pm 1,63$ %. Semen yang diperoleh

masih berada dalam kisaran normal sesuai pernyataan Garner dan Hafez (2000) dimana abnormalitas spermatozoa tidak boleh melebihi 20%.

Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa.

Rerata nilai motilitas semen cair sapi bali masing-masing perlakuan tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa

Hari ke	Perlakuan			
	T-KT-VCO0	T-KT-VCO2	T-KT-VCO4	T-KT-VCO6
0	75.10 ± 3.72 ^a			
1	62.20 ± 3.01 ^a	64.00 ± 2.24 ^a	70.20 ± 3.20 ^b	72.10 ± 2.88 ^b
2	55.20 ± 3.71 ^a	56.40 ± 3.92 ^a	63.10 ± 5.74 ^b	68.40 ± 4.21 ^b
3	42.24 ± 3.06 ^a	48.00 ± 4.47 ^b	55.10 ± 4.87 ^c	61.40 ± 3.50 ^d
4	35.90 ± 2.01 ^a	40.10 ± 3.54 ^a	46.10 ± 4.30 ^b	55.62 ± 4.58 ^c
5	25.00 ± 3.53 ^a	33.50 ± 4.82 ^b	40.15 ± 3.55 ^c	50.28 ± 4.92 ^d
6	15.00 ± 5.00 ^a	21.60 ± 4.96 ^b	34.80 ± 3.19 ^c	43.10 ± 2.83 ^d

Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P<0,05)

Spermatozoa sapi bali dalam pengencer T-KT yang ditambahkan VCO mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sapi bali selama penyimpanan. Hasil terbaik teramati pada perlakuan T-KT-VCO6 dengan motilitas $43.10 \pm 2.83\%$ dengan lama penyimpanan selama 6 hari dibandingkan dengan kontrol T-KT-VCO0 dengan motilitas $42.24 \pm 3.06\%$ dengan lama penyimpanan hanya tiga hari. Perbedaan ini kemungkinan adanya sifat antioksidan yang terdapat pada VCO sebagai substrat sumber energi dan sebagai krioprotektan ekstraseluler mampu untuk menurunkan stres oksidatif (Dosumo *et al.*, 2010). Pada perlakuan T-KT-VCO0 penurunan terjadi, diduga bahwa T-KT hanya sebagai penyangga untuk mempertahankan pH sehingga spermatozoa yang mati dan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup sebelum penambahan VCO. Rizal *et al.* (2004) melaporkan bahwa penurunan kualitas spermatozoa selama penyimpanan, terutama nilai motilitas progresif diduga akibat banyaknya spermatozoa yang mati dan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih

hidup, sehingga secara umum kualitasnya menjadi menurun.

Hasil analisis statistik terhadap motilitas pasca pengenceran menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05) antara perlakuan. Namun setelah penyimpanan 1-6 hari menunjukkan perbedaan yang nyata antara perlakuan (P<0,05). Hal ini berarti perlakuan memberikan respon yang baik terhadap spermatozoa, karena VCO mengandung vitamin E dan polifenol yang mampu meningkatkan enzim-enzim antioksidan berperan sebagai antioksidan, sedangkan polifenol mempunyai kemampuan melawan pembentukan radikal bebas dalam tubuh (Putri *et al.*, 2014).

Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Persentase viabilitas spermatozoa merupakan indikator untuk menilai kualitas semen. Semakin tinggi persentase viabilitas semen maka semakin baik kualitas semen tersebut (Rizal *et al.*, 2004). Nilai viabilitas spermatozoa hasil penelitian disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa

