

**SKRIPSI**

**PENGARUH WAKTU EKUILIBRASI DAN WAKTU *PRE-FREEZING*  
TERHADAP MOTILITAS DAN POLA PERGERAKAN  
SPERMATOZOA SAPI BALI**

**Disusun dan diajukan oleh**

**KIKI RAMADANI  
I011 18 1328**



**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**

**PENGARUH WAKTU EKUILIBRASI DAN WAKTU *PRE-FREEZING*  
TERHADAP MOTILITAS DAN POLA PERGERAKAN  
SPERMATOZOA SAPI BALI**

**SKRIPSI**

**KIKI RAMADANI  
I011 18 1328**

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

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2022**



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH WAKTU EKUILIBRASI DAN WAKTU *PRE-FREEZING*  
TERHADAP MOTILITAS DAN POLA PERGERAKAN  
SPERMATOOZA SAPI BALI

Disusun dan diajukan oleh

**KIKI RAMADANI**  
**I011 18 1328**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Peternakan Fakultas  
Peternakan Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal 25 Oktober 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Pembimbing Utama	Menyetujui	Pembimbing Anggota
 <u>Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU</u> NIP. 19700725 199903 1 001		 <u>Dr. Muhammad Hatta, S.Pt., M.Si</u> NIP. 19691231 200501 1 013



Peternakan

Dr. Ir. Sri Purwanti, S.Pt., M.Si., IPM ASEAN.Eng  
NIP. 19751101 200312 2 002

## LEMBAR KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Kiki Ramadani  
NIM : I011181328  
Program Studi : Peternakan  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

### **Pengaruh Waktu Ekuilibrasi dan Waktu *Pre-freezing* terhadap Motilitas dan Pola Pergerakan Spermatozoa Sapi Bali**

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, November 2022



Kiki Ramadani

## ABSTRAK

**Kiki Ramadani.** I011 18 1328. Pengaruh Waktu Ekuilibirasi dan *Pre-freezing* terhadap Motilitas dan Pola Pergerakan Spermatozoa Sapi Bali. Pembimbing utama: **Muhammad Yusuf** dan pembimbing anggota: **Muhammad Hatta**.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu ekuilibirasi dan *pre-freezing* yang optimal terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa. Metode penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan 2 faktor, yaitu faktor A lama ekuilibirasi dengan 3 ulangan; A1= 2 jam, A2= 4 jam, A3= 6 jam dan faktor B Lama *pre-freezing* dengan 3 ulangan; B1= 5 menit, B2= 10 menit, B3= 15 menit. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali. Pengamatan motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali menggunakan CASA dengan pembesaran 40×10. Hasil Penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali. Motilitas dan pola pergerakan tertinggi berada pada perlakuan ekuilibirasi 4 jam dan *pre-freezing* 10 menit (A2B2) yaitu 58,69%, DCL 39,61%, DAP 19,59%, DSL, 13,00%, VCL 92,80%, VAP 49,45% dan 36,91%. Kesimpulan penelitian yaitu pengaruh Waktu Ekuilibirasi dan waktu *pre-freezing* berpengaruh nyata terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali. Waktu Ekuilibirasi 4 jam dan waktu *pre-freezing* 10 menit merupakan waktu yang optimal dan dapat mempertahankan kualitas spermatozoa sapi Bali.

**Kata Kunci:** Sapi Bali, Ekuilibirasi, *Pre-freezing*, Motilitas.

## Abstract

**Kiki Ramadani.** I011 18 1328. Effect of Equilibration and Pre-freezing Time on Motility and Movement Pattern of Bali Bull Sperms. By **Muhammad Yusuf** and **Muhammad Hatta.**

