

SKRIPSI

**PENGARUH METODE *SWIM UP* DENGAN LAMA SENTRIFUGASI
DAN INKUBASI YANG BERBEDA TERHADAP VIABILITAS DAN
ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*)**

Disusun dan diajukan oleh

**NURUL AWALIA PUTRI
I011181028**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**PENGARUH METODE *SWIM UP* DENGAN LAMA SENTRIFUGASI
DAN INKUBASI YANG BERBEDA TERHADAP VIABILITAS DAN
ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*)**

SKRIPSI

**NURUL AWALIA PUTRI
I011181028**

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI
PENGARUH METODE *SWIM UP* DENGAN LAMA SENTRIFUGASI
DAN INKUBASI YANG BERBEDA TERHADAP VIABILITAS DAN
ABNORMALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*)**

Disusun dan diajukan
oleh

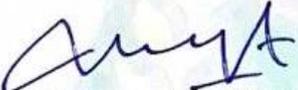
**NURUL AWALIA PUTRI
I011181028**

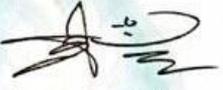
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program
Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 22 Agustus 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Per Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,


Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
NIP. 19700725 199903 1 001


Dr. Muhammad Hatta, S. Pt., M. Si
NIP. 19691231 200501 1 013

A. Si

Plt Ketua Program Studi,




Dr. Syahdar Baba, S.Pt., M.Si
NIP. 19731217200312 1 001

LEMBAR KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nurul Awalia Putri
NIM : I011181028
Program Studi : Peternakan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Pengaruh Metode *Swim Up* Dengan Lama Sentrifugasi Dan Inkubasi Yang Berbeda Terhadap Viabilitas Dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*)

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Agustus 2022


Yang menyatakan
(Nurul Awalia Putri)

ABSTRAK

Nurul Awalia Putri. I011 18 1028 Pagaruh Metode Swim Up Lama Sentrifugasi dan Inkubasi Yang Berbeda Terhadap Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi (*Bos Sondaicus*). Dibimbing oleh **Muhammad Yusuf** sebagai pembimbing utama dan **Muhammad Hatta** sebagai pembimbing anggota.

Swim up merupakan salah satu metode persiapan spermatozoa dalam fertilisasi in vitro yang menyeleksi spermatozoa. Teknik pemisahan spermatozoa (*swim up*) menggunakan medium BO (*Brackett and Oliphant*) dan Talp (*Tyroide Albumin Lactate Pyruvate*) untuk mendapatkan semen yang berkualitas baik agar meningkatkan kelahiran pedet yang berkualitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas semen yang optimal dengan uji viabilitas dan abnormalitas dengan menggunakan metode *swim up* dan mengetahui lama waktu sentrifugasi dan inkubasi yang tepat dengan menggunakan medium BO dan TALP. Penelitian ini menggunakan sembilan perlakuan dengan dua faktor yaitu lama sentrifugasi dan faktor lama inkubasi dengan tiga kali ulangan yaitu P1K1 = Sentrifugasi 5 dan inkubasi 30 menit; P1K2= Setrifugasi 5 menit dan inkubasi 45 menit; P1K3 = Sentrifugasi 5 menit dan inkubasi 60 menit; P2K1= Setrifugasi 10 dan inkubasi 30 menit; P2K2= Sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 45 menit; P2K3 = Sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 60 menit; P3K1 = Sentrifugasi 15 menit dan inkubasi 30 menit P3K2 = Sentrifugasi 15 menit dan inkubasi 45 menit; P3K3 = Sentrifugasi 15 menit dan inkubasi 60 menit. Parameter yang diamati adalah kualitas spermatozoa yang terdiri dari viabilitas dan abnormalitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas pada perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata sedangkan abnormalitas pada perlakuan sentrifugasi dan inkubasi yang berbeda tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Viabilitas spermatozoa dengan menggunakan medium BO dengan beberapa perlakuan yaitu dengan hasil P1K1 84.66±1.15%, P1K2 89.83±1.04%, P1K3 78.50±4.82%, P2K1 88.50±6.53%, P2K2 90.00±3.00%, P2K3 86.00±3.96%, P3K1 81.00±1.73%, P3K2 87.16±1.52%, P3K3 77.00±5.29% sedangkan yang menggunakan medium TALP yaitu P1K1 6.16±4.64%, P1K2 6.66±3.75%, P1K3 9.00±2.60%, P2K1 6.00±2.59%, P2K2 6.16±2.02%, P2K3 7.66±2.46%, P3K1 7.66±2.51%, P3K2 9.00±1.50%, P3K3 9.50±0.50%. Abnormalitas dengan menggunakan medium BO dengan hasil P1K1 6.33±4.53%, P1K2 6.66±2.75%, P1K3 9.00±3.46%, P2K2 7.00±2.53%, P2K3 7.66±0.76%, P3K1 9.50±1.80%, P3K2 9.83±1.25%, P3K3 11.00±1.32% sedangkan yang menggunakan mediumTALP yaitu P1K1 6.16±4.64%, P1K2 6.66±3.75%, P1K3 9.00±2.64%, P2K1 6.00±2.59%, P2K1 6.16±2.02%, P2K3 7.66±2.46%, P3K1 7.66±2.51%, P3K2 9.00±1.50%, P3K3 9.50±0.50%. Dapat disimpulkan bahwa Viabilitas Spermatozoa hasil *Swim Up* yang terbaik dihasilkan dari penggunaan medium BO dan TALP masing-masing pada perlakuan sentrifugasi 15 menit dan inkubasi 45 menit dengan hasil 90.00±3.00% dan pada mediumTALP dengan hasil 90.83±3.01%. Sedangkan pada abnormalitas terendah pada medium BO yaitu pada waktu setrifugasi 5 menit dan inkubasi 30 menit dengan hasil 6.33±4.53% dan medium TALP pada waktu sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 30 menit dengan hasil 6.00±2.59%.

Kata kunci ; *abnormalitas, inkubasi, viabilitas, swim up*

ABSTRACT

Nurul Awalia Putri. I011 18 1028 Effect of Swim Up Method with Different Centrifugation and Incubation Time on Viability and Abnormality of Spermatozoa of Cattle (*Bos Sondaicus*). Supervised by **Muhammad Yusuf** as the main supervisor and **Muhammad Hatta** as the member mentor.

