

## PENGARUH KOMBINASI SUSU KACANG KEDELAI DAN PENGECER SITRAT KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI BALI

*(Effect of combination soy bean milk and citrate egg yolk liquid on the quality of bali cattle semen)*

**Maria E.E. Fernandez, Wilmientje M. Nalley, Franky M.S Telupere, Thomas M. Hine**

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Kelautan, dan Perikanan, Universitas Nusa Cendana  
Jln. Adisucipto, Penfui, Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia 850001

\*Correspondent author, email: [nalleywm@yahoo.co.id](mailto:nalleywm@yahoo.co.id)

### ABSTRAK

Salah satu bahan pengencer yang mengandung lipoprotein dan lesitin yang berfungsi untuk mempertahankan dan melindungi integritas membran plasma spermatozoa dari kejutan dingin adalah susu kacang kedelai. Tujuan penelitian ini dilakukan adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi susu kacang kedelai dan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair sapi bali. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen segar yang berasal dari satu ekor sapi bali jantan yang berumur 3 tahun. Semen diencerkan dengan pengencer sitrat kuning telur dengan kombinasi susu kacang kedelai yaitu P0: sitrat kuning telur (SKT) 100%; P1: SKT 75%+susu kacang kedelai (SKD) 25%; P2: SKT 50%+SKD 50%; P3: SKT 25%+SKD 75%; dan P4: SKD 100%. Semen yang telah diencerkan disimpan pada suhu 3-5oC. Parameter yang diteliti adalah motilitas, viabilitas, abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa P1 berbeda nyata ( $P<0,05$ ) dengan perlakuan lainnya, dengan motilitas  $42,40\pm 2,50\%$ , viabilitas  $52,15\pm 6,31\%$ , abnormalitas  $6,44\pm 0,84\%$ , dan daya tahan hidup  $6,00\pm 0,00$  hari. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa kombinasi susu kacang kedelai 25% dan 75% pengencer sitrat kuning telur merupakan perlakuan terbaik, dan spermatozoa dapat disimpan hingga hari ke enam.

**Kata-kata kunci:** sitrat, kuning telur, susu kacang kedelai, spermatozoa, sapi bali

### ABSTRACT

One of the diluent containing lipoproteins and lecithins that function in maintaining and protecting the integrity of the plasma membrane of spermatozoa from cold shock is soy milk. The purpose of this study was to determine the effect of the combination of soy bean milk and egg yolk citrate liquid on the quality of liquid semen of bali cattle. The material used in this study was fresh semen of 3 year old bali cattle. Semen was diluted with egg yolk citrate diluent with a combination of soy bean milk, namely T0: 100% citrate egg yolk (CEY); T1: CEY 75%+soy bean milk (SBM) 25%; T2: CEY 50%+SBM 50%; T3: CEY 25%+SBM 75%; and T4: 100% SBM. Liquid semen was stored at a temperature of 3-5oC. The parameter studied were motility, viability, abnormality and liveability of spermatozoa. The research data were analyzed using an analysis of variance (ANOVA) and followed by the multiple range test. The results showed that T1 significantly difference ( $P<0.05$ ) from other treatments, with motility of  $42.40\pm 2.50\%$ , viability  $52.15\pm 6.31\%$ , abnormality  $6.44\pm 0.84\%$ , and liveability  $6.00\pm 0.00$  days. From these result it could be concluded that the combination of 25% soy bean milk and 75% egg yolk citrate liquid was the best treatment, and spermatozoa can be stored until six days.

**Keywords:** citrate, egg yolk, soy bean milk, spermatozoa, bali cattle

### PENDAHULUAN

Salah satu faktor yang memengaruhi tingkat keberhasilan program inseminasi buatan (IB) adalah kualitas semen (Tamoës *et al.*, 2014). Semen yang berkualitas baik memiliki peluang yang lebih besar untuk terjadinya pembuahan sel telur oleh spermatozoa dan

selanjutnya sel telur akan berkembang menjadi embrio. Semen segar tidak bertahan lama dalam penyimpanan *in vitro* yang diakibatkan oleh adanya kematian spermatozoa dan berlangsung secara cepat. Salah satu penyebab kematian spermatozoa adalah adanya serangan radikal

bebas sebagai hasil dari proses transpor elektron di mitokondria terhadap membrane plasma spermatozoa (Hammerstedt, 1993).

Pengencer yang mengandung nutrisi, antioksidan, buffer, dan anti kejutan dingin merupakan pengencer yang mampu mempertahankan kualitas dan daya hidup spermatozoa selama penyimpanan. Sitrat kuning telur merupakan salah satu bahan pengencer yang umum digunakan dalam penyimpanan semen. Natrium sitrat berperan sebagai penyangga yang dapat mempertahankan kestabilan pH pengencer, dan kuning telur juga merupakan komponen penting dalam pengencer semen, karena kandungan nutrisi yang terdapat dalam kuning telur mampu melindungi akrosom spermatozoa selama penyimpanan (Amirat *et al.*, 2004). Kandungan yang terdapat dalam kuning telur diantaranya adalah fosfolipid kolestrol dan low density lipoprotein yang berperan penting dalam melindungi spermatozoa terhadap kejutan dingin selama proses pendinginan (Kulaksız *et al.*, 2010).

