

**Terakreditasi**Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan, Kemristekdikti  
Keputusan No: 21/E/KPT/2018, Tanggal 9 Juli 2018<http://ojs.uho.ac.id/index.php/peternakan-tropis>**Kualitas Semen dengan Berbagai Formulasi Pengencer Dasar Air Kelapa Hijau Selama Simpan Dingin pada Sapi Madura****Aulia Puspita Anugra Yekti<sup>1</sup>, Jois Harsa<sup>2</sup>, Muchamad Luthfi<sup>2</sup>, Muhammad Dikman<sup>2</sup>, Asri Nurul Huda<sup>1</sup>, Kuswati<sup>1</sup>, Trinil Susilawati<sup>1\*</sup>**<sup>1</sup>Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Kota Malang, Jawa Timur 65145<sup>2</sup>Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan  
Jl. Pahlawan 2, Grati, Pasuruan, Jawa Timur 67184\*Email Korespondensi: [trinil\\_susilawati@yahoo.com](mailto:trinil_susilawati@yahoo.com)*(Diterima: 25-8-2018; disetujui 20-9-2018)***ABSTRAK**

Inseminasi Buatan dengan menggunakan semen cair digunakan untuk daerah yang sulit nitrogen cair dan mempunyai kualitas yang lebih baik dari pada semen beku. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas berbagai bahan pengencer dasar air kelapa penyimpanan dingin 2-5°C. Penelitian ini dilaksanakan di Loka Penelitian Sapi Potong Grati, Pasuruan. Semen yang digunakan berasal dari sapi madura sebanyak dua ekor, berumur 5 dan 3 tahun dan berat badan yaitu 397 kg dan 360,5 kg. Sapi madura ditampung seminggu 2 kali dengan motilitas > 70% , sedangkan air kelapa yang digunakan adalah air kelapa hijau yang masih muda. Pengenceran semen cair dibagi menjadi 4 yaitu P0 (CEP-3 + 20% kuning telur) sebagai kontrol, P1 (air kelapa hijau +20% kuning telur), P2 (P1 + 0,4% putih telur + 1% fruktosa) dan P3 (P1 + 0,4% putih telur kuning telur +2% fruktosa). Data dianalisis menggunakan uji Pearson's Chi Square dan Uji Deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan motilitas spermatozoa sesuai standar SNI yaitu motilitas > 40% pada pengencer CEP-3 dapat disimpan selama hari ke-8 (40,50±6,43%) sedangkan pada pengencer dasar air kelapa hijau pada P1, P2 dan P3 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (P>0,05) selama disimpan 6 hari yaitu 40,50±10,12%, 38,00±4,22%, 40,00±8,50%. Abnormalitas dari semua perlakuan menunjukan nilai <20%. Viabilitas didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan P0(89,58±2,16%) kemudian P1(89,39±3,79%), P2(88,62±4,59%) dan P3(87,93±4,41%).

**Kata kunci:** CEP-3, semen cair, sapi madura, simpan dingin, air kelapa hijau**ABSTRACT**

Artificial Insemination using liquid semen is performed for areas that where liquid nitrogen is difficult to find and having better quality than frozen semen. Purpose of this research was to investigate the quality on various coconut water base diluents on liquid semen of madura bull during cold storage of 2-5°C. Research was conducted at Laboratory of Reproduction of Grati Beef Cattle Research Station, Pasuruan. Semen that is used comes from two madura bulls aged 5 and 3 years with body weight is 397 kg and 360.5 kg. The semen was collected twice a week with motility > 70%, and the coconut water used is unripe green coconut water. The research treatments were P0 (CEP-3 + 20% egg yolk) as control, P1 (unripe green coconut water + 20% egg yolk), P2 (P1+ 1% fructose + 0.4% egg white) and P3 (P1+ 0.4% egg white + 2% fructose). Data were analyzed using Pearson's Chi Square test and Descriptive Test. The results showed that the motility of spermatozoa was within Indonesian National Standard (SNI) with more than 40% motility in the CEP-3 diluent and it can be stored until the 8th day (40.50 ± 6.43%). The basic diluents of green coconut water at P1, P2 and P3 was not significantly affected (P> 0.05) until 6 days storing with the motility number average are 40.50 ± 10.12%, 38.00 ± 4.22%, 40, 00 ± 8.50%. The abnormality of all treatments was under 20%. The highest viability was showed by treatment P2 (89.58±2.16%), followed by P4 (89.39 ± 3.79%), P3 (88.62 ± 4.59%) and the lowest was P4 (87.93 ± 4.41%).