The purpose of this study was to determine the optimal equilibration and pre-freezing time on the motility and movement patterns of spermatozoa. This study was using a completely randomized design with a factorial pattern with 2 factors; factor A equilibration time with 3 replications; A1 = 2 hours, A2 = 4 hours, A3 = 6 hours and factor B duration of pre-freezing with 3 replications; B1= 5 minutes, B2= 10 minutes, B3= 15 minutes. The parameters observed in this study were motility and movement patterns of spermatozoa in Bali bulls. CASA with 40×10 magnification was used to observe the motility and movement patterns of Bali bull sperms. The results of this study showed that the treatment had a significant effect ( $P < 0.01$ ) on the motility and movement pattern of the Bali bull sperms. The highest motility and movement patterns were in the (A2B2) equilibration treatment 4 hours and 10 minutes pre-freezing; 58.69%, DCL 39.61%, DAP 19.59%, DSL, 13.00%, VCL 92.80%, VAP 49.45% and 36.91%, respectively. The conclusion of the study was that the effect of equilibration time and pre-freezing time had a significant effect on the motility and movement patterns of Bali bull sperms. Equilibration time of 4 hours and pre-freezing time of 10 minutes was the optimal time and could maintain the quality of Bali bull sperms.

Keywords: Bali bull, Equilibration, Pre-freezing, Motility.

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Waktu Ekuilbrasi dan Waktu Pre-Freezing terhadap Motilitas dan Pola Pergerakan Spermatozoa Sapi Bali” tepat pada waktunya. Berbagai kesulitan yang dihadapi penulis dalam penyusunan Skripsi ini, namun berkat dukungan dan doa dari berbagai pihak sehingga kesulitan yang dihadapi dapat dilewati. Oleh sebab itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Orang tua penulis **Syahi dan Sumiati** yang banyak memberikan dukungan baik secara moril, materil, spiritual selama kuliah hingga menyelesaikan Skripsi ini.
2. Bapak **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** selaku pembimbing utama dan **Dr. Muhammad Hatta, S.Pt., M.Si** selaku pembimbing anggota, sehingga yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam penusunan Skripsi.
3. Bapak **Dr. Ir. Zulkharnaim, S.Pt., M.Si., IPM** dan Ibu masturi **Masturi, S.Pt., M.Si** selaku penguji yang telah mana telah memberikan arahan dan masukan yang membangun untuk penulisan Skripsi.
4. **Prof. Dr. Ir. Abd. Latief Tolleng, M.S.c** selaku pimpinan CV *Samata Integrated farming system* yang telah mengizinkan kami mengambil sampel penelitian.

5. **Kakanda Atthar Diansyah S.Pt., dan kakanda Hasrin S.Pt. M.Si** Terima kasih atas segala bantuannya dalam mengarahkan dan membimbing penulis dalam penyusunan Skripsi ini.
6. Saudara saudara Penulis Kak **Hijriani S. Or.**, Kak **Awal** dan Adik **Muh Alif**
7. Bestieeku **Tri Fitrasari dan Irma** Terima kasih atas kebersamaannya yang mewarnai masa-masa perkuliahan.
8. Teman Seperjuangan dalam melaksanakan **Praktek Kerja Lapangan (Rajamuddin, Yodi Hardianto, Nurul Awaliah Putri, Jumriani, Nur Izzatul Muminah, dan Sulhadawiah Kadir)** Terima kasih atas segala bantuannya dalam penyelesaian makalah ini.
9. Teman-teman seangkatan 2018, mereka adalah **CRANE18** yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terima kasih telah kebersamaian perkuliahan ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Skripsi ini tidak lepas dari kekurangan dan kesempurnaan, untuk itu penulis memohon maaf atas kekurangan tersebut. Maka dari itu, penulis berharap masukan dari semua pihak dan semoga Skripsi bermanfaat bagi pembaca.

Makassar, 16 November 2022

Kiki Ramadani



## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI.....	v
PENDAHULUAN .....	1
TINJAUAN PUSTAKA .....	5
Sapi Bali Secara Umum .....	5
Spermatozoa .....	6
Ekuilibirasi .....	7
<i>Pre-freezing</i> .....	8
Motilitas Spermatozoa.....	9
Pola Pergerakan Spermatozoa.....	10
METODE PENELITIAN.....	13
Waktu dan Lokasi Penelitian.....	13
Materi Penelitian .....	13
Prosedur Penelitian.....	14
Metode Pelaksanaan .....	14
Rancangan Penelitian .....	17
Parameter yang Diamati .....	18
Analisis Data .....	19
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Semen Segar Sapi Bali .....	20
Motilitas Spermatozoa Sapi Bali pada waktu Ekuilibirasi dan <i>Pre-freezing</i> yang berbeda.....	21
Pola Pergerakan Spermatozoa Sapi Bali pada waktu Ekuilibirasi dan <i>Pre-freezing</i> yang berbeda.....	25
KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
DAFTAR PUSTAKA .....	37
LAMPIRAN.....	42
RIWAYAT HIDUP.....	66

## DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Sapi Bali.....	5
2. Pola Pergerakan Spermatozoa.....	11
3. Diagram alir.....	14

## DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Kualitas Semen Segar Sapi Bali .....	20
2. Motilitas dan Motilitas Progresif spermatozoa Sapi Bali pada waktu ekuilibirasi dan <i>pre-freezing</i> yang berbeda .....	22
3. Rataan Jarak Tempuh spermatozoa Sapi Bali pada waktu ekuilibirasi dan <i>pre-freezing</i> yang berbeda .....	29
4. Rataan Nilai Kecepatan spermatozoa Sapi Bali pada waktu ekuilibirasi dan <i>pre-freezing</i> yang berbeda .....	33

## PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah penduduk di Indonesia merupakan salah satu hal yang menyebabkan prospek dunia peternakan semakin cerah. Apalagi ditunjang dengan kesadaran masyarakat akan arti pentingnya nilai gizi yang dapat menyebabkan konsumsi komoditi hasil peternakan sapi potong khususnya sapi Bali mengalami peningkatan (Aam *et al*, 2015).

Sapi potong di Indonesia mencapai 18.053.710 ekor pada tahun 2021. Peningkatan produktivitas sapi potong perlu didukung teknologi reproduksi terutama yang berhubungan dengan efisiensi dan pengelolaan reproduksi guna memperbaiki dan mempertahankan fertilitasnya. Salah satu usaha untuk memperbaiki fertilitas sapi potong adalah dengan kontrol estrus dan waktu inseminasi yang tepat melalui teknologi inseminasi buatan (IB) (Husni, 2017).

Menurut Udin (2012) inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi yang dapat memberikan peluang bagi pejantan unggul untuk menyebarluaskan keturunannya dimana penggunaan pejantan pada kawin alam terbatas dalam meningkatkan populasi ternak, karena setiap ejakulasi dapat membuahi seekor betina. Faktor faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan inseminasi buatan yaitu berahi, keterampilan inseminator dan kualitas semen selama proses pembekuan. Pada proses pembekuan terjadi titik kritis suhu pada spermatozoa untuk bertahan hidup akibat *cold shock* (Hanifi dkk, 2016). Menurut Kusumaningrum dkk (2002) dalam proses pembekuan sel ditambahkan krioprotektan dan yang paling umum digunakan pada mamalia adalah gliserol. Spermatozoa dibiarkan dalam suhu 5°C selama 2 hingga 6 jam. agar bisa menyeimbangkan cairan intraseluler dengan diluter yang mengandung gliserol sebelum proses pembekuan dimulai (ekuilibrase) (Novianto dkk, 2014).

Ekuilibrasi merupakan proses penyesuaian spermatozoa dengan pengencer pada suhu dingin (3-5°C). Ekuilibrasi bertujuan untuk melindungi spermatozoa dari kematian yang berlebihan disebabkan oleh penurunan tekanan osmotik yang mengganggu keutuhan membrane plasma selama pembekuan (Salamon dan Maxwell, 2000). Ekuilibrasi yang terlalu singkat dapat menurunkan daya adaptasi sperma terhadap pengencernya, sebaliknya ekuilibrasi yang terlalu lama, maka sperma akan kehilangan banyak energi sehingga menurunkan aktivitas sperma (Jadi dkk., 2015).

