

Pengaruh Penambahan Soya dalam Pengencer Dasar Air Kelapa (*Cocos nucifera*) terhadap Motilitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) pada Penyimpanan di Suhu 4-5°C

*The Effect of Soya Addition in Coconut (*Cocos nucifera*) Water Diluent on Fat Tail Ram (FTR) Sperm Motility at 4-5°C of Storage Temperature*

Hana Angella Monova* dan Nur Ducha

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

* e-mail: hanamonova@mhs.unesa.ac.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengkaji pengaruh soya pada berbagai konsentrasi dalam pengencer dasar air kelapa terhadap motilitas spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) pada penyimpanan di suhu 4-5°C. Desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 perlakuan dan 4 pengulangan, yaitu tris soya (K+), air kelapa (K-), air kelapa + soya 2 g/100 ml (AK2), air kelapa + soya 4 g/100 ml (AK4) dan air kelapa + soya 6 g/100 ml (AK6). Motilitas spermatozoa diukur oleh 2 orang dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Anova satu arah dan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan adanya beda nyata ($\alpha = 0,05$) antara motilitas spermatozoa dalam pengencer K+ dan AK4 dengan pengencer K-, AK2 dan AK6. Pengencer terbaik adalah AK4 dengan rerata persentase motilitas selama hari ke-0 sampai hari ke-4 secara berurutan sebesar $63,75 \pm 0,86\%$, $61,25 \pm 0,85\%$, $59,38 \pm 1,40\%$, $53,13 \pm 1,37\%$ dan $44,38 \pm 1,38\%$. Simpulan dari penelitian ini adalah penambahan soya sebanyak 4 g dalam 100 ml pengencer dasar air kelapa dapat mempertahankan motilitas spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) dalam penyimpanan di suhu 4-5°C selama 4 hari.

Kata kunci: soya; pengencer dasar air kelapa; motilitas spermatozoa; Domba Ekor Gemuk (DEG)

ABSTRACT

This research aimed to study the effect of various concentration of soya coconut water diluent in Fat Tail Ram (FTR) sperm motility at 4-5°C of storage temperature. The research design was a completely randomized design (RAL) which was composed of 5 treatments with 4 replication, the treatments were the use of tris soya (K+), coconut water (K-), coconut water + soya 2 g/100 ml (AK2), coconut water + soya 4 g/100 ml (AK4) and coconut water + soya 6 g/100 ml (AK6). Spermatozoa motilities were measured by 2 people using a microscope with 400x enlargement. Data gained were analyzed using one way Anova test and Duncan test. The result showed that there were a significant differences among sperm motilities ($\alpha = 0,05$) in K+ and AK4 to K-, AK2, and AK6 diluents. The best diluent was AK4 with motility averages in day-0 until day-4 were $63.75 \pm 0,86\%$, $61.25 \pm 0,85\%$, $59.38 \pm 1,40\%$, $53.13 \pm 1,37\%$ and $44.38 \pm 1,38\%$. Based on the data gained, it can be concluded that the addition of soya 4 g/100 ml in 100 ml coconut water dilution can maintain the quality of Fat Tail Ram (FTR) spermatozoa during 4 days at 4-5°C storage temperature.

Key Words: soya; coconut water diluent; sperm motility; Fat Tail Ram (FTR)

PENDAHULUAN

Jumlah penduduk di Indonesia yang semakin meningkat menyebabkan peningkatan kebutuhan terhadap pemenuhan gizi khususnya kebutuhan akan protein. Kebutuhan protein dapat diperoleh dari daging ternak salah satunya domba. Untuk memenuhi kebutuhan daging secara nasional diperlukan domba yang memiliki tingkat pertumbuhan yang baik, yaitu Domba Ekor Gemuk (DEG). Berat badan Domba Ekor Gemuk (DEG) jantan dewasa dapat mencapai 40-60 kg dengan tinggi pundak berkisar 60-65 cm, sehingga

digolongkan dalam domba tipe pedaging (Purbowati, 2009).

Peningkatan populasi domba di Indonesia sangat diperlukan untuk memenuhi kebutuhan gizi masyarakat. Hal ini dapat diatasi dengan teknologi Inseminasi Buatan (IB). Untuk memudahkan pelaksanaan IB, maka semen yang diperoleh harus dipertahankan kualitasnya dengan teknik penyimpanan dan pengenceran. Penyimpanan dalam refrigator (suhu 4-5°C) memiliki beberapa kelebihan di antaranya prosesnya lebih mudah, lebih murah dan mampu

mempertahankan kualitas spermatozoa (Ducha, 2012). Penyimpanan menggunakan refrigerator dapat mempertahankan kualitas spermatozoa selama 2-4 hari dengan penambahan pengencer. Menurut Vidal dkk. (2012), teknik pengenceran merupakan penambahan media pengencer untuk memperbanyak volume semen, penyedia zat-zat makanan bagi spermatozoa, mencegah perubahan pH, mencegah pertumbuhan bakteri dan menjaga spermatozoa dari *cold shock* selama penyimpanan.