Selama preservasi spermatozoa akan mengalami proses metabolisme, menghasilkan zat peroksida lipid, dan apabila bereaksi dengan radikal bebas, dapat menyebabkan integritas dan

kehidupan sel terganggu sehingga mengakibatkan kematian spermatozoa. Radikal bebas juga dapat menyebabkan penurunan fungsi spermatozoa yaitu mengoksidasi membrane sel yang terdiri dari lipid, hal ini akan mempercepat kematian spermatozoa.

Susu kacang kedelai mengandung lipoprotein dan lesitin sehingga dapat digunakan sebagai salah satu bahan pengencer dan berfungsi dalam mempertahankan dan melindungi integritas membran plasma spermatozoa (Aboagla dan Terada, 2004; Bergeron dan Manjunath, 2006). Kandungan lesitin dalam susu kacang sebesar 1,488-3,08% lebih tinggi dibandingkan dengan kacang tanah yaitu 1,11%. Penggunaan susu kacang kedelai sebagai pengencer semen telah dilaporkan Tamoës *et al.* (2014) pada semen babi, Rezki *et al.* (2016) pada semen PO dan Immelda *et al.* (2019) pada semen domba sapudi.

Penelitian ini, mencoba berbagai kombinasi susu kacang kedelai dan pengencer sitrat kuning telur dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi bali yang disimpan pada suhu 3-5oC.

## METODE PENELITIAN

### Materi Penelitian

Semen yang ditampung berasal dari satu ekor sapi bali jantan yang berumur 3 tahun dalam kondisi sehat dan sudah dewasa kelamin. Ternak sapi tersebut dipelihara dalam kandang individu yang dilengkapi tempat makan dan minum. Pakan hijau diberikan 10% dari berat badan ternak serta pemberian konsentrat sebanyak 0,5%/ekor/hari dan air minum secara *ad libitum*.

### Metode penelitian

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan sehingga menghasilkan 25 unit percobaan. Perlakuan yang dimaksud terdiri dari: P0: Sitrat-kuning telur (SKT) 100%; P1: SKT 75% + SKD 25% ; P2: SKT 50% + SKD 50%; P3: SKT 25% + 75%; P4: SKD 100%.

### Penyiapan Bahan Pengencer

Penyiapan kuning telur : Bersihkan cangkang telur menggunakan kapas yang sudah dibasahi alkohol 70% agar steril, pecahkan kulit telur, pisahkan putih dari kuning telur.

Selanjutnya letakkan kuning telur di atas permukaan kertas saring buat gerakan berputar agar putih telur terserap habis oleh kertas saring. Kuning telur yang telah bersih dari putih telur disayat selaput vitelinnya dan kuning telur dimasukkan ke dalam gelas ukur.

Penyiapan larutan sitrat: Bahan yang digunakan terdiri dari natrium sitrat (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>) sebanyak 2,9g dan dilarutkan dengan 100mL aquabidest. Pengencer sitrat 80mL dan tambahkan 20mL kuning telur, dihomogenkan menggunakan stirer, dan tambahkan antibiotic penicilin 1000 IU/mL dan streptomycin 1g/mL yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Penyiapan pengencer susu kacang kedelai: Timbang susu kacang kedelai sebanyak 8g dilarutkan dalam 100mL aquabidest lalu disentrifus. Setelah disentrifus ambil 80mL dan tambahkan 20mL kuning telur, penicillin 1000 IU/mL, streptomycin 1g/mL lalu dihomogenkan menggunakan stirer.

Perlakuan merupakan kombinasi dari pengencer sitrat kuning telur (SKT) dan

pengencer susu kacang kedelai-kuning telur (SKD-KT) disajikan pada Tabel 1.

### Penampungan dan evaluasi semen

Semen yang digunakan ditampung pada pagi hari dengan periode dua kali penampungan per minggu. Penampungan semen sapi dilakukan menggunakan metode vagina buatan. Semen

yang diperoleh selanjutnya dievaluasi kualitas semen secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis meliputi pemeriksaan volume, warna, konsistensi, dan pH sedangkan secara mikroskopis yang meliputi gerakan spermatozoa (gerakan massa maupun individu), konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa.

Tabel 1. Komposisi pengencer perlakuan

Bahan Pengencer	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
SKT (mL)	100	75	50	25	0
SKD (mL)	0	25	50	75	100
Jumlah (mL)	100	100	100	100	100

### Pengenceran dan Penyimpanan Semen

Semen yang digunakan memiliki motilitas >70%, konsentrasi > 1000×10<sup>6</sup> dan abnormalitas <15%, diencerkan dengan pengencer perlakuan, selanjutnya disimpan pada suhu 3-5oC dan dilakukan evaluasi setiap 24 jam, hingga motilitas 40%.

### Variabel Penelitian

1). Motilitas spermatozoa (%), ditentukan melalui pengamatan spermatozoa di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x10. Penilaian terhadap persentase spermatozoa motil adalah spermatozoa yang bergerak progresif ditentukan secara subjektif pada 5 lapang

pandang yang berbeda. 2). Viabilitas spermatozoa (%), 3) Abnormalitas spermatozoa (%), dan 4). Daya tahan hidup spermatozoa (hari) dapat dilihat dari berapa lama kemampuan spermatozoa bertahan hidup selama penyimpanan.

### Analisis Data

Data yang diperoleh dihitung rata-rata dan standar deviasi dan analisis dengan analisis ragam dari rancangan acak lengkap dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Analisis menggunakan software SPSS 22 for windows.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Semen Segar Sapi Bali

Hasil evaluasi terhadap kualitas semen segar sapi bali menunjukkan kualitas semen cukup baik dan memenuhi syarat untuk digunakan. Semen yang dievaluasi diperoleh selama lima kali penampungan Tabel 2.