**Keywords:** CEP-3, liquid semen, madura bull, cool storage, green coconut water

## PENDAHULUAN

Sapi madura merupakan salah satu plasma nutfah asli Indonesia yang memiliki produktivitas cukup baik. Peningkatan produktivitas sapi madura dapat dipercepat dengan penerapan teknologi reproduksi yaitu dengan inseminasi buatan (IB). IB merupakan salah satu teknologi yang tepat untuk diterapkan dipeternak yang keterbatasan pejantan unggul sehingga dapat dimanfaatkan secara maksimal (Rizal, 2009). Permasalahan penyimpanan semen beku yaitu harga nitrogen cair yang mahal dan mengalami penurunan fertilitas selama proses pembekuan dan proses thawing yang kurang tepat (Susilawati, 2016a; Salim et al., 2012). IB bisa diaplikasikan menggunakan semen beku dan semen cair. Aplikasi IB menggunakan semen cair dibutuhkan bahan pengencer yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan dingin (Audia et al., 2017). Hasil penelitian Saefudin et al. (2018) nilai *conseptin rate* hasil inseminasi buatan menggunakan semen cair dengan pengencer tris aminomethan kuning telur adalah 62,96% lebih baik dari pada menggunakan semen beku (59,25%) Akan tetapi dengan menggunakan pengencer CEP-3 hasilnya lebih rendah 51,85% dibandingkan CR pada IB menggunakan semen beku yaitu 62,96%.

Bahan pengencer yang masih dalam pengembangan yaitu *Cauda Epididymal Plasma 3* (CEP-3) merupakan pengembangan dari pengencer CEP-2 yaitu menggantikan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan putih telur. Pengencer CEP-2 memiliki komposisi kimia seperti NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, fruktosa, sorbitol, *bovine serum albumin* (BSA), tris, gentamisin, penisilin, streptomisin dan asam sitrat (Ducha et al., 2013 dan Verberckmoes et al., 2004). Sesuai hasil penelitian Ratnawati et al. (2018) pengencer CEP-2 mendukung motilitas spermatozoa sehingga tahan disimpan dingin hingga hari kelima.

Bahan menggunakan air kelapa hijau muda sebagai pengencer lokal, diharapkan mampu meminimalisir kerusakan spermatozoa selama simpan dingin, tidak memerlukan nitrogen cair, dan dapat disimpan dalam suhu dingin. Menurut Salim et al. (2018), bahan pengencer yang digunakan harus murah dan tersedia di berbagai daerah. Kandungan yang terkandung di dalam air kelapa muda yaitu air 94,180 g/100g, protein 0,120 g/100g, lipid 0,073 g/100g, pH 4,7 dan mengandung beberapa ion

yaitu Fe, P, Na, Zn 0,07, Ca, Cu, Mn serta di dalam air kelapa mengandung asam amino yaitu alanin, lisin, arginin, metionin, aspartat fenilalanin, glutamat, prolin, glisin, serin, histidin, treonin, isoleusin, valin dan leusin (Yong et al., 2009). Kurniawan et al. (2013) menjelaskan bahwa karbohidrat dalam air kelapa berupa glukosa dan fruktosa dapat dijadikan sumber energi bagi spermatozoa dan diharapkan mampu mempertahankan kehidupan spermatozoa. Pengenceran semen cair dengan air kelapa hijau muda pada kambing terbukti dapat mempertahankan motilitas spermatozoa selama dua hari dengan motilitas 48,33±20,17% (Audia et al., 2017). Berdasarkan uraian di atas, perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai kualitas semen cair pada sapi madura dengan berbagai formulasi bahan pengencer dasar air kelapa hijau muda selama pendinginan 2-5°C.