Berdasarkan hal tersebut diperlukan media yang baik untuk melindungi spermatozoa dan sebagai sumber energi. Menurut penelitian Luzardo dkk. (2010), air kelapa muda mampu memberikan kontribusi untuk meningkatkan kelangsungan hidup spermatozoa. Menurut *United States Department of Agriculture (USDA)* (2014), kandungan yang terdapat dalam air kelapa muda, yaitu protein, fruktosa, sukrosa, glukosa, vitamin C, Ca, Mg, Fe dan Zn. Namun, penggunaan air kelapa saja belum mampu untuk melindungi spermatozoa dari *cold shock* sehingga perlu ditambahkan krioprotektan. Menurut El-Sisy dkk. (2016), soya mengandung lesitin yang berasal dari tumbuhan dan mampu menggantikan lesitin pada kuning telur. Soya dapat berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler yang berfungsi dalam perlindungan membran spermatozoa.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh dan konsentrasi soya terbaik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) pada penyimpanan di suhu 4-5°C.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai Juni 2018 di Laboratorium Biologi Dasar Gedung C10 Lantai 1, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya.

Pembuatan pengencer dasar air kelapa-soya dengan melarutkan penisilin dan streptomisin dalam air kelapa muda (*varietas viridis*) dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah homogen di cek pH-nya, apabila asam di tambahkan NaOH 1 M hingga pH menjadi 6,8.

Pengencer air kelapa kemudian disterilisasi dengan *milipore* ukuran 0,22 μm dan di suplementasi dengan berbagai konsentrasi soya, yaitu 0 g, 2 g, 4 g dan 6 g/100ml. pengencer dasar air kelapa yang telah ditambahkan soya kemudian disuplementasi dalam lemari es hingga terbentuk endapan. Supernatan kemudian diambil dan dipindahkan dalam erlenmeyer lain.

Penampungan semen segar dilakukan di *Teaching Farm* Gresik. Semen segar yang digunakan adalah semen Domba Ekor Gemuk (DEG) umur 10 bulan. Penampungan dilaksanakan pada sore hari. Tahap selanjutnya adalah evaluasi semen segar secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, konsentrasi dan pH serta evaluasi secara mikroskopis meliputi motilitas massa dan individu.

Pengenceran semen dilakukan dengan mencampurkan semen dalam pengencer dengan berbagai macam konsentrasi soya. Setelah semen diberi pengencer, diamati motilitasnya sebagai hari ke-0. Pencampuran dilakukan di dalam *water bath* dengan suhu 37°C kemudian dimasukkan dalam refrigerator menggunakan metode *water jacket* yang diberi termometer.

Pengamatan motilitas spermatozoa dilakukan setiap 1x24 jam dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x selama 4 hari. Cara untuk membuat preparat motilitas dengan meneteskan semen yang telah diberi perlakuan pengencer dengan menggunakan *stick glass* pada *object glass* dan ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan motilitas dilakukan oleh dua orang kemudian dihitung nilai rata-ratanya.

Analisis data dilakukan dengan mengolah data yang telah diperoleh dengan ditransformasikan terlebih dahulu ke dalam *archin* kemudian diuji normalitas menggunakan *Kolmogorof-Smirnov*. Diperoleh data yang berdistribusi normal, lalu dilanjutkan dengan uji Anova satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan program SPSS versi 20.0.

HASIL

Berdasarkan penelitian diperoleh hasil rerata persentase motilitas \pm standar deviasi spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) pada tiap perlakuan yang disimpan dalam suhu 4-5°C selama 4 hari. Hasil dapat dilihat pada **Tabel 1**. Pada **Tabel 1** dan **Gambar 1** menunjukkan adanya perbedaan rerata persentase motilitas terhadap penambahan berbagai konsentrasi soya dalam pengencer dasar air kelapa. Pada hari ke-0 diketahui nilai rerata antarsemua perlakuan memiliki nilai yang sama. Pada hari ke-1 diketahui nilai rerata tertinggi dimiliki oleh air kelapa + soya 4 g/100 ml sebesar 61,25%, sedangkan nilai rerata terendah dimiliki oleh air kelapa sebesar 50,00%. Pada hari ke-2 diketahui nilai rerata tertinggi dimiliki oleh air kelapa + soya 4 g/100 ml sebesar 59,38%, sedangkan nilai rerata terendah dimiliki oleh air kelapa + soya 6 g/100 ml dan air kelapa sebesar 45,00%. Pada hari ke-3 diketahui nilai rerata tertinggi dimiliki oleh