Nilai rerata volume semen segar yang diperoleh adalah 3,58±1,12mL dengan kisaran 2,5-5mL. Hasil ini sesuai dengan penelitian Prastowo *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa volume semen sapi bali berkisar antara 0,40-4,83 mL. Perbedaan jumlah semen per ejakulasi disebabkan oleh beberapa faktor yaitu umur, suhu lingkungan, bangsa, tingkatan makanan, frekuensi penampungan, ukuran testis dan tubuh ternak.

Warna semen yang diperoleh adalah krem. Menurut Kune *et al.* (2021) warna semen sapi yang normal yaitu putih susu atau krem, keputih-putihan dan keruh. Warna krem atau putih susu pada semen membuktikan bahwa konsentrasi spermatozoa sapi tinggi namun volume semen sapi relative rendah.

Konsistensi semen dari hasil penelitian ini tergolong dalam kategori sedang. Hasil ini sama dengan hasil penelitian Nabilla *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa pada sapi bali umur produktif dan non produktif yaitu konsistensi semen sedang. Roziqin (2015) menyatakan bahwa warna semen, konsistensi dan konsentrasi spermatozoa merupakan komponen yang saling berkaitan. Semen yang memiliki konsistensi kental dan warna semen krem atau putih susu

maka kualitas semen tersebut memiliki konsentrasi spermatozoa yang tinggi. Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor yang memengaruhi viabilitas spermatozoa. Dari

hasil penelitian derajat keasaman semen sapi bali adalah  $6,46 \pm 0,13$ . Hasil ini lebih tinggi dari laporan Prastowo *et al.* (2018) yang memperoleh pH semen sapi adalah 6,2.

Tabel 2. Karakteristik semen segar sapi bali

Karakteristik semen	Hasil Pengamatan
Makroskopis:	
Volume (mL)	$3,58 \pm 1,12$
Warna	Krem
Konsistensi	Sedang
pH	$6,46 \pm 0,13$
Mikroskopis:	
Gerakan Massa	++
Motilitas (%)	$76,50 \pm 2,85$
Konsentrasi ( x $10^6$ sel/mL)	$1076 \pm 94,49$
Viabilitas (%)	$86,32 \pm 2,35$
Abnormalitas (%)	$4,63 \pm 0,72$

Hasil penelitian terhadap gerakan massa semen segar sapi bali yang diperoleh ++. Hasil ini sama dengan laporan Anwar *et al.* (2014) dengan nilai gerakan massa ++, Kurnia *et al.* (2018) menyatakan bahwa gerakan massa pada sapi lokal lainnya diperoleh rata-rata sebesar 2,7 setara dengan (++/+++), yang didukung oleh kondisi ternak maupun lingkungan.

Konsentrasi spermatozoa yang diperoleh adalah  $1076 \pm 94,49$ /mL. Ismaya (2014) yang menjelaskan bahwa konsistensi sedang sampai kental atau warna krem maka konsentrasi spermatozoa berkisar 1.000-2.000 juta spermatozoa/mL. Hasil penelitian motilitas spermatozoa sapi bali yang diperoleh adalah  $76,50 \pm 2,85$ . Hasil ini lebih tinggi dari laporan Anwar *et al.* (2014) dengan nilai motilitas hanya sebesar  $62,50 \pm 5,00$  namun hasil penelitian ini masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan penelitian Feka *et al.* (2016) yang memperoleh motilitas spermatozoa sapi bali mencapai 89,00%. Viabilitas spermatozoa yang diperoleh adalah  $86,32 \pm 2,35$ , hasil penelitian ini lebih tinggi dari laporan Kune *et al.* (2021) yang melaporkan bahwa viabilitas spermatozoa sapi bali sebesar 84,69%.

Salah satu indikator dalam menentukan kualitas semen adalah abnormalitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa mencapai  $4,63 \pm 0,72$ . Kusumawati *et al.* (2016)

melaporkan bahwa abnormalitas spermatozoa tidak boleh melebihi 20%, sehingga semen yang digunakan dalam penelitian ini memiliki abnormalitas spermatozoa masih tergolong normal.

### Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas adalah pergerakan spermatozoa secara progresif atau pergerakan aktif maju. Kemampuan spermatozoa untuk bergerak progresif memiliki kolerasi positif pada tingkat fertilitas spermatozoa (Dongkot *et al.*, 2022). Rerata motilitas spermatozoa sapi bali hasil penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisis statistik terhadap motilitas pasca pengenceran menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P > 0,05$ ) antar perlakuan, namun setelah penyimpanan hari ke 1-6 menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antar perlakuan. Selama enam hari penyimpanan, motilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada perlakuan P1 yaitu  $42,40 \pm 2,50\%$  dan terendah terdapat pada P4 yaitu  $9,00 \pm 2,23\%$ .