## MATERI DAN METODE

### Materi

Materi penelitian yaitu semen dari dua ekor sapi madura yang ada di Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan. Semen yang digunakan berasal dari sapi madura sebanyak dua ekor, berumur 5 tahun dan 3 tahun dan berat badan yaitu 397 kg dan 360,5 kg. Penampungan semen sapi madura dilakukan dua kali dalam seminggu dengan motilitas lebih dari 70% menggunakan vagina buatan.

Persyaratan semen yaitu semen mempunyai motilitas individu ≥70%, motilitas massa 2+ dan abnormalitas <20% (Susilawati, 2013; Ax et al., 2008). Bahan untuk menggantikan BSA yaitu menggunakan putih telur sebanyak 0,4% yaitu bagian putih telur yang encer (Solikah et al., 2016 dan Susilawati et al., 2016<sup>b</sup>). Kuning telur yang digunakan adalah kuning telur segar berasal dari ayam ras petelur berumur kurang dari 3 hari. Air kelapa hijau yang digunakan yaitu kelapa yang muda yang berumur 5-8 bulan yaitu sudah terdapat air dan daging kelapa (*karnel*) yang belum keras (Farapati et al., 2014).

### Metode

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental laboratorium dengan 4 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan yang diuji coba yaitu P0 (CEP-3+20% kuning telur), P1 (air kelapa muda hijau+20% kuning telur), P2 (P1+0,4% putih telur+1%fruktosa), dan

P3 (P1+0,4% putih telur+2%fruktosa). Variabel penelitian yang diamati yaitu persentase motilitas individu, persentase viabilitas, persentase abnormalitas, konsentrasi (jt/ml) dan total spermatozoa motil (jt/ml). Data dianalisis dengan uji statistik *person's chi square* pada hari yang terdekat dengan motilitas 40% dan 40 jt/ml serta uji deskriptif.

### Pembuatan CEP-3

Tahap pembuatan pengencer CEP-3 adalah penyiapan bahan berupa fruktosa 55,0 mmol/l; Sorbitol 1,0 mmol/l; asam sitrat 42,6; NaCl 15 mmol/l; KCl 7,0 mmol/l; CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O) 23,9 mmol/l; MgCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> 3,0 mmol/l; NaHCO<sub>3</sub> 11,9 mmol/l; NaH<sub>2</sub>PO 48,0 mmol/l; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20,0 mmol/l; Tris 33,7 mmol/l; gentamicin 0,05 g/l; pH 6,6; penisilin 1000 IU; streptomisin 1 g; putih telur 4 ml/l; Osm 250-350 mOsm. Bahan-bahan tersebut tanpa ditambahkan BSA dimasukkan ke dalam erlenmeyer kapasitas 1 liter dan ditambahkan *diiozine water* sebanyak 1 liter kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai merata (Susilawati et al., 2016<sup>b</sup>). pH diatur hingga memiliki pH 6-7 dan osmolaritas 250-350 mOsm (Ducha et al., 2013). Media kemudian disaring menggunakan membran milipor dengan ukuran (*pore*) 0,22 µm. Putih telur yang encer dihisap menggunakan pipet sebanyak 0,4% atau 4 ml/l. Pengambilan putih telur dilakukan saat akan digunakan (Sholikah et al., 2016; Susilawati et al., 2016<sup>b</sup>). Media kemudian ditambah dengan 20% kuning telur dan dilakukan sentrifugasi pada 1500 rpm sebanyak dua kali selama 30 menit kemudian diambil supernatan.