air kelapa + soya 4 g/100 ml sebesar 53,13%, sedangkan nilai rerata terendah dimiliki oleh air kelapa + soya 6 g/100 ml sebesar 35,63%. Pada hari ke-4 diketahui nilai rerata tertinggi berurutan dimiliki oleh perlakuan air kelapa + soya 4 g/100 ml sebesar 44,38% dan tris soya sebesar 41,88%, sedangkan nilai rerata terendah dimiliki oleh air kelapa + soya 6 g/100 ml sebesar 20,63%.

PEMBAHASAN

Hasil uji Duncan ($\alpha = 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan kualitas semen setelah pengenceran pada hari ke-1 sampai hari ke-4. Nilai rerata motilitas dari hari ke-0 sampai hari ke-4 merupakan rerata tertinggi pada pengencer air kelapa + soya 4 g/100 ml, yaitu 63,75%, 61,25%, 59,38%, 53,13%, dan 44,38%. Nilai rerata motilitas dari hari ke-0 sampai hari ke-4 yang merupakan rerata terendah pada pengencer air kelapa + soya 6 g/100 ml, yaitu 61,88%, 53,13%, 45,0%, 35,63% dan 20,63%. Pada perlakuan tris soya dan air kelapa + soya 4 g/100 ml menunjukkan nilai rerata motilitas tertinggi pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4 dengan penurunan motilitas yang relatif rendah. Pada perlakuan air kelapa dan air kelapa + soya 2 g/100 ml pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4 mengalami penurunan motilitas yang cukup

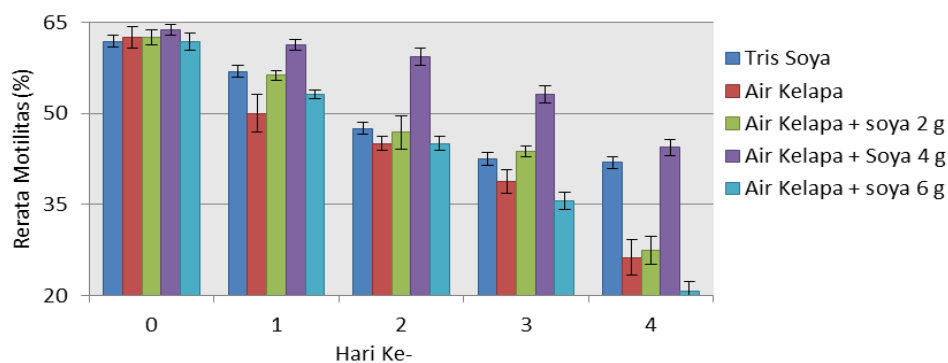
drastis. Pada perlakuan air kelapa + soya 6 g/100 ml pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4 mengalami penurunan motilitas yang paling drastis. Penurunan motilitas spermatozoa pada hari ke-0 sampai hari ke-4 diakibatkan karena proses penyimpanan pada suhu 4-5°C menimbulkan kerusakan pada membran sel. Menurut Duchá (2012), proses penyimpanan spermatozoa pada suhu yang rendah dapat menurunkan struktur dan fungsinya.

Semen dengan perlakuan air kelapa + soya 4 g/100 ml dapat bertahan selama 4 hari dengan persentase motilitas 44,38%. Hasil tersebut sebanding dengan persentase perlakuan kontrol (+) dengan pengencer Tris soya yaitu 41,88%. Kedua pengencer tersebut memenuhi syarat untuk standart Inseminasi Buatan (IB). Menurut Duchá (2018), standart minimum IB yaitu motilitas $\geq 40\%$. Pengencer air kelapa + soya 4 g/100 ml mampu mempertahankan motilitas spermatozoa karena memenuhi syarat suatu pengencer. Menurut Labetubun dan Isak (2011), suatu pengencer harus bersifat buffer dan mengandung nutrisi yang cukup untuk kelangsungan hidup spermatozoa. Air kelapa berperan sebagai buffer pengganti Tris. Menurut Sujoko dkk. (2009), buffer atau penyangga