Angka pada Tabel 2 membuktikan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka semakin turun motilitas dari masing-masing perlakuan. Hal ini disebabkan oleh berkurangnya sumber energy yang terdapat dalam pengencer. Penurunan zat nutrisi yang

berfungsi sebagai makanan bagi spermatozoa dan pengaruh toksik dari hasil metabolisme spermatozoa merupakan salah satu faktor yang menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa. Suplai energy berupa adenosine triphosphate

(ATP) proses metabolisme spermatozoa memberi dukungan yang besar bagi motilitas spermatozoa. Kejutan dingin dan peningkatan asam laktat juga merupakan faktor yang mempengaruhi penurunan motilitas.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa (%)

Hari	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	78,00±2,73 <sup>a</sup>	1,000
1	73,00±2,73 <sup>cd</sup>	73,80±1,64 <sup>d</sup>	69,00±4,18 <sup>bc</sup>	67,00±2,73 <sup>ab</sup>	63,00±4,47 <sup>a</sup>	0,000
2	63,00±2,73 <sup>cd</sup>	67,40±2,50 <sup>d</sup>	61,00±2,23 <sup>bc</sup>	56,00±5,47 <sup>b</sup>	45,00±7,07 <sup>a</sup>	0,000
3	56,00±5,47 <sup>c</sup>	63,00±2,73 <sup>d</sup>	52,50±5,59 <sup>c</sup>	45,00±5,00 <sup>b</sup>	33,00±4,47 <sup>a</sup>	0,000
4	47,00±6,70 <sup>c</sup>	58,00±2,73 <sup>d</sup>	42,00±4,47 <sup>c</sup>	35,00±5,00 <sup>b</sup>	23,00±4,47 <sup>a</sup>	0,000
5	36,00±5,47 <sup>c</sup>	50,00±3,53 <sup>d</sup>	36,00±5,47 <sup>c</sup>	24,00±6,51 <sup>b</sup>	16,00±4,18 <sup>a</sup>	0,000
6	28,00±2,73 <sup>c</sup>	42,40±2,50 <sup>d</sup>	25,50±4,47 <sup>c</sup>	18,00±4,47 <sup>b</sup>	9,00±2,23 <sup>a</sup>	0,000
7	18,50±6,02 <sup>c</sup>	36,60±2,30 <sup>d</sup>	16,00±5,47 <sup>bc</sup>	11,00±2,23 <sup>b</sup>	5,00±0,00 <sup>a</sup>	0,000

<sup>a,b,c,d</sup> superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Tamoes *et al.* (2014) melaporkan bahwa motilitas dan daya hidup spermatozoa, perubahan permeabilitas dan komponen lipid pada membran dapat disebabkan oleh adanya kejutan dingin terhadap sel spermatozoa selama penyimpanan. Kerusakan organel-organel sel disebabkan oleh asam laktat yang dapat mengganggu proses metabolisme dalam upaya memperoleh energi. Apabila proses metabolisme berkurang dapat mengakibatkan jumlah energy yang dihasilkan berkurang dan akan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa

Secara umum terjadi penurunan motilitas spermatozoa selama penyimpanan, yakni terendah terlihat pada perlakuan P1: 5,93% dan tertinggi terlihat pada perlakuan P4: 11,5% diikuti oleh P3: 10%; P2: 8,83%; dan P0: 8,33%. Perlakuan P4 menunjukkan adanya penurunan persentase motilitas yang sangat tinggi. Hal ini disebabkan karena kemungkinan level SKD sebagai suplementasi dalam pengencer terlalu tinggi sehingga mempengaruhi ruang gerak spermatozoa, sedangkan perlakuan P0 tidak mengandung SKD yang memungkinkan membran spermatozoa tidak terlindungi secara maksimal dalam mengurangi cold shock ketika penyimpanan pada suhu 3-5oC.

Rahayu *et al.* (2014) menyatakan bahwa ketika level SKD dinaikan akan memiliki efek negatif terhadap kualitas spermatozoa. Ketika level lesitin pada pengencer lebih tinggi dan ketika level SKD dinaikkan dapat mengakibatkan ruang gerak spermatozoa pada medium terbatas.

Salah satu parameter yang memberi pengaruh bagi kualitas spermatozoa adalah motilitas. Kombinasi sitrat kuning telur (SKT) dan susu kacang kedelai (SKD) 25% memperlihatkan bahwa selama enam hari penyimpanan terjadi perbedaan yang nyata dengan kombinasi SKD 50%, 75% dan 100% dalam mempertahankan motilitas spermatozoa. Hal ini menunjukkan perlakuan kombinasi SKT+SKD 25% memberikan pengaruh yang baik terhadap motilitas spermatozoa selama enam hari penyimpanan.

Semen yang berkualitas baik dan layak digunakan dalam program inseminasi buatan yaitu semen yang memiliki standar motilitas 40% yang terdapat pada setiap perlakuan yang diamati pada hari yang berbeda. Berdasarkan Tabel 3 jika dikaitkan dengan program inseminasi buatan (IB), maka semen yang mendapat perlakuan P0 dan P2 layak digunakan untuk IB pada penyimpanan hari keempat, perlakuan P3 pada hari ketiga, perlakuan P4 pada hari kedua dan perlakuan P1 pada hari keenam.

### Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Spermatozoa

Daya hidup atau viabilitas spermatozoa juga merupakan salah satu indikator dalam menilai layak dan tidaknya kualitas spermatozoa (Sukmawati, 2014). Untuk mengetahui persentase viabilitas dilakukan dengan pewarnaan eosin-negrosin. Nilai viabilitas spermatozoa dari hasil penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan terhadap viabilitas spermatozoa (%)