### Pembuatan Pengencer Air Kelapa Hijau Muda

Tahap pembuatan pengencer air kelapa hijau muda yaitu air kelapa hijau muda diinaktifasi pada suhu 56°C selama 20 menit dan dilakukan penyaringan satu kali dengan kertas saring halus untuk memisahkan pertikel kasar serta dua kali dengan kertas saring whattman. Air kelapa hijau muda sebanyak 80 ml dimasukkan kedalam gelas ukur dan tambahkan 0,1 g penisilin; 0,1 g streptomisin; 0,1 g NaCHO<sub>3</sub>; 1% fruktosa (P2); 2% fruktosa (P3); 0,4% putih telur; dan 20% kuning telur. Bahan pengencer dihomogenkan selama 10-15 menit dan disentrifugasi dua kali pada 1500 rpm selama 30 menit serta diambil supernatan.

## HASIL PENELITIAN

Uji kualitas semen dilakukan setelah penampungan atau sebelum dilakukan proses pengenceran. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume (ml), bau, warna, konsistensi dan pH. Pemeriksaan mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu (%), viabilitas (%), abnormalitas (%) dan konsentrasi (jt/ml). Rataan kualitas semen sapi madura dapat dilihat pada Tabel 1.

Warna semen sapi madura yang didapatkan yaitu putih susu dengan bau khas semen yang menunjukkan bahwa semen tersebut dalam kondisi normal. Volume semen rata-rata selama penampungan adalah 4,75±0,38 ml. Volume semen sapi bervariasi yaitu 5 atau 5 – 8 ml per ejakulasi (Susilawati, 2013; Hopkins et al., 2003; Garner et al., 2008). Rata-rata pH semen sapi madura selama penampungan yaitu 6,60±0,12. Nilai pH normal semen sapi yaitu 6,4-7,8 (Garner et al., 2008).

Konsistensi semen yang didapatkan yaitu sedang. Susilawati (2013) menyatakan bahwa konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa, apabila konsistensi sedang maka konsentrasi spermatozoa yaitu 1000x10<sup>6</sup>-1500x10<sup>6</sup>/ml. Hasil pemeriksaan didapatkan motilitas massa 2+, motilitas individu 70±0,00%, viabilitas 90,60±2,86%, abnormalitas 2,13±0,86% dan konsentrasi sebesar 1063,33±69,44 jt/ml. Susilawati (2013) menyatakan bahwa semen yang layak untuk diencerkan memiliki spermatozoa motil tidak kurang dari 65-70% dan abnormalitas <20%.

### Persentase Motilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan salah satu indikator yang mempengaruhi daya fertilitas spermatozoa untuk membuahi sel telur. Persentase spermatozoa diamati setiap 24 jam sekali dimulai pada hari pertama penyimpanan sampai hari ke-8 pada suhu 2-5°C sampai persentase motilitas sebesar 0%. Rataan persentase motilitas spermatozoa ditampilkan pada Tabel 2.

Rataan persentase motilitas spermatozoa selama penelitian menunjukkan bahwa pengenceran P0 sebagai kontrol dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai 8 hari selama simpan dingin dengan motilitas 40,50±6,43%. Perlakuan air kelapa mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-5 yaitu pada perlakuan P2 dengan

Tabel 1. Rataan kualitas semen sapi madura

Pengamatan	Rata-Rata±SD
<b>Uji Makroskopis</b>	
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Sedang
Bau	Khas Semen
Volume perejakulasi (ml)	4,75±0,42
pH	6,60±0,13
<b>Uji Makroskopis</b>	
Motilitas massa	++
Motilitas individu (%)	70,00±0,00
Viabilitas (%)	90,60±2,86
Abnormalitas (%)	2,13±0,94
Konsentrasi (jt/ml)	1063,33±76,07
Total spermatozoa yang motil (jt/ml)	744,33±53,25

Tabel 2. Rataan persentase motilitas spermatozoa sapi madura pda berbagai perlakuan selama pendinginan.