Hari ke	Perlakuan			
	T-KT-VCO0	T-KT-VCO2	T-KT-VCO4	T-KT-VCO6
0	80.42 ± 3.53 ^a	79.70 ± 4.01 ^a	79.99 ± 3.63 ^a	81.38 ± 3.99 ^a
1	67.33 ± 2.72 ^a	69.65 ± 2.34 ^a	74.42 ± 3.55 ^b	77.80 ± 4.26 ^b
2	59.75 ± 3.45 ^a	65.68 ± 5.48 ^{ab}	68.02 ± 5.71 ^{bc}	73.51 ± 3.87 ^d
3	47.30 ± 2.48 ^a	53.05 ± 4.43 ^b	59.02 ± 4.94 ^c	67.27 ± 3.56 ^d
4	39.99 ± 1.68 ^a	45.03 ± 3.43 ^{ab}	50.46 ± 6.33 ^b	60.88 ± 4.26 ^c
5	33.86 ± 4.06 ^a	39.27 ± 4.34 ^{ab}	44.77 ± 3.81 ^b	55.64 ± 4.75 ^c
6	19.71 ± 4.66 ^a	26.31 ± 4.45 ^b	39.49 ± 3.34 ^c	48.68 ± 2.55 ^d

Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P<0,05)

Spermatozoa sapi bali dalam perlakuan T-KT- VCO mampu mempertahankan viabilitas spermatozoa sapi bali. Hasil terbaik teramati pada perlakuan T-KT- VCO6 selama penyimpanan enam hari mampu bertahan karena pada pemberian vitamin E yang terkandung dalam VCO memberikan presentasi spermatozoa hidup tertinggi, hal ini disebabkan karena peranan vitamin E yang mampu melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat radikal bebas hasil metabolisme sel spermatozoa sehingga spermatozoa bertahan hidup lebih lama. Hasil penelitian dari (Astuti *et al.* 2008) bahwa penambahan VCO mampu meningkatkan jumlah spermatozoa primer diduga karena memiliki peran penting dalam perbaikan kerusakan testis dengan mengurangi stress oksidatif dan melindungi kerusakan organ reproduksi selama toksisitas (Al-Ani, 2013).

Hasil analisis statistik terhadap viabilitas pada penyimpanan hari ke 1 sampai hari ke 6

menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) antara perlakuan, hal ini diduga karena dipengaruhi ketersediaan antioksidan yang cukup dalam pengencer, sehingga dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa. Nilai viabilitas berhubungan erat dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa, apabila nilai viabilitas tinggi maka kemampuan fertilitas akan tinggi. Menurut Hidayatullah (2007) viabilitas spermatozoa dipengaruhi oleh kebutuhan akan nutrisi. Nutrisi akan digunakan oleh spermatozoa untuk dijadikan energi sehingga apabila kebutuhan nutrisi spermatozoa berkurang maka akan mengakibatkan viabilitas spermatozoa menurun.

Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Rerata persentase abnormalitas spermatozoa yang diperoleh pada masing-masing perlakuan ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa

Hari ke	Perlakuan			
	T-KT-VCO0	T-KT-VCO2	T-KT-VCO4	T-KT-VCO6
0	4.15 ± 0.74 ^a	4.14 ± 0.80 ^a	3.10 ± 0.86 ^a	3.84 ± 0.81 ^a
1	4.11 ± 0.83 ^a	4.22 ± 0.97 ^a	4.17 ± 0.98 ^a	4.24 ± 0.87 ^a
2	4.47 ± 0.82 ^a	4.63 ± 0.93 ^a	4.85 ± 0.73 ^a	4.40 ± 0.86 ^a
3	5.06 ± 0.98 ^a	5.15 ± 0.87 ^a	5.19 ± 0.61 ^a	4.86 ± 0.77 ^a
4	5.24 ± 1.08 ^a	5.57 ± 1.05 ^a	5.22 ± 0.95 ^a	4.98 ± 0.75 ^a
5	5.97 ± 0.82 ^a	6.11 ± 0.86 ^a	5.65 ± 0.47 ^a	5.39 ± 0.63 ^a
6	6.47 ± 0.82 ^a	6.42 ± 0.70 ^a	6.09 ± 0.73 ^a	5.92 ± 0.90 ^a

Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P<0,05)

Hasil analisis statistik terhadap abnormalitas pada semua perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05), dari hari ke 0 sampai dengan hari ke 6. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa dosis VCO dalam pengencer T-KT tidak memberikan

pengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa. Hal tersebut diduga karena kerusakan membran plasma yang terjadi akibat *cold shock* dan perubahan tekanan osmotik tidak menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap bentuk morfologi spermatozoa.