Hari ke	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	86,22±5,53 <sup>a</sup>	85,44±3,86 <sup>a</sup>	84,26±3,08 <sup>a</sup>	84,57±3,45 <sup>a</sup>	85,38±4,6 <sup>a</sup>	0,951
1	81,49±3,99 <sup>b</sup>	81,37±2,91 <sup>b</sup>	75,53±2,44 <sup>a</sup>	74,33±3,02 <sup>a</sup>	71,51±5,83 <sup>a</sup>	0,001
2	71,95±4,80 <sup>cd</sup>	77,57±4,35 <sup>d</sup>	68,32±2,90 <sup>bc</sup>	62,34±5,33 <sup>b</sup>	52,04±8,22 <sup>a</sup>	0,000
3	66,58±6,73 <sup>cd</sup>	70,93±5,40 <sup>d</sup>	59,58±3,77 <sup>c</sup>	51,73±6,57 <sup>b</sup>	39,01±5,20 <sup>a</sup>	0,000
4	56,38±6,57 <sup>c</sup>	64,83±6,18 <sup>d</sup>	49,82±5,11 <sup>c</sup>	42,05±5,87 <sup>b</sup>	28,67±5,18 <sup>a</sup>	0,000
5	46,53±6,35 <sup>c</sup>	58,49±6,16 <sup>d</sup>	42,75±5,82 <sup>c</sup>	29,80±7,15 <sup>b</sup>	21,00±3,04 <sup>a</sup>	0,000
6	36,28±3,96 <sup>c</sup>	52,15±6,31 <sup>d</sup>	33,31±5,36 <sup>c</sup>	23,48±5,75 <sup>b</sup>	15,59±2,01 <sup>a</sup>	0,000
7	25,20±7,74 <sup>c</sup>	45,88±6,16 <sup>d</sup>	24,98±6,89 <sup>c</sup>	16,86±3,47 <sup>a</sup>	10,28±1,23 <sup>a</sup>	0,000

<sup>a,b,c,d</sup> Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Data yang diperoleh dari hasil analisis terhadap viabilitas setelah pengenceran menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P > 0,05$ ) antar perlakuan, tetapi setelah penyimpanan selama 1-7 hari menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan ( $P < 0,05$ ). Semakin lama umur spermatozoa disimpan dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah spermatozoa hidup pada setiap perlakuan. Penurunan terjadi diduga akibat spermatozoa mati secara alami selama penyimpanan. Stres oksidasi yang terjadi pada spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin dapat memberi dampak negatif terhadap viabilitas spermatozoa.

Tabel 4 memperlihatkan bawah persentase viabilitas spermatozoa dengan penambahan 25% SKD pada perlakuan P1 lebih baik dibandingkan dengan penambahan 50%, 75% dan 100% SKD pada perlakuan P2, P3 dan P4 serta pada perlakuan P0 tanpa SKD. Jumlah viabilitas spermatozoa pada perlakuan P1 mampu bertahan sampai hari ke enam dengan nilai 52,15±6,3%. Hal ini terjadi karena spermatozoa dalam pengencer SKT dan SKD dapat dilindungi dari kerusakan akibat radikal bebas sehingga spermatozoa memiliki daya hidup lama. Kandungan lipoprotein dan phospholipid yang terdapat dalam SKD terbukti mampu melindungi membran plasma spermatozoa sehingga kombinasi antara SKT dan SKD mampu memberikan persentase hidup yang tinggi.

Viabilitas spermatozoa mempunyai keterkaitan dengan kemampuan fertilitas spermatozoa, sehingga dapat disimpulkan bawah ketika viabilitas spermatozoa tinggi maka kemampuan untuk membuahi sel telur atau daya fertilitas juga tinggi (Blegur *et al.*, 2020). Viabilitas spermatozoa sangat dipengaruhi oleh nutrisi yang dibutuhkan oleh spermatozoa

selama penyimpanan. Viabilitas spermatozoa akan menurun ketika ketersediaan nutrisi sebagai sumber energi dalam pengencer berkurang (Hidayaturrahmah, 2018).

Terlihat penurunan viabilitas terendah diamati pada perlakuan P1: 6,59% dan tertinggi pada perlakuan P4: 12,43% diikuti P3: 11,28%; P0: 10,23% dan P2: 9,88%. Persentase hidup spermatozoa dengan konsentrasi susu kacang kedelai (SKD) 25% memiliki daya hidup lebih lama dibandingkan dengan konsentasi SKD 50%, 75% dan 100%. Hal ini terjadi karena daya hidup spermatozoa dipengaruhi oleh level SKD yang berikan. Fenomena ini terjadi ketika spermatozoa menyesuaikan diri dengan pengencer dalam suhu penyimpanan untuk metabolisme dengan baik, tetapi ketika semakin lama waktu penyimpanan maka ketersediaan nutrisi sebagai sumber energi bagi spermatozoa akan menurun. Penurunan viabilitas tertinggi terdapat pada P4, ini membuktikan bahwa kecilnya persentase hidup spermatozoa diakibatkan oleh tingginya level SKD yang diberikan, karena konsentrasi SKD yang tinggi dapat mempengaruhi ruang gerak spermatozoa.

Susilawati (2013) menyatakan bahwa spermatozoa yang mati, permeabilitas membran selnya meningkat, terutama pada bagian post nuclear caps sehingga sel spermatozoa yang mati akan menyerap warna eosin-negrosin, sel spermatozoa yang masih hidup mempunyai kondisi membran yang baik sehingga zat warna tidak dapat menembus membran, yang menyebabkan sel spermatozoa tetap berwarna putih/bening (tidak menyerap warna eosin-negrosin). Hal ini terjadi karena membran plasma secara fisik dan fungsional masih utuh. Eosin yang berikatan dengan natrium sitrat akan masuk ke dalam sel, tetapi karena membran plasma sel masih berfungsi, maka senyawa natrium sitrat dan eosin ini akan segera

dikeluarkan kembali dari dalam sel oleh mekanisme kerja pompa sodium. Pada spermatozoa yang mati, plasma termasuk pompa sodium tidak berfungsi. Hal ini yang membuat senyawa natrium sitrat dan eosin masuk ke dalam sel dan tidak dapat dipompa keluar sehingga mengakibatkan spermatozoa yang mati memiliki kepala yang berwarna merah.