Swim up is a method of preparing spermatozoa in in vitro fertilization that selects spermatozoa. Spermatozoa separation technique (*swim up*) using BO (*Brackett and Oliphant*) and Talp (*Tyroide Albumin Lactate Pyruvate*) medium to obtain good quality semen in order to increase the birth of quality calves. by using the swim up method and knowing the exact length of time for centrifugation and incubation using BO and TALP medium. This study used nine treatments with two factors, namely centrifugation time and incubation time factor with three replications, namely P1K1 = Centrifugation 5 and incubation 30 minutes; P1K2 = Centrifugation 5 and incubation 45 minutes; P1K3 = Centrifugation 5 minutes and incubation 60 minutes; P2K1 = 10 centrifugation and 30 minutes incubation; P2K2 = 10 minutes centrifugation and 45 minutes incubation; P2K3 = 10 minutes of centrifugation and 60 minutes of incubation; P3K1 = Centrifugation 15 minutes and incubation 30 minutes P3K2 = Centrifugation 15 minutes and incubation 45 minutes; P3K3 = 15 minutes of centrifugation and 60 minutes of incubation with three replications. The parameters observed were the quality of spermatozoa which consisted of viability and abnormalities. The results showed that the viability of the treatments showed a significant difference while the abnormalities in the different centrifugation and incubation treatments did not show a significant difference. The viability of spermatozoa using a medium BO with several treatments, namely P1K1 84.66 ± 1.15 , P1K2 89.83 ± 1.04 , P1K3 78.50 ± 4.82 , P2K1 88.50 ± 6.53 , P2K2 90.00 ± 3.00 , P2K3 86.00 ± 3.96 P3K1 $81.00 \pm 1.73\%$, P3K2 $87.16 \pm 1.52\%$, P3K3 $77.00 \pm 5.29\%$ while those using TALP medium were P1K1 6.16 ± 4.64 , P1K2 6.66 ± 3.75 , P1K3 9.00 ± 2.60 , P2K1 6.00 ± 2.59 , P2K2 6.16 ± 2.02 , P2K3 7.66 ± 2.46 , P3K1 7.66 ± 2.51 , P3K2 9.00 ± 1.50 , P3K3 9.50 ± 0.50 . Abnormality using BO medium with results hasil P1K1 $6.33 \pm 4.53\%$, P1K2 $6.66 \pm 2.75\%$, P1K3 $9.00 \pm 3.46\%$, P2K2 $7.00 \pm 2.53\%$, P2K3 $7.66 \pm 0.76\%$, P3K1 $9.50 \pm 1.80\%$, P3K2 $9.83 \pm 1.25\%$, P3K3 $11.00 \pm 1.32\%$ while those using TALP medium were P1K1 $6.16 \pm 4.64\%$, P1K2 $6.66 \pm 3.75\%$, P1K3 $9.00 \pm 2.64\%$, P2K1 $6.00 \pm 2.59\%$, P2K1 $6.16 \pm 2.02\%$, P2K3 $7.66 \pm 2.46\%$, P3K1 $7.66 \pm 2.51\%$, P3K2 $9.00 \pm 1.50\%$, P3K3 $9.50 \pm 0.50\%$ It can be concluded that the best Spermatozoa Viability from *Swim Up* results was obtained from the use of BO and TALP medium, respectively, at 15 minutes of centrifugation and 45 minutes of incubation with a result of 90.00 ± 3.00 and on TALP medium with a result of 90.83 ± 3.01 . Meanwhile, the lowest abnormality in BO medium was at 5 minutes of centrifugation and 30 minutes of incubation with a yield of 6.33 ± 4.53 and TALP medium at a time of 10 minutes of centrifugation and 30 minutes of incubation with a result of 6.00 ± 2.59 .

Keywords ; *abnormality, incubation, viability, swim up*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT, Tuhan yang telah memberikan beragam nikmat-Nya kepada kita semua sehingga Alhamdulillah saya diberikan kelancaran dalam menyelesaikan makalah usulan penelitian yang berjudul “ Pengaruh Metode *Swim Up* dengan Lama Sentrifugasi yang Berbeda Terhadap Viabilitas dan Abnormalitas Sapi Bali (*Bos Sandaicus*) ”. Shalawat dan salam semoga selamanya tercurah dan terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis hanturkan dengan segala keikhlasan dan kerendahan hati kepada :

1. Kedua orang tua penulis yaitu **Kaharuddin** dan **A. Wasni** serta saudara penulis **Nurul Dwi Putra** juga seluruh Keluarga penulis yang senantiasa mendoakan sehingga makalah ini dapat selesai tepat waktu serta dukungan berupa moril, materil, dan saran.
2. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M. Sc.**, selaku Rektor Universitas Hasanuddin yang telah memberi kesempatan untuk saya mengenyam pendidikan di Universitas Hasanuddin.
3. **Dr. Syahdar Baba, S.Pt. M. Si**, selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, beserta jajarannya dan juga Kepada Dosen-dosen pengajar Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin yang telah memberi ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis selama perkuliahan.

4. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU**, selaku pembimbing utama yang telah memberikan banyak ilmu, waktu, tenaga, dan saran-saran serta semangat untuk penulis dalam penyusunan skripsi ini. **Dr. Muhammad Hatta, S.Pt., M. Si**, selaku pembimbing anggota yang telah bersedia membantu dan memberikan arahan serta semangat kepada penulis sampai skripsi ini selesai.
6. **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si**, selaku penguji / pembahas yang telah bersedia memberi masukan dan saran kepada penulis, serta kesempatan untuk bisa penelitian dan mengambil sampel semen di Samata Integrated Farming System.
7. **Dr. Sutomo, S.Pt., M.Si** selaku penguji / pembahas yang telah bersedia dan melancarkan seminar serta memberi saran-saran dan masukan kepada penulis dan sebagai penasehat akademik yang telah banyak membantu penulis selama masa perkuliahan sampai selesai perkuliahan.
8. **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.SI., IPM**, kak **Athar Manabi Diansyah, S.Pt**, kak **Indra Wahyudi Syarif, S.Pt**, dan kak **Zahra Jinan Fadillah, S.Pt** yang telah banyak membantu penulis dari pra-penelitian sampai skripsi ini selesai dan arahan serta masukan selama di Laboratorium Processing Semen.
9. **Hasrin, S.Pt., M.Si** yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk membantu penulis dalam penampungan semen di Samata *Integrated Farming System*.
10. *Special thanks to* **Sulhadawia Kadir** dan **Nurizzatul Muminah**, teman seperjuangan selama penelitian yang telah bersama-sama selama kurang

lebih 8 bulan bertukar pikiran dan masukan serta kerja sama menyelesaikan penelitian ini.

11. Teman/sahabat seperjuangan penulis anggota Ciwit-ciwitku **Survidia Nur, Sulhadawia Kadir, Silvi, dan Annisa Suba**. Anggota Panglima Rapa-rapa **Haerunnisa, Novita Ripin Palayuk, Siti Nurwalidah, Intan Permata Sari, Asrullah dan Yodi Hardianto** yang telah memberi masukan dan dorongan maupun semangat yang tak henti kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
12. Sahabat yang setia menemani hingga saat ini **Nur Mutmainnah Syam, Azizah Khohiratunnisa, Nurul Alifa M. Asri, Andi Rezky Nurhidayah, Sri Armadani dan Andi Maryam** selalu setia mendengarkan keluh kesah penulis serta mendukung penulis untuk semangat dalam menyelesaikan pendidikan.
14. **Masturi, S.Pt., M.Si , Milawati, S.P** , serta kakak dan teman – teman ASLAB Ternak Perah yang sudah menemani dan mendukung penulis dengan sangat baik.
15. Terima kasih yang juga tak terhingga untuk teman angkatan **CRANE18, HIMAPROTEK-UH, APM19, KOMPAS FAPET-UH, dan UTILMA-UH** yang senantiasa memberi dukungan dan senantiasa menemani penulis dari awal dengan sangat baik dan ikut melancarkan seminar penulis. Serta semua pihak yang turut membantu menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat disebut satu persatu. Penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh

dari kata sempurna, oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi kesempurnaan penulisan ini.

Makassar, Agustus 2022

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, overlapping loops and lines, positioned above the printed name.

Nurul Awalia Putri

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	4
Gambaran Umum Sapi Bali	4
Spermtozoa	5
Viabilitas Spermtozoa	7
Abnormalitas Spermatozoa	9
Metode Swim Up Spermatozoa	13
METODE PENELITIAN	
Waktu dan Lokasi Penelitian	17
Proseduri Penelitian	18
Metode Pelaksanaan	19
Rancangan Penelitian	24
Parameter yang Diukur	25
Analisis Data	26
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Kualitas Semen Segar	27
Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali Setelah Perlakuan	30
Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali Setelah Perlakuan	39
KESIMPULAN DAN SARAN	
Kesimpulan	44
Saran	44

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

RIWAYAT HIDUP

DAFTAR TABEL

No.	<i>Teks</i>	Halaman
1.	Kualitas Semen Segar Sapi Bali	28
2.	Viabilitas Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i>	32
3.	Abnormalitas Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i>	41

DAFTAR GAMBAR

No.	<i>Teks</i>	Halaman
1.	Diagram Alir Prosedur Penelitian	19
2.	Viabilitas Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i>	32
3.	Abnormalitas Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i>	43

PENDAHULUAN

Selama ini upaya pemerintah untuk memenuhi kebutuhan pakan hidup ternak difokuskan terutama pada peningkatan jumlah hasil ternak. Upaya peningkatan jumlah ternak terus dilakukan, tanpa memandang kualitas genetik ternak itu sendiri. Oleh karena itu, untuk mengatasi permasalahan di bidang peternakan perlu dicari jalur yang berbeda baik dalam produksi maupun pembibitan. Untuk itu, segala upaya harus dilakukan untuk memajukan ilmu pengetahuan dan teknologi untuk mendorong para peneliti membuat terobosan baru di bidang peternakan dan pertanian. Hal ini penting bagi masyarakat untuk meningkatkan kesejahteraan dan kualitas hidup, dan sejauh ini upaya pemerintah untuk menjaga keberhasilan peternakan telah berkembang untuk mendorong kemajuan dalam dunia peternakan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan penelitian di bidang reproduksi.