Selain waktu ekuilibrasi, waktu *pre-freezing* juga berpengaruh terhadap kualitas semen beku. *Pre-freezing* merupakan proses pembekuan semen dengan suhu tertentu sampai mencapai suhu yang diinginkan. *Pre-freezing* akan mempengaruhi kualitas semen yang dibekukan, seperti motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas spermatozoa (Toelihere, 1985). Lama waktu *pre-freezing* menurut beberapa sumber berbeda. Straw yang telah berisi semen diletakkan pada permukaan nitrogen cair 4 cm dengan suhu berkisar -110 °C sampai -120 °C selama 9 menit (BIB Ungaran, 2011). Semen beku yang berkualitas baik mempunyai persentase spermatozoa hidup dan motilitas yang tinggi (Aini., 2014)

Kualitas semen merupakan salah satu hal terpenting dalam proses reproduksi. Semen yang baik adalah semen yang memiliki motilitas spermatozoa dan pola pergerakan spermatozoa yang aktif sehingga dapat terjadi proses fertilisasi. Motilitas spermatozoa merupakan salah satu parameter penting dalam penilaian kualitas semen. Motilitas adalah unsur yang sangat penting dalam fertilisasi, karena motilitas merupakan salah satu faktor yang menentukan gambaran spermatozoa yang sehat. Motilitas membantu transpor spermatozoa untuk mencapai terjadinya fertilisasi (Husni, 2017).

Pola pergerakan spermatozoa sendiri sangat menentukan fertilitas pejantan. Hal ini sangat penting untuk proses kapasitas di dalam saluran organ reproduksi betina. Pola pergerakan dan jarak yang ditempuh oleh spermatozoa di dalam saluran organ reproduksi betina, dalam menunjang fertilitas tinggi harus dapat mencapai target tempat fertilisasi, dan mempunyai kemampuan memfertilisasi sel telur (Raafi, 2020). Hal inilah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian mengenai pengaruh waktu ekuilibirasi dan waktu *pre-freezing* terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali.

Waktu ekuilibirasi merupakan periode yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer agar pada saat pembekuan kematian spermatozoa yang berlebihan dapat dicegah. Waktu ekuilibirasi yang terlalu singkat menyebabkan berkurangnya gliserol untuk penetrasi secara sempurna kedalam sel spermatozoa, sehingga terjadi kerusakan spermatozoa karena terbentuknya kristal es intraseluler. Sedangkan waktu ekuilibirasi terlalu lama menyebabkan kontak gliserol dengan spermatozoa berlebihan sehingga bersifat toksik terhadap sel spermatozoa. Gliserol akan menarik air secara berlebihan dari dalam sel spermatozoa yang menyebabkan dehidrasi dan selanjutnya terjadi kerusakan spermatozoa. Waktu *pre-freezing* merupakan tahap awal pembekuan setelah ekuilibirasi dimana spermatozoa akan menghadapi zona temperatur kritis. Pada tahap ini terjadi kerusakan membran plasma spermatozoa atau biasa disebut dengan *cold shock*. Berdasarkan hal tersebut rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu pengaruh waktu ekuilibirasi dan waktu *pre-freezing* terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali.

Secara umum penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu ekuilibrasi dan waktu *pre-freezing* terhadap Motilitas dan Pola Pergerakan spermatozoa sapi Bali. Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menemukan waktu ekuilibrasi yang optimal terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali
2. Menemukan waktu *pre-freezing* yang optimal terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali

Adapun kegunaan dalam penelitian ini yaitu sebagai informasi kepada instansi seperti BIB mengenai pengaruh waktu ekuilibrasi dan waktu *pre-freezing* terhadap motilitas dan pola pergerakan spermatozoa sapi Bali dalam perkembangan produksi straw sapi Bali.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Sapi Bali Secara Umum

Sapi Bali merupakan plasma nutfah asli Indonesia yang berasal dari pulau Bali. Sapi Bali memiliki banyak keunggulan, sehingga banyak dipelihara oleh peternak (Saputra dkk., 2019). Sapi Bali adalah sapi potong hasil domestikasi dari banteng liar dan merupakan salah satu plasma nutfah yang cukup potensial untuk dikembangkan. Sapi Bali memiliki keunggulan dalam hal tingkat adaptasi yang tinggi (Zafitra dkk., 2020).