Penggunaan semen cair maupun semen beku dalam program inseminasi abnormalitas spermatozoa sebaiknya kurang dari 20% (BSN, 2017). Persentase abnormalitas ini lebih kecil dibandingkan dengan Parera *et al.* (2009) dengan hasil yaitu 9,83%. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh umur dan faktor kesuburan pejantan (Garner & Hafez, 2000).

Nilai abnormalitas semen segar sapi bali yaitu 2,19±1,6% dan setelah pengenceran 3,84-5,92% hal ini disebabkan adanya proses pengenceran dan disimpan pada suhu 5°C diduga meningkat persentase abnormalitasnya dipengaruhi oleh lipoprotein yang terdapat dalam kuning telur yang semakin lama semakin menurun fungsi perlindungannya terhadap spermatozoa melawan dingin. Selain meningkatnya persentase abnormalitas spermatozoa diduga dipengaruhi oleh keadaan osmotik disekitarnya tidak sesuai (Damayanti, 1991). Hal ini sesuai dengan pendapat Kamal *et al.* (2005) dan Arifiantini *et al.* (2005) terjadinya peningkatan abnormalitas spermatozoa

disebabkan oleh efek cekaman dingin (*cold shock*) dan ketidakseimbangan nutrisi. Abnormalitas spermatozoa dapat disebabkan oleh pengaruh penurunan pH semen, tekanan osmotik dan stres dingin yang terjadi selama penyimpanan. Sesuai dengan pendapat Solihati *et al.* (2008) bahwa abnormalitas dapat disebabkan karena kejutan suhu dingin dan ketidak seimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama penyimpanan suhu 4-5°C. Selanjutnya dilaporkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan, maka presentase abnormalitas akan semakin tinggi.

Pengaruh Perlakuan terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa yang dimaksud adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap bertahan hidup dalam kurun waktu tertentu setelah penyimpanan *in vitro* (Hine *et al.*, 2014).

Tabel 6. Pengaruh perlakuan terhadap daya tahan hidup spermatozoa

Perlakuan	Daya Tahan Hidup (Hari)
T-KT-VCO0	3.00±0.00 ^a
T-KT-VCO2	3.80±0.44 ^b
T-KT-VCO4	4.80±0.44 ^c
T-KT-VCO6	6.00±0.00 ^d

Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P<0,05)

Spermatozoa sapi bali yang dipreservasi dalam pengencer T-KT+VCO memiliki daya tahan hidup yang lebih lama daripada kontrol (Tabel 6). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Hal ini semakin memperkuat fakta bahwa begitu pentingnya pengencer dalam memperpanjang kehidupan spermatozoa *in vitro*. Dalam kondisi spermatozoa tidak mendapat suplementasi nutrisi dan bahan pelindung terhadap kejutan dingin (perlakuan kontrol), maka spermatozoa akan cepat mengalami kematian oleh karena kehabisan substrat energi, energi yang digunakan hanya mengandalkan bahan-bahan yang terdapat dalam pengencer dan plasma semen.

Perlakuan pengencer yang ditambahkan VCO mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang dapat melenturkan membran plasma spermatozoa. Marina *et al.* (2009)

mengemukakan bahwa VCO mengandung senyawa fenolik, seperti asam ferulat and *p*-coumarat yang memberikan kontribusi terhadap aktivitas antioksidan.

Hasil penelitian Hidayatin (2002) menyatakan bahwa dibutuhkan 50% spermatozoa yang hidup dan motil untuk dipakai dalam IB. Jika mengacu pada ketentuan ini, maka perlakuan T-KT-VCO6 yang dapat digunakan untuk IB pada hari keenam penyimpanan. Sedangkan, untuk perlakuan T-KT-VCO2 dan T-KT-VCO4 secara berurutan hanya bisa dipakai pada hari keempat dan hari ke tiga. Spermatozoa segar mengalami penurunan kualitas dan jumlah spermatozoa mati lebih banyak setelah penyimpanan selama dua dan tiga hari (Yani *et al.*, 2001).