Teknologi reproduksi yang tersedia saat ini ada dalam berbagai bentuk, mulai bantuan perkawinan alami yang sederhana sampai kloning hewan dewasa dengan prosedur yang kompleks. Di negara maju telah lama dikembangkan teknologi reproduksi Inseminasi Buatan (AI=*Artificial Insemination*), Transfer Embrio (TE=*Transfer Embryo*), yang kemudian terus berkembang ke teknologi processing semen (pemisahan spermatozoa X dan Y), Fertilisasi In Vitro (IV=*In Vitro Fertilization*), teknologi Preservasi dan *Criopreservasi* gamet (spermatozoa dan ova) dan embrio. Saat ini sedang dikembangkan teknologi untuk menghasilkan ternak unggul (Afriani, 2018).

Fertilisasi adalah proses penyatuan ovum (sel telur) dengan spermatozoa, dimana proses ini merupakan tahap awal pembentukan embrio. Fertilisasi

merupakan suatu proses yang sangat penting dan merupakan titik puncak dari serangkaian proses yang terjadi sebelumnya. Fertilisasi mempunyai peran dalam penggabungan bahan genetik yang berasal dari spermatozoa dan ovum. Selain itu fertilisasi juga berperan untuk merangsang perkembangan dari hasil fertilisasi. Setelah proses fertilisasi berlangsung, dilanjutkan dengan proses embryogenesis yang meliputi pembelahan zigot, blastulasi, gastrulasi, dan neurulasi, dan proses akhir adalah organogenesis yaitu proses pembentukan organ-organ tubuh (Puja *et al.*, 2010).

Berbagai metode pemilihan sperma termasuk metode *swim-up*. Metode *swim up* digunakan untuk meningkatkan kualitas sperma selama pembuahan sehingga meningkatkan proses fertilisasi. *Swim-up* adalah metode yang murah dan mudah untuk diterapkan dalam menyeleksi sperma motil, untuk mencapai permukaan media setelah inkubasi (Hikmawan, 2016). Teknologi *swim-up* memungkinkan sperma motil dan sperma ditempatkan di bagian atas cairan tubuh sedangkan sperma yang tidak bergerak dan mati tetap berada di media di bagian bawah tabung, bersama dengan puing-puing dari sel epitel uretra, sel darah putih dan sel darah merah yang mati (Mahputra, 2011). Metode *swim-up* ini menggunakan larutan TALP (*Tyroide Albumin Lactate Pyruvate*) dan BO (*Brckett and Oliphant*) sambil mengamati waktu sentrifugasi dan inkubasi.

Sentrifugasi adalah memisahkan sperma dari plasma sperma untuk meningkatkan kualitas sperma, memisahkan sperma yang motil dan tidak bergerak, serta memisahkan komponen plasma sperma yang mempengaruhi kualitas sperma (Plasma sperma) dan plasma sperma lainnya yang dapat mempengaruhi kualitas dan kesuburan sperma (Susilowati, 2010).

Tahap inkubasi merupakan salah satu tahap untuk menentukan keutuhan membran plasma spermatozoa, oleh karena itu dibutuhkan waktu yang tepat dalam proses inkubasi. Proses inkubasi diketahui dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang sangat berbahaya bagi sel sperma. Membran plasma sperma mengandung banyak asam lemak tak jenuh ganda atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang sangat rentan bereaksi dengan radikal bebas. PUFA merupakan komponen utama membran sperma dalam menjaga dan mempertahankan kondisi fisiologis sperma untuk bertahan hidup (Yusrina, 2018).

Faktor lama waktu sentrifugasi dan Inkubasi salah satu penentu keberhasilan metode *swim up* spermatozoa. Sentrifugasi dan Inkubasi dapat mempengaruhi seberapa efektifnya spermatozoa dalam menembus larutan medium dan kualitas spermatozoa yang dihasilkan setelah *swim up*. Semakin singkat waktu sentrifugasi dan dengan spermatozoa dengan metode *swim up* maka akan meningkatkan kualitas semen sapi Bali. Jika waktu inkubasi terlalu lama dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa pada lapisan medium yang selain itu dapat terjadi kerusakan pada sel sperma sehingga menurunkan kualitasnya. Oleh karena itu diperlukan waktu yang tepat untuk menghasilkan spermatozoa dengan kualitas yang baik. Hal inilah yang melatarbelakangi sehingga penting dilakukan usulan penelitian mengenai Pengaruh metode *swim up* dengan lama sentrifugasi dan inkubasi yang berbeda terhadap viabilitas dan abnormalitas Sapi Bali (*Bos sondaicus*).

TINJAUN PUSTAKA

Gambaran Umum Sapi Bali

Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) merupakan sapi asli dari Indonesia yang memiliki jumlah populasi yang besar dan menyebar secara luas (Sarassati dan Kadek., 2015). Sapi Bali merupakan hasil domestikasi dari banteng (*Bos-bibos* banteng) dan memiliki potensi besar untuk memenuhi protein hewani (Dewantari dan Oka, 2020). Sapi Bali memiliki ciri khas yang tidak kalah dengan bangsa sapi lainnya. Peranan sapi Bali sangat penting dalam pembangunan subsektor peternakan melihat kebutuhan daging dalam negeri sangat tinggi (Hoesni, 2015). Sapi Bali memiliki keunggulan dibandingkan dengan sapi lainnya yaitu memiliki angka pertumbuhan yang cepat, adaptasi dengan lingkungan yang baik, dan penampilan reproduksi yang baik. Sapi Bali juga merupakan sapi yang paling banyak di pelihara utamanya pada peternak kecil karena fertilitasnya baik dan angka kematian yang rendah (Purwantara *et al.*, 2012).

Ciri khas sapi Bali adalah postur tubuh kecil, memiliki garis hitam pada punggung yang sering disebut garis belut (sangat jelas saat masih pedet), rambut berwarna coklat kekuningan (merah bata), pada jantan dewasa rambut akan berubah menjadi coklat kehitaman, berwarna putih pada bagian tepi daun telinga bagian dalam, kaki bagian bawah, bagian belakang pelvis dan bibir bawah (Feati, 2011)..Secara umum ciri-ciri fisik sapi Bali yaitu warna rambut kuning kemerah – merahan atau merah bata, mempunyai garis hitam di sepanjang punggung sampai pangkal ekor, kaki bawah lutut dan pantat berwarna putih, warna bulu telinga putih, bulu ekor hitam, moncong kehitaman dan tidak berpunuk (Feati, 2011).

Sapi Bali memiliki karakteristik fenotipe yang unik dibandingkan dengan sapi lainnya. Menurut Pane, (1986) anak sapi jantan hingga sekitar umur 6 bulan berwarna sama dengan sapi betina yaitu merah bata kecoklatan, tetapi dengan semakin tua umurnya akan mulai berubah menjadi coklat kehitaman mulai dari bagian depan tubuh ke belakang. Terdapat warna putih pada bagian belakang paha (pantat), bagian bawah (perut), keempat kaki bawah (white stocking) sampai di atas kuku, bagian dalam telinga, dan pinggiran bibir atas pada sapi Bali jantan dan betina (Hardjosubroto dan Astuti, 1993).