Gambar 1 : Sapi Bali Pejantan

Pada umumnya, sapi Bali berwarna merah bata, sehingga apabila ada warna yang berbeda dari warna pada umumnya, maka terjadi penyimpangan. Klasifikasi sapi berdasarkan warna diharapkan dapat membantu untuk lebih cepat dalam mengidentifikasi jenis sapi yang dimiliki dalam satu peternakan (Cholissodin dkk., 2015).

sapi Bali memiliki beberapa keunggulan dan kelemahan, antara lain: 1) sapi Bali adalah sapi potong asli Indonesia yang telah tersebar di seluruh wilayah Indonesia, bahkan ke Australia, Malaysia, Papua Nugini, dsb; 2) sapi Bali sangat adaptif pada kondisi lembab tropis; 3) sapi Bali mampu berkembang biak di



daerah kering dan tandus (Ditjen Peternakan, 2010). Sapi Bali juga memiliki beberapa kelemahan seperti: 1) penambahan bobot badan per harinya (*Avarage Daily Gain/ADG*) rendah; 2) bobot potong relatif kecil; 3) rentan terhadap beberapa penyakit seperti Jembrana.

## **Spermatozoa**

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. Peran aktif spermatozoa 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 jumlah milt yang dapat distriping 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 dkk, 2016).

Ciri utama spermatozoa yang berkualitas baik adalah mempunyai gerakan massa dan motilitas dengan daya gerak yang progresif. Gerakan massa spermatozoa merupakan cerminan dari motilitas atau gerakan individu spermatozoa. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa bergerak kedepan, maka gerakan massa akan semakin baik (semakin tebal dan pergerakannya semakin cepat) (Musakkir dkk. 2017).

Penurunan kualitas semen setelah ekuilibrasi dan setelah thawing dalam proses pembekuan semen dimulai saat penambahan krioprotektan, perubahan volume sel pada saat pembekuan diikuti peregangan dan pengkerutan membran plasma sebagai respon terhadap larutan hiperosmotik (Devireddy dkk, 2002) ataupun 2 jam (Arruda dkk, 2002).

### **Waktu Ekuilibrasi**

Waktu Ekuilibrasi merupakan periode yang diperlukan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer agar sewaktu pembekuan kematian spermatozoa yang berlebihan dapat dicegah. Ekuilibrasi bertujuan melindungi spermatozoa dari kematian yang disebabkan oleh penurunan tekanan osmotik yang mengganggu keutuhan membran plasma spermatozoa akibat pembekuan. Ekuilibrasi secara tradisional dianggap sebagai waktu total selama spermatozoa tetap berhubungan dengan krioprotektan sebelum pembekuan. Pada tahap ini, krioprotektan menembus ke dalam sel spermatozoa untuk membentuk konsentrasi intraseluler dan ekstraseluler yang seimbang (Salamon dan Maxwell, 2000).

Selama proses gliserolisasi, suhu juga merupakan hal penting yang perlu Faktor yang mempengaruhi kualitas spermatozoa post thawing diantaranya kurangnya waktu ekuilibrasi sehingga peresapan gliserol tidak maksimal, penambahan gliserol diakhir masa ekuilibrasi tidak memberikan perlindungan yang optimal terhadap pengaruh *cold shock* dan pembentukan kristal es dikarenakan jarak waktu ke pembekuan terlalu singkat (Ihsan, 2013). Suhu ekuilibrasi (5°C) menyebabkan laju metabolisme dari sel hidup akan berkurang, sehingga spermatozoa tidak menghasilkan produk hasil metabolisme sebanyak apabila disimpan dalam suhu ruangan (Parks dan Graham, 1992).

Waktu ekuilibrasi pada semen berbagai ternak berbeda-beda. Menurut Bearden dkk. (2004) pada pembekuan semen domba, waktu ekuilibrasi pada suhu 5°C terbaik adalah 2 jam dan 4 jam pada rusa. Pada semen sapi Friesian Holstein (FH) Arifiantini dkk, (2005) juga melakukan ekuilibrasi selama 4 jam dengan suhu 5°C. Han dkk, (2005) membandingkan waktu ekuilibrasi pada pembekuan semen itik dengan waktu 10 dan 60 menit, ternyata ekuilibrasi selama 10 menit menunjukkan kualitas semen setelah thawing lebih baik dibandingkan 60 menit. Untuk semen kuda, Arruda dkk, (2002) melakukan ekuilibrasi pada suhu 5°C selama 2 jam dengan krioprotektan gliserol dan etilen glikol 5%, sedangkan Medeiros dkk (2002) dengan waktu ekuilibrasi selama 1 jam pada suhu yang sama.