Kehabisan substrat energi yang terjadi selama penyimpanan dapat menyebabkan proses glikolisis untuk menghasilkan energi tidak dapat berlangsung. Dalam kondisi tanpa oksigen,

suplai energi bagi spermatozoa terutama disumbangkan melalui jalur glikolisis (Barbonetti *et al.*, 2010). Suatu eksperimen menunjukkan bahwa glikolisis dapat mengimbangi kekurangan produksi ATP oleh mitokondria dalam mempertahankan motilitas sperma mencit, dan gangguan terhadap

mitokondria dapat menekan motilitas sperma hanya ketika proses glikolisis terhambat (Mukai dan Okuno, 2004). Dengan demikian, penghambatan proses glikolisis akan menyebabkan kematian spermatozoa.

SIMPULAN

Penambahan VCO 6% dalam pengencer Tris-kuning telur efektif dalam mempertahankan

kualitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi bali hingga 6 hari penyimpanan

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Ani NKH. 2013. Protective Influence of Olive Oil on Reproductive Parameters in Male Rat Treated with Cadmium. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology* 2 (4): 500-505.
- Arifiantini RI, Wresdiyati T, dan Retnani EF. 2006. Kaji banding morfologi spermatozoa sapi bali (*Bos sondaicus*) menggunakan pewarnaan Williams, eosin, eosin nigrosin dan formol-saline. *Jurnal Sains Veteriner*. 24(1): 65-70.
- Arifiantini RI, Yusuf TL, dan Yanti D. 2005. Kaji banding kualitas semen beku sapi Friesian Holstein menggunakan pengencer dari berbagai balai inseminasi buatan di Indonesia. *Animal Production* 7(3): 168-176.
- Astuti S, Muchtadi D, Astawan M, Purwantara B dan Wresdiyati T. 2008. Pengaruh Pemberian Tepung Kedelai Kaya Isoflavon, Seng (Zn) dan Vitamin E terhadap Kadar Hormon Testosteron Serum dan Jumlah Sel Spermatogenik pada Tubuli Seminiferi Testis Tikus Jantan. *JITV*. 13 (4): 288-293.
- BSN (Badan Standardisasi Nasional). 2017. SNI 4869-1:2017. *Semen Beku-Bagian 1: Sapi*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Bintara S. 2011. Rasio X:Y dan kualitas sperma pada kambing kacang dan peranakan ettawa. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. *Sains Peternakan*, 9(2):65-71.
- Barbonetti A, Vassallo MRC, Fortunato D, Francavilla S, Maccarrone M, Francavilla F. 2010. Energetic metabolism and human sperm motility: impact of CB1 receptor activation. *Endocrinology* 151(12): 5882–5892.
- Damayanti Y. 1991. Pengaruh Kadar Fruktosa dalam Pengencer Air Kelapa Muda, Air Siwalan dan Kombinasinya dengan Kuning Telur terhadap Kualitas Air Mani Ayam Buras. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Dosumo OO, Duru FIO, Osinubi AA, Oremosu AA and Noronha CC. 2010. Influence of Virgin Coconut Oil (VCNO) on Oxidative Stress, Serum Testosterone and Gonadotropic Hormones (FSH, LH) in Chronic Ethanol Ingestion. *Agriculture and Biology Journal of North America*.1 (6): 1126-1132.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta : Bandung.
- Garner DL and Hafez ESE. 2000. *Spermatozoa and seminal plasma in reproduction in farm animals*. Edited by E. S. E. Hafez. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA.
- Hernanto M, Suswardana, Saraswati PDA dan Radiono S. 2008, virgin coconut oil protection against uv binduced erithema and pigmentation, *BIKKK (Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin)* 3(20), 208-211
- Hidayahturrahmah. 2007. Waktu motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio L*) pada beberapa konsentrasi larutan fruktosa. *Jurnal bioscientiae* 4(1): 9-18.
- Hidayatin, D. 2002. Kaji banding kualitas semen beku produk bib lembang dan singosari pada setiap jalur distribusi. *Skripsi* Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Gadjah Mada