Sebagian besar produksi daging sapi berasal dari bangsa sapi Bali, dimana sapi Bali merupakan sapi khas Indonesia. Sapi Bali merupakan satu dari empat bangsa sapi lokal utama (Aceh, Pesisir, Madura dan Bali) di Indonesia. Sapi Bali merupakan hasil domestikasi langsung dari Banteng liar (Namikawa et al., 1980; Payne dan Hodges, 1997; Martojo, 2003), pendapat tersebut diperkuat oleh ciri khas (*fenotipe*) sapi Bali yang sangat mirip dengan Banteng. Ciri khas tersebut meliputi: warna putih di bagian pantat (*rump*) dan bagian kaki (*stocking*) pada kelamin jantan dan betina, garis hitam di punggung yang terlihat pada jantan muda dan betina, dan perubahan warna rambut pada sapi jantan saat dewasa (umur 2-3 tahun) yang awalnya berwarna merah bata menjadi hitam (Martojo, 2012).

Spermatozoa

Semen adalah cairan kelamin jantan secara normal diejakulasi ke dalam saluran alat kelamin betina pada waktu kopulasi atau dapat ditampung dengan berbagai cara ke dalam tabung untuk keperluan IB (Inseminasi Buatan). Cairan ini mengandung spermatozoan dan cairan asesoris yang di sekresi baik dari kelenjar asesoris maupun dari dinding saluran yang dilewatinya (Feradis, 2010).

Spermatozoid atau sel sperma atau spermatozoa (berasal dari Bahasa Yunani Kuno yang berarti benih dan makhluk hidup) adalah sel dari sistem reproduksi jantan. Sel sperma akan membentuk zigot. Zigot adalah sebuah sel dengan kromosom lengkap yang akan berkembang menjadi embrio (Munarto, 2016). Peran aktif spermatozoon sebagai gamet jantan sehingga penting pada keberhasilan munculnya individu baru oleh karena itu di dalam reproduksi sering diperlukan adanya standar kualitas spermatozoa. Analisis sperma yang dimaksud meliputi pemeriksaan volume semen (ml) yang dapat dilepaskan dari seekor sapi jantan masak kelamin, kekentalan sperma, warna, bau, jumlah spermatozoa mati, motilitas (bila mungkin kemampuan gerak per menit) dan morfologi (ukuran dan bentuk kepala, ukuran ekor, berbagai penyimpangan, ada tidaknya akrosoma). Spermatozoa di produksi oleh testis, spermatogenesis harus berlangsung sempurna agar kualitas sperma yang dihasilkan baik dan dapat maksimal melakukan fertilisasi. Spermatogenesis terjadi melalui beberapa tahapan-tahapan yang spesifik (Munarto, 2016).

Kualitas spermatozoa yang dimaksud adalah spermatozoa yang mempunyai daya hidup tinggi, morfologi normal dan motilitas progresif. Motilitas merupakan kemampuan gerak maju individu spermatozoa di dalam lingkungan zat cair. Pergerakan tersebut penting dalam membantu spermatozoa menembus sel-sel pelindung yang mengelilingi sel telur. Syarat minimal konsentrasi spermatozoa untuk IVF adalah 1 juta sel/ml, motilitas progresif 40%, spermatozoa hidup 40% dan abnormalitas kurang dari 14%. Dalam rangka memenuhi hal tersebut perlu dilakukan seleksi spermatozoa, yaitu memisahkan spermatozoa berkualitas baik dari total populasi (Sujako, 2010).

Pejantan unggul yang baik mempunyai produksi dan kualitas semen yang bagus dengan bobot badan yang tinggi. Salah satu faktor yang mempengaruhi produksi dan kualitas semen adalah bobot badan. Menurut Susilawati, *et al* (1993) produksi dan kualitas semen yang dihasilkan dari seekor pejantan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu bobot badan, umur, sifat genetik, frekuensi ejakulasi, pakan, suhu dan musim. Bobot badan sapi jantan berhubungan erat dengan ukuran testis, pejantan dengan volume testis dan lingkaran skrotum lebih besar menghasilkan spermatozoa yang juga lebih banyak (Khairil, 2016).

Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa. Daya hidup adalah kemungkinan dan kemampuan untuk bisa hidup dari suatu individu. Pemeriksaan viabilitas spermatozoa dapat dijadikan indikator integritas struktur membran spermatozoa (Sukmawati *et al.*, 2014). Viabilitas memiliki korelasi dengan motilitas yang ditentukan oleh kekuatan membran plasma spermatozoa (Azzahra *et al.*, 2016).

Evaluasi ini dilakukan dengan pewarnaan diferensial dengan menggunakan zat pewarna eosin. Dua tetes zat warna ditempatkan pada suatu gelas obyek yang bersih dan hangat (suhu 37°C) kemudian satu tetes kecil semen ditambahkan dan dicampurkan lalu diulas dengan menggunakan gelas obyek lainnya. Perhitungannya berdasarkan perbandingan antara jumlah sperma hidup yang ditandai dengan kepala tidak berwarna dengan total sperma yang diamati dan dinyatakan dalam persen (%). Perlakuan preparat ulas untuk menghitung persentase sperma hidup dilakukan dalam waktu yang singkat maksimal 15 detik (Mumu, 2011)

Hasil pemeriksaan spermatozoa hidup terlihat spermatozoa yang hidup memiliki membran utuh sehingga meskipun lingkungan di sekitarnya berwarna, kepala tetap tidak akan berwarna (transparan) dikarenakan permeabilitas membran masih normal, sedangkan spermatozoa yang mati maka membran tidak mampu untuk mencegah masuknya pewarna karena telah rusak. Sebagai akibatnya, kepala spermatozoa akan berwarna sesuai dengan warna eosin yaitu merah muda (Handayani, 2015).

Handayani (2015) menunjukkan bahwa rata-rata persentase spermatozoa hidup sapi aceh setelah pencucian spermatozoa dengan sentrifugasi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Namun, persentase spermatozoa hidup setelah perlakuan swim up lebih tinggi daripada kontrol. Persentase spermatozoa hidup memperlihatkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara kontrol dengan kelompok perlakuan sentrifugasi dan swim up. Hal ini membuktikan bahwa perlakuan pencucian spermatozoa dengan sentrifugasi dan swim up berpengaruh secara nyata ($P < 0,05$) antara kontrol dengan kelompok perlakuan sentrifugasi dan swim up. Hal ini membuktikan bahwa perlakuan pencucian spermatozoa dengan sentrifugasi dan swim up berpengaruh secara nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase spermatozoa hidup sapi aceh. Persentase spermatozoa hidup pada perlakuan Setelah pencucian dengan swim up (P2) lebih tinggi secara nyata ($P > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Persentase spermatozoa hidup pada kelompok perlakuan Setelah pencucian dengan swim up (P1) lebih rendah secara nyata ($P < 0,05$).

Peningkatan persentase spermatozoa hidup setelah proses pemisahan dengan swim up diakibatkan oleh terpisahnya spermatozoa yang mati dengan yang hidup. Spermatozoa yang hidup dapat bermigrasi keluar dari pelet menuju ke

permukaan medium, sedangkan spermatozoa yang mati tetap berada pada lapisan bawah. Pada penelitian ini spermatozoa yang diperiksa adalah spermatozoa yang berada pada suspensi bagian permukaan saja. Hasil pemeriksaan viabilitas yang didapatkan setelah pencucian dengan sentrifugasi selama 5 menit (P1) yaitu $68,40 \pm 2,07$ sedangkan setelah pencucian dengan swim up selama 5 menit (P2) $74,00 \pm 2,92$. Hasil ini ditegaskan pula oleh Correa *et al.* (1996), yang menyatakan bahwa spermatozoa yang berasal dari hasil thawing semen beku kemudian diinkubasi selama 20-30 menit dapat menunjukkan perbaikan viabilitas yang maksimal (Handayani, 2015).

Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan. Salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh lagi dapat menyebabkan gagal bunting (Trilaksana *et al.*, 2015). Abnormalitas struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan (Afiati *et al.*, 2015).

Abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada kepala, badan dan ekornya jumlah spermatozoa abnormal dapat dihitung dari pemeriksaan sekitar seratus sampai dua ratus sel. Kelainan kelainan tersebut terbagi atas tiga kelompok yaitu spermatozoa disebabkan abnormalitas primer, sekunder dan tersier. Abnormalitas

primer biasanya terjadi pada tempat produksi spermatozoa yaitu tubuli seminiferi, sedangkan abnormalitas sekunder biasanya terjadi karena faktor transportasi spermatozoa dari tubuli semeniferi sampai terejakulasinya spermatozoa. Abnormalitas primer ditandai oleh kepala yang terlampau kecil (*microcephalic*) atau terlalu besar (*macrocephalic*), kepala yang lebar, ekor atau badan berganda. Abnormalitas sekunder ditandai dengan adanya butiran protoplasma pada pangkal ekor sperma tepatnya di caput epididymis. Abnormalitas tersier ditandai dengan ekor putus, ekor melingkar, dan kepala membesar yang disebabkan oleh faktor lingkungan. abnormalitas sperma telah dikelompokkan menjadi 3 yaitu abnormalitas primer, abnormalitas sekunder, dan abnormalitas tersier (Danang *et al.*, 2012).

1. Abnormalitas primer ditandai dengan kepala terlampau besar (*macrocephalic*), kepala terlampau kecil (*microcephalic*), kepala yang lebar, ekor dan badan yang berganda. Abnormalitas primer biasanya terjadi pada tempat produksi spermatozoa yaitu tubuli seminiferi, sedangkan abnormalitas sekunder biasanya terjadi karena faktor transportasi spermatozoa dari tubuli semeniferi sampai terejakulasinya spermatozoa. Abnormalitas primer salah satu kelainan pada sperma yang disebabkan oleh kelainan fisik yang terjadi pada saat proses pematangan spermatozoa didalam tubuli seminiferi, serta pada saat perjalanan spermatozoa melalui saluran organ kelamin jantan (Fitriani, 2010). Beberapa sebab terjadinya abnormalitas primer dikarenakan kegagalan proses spermatogenesis dan spermiogenesis, faktor genetik dan kondisi lingkungan yang tidak sesuai

2. Abnormalitas sekunder yang dapat ditandai dengan adanya butiran protoplasma pada pangkal ekor sperma tepatnya terjadi pada saat di caput epididymis. pada abnormal sekunder kemungkinan disebabkan karena kesalahan preparasi ataupun pada saat ejakulasi.
3. Abnormalitas tersier yang ditandai dengan ekor putus, ekor melingkar, dan kepala membesar. Beberapa hal yang dapat menjadikan spermatozoa abnormal tersier karena pembuatan preparat ulas yang menyebabkan kepala atau ekor spermatozoa putus.

Puspiatasari (2015) menyatakan bahwa hasil sentrifugasi 5 menit memiliki rata-rata abnormalitas yang lebih rendah daripada sentrifugasi 7 menit. Hal ini disebabkan oleh gaya sentrifugal yang terjadi saat sentrifugasi yang menyebabkan dinding tabung dan medium atau dinding sel berbenturan, akibat benturan tersebut spermatozoa mengalami kerusakan. Susilawati (2000) bahwa spermatozoa setelah mengalami sentrifugasi tampak adanya jarak antara kepala dan ekor juga tampak terkelupasnya membran kepala maupun ekor. Spermatozoa yang abnormal akan menurunkan tingkat motilitasnya, hal ini disebabkan spermatozoa yang abnormal tidak dapat bergerak progresif. Kusumawati (2016) Peningkatan abnormalitas spermatozoa selama proses pendinginan disebabkan oleh adanya perubahan tekanan *osmose* karena adanya pengeluaran ion-ion, dehidrasi yang hebat menyebabkan sel mengkerut dan akan merusak membran sel.

Anwar (2019) bahwa Rataan persentase abnormalitas spermatozoa kambing Boer pada lapisan X sama dengan persentase abnormalitas semen segar dan tidak terdapat perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan, namun pada lapisan Y persentase abnormalitas menurun setelah pemisahan menggunakan medium BSA

(*Bovine Serum Albumun*) dan SG (*Spermgrad*) dengan lama waktu inkubasi 40, 50, dan 60 menit. Penurunan persentase pada lapisan Y diakibatkan oleh kemampuan gerak spermatozoa abnormal yang tidak dapat menembus lapisan bawah karena pengaruh viskositas yang lebih kental, sehingga spermatozoa abnormal lebih sedikit ditemukan pada lapisan bawah. Penelitian ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa setelah *sexing*. Persentase abnormalitas yang menggunakan medium BSA dengan lama inkubasi 40, 50, dan 60 menit berbeda nyata ($P>0,05$) dengan perlakuan yang menggunakan SG dengan lama inkubasi 60 menit, tapi tidak berbeda nyata dengan medium SG dengan lama inkubasi 40 dan 50 menit.

Rataan persentase abnormalitas spermatozoa kambing Boer pada lapisan X sama dengan persentase abnormalitas semen segar dan tidak terdapat perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan, namun pada lapisan Y persentase abnormalitas menurun setelah pemisahan menggunakan medium BSA (*Bovine Serum Albumun*) dan SG (*Spermgrad*) dengan lama waktu inkubasi 40, 50, dan 60 menit. Penurunan persentase pada lapisan Y diakibatkan oleh kemampuan gerak spermatozoa abnormal yang tidak dapat menembus lapisan bawah karena pengaruh viskositas yang lebih kental, sehingga spermatozoa abnormal lebih sedikit ditemukan pada lapisan bawah. Penelitian ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa setelah *sexing*. Persentase abnormalitas yang menggunakan medium BSA dengan lama inkubasi 40, 50, dan 60 menit berbeda nyata ($P>0,05$) dengan perlakuan yang menggunakan SG dengan lama inkubasi 60 menit, tapi tidak berbeda nyata dengan medium SG dengan lama inkubasi 40 dan 50 menit. plasma, karena terjadi perubahan dalam permeabilitas,

ketidakaktifan enzim, dan bahkan kematian sel. Spermatozoa di bawah kondisi aerobik sangat sensitif terhadap bahaya oksidatif karena tingginya kandungan asam lemak tak jenuh dan rendahnya secara relatif level enzim antioksidan (Guamares *et al.*, 2014).

Metode *Swim Up* Spermatozoa

Swim up adalah tata cara siapan yang memungkinkan spermatozoa motil dapat bermigrasi ke permukaan media segar (WHO, 1999). Pemisahan spermatozoa dengan swim up didasarkan atas perbedaan kecepatan renang spermatozoa ke luar dari pelet menuju ke permukaan media (Handayani, 2015). Metode persiapan spermatozoa yang ideal adalah teknik yang melibatkan penghilangan plasma semen secara efisien, cepat dan murah, tidak menyebabkan terjadinya kerusakan pada spermatozoa, mampu mengeliminasi faktor dekapasitasi atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) serta mampu meningkatkan jumlah spermatozoa yang memiliki kemampuan fertilisasi. Meskipun plasma semen melindungi spermatozoa dari kondisi stres, namun plasma semen mengandung faktor-faktor yang menghambat kemampuan fertilisasi spermatozoa dan mengurangi induksi kapasitas (Donnelly *et al.*, 2001). Swim up merupakan salah satu metode persiapan spermatozoa dalam fertilisasi *in vitro* yang menyeleksi spermatozoa dengan motilitas tinggi yang mencapai permukaan media setelah diinkubasi. Metode *swim up* berdasarkan pada pergerakan aktif spermatozoa dari pelet pada dasar media menuju permukaan media (Henkel dan Schill, 2003).

Swim up merupakan metode yang murah dan mudah dalam pelaksanaannya (Henkel & Schill, 2003) dimana metode ini menyeleksi spermatozoa dengan motilitas tinggi yang dapat mencapai permukaan media setelah diinkubasi (Wolf *et*

al., 2008). Metode swim up dilakukan untuk memisahkan spermatozoa motil dari spermatozoa yang tidak motil, spermatozoa mati, serta menginisiasi kapasitas (Centola et al., 1998). Penerapan metode *swim up* diharapkan mampu menjadi salah satu metode untuk meningkatkan kemampuan fertilisasi in vitro spermatozoa beku dari kauda epididimis pasca penyimpanan.