Waktu Pengamatan	Motilitas (%)			
	P0	P1	P2	P3
Hari 1	70,00±0,00	70,00±0,00	69,00±2,11	69,50±1,58
Hari 2	69,00±3,16	67,00±3,50	67,50±3,54	68,00±3,50
Hari 3	66,00±5,68	63,50±6,69	65,00±6,67	65,00±4,08
Hari 4	63,00±5,37	59,00±5,68	59,50±5,99	59,00±6,58
Hari 5	59,50±5,50	47,50±7,91	48,50±7,84	47,50±5,40
Hari 6	55,00±4,71	40,50±10,12*	38,00±4,22*	40,00±8,50*
Hari 7	50,50±4,97	27,00±5,87	26,00±6,99	27,00±4,22
Hari 8	40,50±6,43*	13,50±8,51	11,00±6,58	12,00±6,75

Keterangan: \*) Nilai perlakuan yang diuji *person's chi square*

motilitas sebesar 48,50±7,84%. Perlakuan P1 dan P3 bertahan sampai hari ke-6 dengan motilitas berturut-turut sebesar 40,0±10,12% dan 40,00±8,50%. Persentase motilitas spermatozoa yang dapat digunakan untuk IB yaitu memiliki motilitas diatas 40% (BSN, 2017).

Hasil analisis menggunakan *pearson's chi square* dengan nilai harapan 40% spermatozoa motil untuk diaplikasikan IB pada perlakuan P1 hari ke-6 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) sedangkan pada P0 hari ke-8, P2 dan P3 hari ke-6 tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ). Total spermatozoa motil yang dapat diaplikasikan untuk IB dengan nilai harapan motilitas spermatozoa >40% yaitu perlakuan air kelapa hijau pada P1, P2 dan P3 dapat digunakan sampai 6 hari selama simpan dingin dan perlakuan CEP-3 yaitu P0 dapat digunakan IB selama 8 hari simpan dingin 2-5°C.

Berdasarkan hasil tersebut maka bahan pengencer CEP-3 dengan putih telur mampu menggantikan BSA dalam mempertahankan motilitas spermatozoa pada semen cair sapi madura sampai hari ke-8. Bahan pengenceran air kelapa hijau muda mampu mempertahankan

kualitas spermatozoa sampai 6 hari selama simpan dingin 2-5°C. Hasil penelitian ini lebih baik dari Audia *et al.* (2017) bahwa dengan pengenceran air kelapa hijau muda pada kambing boer terbukti mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai dua hari dengan motilitas sebesar 48,33±20,17%. Fruktosa di dalam air kelapa berfungsi sebagai sumber energi mampu mempertahankan tekanan osmotik dalam pengencer dan fruktosa sebagai krioprotektan ekstraseluler untuk melindungi selubung spermatozoa dari *cold shock*. Energi selain dari fruktosa, kuning telur mengandung sumber energi untuk spermatozoa, melindungi dari *cold shock* dan sebagai penyangga *buffer* (Atmaja *et al.*, 2014).

#### Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Viabilitas adalah salah satu indikator terpenting untuk menentukan kualitas spermatozoa selama pengenceran (Costa *et al.*, 2016). Spermatozoa yang hidup ditandai dengan warna yang masih terang atau tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa mati akan menyerap warna *eosin negrosin* dan spermatozoa

Tabel 3. Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa sapi madura pada berbagai perlakuan selama pendinginan

Waktu Pengamatan	Viabilitas (%)			
	P0	P1	P2	P3
Hari 1	89,58±2,16	88,62±4,59	87,93±4,41	89,39±3,79
Hari 2	88,04±2,82	86,78±4,45	87,06±4,06	88,03±4,08
Hari 3	86,39±4,89	86,30±4,98	86,33±5,47	85,43±4,00
Hari 4	84,11±3,05	83,76±7,26	83,87±5,78	82,56±6,86
Hari 5	81,88±6,07	81,78±7,83	78,42±8,23	80,45±7,93
Hari 6	79,23±9,14	74,02±4,55	73,01±3,40	72,23±2,44
Hari 7	76,92±8,66	73,08±5,20	71,28±3,50	72,37±4,00
Hari 8	71,24±5,27	65,95±6,20	66,09±6,85	67,05±6,91

Tabel 4. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa sapi madura pada berbagai perlakuan selama pendinginan.