### **Pre-freezing**

*Pre-freezing* merupakan proses pembekuan semen dengan suhu tertentu sampai mencapai suhu yang diinginkan. *Pre-freezing* dapat mempengaruhi kualitas semen yang dibekukan, seperti viabilitas dan abnormalitas spermatozoa (Rangkuti dkk., 2021). Lama waktu *pre freezing* menurut beberapa sumber berbeda. Straw yang telah berisi semen diletakkan pada permukaan nitrogen cair 4 cm dengan suhu berkisar -110 °C sampai -120 °C selama 9 menit (BIB Ungaran, 2011).

Semen beku dengan *pre-freezing* selama 9 menit memberikan kualitas yang baik terhadap semen sapi Simmental yang menggunakan pengencer AndroMed®, sehingga semen beku yang dihasilkan memenuhi syarat untuk dipergunakan dalam inseminasi buatan yaitu mempunyai persentase motilitas *post thawing* sebesar 40% (Pratiwi dkk, 2014).

Tahapan *pre-freezing* adalah tahapan dimana spermatozoa akan menghadapi zona temperatur kritis. Zona yang akan merusak keadaan membran plasma spermatozoa sehingga akan mempengaruhi tingkat progresif aktif spermatozoa. Tujuan *pre-freezing* adalah menghindari terjadinya cold shock yang akan mempengaruhi gerakan individu persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa. Keadaan zona kritis ini bisa dilewati dengan teknik proteksi aktif membran secara ekstraseluler dan intraseluler pada spermatozoa sehingga motilitas bisa dipertahankan (Anwar dan Jiyanto, 2019).

### **Motilitas**

Motilitas atau daya gerak spermatozoa yang dinilai segera sesudah penampungan semen, digunakan sebagai ukuran kesanggupan membuahi suatu contoh semen. Sewaktu penampungan harus diperhatikan agar ejakulasi tidak mengalami “*Cold shock*” atau penurunan suhu secara mendadak yang sangat memengaruhi motilitas sperma (Adimmunca dan Sutyarso, 1997). Menurut Ganong (2002) Panas ruang berlebihan dan zat kimia lainnya juga dapat menurunkan motilitas sperma. Pada suhu rendah penurunan metabolisme spermatozoa mudah terjadi. Motilitas spermatozoa dalam suatu contoh semen ditentukan secara keseluruhan atau sebagai rata-rata dari suatu populasi sperma.

Faktor utama yang mampu menghilangkan motilitas spermatozoa, yaitu asupan energi untuk bergerak. Semakin lama semen berada di suhu ruangan maka akan semakin meningkatkan pula tingkat kematian spermatozoa karena rusaknya

membran plasma yang berakibat pada terganggunya suplai energi spermatozoa sehingga menurunkan motilitas. Jumlah spermatozoa yang mati akan mempengaruhi spermatozoa yang masih hidup selama proses penyimpanan (WHO, 1988).

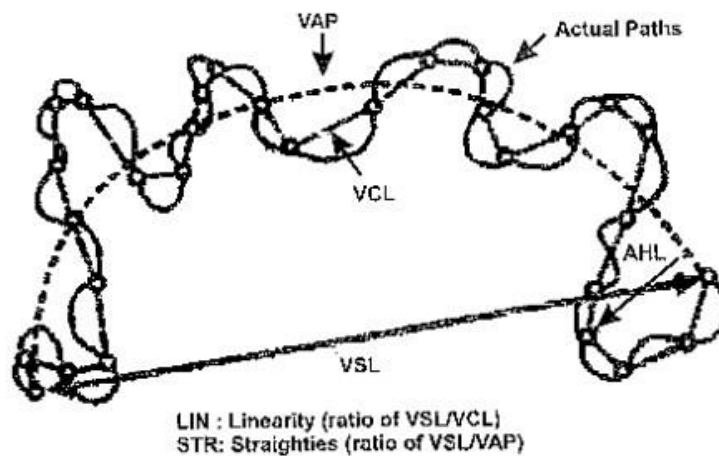
Yulnawati dan Setiadi (2005) menjelaskan bahwa spermatozoa yang mati akan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup, sehingga secara umum kualitasnya menurun. Keberadaan zat yang bersifat toksik baik berasal dari spermatozoa yang telah mati maupun yang berasal dari zat yang terkandung dari pengencer yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat menyebabkan tingginya kadar radikal bebas yang dapat merusak keutuhan membran plasma spermatozoa (Bebas et al., 2016).