Teknik *swim up* Metode paling awal dan tetap menjadi satu-satunya metode yang paling banyak digunakan, untuk memisahkan sperma motil dari non motil dan reruntuhan sel-sel adalah teknik menaikan sperma dari bawah atau berenang keatas dari Swim-up melibatkan lapisan medium secara langsung terhadap sampel air mani, dan migrasi berikutnya dari sperma motil kedalam medium (Hadodjojo, 2015).

Medium yang diperlukan untuk pencucian spermatozoa harus mengandung zat makanan sebagai pengganti hilangnya plasma semen, mampu mempertahankan pH dan tidak bersifat racun terhadap spermatozoa). Medium *Brackett and Oliphant's* (BO) merupakan medium fisiologis yang dapat digunakan untuk pencucian spermatozoa, disamping medium BO mengandung glukosa dan sodium pyruvat sebagai bahan nutrisi, di dalam medium BO juga terdapat medium *Bovine Serum Albumin* (BSA) yang berfungsi sebagai medium buffer untuk keseimbangan asam basa (Suherni, 2011).

Medium TALP (*Tyroide Albumin Lactate Pyruvate*) akan dihasilkan oosit yang terferilisasi 84,3% dan derajat pembelahan (*cleavage rate*) sebesar 56,9% lebih tinggi dibandingkan kapasitas menggunakan medium BO (Brackett and Oliphant), dihasilkan 64,4% oosit yang difertilisasi dan derajat pembelahan 23,3%. Walaupun komposisi medium BO mirip dengan TALP, tetapi pada medium TALP

mengandung Na laktat, *hypotaurine* dan *epinephrine* yang ternyata efektif dalam meningkatkan kapasitas spermatozoa secara in vitro (Triwulaningsih, 2012).

Sentrifugasi merupakan suatu cara menyingkirkan komponen-komponen plasma sperma (seminal plasma) serta unsur plasma sperma lainnya yang dapat mempengaruhi kualitas dan daya fertilitas spermatozoa. Kualitas spermatozoa hasil sexing dari sapi Limousin diperoleh hasil bahwa pada perlakuan 5 menit waktu sentrifugasi memperlihatkan bahwa rata-rata total spermatozoa motil dilapisan atas memiliki jumlah lebih banyak dibandingkan lapisan bawah, sedangkan pada perlakuan 7 menit rata-rata total spermatozoa motil lapisan bawah lebih tinggi dibandingkan lapisan atas (Fatahillah *et al.*, 2016).

Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan spermatozoa dengan plasma sperma, sehingga dapat meningkatkan kualitas sperma dan memisahkan spermatozoa yang motil dan yang tidak motil serta memisahkan komponen plasma seminalis yang mempengaruhi kualitas spermatozoa. Waktu sentrifugasi dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa yang dihasilkan. Sentrifugasi bertujuan untuk memungkinkan terjadinya proses pemisahan dengan baik, karena dengan adanya seminal plasma, pemisahan sperma dengan kolom pemisah yang berbeda viskositasnya akan sulit, karena dapat terjadi 'jeblos' sehingga tidak terpisah dengan baik (Sianturi dan Kusumaningrum, 2007).

Proses sentrifugasi menyebabkan pergesekan secara mekanik antara sel spermatozoa dengan medium pemisah yang menyebabkan kerusakan struktur sel membran dengan gangguan metabolisme dan akan menurunkan kualitas mencapai 20%. Selain itu terjadi gesekan antara spermatozoa dan 8 medium pemisah yang mengakibatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan berpengaruh

terhadap kualitas spermatozoa. Oleh sebab itu, untuk spermatozoa yang di sexing dengan gradien albumin putih telur dibutuhkan pengencer yang dapat melindungi membran spermatozoa agar kualitasnya tetap baik. Sentrifugasi berulang-ulang dengan laju yang semakin tinggi akan menghasilkan ekstrak sel yang terpilah menurut komponennya. Proses sentrifugasi yang berakibat pada pengurangan konsentrasi plasma semen dan medium pengencer merupakan salah satu penyebab turunnya motilitas bila dihubungkan dengan ketersediaan energi spermatozoa (Susilawati, 2013).

Waktu Inkubasi yang terlalu lama dapat mengurangi kemampuan oosit berkembang karena sperma yang terlalu lama dapat mengurangi kemampuan oosit berkembang karena sperma mempunyai potensi untuk melepaskan enzim hidrolitik kedalam medium fertilisasi (Syarif, 2011). Waktu inkubasi atau Lama penyimpanan berpengaruh menurunkan spermatozoa hidup terutama yang disimpan dari 0 ke-4 jam, sedangkan dari 0 ke-2 jam dan dari 2 jam ke-4 jam tidak begitu berpengaruh menurunkan spermatozoa hidup. Tidak berpengaruhnya waktu inkubasi 0 dengan 2 jam dan 2 dengan 4 jam terhadap spermatozoa hidup diduga interval waktu pengamatan terlalu pendek, sehingga akan menghambat aktifitas metabolisme yang selanjutnya akan mengurangi hasil ikutan metabolisme sperma. Namun demikian dari angka rataan spermatozoa hidup masih tetap mengalami penurunan . (Akhdiat, 2012)

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

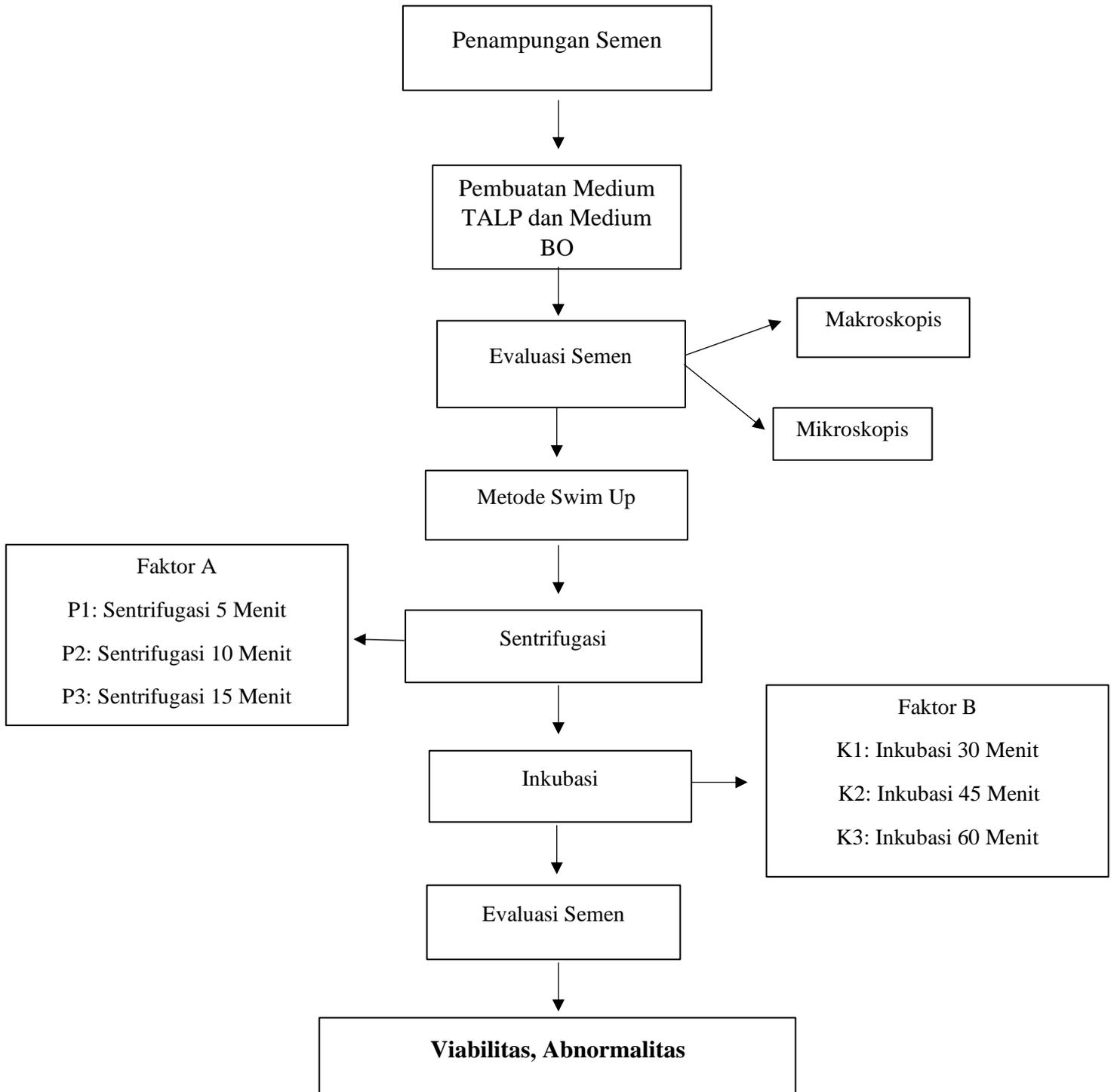
Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2022 di Laboratorium Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin Makassar dan di Samata *Integrated Farming System* kelurahan Samata, kecamatan Somba Opu, kabupaten Gowa