Waktu Pengamatan	Abnormalitas (%)			
	P0	P1	P2	P3
Hari 1	3,14±1,29	3,55±1,37	3,81±2,61	3,07±1,21
Hari 2	3,91±2,52	3,61±1,56	3,75±1,12	3,15±0,93
Hari 3	3,25±1,79	4,03±2,28	3,86±1,57	4,37±1,52
Hari 4	4,04±1,48	3,81±2,01	3,26±2,34	4,01±1,90
Hari 5	4,71±2,09	4,68±2,15	4,42±1,95	4,15±1,94
Hari 6	3,66±1,69	4,07±1,96	4,83±1,93	4,62±1,56
Hari 7	3,53±1,38	3,01±2,21	3,16±1,00	3,32±1,32
Hari 8	3,75±2,02	4,66±3,94	3,63±1,65	4,08±1,35

berwarna sebagian dianggap mati akibat rusaknya membran sel spermatozoa (Susilawati, 2013). Rataan persentase viabilitas spermatozoa ditampilkan pada Tabel 3.

Persentase viabilitas mengalami penurunan selama penyimpanan dan nilai viabilitas pada penyimpanan hari ke-8 yang >70% yaitu pada pengencer P0 (71,24±5,27%), sedangkan persentase viabilitas menggunakan pengencer air kelapa sampai hari ke-7 didapatkan persentase viabilitas paling tinggi yaitu berturut-turut P1 (73,08±5,20%), P2 (71,28±3,50%) dan P3 (72,37±4,00%). Persentase viabilitas terus mengalami penurunan selama simpan dingin. Persentase viabilitas spermatozoa selama penyimpanan lebih tinggi dari persentase motilitas individu spermatozoa, karena spermatozoa yang tidak bergerak belum tentu mati atau spermatozoa masih dorman karena thawing yang kurang tepat. Menurunnya viabilitas spermatozoa yang hidup dipengaruhi oleh naiknya suhu didalam refrigerator, hal ini akibat aktivitas membuka dan menutup pintu *refrigerator* selama melakukan pengecekan viabilitas serta metabolisme spermatozoa yaitu menghasilkan asam laktat yang menjadi salah satu faktor penghambat dan dapat menurunkan nilai viabilitas spermatozoa (Costa et al., 2016).

#### Persentase Abnormalitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Abnormalitas terdapat dua macam yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer meliputi kepala tanpa ekor, ekor ganda, kerusakan akrosom, *macrocephalus*, *microcephalus*, ekor melintang, dan ekor *pyriform*. Abnormalitas sekunder meliputi ekor melipat, butiran sisa sitoplasma, kepala tanpa ekor (putus), ataupun ekor tanpa kepala (Susilawati, 2013). Rataan persentase abnormalitas spermatozoa sapi madura pada berbagai perlakuan selama pendinginan dapat dilihat pada Tabel 4.

Nilai abnormalitas menunjukkan bahwa angka abnormalitas tertinggi berada pada penyimpanan hari ke-5 yaitu pada perlakuan P0 sebesar 4,71±2,09% dan diikuti oleh perlakuan P1, P2 dan P3 dengan nilai abnormalitas berturut-turut sebesar 4,68±2,15%, 4,42±1,95% dan 4,15±1,94%. Rataan nilai abnormalitas yang didapatkan masih dibawah 20% artinya masih baik digunakan untuk IB. Hal ini sesuai dengan pernyataan Susilawati (2013) menyatakan bahwa abnormalitas yang baik yaitu dibawah 20%. Abnormalitas pada spermatozoa kemungkinan disebabkan oleh reaksi *cold shock* dan penyimpanan dingin (Susilawati, 2016<sup>b</sup>).

Tabel 5. Rata-rata persentase total spermatozoa motil sapi madura pada berbagai perlakuan selama pendinginan.