- University Press. Yogyakarta. ISBN 979-420-848-5.
- Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, and Maxwell WMC. 2000. *Storage of boar semen. J Anim Sci* 62: 143-172
- Kamal A, Gubartallah A, Ahmed Amel, Bakhiet O and Babiker A. 2005. Comparative studies on reproductif performance of nubian and saanen buck under the climatic conditions of Khartoum. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 4(11) : 942-944.
- Nursyam. 2007. Perkembangan iptek bidang reproduksi ternak untuk meningkatkan produktivitas ternak. *JITV*. 21(4):145-152.
- Marina AM, Che Man YB, Nazimah SAH, Amin I. 2009. Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 60(2):114-123.
- Hine TM, Burhanuddin, Marawali A. 2014. Efektivitas air buah lontar dalam mempertahankan motilitas, viabilitas dan daya tahan hidup spermatozoa sapi bali. *Jurnal Veteriner* 15 (2) : 263-273.
- Mukai C, Okuno M. 2004. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biology of Reprod* 71(2):540-547.
- Nalley WMM, Handarin R dan Purwantara B. 2007. Viabilitas spermatozoa rusa timor (*Cervus timorensis*) di dalam pengencer Tris kuning telur dengan sumber karbohidrat berbeda yang disimpan pada suhu ruang. *JITV* 12(4): 311-317.
- Partodihardjo S. 1982. *Ilmu reproduksi hewan*. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- Parera F, Prihatiny Z, Souloka DF dan Rizal M. 2009. pemanfaatan sari wortel sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi bali. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 34(1): 50-56.
- Pratiwi WC, Affandhy L, Situmorang P. 2007. Observasi kualitas semen cair sapi peranakan ongole terhadap perbedaan waktu inkubasi pada proses pemisahan spermtozoa. 2007. *Loka Penelitian Sapi Potong*. Bogor. 195-200.
- Putri BE, Soetjipto H, dan Hartini S. 2014. Kadar polifenol dan efek antioksidan ekstrak etanol buah sosis (*Kigelia Africana* (Linn.) Benth.) Serta aplikasinya dalam sabun transparan. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. 326-331.
- Ratnawati D, Affandhy L, Pratiwi WC dan Prihandini PW. 2008. Pengaruh pemberian suplemen tradisional terhadap kualitas semen pejantan sapi bali. *Loka Penelitian Sapi Potong*. Semarang.
- Ratnawati D, Isnaini N, Susilawati T. 2017. Pemanfaatan casa dalam observasi motilitas spermatozoa semen cair sapi Madura dalam pengencer yang berbeda. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*, 27(1):80-95.
- Rizal M, Herdis, dan A Boediono. 2004. Daya hidup sperma epididimis domba setelah disimpan pada suhu rendah (5°C). *J. Anim. Prod.* 6(1) : 30-36
- Rizal M. 2009. Daya hidup spermatozoa epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3-5°C dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. Fakultas Peternakan Universitas Pattimura. Ambon. *JITV*, 14(2):142-149.
- Sanoeka D and Kurpisz M. 2004. Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endrocrilogy* 2(12):1-7.
- Solihati N, R Idi, S R Darojah, M Rizal, dan M. Fitriati. 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi Peranakan Ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5°C. *Animal Production*. 1 (10) : 22-29
- Suyadi A, Rachmawati, Iswanto N. 2012. Pengaruh α -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethane kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 5°C. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan*. 22 (3): 1-8.
- Umar SH, Queljoe ED, dan Tendean L. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap kualitas spermatozoa wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi paparan suhu panas. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 3 (2) : 670-675.
- Yani A, Nuryadi, dan T Pratiwi. 2001. Pengaruh tingkat substitusi santan kelapa pada pengencer tris dan waktu penyimpanan terhadap kualitas semen kambing peranakan ettawah (PE). *Jurnal Biosain* 1(1):23-29.