Materi Penelitian

Materi pada penelitian ini menggunakan 2 ekor sapi Bali, satu pejantan dan satu betina yang dikandangkan pada kandang individu dan diberi pakan berupa hijauan dan konsentrat. Alat yang digunakan antara lain vagina buatan, corong, tabung ukur, *plastic gloves*, CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*), gelas ukur, *object glass*, *cover glass*, mikroskop, mikropipet ukuran 10 ul, 100 ul, 1000 ul, *microtube*, sentrifugator, inkubator, pipet tetes, pipet ukur, *tissue*, rak tabung, bunsen, spiritus, *counter*, pH meter dan tip (putih, kuning dan biru), tabung reaksi, dan *Vortex*.

Bahan yang digunakan yaitu semen segar, air panas, *vaseline*, eosin 2%, alkohol 70%, *aquabides*, NaCl 1,4600 g, KCl 0,0577 g, NaHCO₃ (*Sodium Bicarbonate*) 0,5250 g, NaH₂PO₄·2H₂O (*Sodium Dihydrogen Phosphate*) 0,0100 g, Glukosa 0,6250 g, Hepes 0,5950 g, *Pyruvate* 0,0275 g, *Phenol Red* 0,0025 g, CaCl₂·2H₂O (*Kalsium klorida dihidrat*) 0,0735 g, MgCl₂·6H₂O (*Magnesium Chloride Hexahydrate*) 0,0762 g, BSA 1,5 g.

Prosedur Penelitian



Gambar 1. Diagram Alir Penelitian

Metode Pelaksanaan

Penampungan Semen. Penampungan semen sapi Bali dilakukan di Samata Integrated Farming System, Kelurahan Samata, Kecamatan Somba Opu, Kabupaten Gowa dengan penampungan seminggu dua kali, kemudian menyiapkan alat penampungannya berupa vagina buatan. Vagina buatan tersebut diisi dengan air hangat agar suhunya sama dengan suhu tubuh betina. Lalu, meniup vagina buatan tersebut hingga karetnya mengembang untuk menyamakan dengan kondisi vagina yang sempit. Setelah itu, mengoleskan *Vaseline* pada bagian dalam dari vagina buatan. Selanjutnya, memasang tabung yang dihubungkan dengan karet atau selongsong pada bagian bawah vagina buatan sebagai tempat menyimpan semen. Semen yang telah dikoleksi di bawa ke laboratorim untuk pengujian kualitas semen (Fadillah, 2021).

Pembuatan Medium TALP dan BO

1. Pembuatan medium Talp dilakukan sehari sebelum percobaan yaitu dengan menyiapkan alat dan bahan. Pertama-tama yang akan dilakukan yaitu dengan menimbang bahan-bahan yang akan digunakan kemudian mencampurkan setiap bahan per 10 ml larutan aquabides ke dalam tabung reaksi setelah itu *vortex* hingga homogen. Setelah bahan di *vortex* semua yaitu bahan pertama yang akan dicampurkan yaitu NaCl, KCl, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Kalsium klorida dihidrat) dan $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (*Magnesium Chloride Hexahydrate*) kemudian homogenkan setelah itu bahan kedua yaitu NaHCO_3 (*Sodium Bicarbonate*), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*Sodium Dihydrogen Pphosphate*) kemudian homogenkan, setelah itu bahan ketiga yaitu Hapes, *Pyruvate*, *Phenol red*, kemudian homogenkan lagi selanjutnya

mencampurkan larutan terakhir yaitu *Na Lactate* lalu *vortex* hingga homogen. Kemudian menegecek pH larutan yaitu (6-7 pH suhu netral) larutan di simpan ke dalam lemari pendingin agar suhu tetap netral. Jika larutan ingin digunakan sebaiknya dipanaskan terlebih dahulu.

2. Pembuatan medium BO akan dilakukan sehari sebelum percobaan yaitu dengan menyiapkan alat dan bahan. Pertama-tama hal yang akan dilakukan yaitu menimbang bahan-bahan yang akan digunakan kemudian mencampurkan setiap bahan per 10 ml larutan aquabides ke dalam tabung reaksi setelah itu *vortex* hingga homogen. Setelah bahan di *vortex* semua yaitu bahan pertama yang akan dicampurkan yaitu NaCl, KCl, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Kalsium klorida dihidrat) dan $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (*Magnesium Chloride Hexahydrate*) kemudian homogenkan setelah itu bahan kedua yaitu NaHCO_3 (*Sodium Bicarbonate*), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*sodium dihydrogen phosphate*) kemudian homogenkan, setelah itu bahan ketiga yaitu hepes, *pyruvate*, *phenol red*, kemudian homogenkan lagi selanjutnya mencampurkan larutan terakhir yaitu glukosa lalu *vortex* hingga homogen. Kemudian menegecek pH larutan yaitu (6-7 pH suhu netral) larutan di simpan ke dalam lemari pendingin agar suhu tetap netral. Jika larutan ingin digunakan sebaiknya dipanaskan terlebih dahulu.

Evaluasi Semen

a. Makroskopis

Menurut Nahriyanti (2017) kualitas semen secara makroskopis yaitu terbagi atas:

Warna. Semen yang normal mempunyai warna putih susu sampai kekuningan yang disebabkan karena adanya kandungan riboflavin di dalam semen. Bila warnanya coklat kemerahan berarti sperma tersebut telah bercampur dengan darah atau nanah karena adanya luka pada saluran kelamin. Bila berwarna hijau kekuningan disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan jika sperma berwarna coklat muda atau hijau biasanya sperma tersebut tercampur dengan kotoran ternak (feses) (Susilawati, 2013).

Bau. Bau semen sapi yaitu khas semen yang menunjukkan bahwa semen tersebut normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan prosesing semen (Aini *et al.*, 2014).

Volume. Volume semen adalah banyaknya semen (ml) yang diejakulasikan oleh seekor ternak. Volume semen berbeda-beda antar ternak. Hal ini dipengaruhi, antara lain oleh umur sapi, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas makanan, dan frekuensi penampungan. Selain itu, teknik dan metode penampungan serta persiapan alat penampungan akan mempengaruhi volume semen yang dihasilkan (Arifiantini, 2005).

Derajat Keasaman (pH). Derajat keasaman (pH) diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar menggunakan mikropipet dan diletakkan pada kertas lakmus, selanjutnya dilihat pH semen dengan menggunakan pH *indicator paper*, pH normal semen 6,4-7,8 (Fadillah, 2021). Namun, dapat juga menggunakan pH meter dengan cara mencelupkan alat sensor pH ke dalam larutan yang akan diamati. Konsistensi.