Tabel 1. Hasil rerata persentase motilitas \pm standar deviasi spermatozoa domba

Perlakuan	Rerata motilitas selama penyimpanan (%) \pm standar deviasi hari ke-				
	0	1	2	3	4
Tris Soya	61,88 \pm 1,41 ^a	56,88 \pm 1,39 ^b	47,50 \pm 1,17 ^a	42,50 \pm 1,18 ^{bc}	41,88 \pm 1,39 ^c
Air Kelapa	62,50 \pm 1,71 ^a	50,00 \pm 3,10 ^a	45,00 \pm 1,17 ^a	38,75 \pm 1,90 ^{ab}	26,25 \pm 2,89 ^b
Air Kelapa + soya 2 g/100 ml	62,50 \pm 1,21 ^a	56,25 \pm 0,83 ^b	46,88 \pm 2,73 ^a	43,75 \pm 0,83 ^c	27,50 \pm 2,31 ^b
Air Kelapa + soya 4 g/100 ml	63,75 \pm 0,86 ^a	61,25 \pm 0,85 ^c	59,38 \pm 1,40 ^b	53,13 \pm 1,37 ^d	44,38 \pm 1,38 ^c
Air Kelapa + soya 6 g/100 ml	61,88 \pm 1,42 ^a	53,13 \pm 0,72 ^{ab}	45,00 \pm 1,17 ^a	35,63 \pm 1,44 ^a	20,63 \pm 1,71 ^a

Keterangan : Notasi yang berbeda (a,b,c,d,e) pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata.



Gambar 1. Grafik rerata persentase motilitas spermatozoa domba ekor gemuk (DEG) dalam pengencer dasar air kelapa dan penambahan berbagai konsentrasi soya selama penyimpanan di suhu 4-5°C.

berperan dalam melindungi spermatozoa dari perubahan pH secara tiba-tiba yang dapat mempengaruhi hidup spermatozoa. Menurut Yong *et al.* (2009), air kelapa (*Cocos nucifera*) muda mengandung ion Ca, Na, Mg, K dan gula seperti sukrosa, glukosa serta fruktosa.

Gula merupakan sumber energi bagi spermatozoa. Soya yang digunakan mengandung tambahan sukrosa dan maltosa jika dilihat dalam komposisi pada kemasannya. Menurut penelitian Labetubun dan Isak (2011), Laktosa dan maltosa merupakan karbohidrat golongan disakarida yang terdiri atas dua unit monosakarida. Laktosa terdiri dari glukosa dan galaktosa sedangkan maltosa terdiri dari dua unit glukosa. Sumber energi tersebut kemudian diubah oleh spermatozoa menjadi ATP. Adenosin trifosfat (ATP) digunakan oleh spermatozoa untuk pergerakan ekor yang diperoleh dari proses respirasi (glikolisis) dalam mitokondria pada bagian *midpiece*.

Metabolisme berjalan baik apabila membran plasma sel berada dalam keadaan utuh. Menurut Rizal dan Herdis (2005), membran yang utuh mampu mengatur keluar masuknya substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Soya dalam pengencer air kelapa mengandung lesitin yang merupakan fosfolipid nabati. Menurut penelitian El-Sisy *et al* (2016), lesitin pada soya setara dengan kandungan lesitin yang dimiliki oleh kuning telur. Lesitin mampu memberikan perlindungan bagi spermatozoa selama penurunan suhu karena lesitin mampu melindungi membran sebagai krioprotektan ekstraseluler.

Pengencer air kelapa + soya 4 g/100 ml mengandung *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang terdapat pada soya. *Low Density Lipoprotein* (LDL) akan melapisi membran spermatozoa dan memberi perlindungan dengan menstabilkan membran. Mekanisme perlindungannya, yaitu pertama terjadi fusi antara fosfolipid dengan membran spermatozoa yang menyebabkan rasio asam lemak tak jenuh ganda dan asam lemak jenuh dalam membran sel berubah. Kedua, struktur lipid bagian luar dapat mengekstrak kolesterol dari membran sel. Ketiga, struktur fosfolipid berikatan sederhana dengan permukaan membran sel sehingga terjadi pengaturan komponen membran spermatozoa (Rizal dan Herdis, 2008).