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa**

Abnormalitas merupakan kelainan bentuk yang dialami oleh spermatozoa. Bentuk spermatozoa yang normal terdiri dari kepala, leher bagian tengah dan ekor yang sesuai dengan bentuk morfologinya (Leyn *et al.*, 2021). Abnormalitas merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karena spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur. Nilai viabilitas spermatozoa dari hasil penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh perlakuan terhadap abnormalitas spermatozoa (%)

Hari	Perlakuan					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	4,53±1,16 <sup>a</sup>	4,48±1,22 <sup>a</sup>	4,79±0,99 <sup>a</sup>	4,73±0,98 <sup>a</sup>	4,85±0,93 <sup>a</sup>	0,975
1	4,83±1,22 <sup>a</sup>	4,57±1,33 <sup>a</sup>	4,88±1,14 <sup>a</sup>	5,00±1,38 <sup>a</sup>	5,22±1,15 <sup>a</sup>	0,947
2	5,27±1,11 <sup>a</sup>	4,88±1,40 <sup>a</sup>	5,15±1,13 <sup>a</sup>	5,36±1,03 <sup>a</sup>	5,67±0,99 <sup>a</sup>	0,858
3	5,57±1,01 <sup>a</sup>	5,01±1,51 <sup>a</sup>	5,21±1,30 <sup>a</sup>	5,45±1,26 <sup>a</sup>	5,97±1,16 <sup>a</sup>	0,796
4	5,78±1,17 <sup>a</sup>	5,33±1,29 <sup>a</sup>	5,66±1,24 <sup>a</sup>	6,04±0,85 <sup>a</sup>	6,13±1,29 <sup>a</sup>	0,831
5	5,78±1,59 <sup>a</sup>	5,90±1,04 <sup>a</sup>	6,18±1,23 <sup>a</sup>	5,93±1,35 <sup>a</sup>	6,85±1,04 <sup>a</sup>	0,692
6	6,16±1,73 <sup>a</sup>	6,44±0,84 <sup>a</sup>	6,12±1,67 <sup>a</sup>	6,44±1,46 <sup>a</sup>	6,80±1,28 <sup>a</sup>	0,948
7	6,41±1,95 <sup>a</sup>	6,31±1,14 <sup>a</sup>	6,47±1,64 <sup>a</sup>	6,91±1,34 <sup>a</sup>	7,08±1,48 <sup>a</sup>	0,912

<sup>a,b,c,d</sup> superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Dari hasil analisis ini deterhadap variabel abnormalitas menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05) sejak hari ke-0 sampai hari ke-6 penyimpanan. Perbedaan ini disebabkan oleh kandungan lesitin yang terdapat dalam SKD yang berfungsi sebagai anti kejut dingin yang dapat mempertahankan bentuk normal spermatozoa. Lesitin berperan sebagai anti cold shock biasanya terdapat pada kuning telur dan kacang kedelai yaitu lesitin hewani dan lesitin nabati. Barek *et al.* (2020) menyatakan kejutan suhu dingin dapat berkurang jika pengencer yang digunakan mengandung lipoprotein dan lesitin. Kuning telur merupakan salah satu bahan pengencer yang mengandung lipoprotein dan lesitin yang berperan melindungi spermatozoa dari kejut dingin dan kerusakan pada saat pengenceran dan pendinginan.

Dari hasil analisis memperlihatkan bahwa dengan adanya kombinasi susu kacang kedelai dan pengencer SKT tidak memberikan dampak negatif terhadap abnormalitas sapi bali. Angka abnormalitas spermatozoa hasil penelitian ini masih tergolong normal. Standar Nasional Indonesia (2017) menetapkan kualitas semen yang layak digunakan dalam inseminasi buatan adalah kurang dari 20%. Persentase abnormalitas spermatozoa hasil penelitian ini antara 4,48-7,08% sedikit lebih tinggi dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Meo *et al.*

(2022) yaitu 7,06%. Rezki *et al.* (2016) menyatakan bahwa membran plasma pada spermatozoa adalah sebagai pelindung. Ketika sel mengalami kerusakan maka hal tersebut akan mengganggu proses metabolisme (Bunga *et al.*, 2014). Derajat keasaman semen, tekanan osmotik, dan stress dingin dapat menyebabkan kenaikan angka abnormalitas (Rokana *et al.*, 2022). Pada penelitian abnormalitas yang dijumpai adalah abnormalitas sekunder, berupa kepala dan ekor terpisah dan ekor melingkar. Menurut Suyadi dan Rachmawati (2012) persentase abnormalitas spermatozoa dapat terjadi pada saat pembuatan preparat dan juga disebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan suatu proses dimana terjadi radikal bebas dan adanya hasil reaksi asam lemak tak jenuh. Penyebab terjadinya kerusakan membran plasma adalah proksidasi lipid. Nilai abnormalitas spermatozoa dapat disebabkan oleh lamanya waktu penyimpanan karena selama proses metabolisme berlangsung terjadi ketidak seimbangan tekanan osmotik dan pengaruh suhu dingin selama penyimpanan.