### **Pola Pergerakan**

Pola pergerakan spermatozoa sangat menentukan fertilitas pejantan. Hal ini sangat penting untuk proses kapasitasi di dalam saluran organ reproduksi betina. Pola pergerakan dan jarak yang ditempuh oleh spermatozoa di dalam saluran organ reproduksi betina, dalam menunjang fertilitas tinggi harus dapat mencapai target tempat fertilisasi, dan mempunyai kemampuan memfertilisasi sel telur (Raafi, 2020).

Pola pergerakan spermatozoa Sapi Bali dapat dievaluasi dengan menggunakan *computer assisted sperm analysis* (CASA) berdasarkan nilai *velocity curva linear* (VCL), *linearity* (LIN), *amplitude of lateral displacement* (ALH) (Hinrich dan Loux 2012). Nilai VCL, ALH yang tinggi serta persentase LIN yang rendah dapat menggambarkan spermatozoa mengalami hiperaktif (Bernecic dkk, 2019). Sedangkan nilai VCL, ALH dan motilitas total merupakan parameter yang mempengaruhi kemampuan spermatozoa untuk berpenetrasi

melewati mukus serviks dan zona pelusida (Verstegen et al. 2002). Menurut Amann dan Weberski (2014), rata-rata waktu kecepatan pergerakan kepala spermatozoa sepanjang lintasan curvilinear atau VCL ( $\mu\text{m}/\text{s}$ ); dan ALH ( $\mu\text{m}$ ) merupakan rata-rata jarak penyimpangan setiap centroids dari lintasan *average*. Linearity (LIN; %) merupakan kelurusan lintasan curva linear, yang didapatkan dari  $\text{VSL}/\text{VAP} \times 100$  (Verstegen dkk, 2002).



Gambar 2. Pola Pergerakan Spermatozoa (Susilawati, 2011)

*Distance Curva Linear* (DCL) merupakan jarak yang dapat ditempuh oleh spermatozoa dalam satu menit pada lintasan curve. *Distance Straight-Linear* (DSL) merupakan jarak yang dapat ditempuh oleh spermatozoa dalam satu menit pada lintasan straight. *Distance Average Path* (DAP) merupakan jarak yang dapat ditempuh oleh spermatozoa dalam satu menit pada lintasan rata-rata alur. Linearity merupakan indikator kelurusan lintasan curve linear. Straightness merupakan indikator kelurusan lintasan rata-ratanya. *Wobble* merupakan pengukuran osilasi lintasan sebenarnya, mengindikasikan kuatnya goyangan

spermatozoa selama satu detik. *Velocity Average Pathway* (VAP) merupakan *velocity* spermatozoa dalam satu menit pada lintasan rata-rata alur (Nurul, 2018).

*Velocity Curve Linear* berarti *Curve Linear Velocity* (VCL) merupakan *velocity* spermatozoa dalam satu menit pada lintasan *curve*. *Velocity Straight Linear* (VSL) merupakan *velocity* spermatozoa dalam satu menit pada lintasan *straight* (Sarastina et al. 2006). *Amplitude Lateral Head* menunjukkan lebar rata-rata dari osilasi (getaran atau vibrasi) kepala spermatozoa saat berenang (Kathiravan et al. 2011). *Beat Cross Frequency* merupakan frekuensi (banyaknya) lintasan spermatozoa melalui rata-rata alur per detik. *Average Orientation Change of Head* (AOH) merupakan rata-rata derajat perubahan gerakan kepala spermatozoa (Sarastina dkk, 2006)