Perlakuan	Waktu	Rata-rata total spermatozoa motil(jt/ml)
P0	Hari ke-8	46,50±6,41
P1	Hari ke-6	46,20±13,95
P2	Hari ke-6	42,10±5,54
P3	Hari ke-6	44,15±10,69
Nilai Harapan		40,00 jt/ml

### Persentase total spermatozoa motil selama penyimpanan suhu 2-5°C

Penilaian kualitas total spermatozoa motil bertujuan untuk melihat peluang keberhasilan fertilisasi ditentukan oleh spermatozoa motil progresif. Susilawati (2013) menyatakan bahwa total spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan volume semen dengan konsentrasi kemudian dikalikan dengan persentase motilitas individu spermatozoa. Standar total spermatozoa motil yang digunakan dalam inseminasi pada sapi adalah 40 juta/ml. Rataan persentase total spermatozoa motil pada berbagai perlakuan selama pendinginan dapat dilihat pada Tabel 5.

Analisis statistik dengan *chi square* nilai harapan 40 juta/ml untuk diaplikasikan IB. Perlakuan pada air kelapa yaitu P1 (46,20±13,95 jt/ml) dan P3 (44,15±10,69 jt/ml) pada penyimpanan hari ke-6 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Perlakuan P2 selama penyimpanan hari ke-6 tidak menunjukkan perbedaan nyata ( $P > 0,05$ ) artinya pada pengencerah tersebut sama dengan nilai harapan 40 jt/ml namun masih biasa diaplikasikan untuk IB dengan total spermatozoa 42,10±5,54 jt/ml dan total spermatozoa motil pada perlakuan P0 (46,50±6,41jt/ml) sebagai kontrol pada penyimpanan hari ke-8 menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) artinya bahwa perlakuan CEP-3 dapat diaplikasikan untuk IB selama simpan dingin 8 hari.

Pengenceran CEP-3 yaitu mensubstitusi BSA dengan putih telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai 8 hari selama simpan dingin. Pengenceran CEP yang dilakukan sama dengan pengamatan Duchá et al (2013) pada pengenceran CEP-2 dengan penambahan 20% kuning telur sebagai pelindung dari *cold shock* pada sapi limosin mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-8 dengan nilai rata-rata motilitas sebesar 44,25±3,92%. Pengenceran dengan berbagai formulasi bahan dasar air kelapa hijau muda dapat diaplikasikan

untuk IB selama 6 hari selama penyimpanan dingin. Metabolisme fruktosa lebih efisien dalam menghasilkan energi. Ketersediaan oksigen didalam pengencer selama penyimpanan apabila tidak mencukupi, maka metabolisme spermatozoa akan berjalan secara *anaerob*, namun apabila metabolisme dalam keadaan *anaerob* menghasilkan asam laktat yang mengakibatkan racun dan akan mengakibatkan kematian bagi spermatozoa (Kurniawan et al, 2013).

### KESIMPULAN

Pengencer perlakuan terbaik air kelapa hijau yaitu pengencer P1 (80% air kelapa hijau muda + 20% kuning telur) tanpa adanya penambahan bahan lain dan dapat mempertahankan kualitas semen cair selama 6 hari dengan nilai motilitas individu sebesar 40,50±10%. Pengencer sebagai kontrol yaitu P0 (CEP-3 + 20% kuning telur), dapat disimpan sampai 8 hari dengan motilitas sebesar 40,50±6,43%, dengan adanya penambahan putih telur sebanyak 0,4% dapat menggantikan BSA sehingga mampu mempertahankan motilitas selama simpan dingin 2-5°C.