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap Daya Tahan Hidup (DTH) Spermatozoa**

Daya tahan hidup spermatozoa yang di maksud adalah kemampuan gerak spermatozoa untuk tetap hidup dalam kurun waktu tertentu

setelah disimpan dalam suhu tertentu (Hine *et al.*, 2014). Daya tahan hidup spermatozoa sapi bali yang dipreservasi dalam pengencer kombinasi SKT+SKD pada perlakuan P1

dengan nilai motilitas berada pada  $42,40 \pm 2,50\%$  mampu mempertahankan DTH selama enam hari penyimpanan Tabel 6.

Tabel 6. Pengaruh perlakuan terhadap daya tahan hidup spermatozoa

Perlakuan	Daya tahan hidup (Hari)
P0	4,60±0,54 <sup>c</sup>
P1	6,00±0,00 <sup>d</sup>
P2	4,20±0,44 <sup>c</sup>
P3	3,40±0,54 <sup>b</sup>
P4	2,20±0,44 <sup>a</sup>
Nilai P	0,000

<sup>a,b,c,d</sup> superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Kombinasi antara susu kacang kedelai dan sitrat kuning telur terbukti mampu melindungi spermatozoa dari cold shock. Hasil ini sependapat dengan Salisbury *et al.* (1985) yang menyatakan bahwa untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa perlu ditambahkan bahan pengencer kedalam semen sebagai nutrisi agar spermatozoa mampu mempertahankan DTH dalam jangka waktu yang lebih lama.

Wiyanti *et al.* (2013) dalam penelitiannya menyatakan bahwa kualitas semen yang baik untuk digunakan dalam program IB yaitu kualitas semen yang memiliki 40% DTH dengan lama penyimpanan enam hari.

Kehabisan energi yang terjadi selama penyimpanan akan memengaruhi glikolisis untuk menghasilkan energi. Dalam kondisi tanpa oksigen, suplai energi bagi spermatozoa terutama disumbangkan melalui jalur glikolisis (Migliaccio *et al.*, 2018). Tabel 6 di atas menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata terhadap DTH spermatozoa. Menurut Rhoyan *et al.* (2014) tingginya DTH spermatozoa disebabkan oleh rendahnya tekanan osmotik dalam pengencer dan penyediaan suplemen nutrisi yang cukup dalam pengencer sehingga spermatozoa dapat bertahan hidup.

## SIMPULAN

Kesimpulan hasil penelitian ini adalah kombinasi susu kacang kedelai 25% dan 75% pengencer Sitrat-KT merupakan perlakuan

terbaik, dan dapat mempertahankan kualitas semen hingga enam hari penyimpanan.

## SARAN

Dari hasil penelitian disarankan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji keberhasilan dalam pelaksanaan IB

menggunakan kombinasi 25% SKD dan 75% SKT.

## DAFTAR PUSTAKA

Aboagla EME, Terada T. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*, 62(6), 1160-1172.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.013>

Gérard O, Courtens JL, dan Anton M. 2004. Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with Optidyl®, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology*, 61(5), 895-907. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00259-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00259-0)

Amirat L, Tainturier D, Jeanneau, L, Thorin C,

Anwar P, Ondho Y, Samsudewa D. 2014.



- Pengaruh Pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Peternakan*, 11(2), 48-58. <http://dx.doi.org/10.24014/jupet.v11i2.2719>
- Barek ME, Hine TM, Nalley WM, Belli HLL. 2020. Pengaruh penambahan sari wortel dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas spermatozoa kambing bligon. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), 109-117. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v7i2.3152>
- Bergeron A, Manjunath P. 2006. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Molecular Reproduction and Development*, 73(10), 1338-1344. <https://doi.org/10.1002/mrd.20565>
- Blegur J, Nalley WM, Hine TM. 2020. Pengaruh penambahan virgin coconut oil dalam pengencer Tris kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi bali selama preservasi *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), 130-138. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v7i2.2997>
- Bunga VD, Susilawati T, Wahjuningsih S. 2014. Kualitas semen Sapi Limousin pada pengencer yang berbeda selama pendinginan. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 15(1), 13-20.
- Dongkot S, Marawali A, Hine TM, Nalley WM. 2022. Kualitas semen beku babi duroc dalam pengencer tris modifikasi dengan waktu ekuilibrasi yang berbeda *Jurnal Nukleus Peternakan*, 9(1), 72-84. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v9i1.5491>
- Feka WV, Dethan AA, Beyleto VY. 2016. Pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas dan pH semen babi landrace yang diencerkan menggunakan bahan pengencer sitrat kuning telur. *JAS*, 1(3), 34-35. <https://doi.org/10.32938/ja.v1i03.253>
- Hammerstedt RH. 1993. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation: a review of the effect on design of storage preservation systems. *Reproduction, Fertility and Development*, 5(6), 675-690. <https://doi.org/10.1071/RD9930675>
- Hidayaturrahmah H. 2018. Waktu motilitas dan viabilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio L*) Pada Beberapa Konsentrasi Larutan Fruktosa. *BIOSCIENTIAE*, 4(1). <https://doi.org/10.20527/b.v4i1.158>
- Immelda KH, Susilowati S, 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. <https://doi.org/10.20473/ovz.v8i1.2019.36-42>
- Kulaksız R, Çebi Ç, Akçay E, dan Daşkın A. 2010. The protective effect of egg yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka ram semen. *Small Ruminant Research*, 88(1), 12-15. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.11.014>
- Kune P, Uly K, Nalley WM. 2021. Pengaruh penambahan filtrat kelopak bunga rosella (*hibiscus sabdariffa linn*) dalam pengencer tris-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi bali. *Jurnal Peternakan Lahan Kering*, 3(1), 1309-1323.
- Kurnia A, Soeparna RIA, Hidayat R. 2018. Fertilitas semen beku dalam Tris kuning telur dan skim yang diberi omega-3 pada sapi simmental dengan ransum berlimbuan seng dan selenium minimal. *Jurnal Veteriner* 19(2), 251-262. DOI: 10.19087/jveteriner.2018.19.2.262
- Kusumawati ED, Krisnaningsih ATN, Romadlon RR. 2016. Kualitas spermatozoa semen beku sapi Simental dengan suhu dan lama thawing yang berbeda. *Indonesian Journal of Animal Science*, 26(3), 38-41.