Konsistensi. semen adalah derajat kekentalan semen dapat diperiksa dengan cara menggoyangkan tabung yang berisi semen. Semen yang baik, derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu, sedangkan semen

yang jelek, baik warna maupun kekentalannya sama dengan air buah kelapa (Garner dan Hafez, 2000).

b. Mikroskopis

Motilitas, motilitas progresif dan pola pergerakan, Pengujian motilitas, motilitas progresif dan pola pergerakan dapat dilakukan dengan menggunakan CASA dengan pembesaran 20 x 10. Dengan mengambil 10 mikron semen yang sudah di encerkan dan meneteskan pada objek glass dan di tutup dengan cover glass lalu di amati di bawah mikroskop (Fadillah, 2021).

Viabilitas. Viabilitas merupakan persentase hidup spermatozoa, perhitungan viabilitas dapat dilakukan dengan cara memberi warna pada semen. Pewarnaan semen ini menggunakan larutan eosin 2 % yang telah di campur dengan 0,01 ml semen lalu di ulas diatas prepat dan dikeringkan. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 400 kali, spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah eosin, perhitungan viabilitas ini sebanyak 200 sel spermatozoa, Persentase spermatozoa hidup dapat dihitung menggunakan rumus persentase spermatozoa hidup dibagi spermatozoa mati dikali 100 persen (Tambing dkk, 2000)

Abnormalitas. Pengujian viabilitas dan abnormalitas dilakukan dengan menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 40 x 10. Dengan mencampur semen yang sudah di encerkan dengan satu tetes pewarna eosin lalu diulas dan di fiksasi beberapa detik diatas spirtus. Abnormalitas morfologi spermatozoa dapat terjadi pada kepala, badan dan ekor (Fadillah, 2021).

Konsentrasi. Pengujian konsentrasi pada semen dilakukan dengan menggunakan alat *spekrophotometer*, dilakukan dengan mencampurkan 3,5 ml aquabides dengan 35 mikron semen yang ingin diukur dalam sebuah kuvet

Konsistensi

Metode *Swim Up*

Pemisahan Spermatozoa dengan Metode *Swim Up* menurut (Diansyah, 2020) yaitu dengan menggunakan perbandingan 1:8. Semen sebanyak 0,1 ml dan 0,7 ml larutan BO ataupun larutan TALP kedalam *microtube* lalu mendiamkan selama 10 menit. Setelah itu dilakukan Sentrifugasi, sentrifugal menggunakan prinsip dimana objek diputar secara horizontal pada jarak tertentu. Apabila objek berotasi di dalam tabung atau silinder yang berisi campuran cairan dan partikel, maka campuran tersebut dapat bergerak menuju pusat rotasi, namun hal tersebut tidak terjadi karena adanya gaya yang berlawanan yang menuju kearah dinding luar silinder atau tabung, gaya tersebut adalah gaya sentrifugasi demi mendapatkan pellet sperma. Sentrifugasi yang digunakan yaitu dengan 9 perlakuan sentrifugasi 5 menit, sentrifugasi 10 menit dan sentrifugasi 15 menit 3 kali ulangan dengan kecepatan 1800 Rpm setelah melakukan setrifugasi selanjutnya Inkubasi. Pada tahap inkubasi yaitu untuk menentukan keutuhan viabilitas dan abnormalitas, oleh karena itu dibutuhkan waktu yang tepat dalam proses inkubasi. Inkubasi yaitu untuk mendapatkan sperma unggul. Setelah dilakukan sentrifugasi kemudian diinkubasikan masing-masing perlakuan selama 30 menit, 45 menit, 60 menit pada suhu 37°C.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan 9 perlakuan dan 3 kali ulangan.

Faktor A lama sentrifugasi, diantaranya yaitu:

P1 = Lama Sentrifugasi Metode *Swim Up* spermatozoa selama 5 menit

P2 = Lama Sentrifugasi Metode *Swim Up* spermatozoa selama 10 menit

P3 = Lama Sentrifugasi Metode *Swim Up* spermatozoa selama 15 menit

Faktor B lama inkubasi, diantaranya yaitu:

K1 = Lama Inkubasi Metode *Swim Up* spermatozoa selama 30 menit

K2 = Lama Inkubasi Metode *Swim Up* spermatozoa selama 45 menit

K3 = Lama Inkubasi Metode *Swim Up* spermatozoa selama 60 menit

Model linier untuk penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

$i = 1, 2, 3$

$j = 1, 2, 3$

$k = 1, 2, 3$

Keterangan:

Y_{ijk} = Pengamatan faktor A pada taraf ke-i, faktor B pada taraf ke-j dan ulangan ke-k

μ = Rataan umum

α_i = Pengaruh faktor A pada taraf ke-i

β_j = pengaruh faktor B pada taraf ke-j

$\alpha\beta_{ij}$ = Interaksi faktor A pada taraf ke-I dan faktor B pada taraf ke-j

e_{ijk} = Pengaruh galat pada faktor A taraf ke-I, faktor B taraf ke-j dan ulangan ke-k

Parameter yang Diamati

a. Viabilitas

Pemeriksaan terhadap viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan 1 tetes spermatozoa pada objek glass dan menambahkan satu tetes pewarnaan eosin. Membuat preparat ulas dan fiksasi diatas spritus. Setelah itu lakukan pemeriksaan menggunakan Mikroskop Trinokuler dengan pembesaran 40×10. Spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna eosin sehingga akan berwarna merah atau merah muda akibat permeabilitas dinding sel meninggi pada sel spermatozoa yang mati (Septiyani, 2012). Spermatozoa yang diamati maksimal sebanyak 200 sel dengan 5 lapang pandang dan penentuan persentase spermatozoa yang hidup digunakan rumus yang diterapkan oleh (Fadillah, 2021) yakni:

$$\% \text{ Spermatozoa hidup} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Hidup}}{\text{Sperma Diamati}} \times 100\%$$

b. Abnormalitas

Abnormalitas dilakukan dengan cara meneteskan 1 tetes semen di objek glas dan ditambahkan dengan satu tetes pewarnaan eosim lalu di ulas, setelah dilakukan pemeriksaan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x10 dengan jumlah spermatozoa 200 sel ditandai dengan tanpa kepala, kepala tanpa ekor, ekor melingkar, kepala ganda (Fadillah 2021) yakni:

$$\% \text{ Spermatozoa Abnormal} = \frac{\text{Jumlah Abnormal Spermatozoa}}{\text{Sperma Diamati}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian kualitas spermatozoa hasil *swim up* dianalisis secara statistik dengan analisis ragam atau analisis varian (ANOVA) satu arah. Perlakuan yang berpengaruh terhadap perubahann yang dievaluasi dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Sapi Bali

Semen segar yang telah didapatkan dari proses penampungan dan dilakukan pemeriksaan kualitas secara makroskopis dan mikroskopis merupakan penentu penting sebelum pengolahan semen lebih lanjut. Hasil evaluasi semen segar sapi Bali dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen segar sapi Bali

Pengamatan	Parameter	Rataan
Makroskopis	Volume (ml) (\pm SD)	5.83 \pm 0,28
	Bau	Khas
	Warna	Krem
	Konsistensi	Agak kental
	pH	6.25 \pm 0.25
Mikroskopis	Motilitas (%) (\pm SD)	92.76 \pm 2.97
	Motilitas Progresif (%)	85.42 \pm 3.12
	Viabilitas (%) (\pm SD)	93.66 \pm 3.21
	Abnormalitas (%) (\pm SD)	3.8 \pm 2.78
	Konsentrasi (10 ⁶ /ml) (\pm SD)	1766.6 \pm 152.7

Berdasarkan Tabel 1 kualitas semen segar sapi Bali pada pengujian makroskopis dihasilkan rata-rata volume 5,83 \pm 0,25 ml volume ini cukup untuk sapi pada umumnya dan masih berada pada kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Waluyo (2014) bahwa adanya perbedaan perolehan volume semen dapat disebabkan oleh umur, ukuran tubuh dan frekuensi penampungan semen, meskipun volume yang rendah tidak akan merugikan selama konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan tidak rendah. Hartanti *et al* (2012) yang menyatakan bahwa kisaran normal volume semen sapi berkisar antara 3,2 – 7,3 ml. Perbedaan volume semen pada sapi jantan juga disebabkan karena faktor umur yaitu sapi jantan muda