Saran bahan pengencer yang baik untuk diaplikasikan IB yaitu pengencer P0 (CEP-3+20% kuning telur) dapat disimpan dan digunakan sampai 8 hari selama simpan dingin. Formulasi bahan pengencer terbaik pada air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P1 (air kelapa hijau muda + 20% kuning telur) dapat disimpan dan aplikasikan untuk IB sampai 6 hari selama simpan dingin.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih pada KEMENRISTEK DIKTI melalui dana penelitian PUPTN dan Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan yang memberikan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Atmaja, W.K, M.K Budiasa & Wayan. 2014. Bebas penambahan fruktosa mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang disimpan pada suhu 4°C. *Indonesia Medicus Veterinus* 3(4):318-327
- Audia, R.P., M.A., Salim, N. Isnaini, & T. Susilawati. 2017. Pengaruh perbedaan kematangan air kelapa hijau sebagai bahan pengencer yang ditambah 10% kuning telur terhadap kualitas semen cair kambing boer. *J. Ternak Tropika* 18(1):58-68.
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, Hafez, & M. Bellin. 2008. Semen evaluation in reproduction in farm animal 7<sup>th</sup> edition. Edited by Hafez, E.S.E. Co. Director.Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA. pp 365-370.
- BSN. 2017. Semen Beku-Bagian 1: Sapi. Badan Standarisasi Nasional. SNI 4869-1:2017. BSN. Jakarta
- Costa, N.D., T. Susilawati, N. Isnaini, & M.N. Ihsan. 2016. Effect of different dilution materials usage on indonesian peranakan ongole bull sperm quality during cooling process. *IAJPS* 3(4):379-385.
- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, & S. Wahyuningsih. 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.
- Farapti & S. Sayogo. 2014. Air kelapa muda pengaruhnya terhadap tekanan darah. *CDK* 41(12):896-900.
- Garner, D.L. & E.S.E. Hafez. 2008. Spermatozoa and seminal plasma in reproduction in farm animals 7<sup>th</sup> edition. Blackwell Publishing Professional. USA. pp 96-109.
- Hopkins, S.M. & L. E. Evans. 2003. Artificial Insemination. In: M.H. Pineda. Mc.Donald Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5<sup>th</sup> ed. Blackwell publishing. USA. pp 341-375
- Kurniawan, I.Y., F. Basuki, & T. Susilawati. 2013. Penambahan air kelapa dan gliserol pada penyimpanan sperma terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaulture Management and Technology* 2(1):51-56.
- Ratnawati, D., N. Isnaini, & T. Susilawati. 2018. Character motility of liquid semen on ongole crossbred (PO), bali and madura bulls with different diluent at cold storage. *Asian Jr. Microbiol. Biotech. Env. Sc.* 20(1):21-28
- Rizal, M. 2009. Daya hidup spermatozoa epididimis sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 14(2):142-149.
- Saifudin, M., N. Isnaini., A.P.A. Yekti, & T. Susilawati. 2018. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen cair menggunakan media pengencer tris ainomethan kuning telur pada sapi peranakan ongole. *Jurnal Ternak Tropika* 19(1):60-65
- Salim, A., A.P.A. Yekti, Kuswati, & T. Susilawati. 2018. Perbedaan keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen beku dan cair menggunakan pengencer CEP-3+kuning telur pada sapi persilangan ongole. *Jurnal Ternak Tropika* 19 (1):66-72.
- Salim, M.A., T. Susilawati, & S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi bali, sapi madura dan sapi PO. *Agripet* 12(2):14-20.
- Sholikah, N., N. Isnaini., A.P.A. Yekti, & T. Susilawati. 2016. Pengaruh penggantian *bovine serum albumin* (BSA) dengan putih telur pada pengencer CEP-2 terhadap kualitas semen sapi peranakan ongole pada suhu penyimpanan 3-5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 26(1):7-15.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak. UB Press. . Malang.
- Susilawati T., N. Isnaini, A.P.A. Yekti, I. Nurjanah, Errico, & N.D. Costa. 2016a. Keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen beku dan semen

- cair pada sapi peranakan ongole. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan 26 (3):14-19.
- Susilawati T., F.E. Wahyudi, I. Anggraeni, N. Isnaini, & M.N. Ihsan. 2016<sup>b</sup>. Penggantian *bovine serum albumin* pada pengencer CEP-2 dengan serum darah sapi dan putih telur terhadap kualitas semen cair sapi limousin selama pendinginan. Jurnal Kedokteran Hewan 10(2):98-102.
- Verberckmoes, S., A.V. Some., J. Dewulf., I.D. Pauw, & A. Kruif. 2004. Storage of fresh bovine semen in a diluent based on the ionic composition of cauda epididymal plasma. Journal of Reprod. Dom. Anim. 39(6):1-7.
- Yong, J.W.H., L. Ge, Y.F. Ng & S.N. Tan. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. Molecules 14:5144-5164.