Semen yang diberi pengencer air kelapa dan air kelapa + soya 2 g/100 ml belum mampu untuk mempertahankan motilitas spermatozoa domba. Hal ini dikarenakan pengencer tersebut belum memiliki kandungan lesitin yang cukup untuk

melindungi membran spermatozoa selama proses penyimpanan. Kurangnya krioprotektan ekstraseluler mengakibatkan membran mengalami kerusakan selama penyimpanan yang mengakibatkan terganggunya transport substrat maupun elektrolit untuk metabolisme. Metabolisme yang tidak baik akan mempengaruhi produksi ATP. Produksi ATP rendah, maka spermatozoa akan kekurangan energi, tidak bisa menggerakkan ekornya dan kemudian mati. Menurut penelitian Lubis dkk. (2013), penurunan motilitas terjadi karena kurangnya cadangan energi yang dapat digunakan oleh spermatozoa untuk bergerak.

Semen yang diberi pengencer air kelapa + soya 6 g/100 ml mengalami penurunan motilitas yang drastis menjadi 20,63%. Hal ini dikarenakan pengencer air kelapa + soya 6 g/100 ml lebih hipertonik sehingga menyebabkan air dari dalam sel keluar. Hal ini menyebabkan rusaknya organel intraseluler pada spermatozoa dan mengakibatkan fungsi fisiologisnya terganggu. Selain itu, menurut penelitian Rahayu dkk. (2014), tingginya konsentrasi susu kedelai mengakibatkan banyaknya gumpalan pada medium sehingga mempengaruhi gerakan spermatozoa.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan soya dalam pengencer air kelapa berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG). Penambahan soya sebanyak 4 g dalam 100 ml pengencer dasar air kelapa dapat mempertahankan motilitas spermatozoa Domba Ekor Gemuk (DEG) dalam penyimpanan di suhu 4-5°C selama 4 hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami berterima kasih kepada Dra. Nur Kuswanti, M.Sc.St. dan Dr. Widowati Budijastuti, M.Si. yang telah memberikan bimbingan selama penelitian serta kepada seluruh pihak Teaching Farm, Universitas Airlangga, Gresik yang telah membantu selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Ducha N, 2012. Suplementasi Kuning Telur dalam Pengencer CEP-2 Terhadap Kualitas dan Integritas Membran Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Suhu 4-5°C. *Disertasi*. Tidak diterbitkan. Malang: Universitas Brawijaya Malang.
- Ducha N, 2018. The Test about Blood Serum Capabilities in Maintaining the Quality of Bull

- Spermatozoa During Storage in CEP Diluent at Refrigerator Temperature. *Earth and Environmental Science* 130. Vol. - : hal. 1-5.
- El-Sisy GA, El- Nattat WS, El-Sheshtawy RL, El-Maaty AMA, 2016. Substitution of Egg Yolk With Different Concentrations of Soybean Lecithin in Tris-Based Extender During Bulls semen Preservability. *Asean Pasific Journal of Reproduction*. 5(6) : 514-518.
- Labetubun J dan Isak PS, 2011. Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi bali dengan penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada Suhu 3-5°C. *Jurnal Veteriner*. 2(3) : 200-207.
- Lubis TM, Dasrul CN, Thasmi TA, 2013. Efektifitas Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Setelah Penyimpanan Dingin. *Jurnal S.Pertanian*. 3(1) : 347-361.
- Luzardo, Bottini M, Centurion C, Gamboa FA, 2010. Osmolarity of Coconut Water (Cocos nucifera) Based Diluents and their Effect Over Viability of Frozen Boar Semen. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*. 5(3) : 187-191.
- Purbowati E, 2009. *Usaha Penggemukan Domba*. Semarang : Penebar Swadaya.
- Rahayu, Winda, Agung PWM, Gatot C, 2014. Kualitas Semen Segar Kambing Boer pada Temperatur Penyimpanan 4°C dengan Menggunakan Pengencer Sitrat dan Suplementasi Susu Kedelai Bubuk. *Jurnal Biotropika*. 2(1) : 55-60.
- Rizal M dan Herdis, 2005. Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Domba Garut yang Dikriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengencer Tris. *Hayati*. 12(2) : 61-66.
- Rizal M dan Herdis, 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Sujoko, Heri, Mohamad AS, Arief B. 2009. Seleksi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Veteriner*. 10(3): 125-132.
- United States Department of Agriculture (USDA). 2014. *Nutrient Data Laboratory*. Diakses melalui www.usda.gov, pada 24 Maret 2017.
- Vidal, Andrea H, Andre M B, Ellen CB, Wilton AG, Marina AP, Sildivane VS, Maria MPG, 2012. Soybean Lecithin-based Extender as an Alternative for Goat Sperm Cryopreservation. *Elsevier Small Ruminant Research* 109. 47-51.
- Yong, Jean WH, Liya G, Yan FN, Swee NT, 2009. The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (Cocos nucifera) Water. *Molecules*. 14 : 5144-5164.