- <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jiip.2016.02.6.03.06>
- Leyn MFT, Belli HLL, Nalley WM, Kune P, Hine TM. 2021. Kualitas spermatozoa kambing bligon dalam pengencer tris-kuning telur dengan penambahan berbagai level ekstrak kulit buah naga *Jurnal Nukleus Peternakan*, 8(1), 23-32. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v8i1.4230>
- 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.
- Meo MY, Telnoni SP, Dilak HI. 2022. Kualitas spermatozoa sapi angus (*Bos Taurus*) dalam pengencer tris kuning telur dengan substitusi ekstrak sari buah tomat. *Flobamora Biological Journal*, 1(1), 10-16. <https://ejournal.unisap.ac.id/index.php/biologicalJournal/article/view/167>
- Migliaccio M, Ricci G, Suglia A, Manfredola F, Mackie K, Fasano S, Pierantoni R, Chioccarelli T, Cobellis G. 2018. Analysis of endocannabinoid system in rat testis during the first spermatogenic wave. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 269. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00269>
- Nabilla A, Arifiantini RI, Purwantara B. 2018. Kualitas semen segar sapi bali umur produktif dan non-produktif serta penentuan konsentrasi krioprotektan dalam pengencer tris kuning telur. *Jurnal Veteriner*, 19(2), 242-250. DOI: 10.19087/jveteriner.2018.19.2.242
- Standar Nasional Indonesia. 2017. *Semen Beku-Bagian 1: Sapi*. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta, ID.
- Prastowo S, Dharmawan P, Nugroho T, Bachtar A, Pramono A. 2018. Kualitas semen segar sapi Bali (*Bos javanicus*) pada kelompok umur yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 18(1), 1-7. <https://doi.org/10.24198/jit.v18i1.17684>
- Rahayu W, Agung Pramana WM, Ciptadi G. 2014. Kualitas semen segar kambing boer pada temperatur penyimpanan 4°C dengan menggunakan pengencer sitrat dan suplementasi susu kedelai bubuk. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 2(1), 55-60.
- Rezki ZM, Sansudewa D, Ondo YS. 2016. Pengaruh pengencer kombinasi sari kedelai dan tris terhadap kualitas mikroskopis spermatozoa pejantan sapi PO Kebumen. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2), 67-74. <https://doi.org/10.31186/jspi.id.11.2.67-74>
- Rhoyan YH, Lestari TD, Setiawan R. 2014. Kualitas semen cair dingin domba garut pada tiga jenis larutan pengencer. *Jurnal Ilmu Ternak*, 14(1), 63-67. <https://doi.org/10.24198/jit.v14i1.5150>
- Rokana E, Srigati S, Lisnanti EF, Samudi S. 2022. Pengaruh pemberian tepung daun kelor (*Moringa oleifera Lamm*) dan lama penyimpanan pada suhu dingin 4-5°C terhadap kualitas semen cair (*Liquid Semen*) kambing kacang. *Jurnal Peternakan Indonesia* 24(1), 43-54. <https://doi.org/10.25077/jpi.24.1.43-54.2022>
- Roziqin K. 2015. Kualitas semen kambing peranakan etawah dalam pengencer andromed® dengan penambahan ekstrak bawang merah (*Allium cepa L*) setelah pembekuan. *Skripsi Universitas Brawijaya*. <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/137638>
- Salisbury BG, Falcone DJ, Minick CR. 1985. Insoluble low-density lipoprotein-proteoglycan complexes enhance cholesteryl ester accumulation in macrophages. *The American Journal of Pathology*, 120(1), 6-11
- Sukmawati E, Arifiantini RI, Purwantara B. 2014. Daya tahan spermatozoa terhadap proses pembekuan pada berbagai jenis sapi pejantan unggul. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 19 (3): 168-175
- Susilawati T. 2013. *Pedoman inseminasi Buatan pada Ternak*. Universitas Brawijaya

- Press.
- Suyadi A, Rachmawati IN. 2012. Pengaruh  $\alpha$ -tocopherol yang berbeda dalam pengencer dasar tris aminomethane kuning telur terhadap kualitas semen kambing boer yang disimpan pada suhu 5oC. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 22(3), 1-8.
- Tamoes JA, Nalley WM, dan Hine TM. 2014. Fertilitas spermatozoa babi landrace dalam pengencer modifikasi zorlesco dengan susu kacang kedelai. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 12(1), 20-30. <https://doi.org/10.20961/sainspet.v12i1.4772>
- Wiyanti DC, Isnaini N, Trisunuwati P. 2013. Pengaruh lama simpan semen dalam pengencer NaCl fisiologis pada suhu kamar terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung (*Gallus domesticus*). *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 7(1): 53-55. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v7i1.566>