

**PENGARUH PEMBERIAN MIKRONUTRISI (Se, Zn, Vit. A dan
Vit. E) TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI**

SKRIPSI

**DIAN FITRIANI
I 011191016**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**PENGARUH PEMBERIAN MIKRONUTRISI (Se, Zn, Vit. A dan
Vit. E) TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI**

SKRIPSI

**DIAN FITRIANI
I 011191016**

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

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dian Fitriani

NIM : 1011191016

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: **Pengaruh Pemberian Mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali** adalah asli.

Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini tidak asli atau plagiasi maka saya bersedia dikenakan sanksi akademik sesuai peraturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 3 Agustus 2023

Peneliti



Dian Fitriani

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN MIKRONUTRISI (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BALI

Disusun dan diajukan oleh:

DIAN FITRIANI
I011 19 1016

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi S1 Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 31 Juli 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama,

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

Pembimbing Pendamping,

Dr. Sutomo, S.Pt., M.Si.
NIP. 19760328 200212 1 001



Ketua Program Studi Peternakan
Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin

Dr. Agri Renny Fatmyah Utamy, S.Pt., M. Agr., IPM
NIP. 19720120 199803 2 001

RINGKASAN

DIAN FITRIANI. I 011191016. Pengaruh Pemberian Mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali. Pembimbing Utama: **Muhammad Yusuf** dan Pembimbing Anggota: **Sutomo Syawal.**

Kualitas spermatozoa, salah satunya dipengaruhi oleh nutrisi pakan. Salah satu penyebab kerusakan pada spermatozoa selama kriopreservasi sampai dengan pencairan kembali (*thawing*) adalah peroksidasi lipid. Pemberian mikronutrisi seperti Vitamin A, Vitamin E, Zinc serta Selenium diduga memiliki peran penting dalam mendukung proses spermatogenesis dan mempertahankan kualitas spermatozoa pada saat pembekuan dari peroksidasi lipid. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) terhadap kualitas semen beku sapi Bali. Rancangan penelitian yaitu menggunakan sampel semen segar sapi Bali jantan umur 5 tahun yang terdiri dari 2 perlakuan (P1: sebelum pemberian mikronutrisi; P2: setelah pemberian mikronutrisi) dan masing-masing dilakukan penampungan semen sebanyak 4 kali. Parameter yang diamati meliputi motilitas semen beku, viabilitas, abnormalitas dan membran plasma utuh. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Uji-T (T-Test Dependen Sampel). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) pada abnormalitas semen beku, namun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) pada motilitas, viabilitas dan membran plasma utuh semen beku. Dapat disimpulkan bahwa pemberian mikronutrisi (Se, Zn, Vit A dan Vit. E) dapat menurunkan abnormalitas semen beku sapi Bali dan mempertahankan motilitas dan membran plasma utuh.

Kata Kunci: Kualitas Spermatozoa, Mikronutrisi, Semen Beku

SUMMARY

DIAN FITRIANI. I 011191016. The Effect of Micronutrient Supplementation on The Quality of Frozen Semen Bali Bull. Supervisor: **Muhammad Yusuf** and Co-supervisor: **Sutomo Syawal.**

The quality of spermatozoa, one of which is influenced by feed nutrition. One of the causes of damage to spermatozoa during cryopreservation to thawing is lipid peroxidation. Supplementation of micronutrients such as Vitamins A, Vitamins E, Zinc and Selenium are thought to have an important role in supporting the process of spermatogenesis and maintaining the quality of spermatozoa during freezing from lipid peroxidation. The purpose of this study was to determine the effect of micronutrients (Se, Zn, Vit. A and Vit. E) on the quality of frozen semen spermatozoa of Bali cattle. The research design used fresh semen samples of male Bali bull aged 5 years consisting of 2 treatments (P1: before micronutrient Supplementation; P2: after micronutrient supplementation) and collect semen with 4 times of each. Parameters observed included frozen semen motility, viability, abnormality and intact plasma membrane. Research data were analyzed using the T-Test (Sample Dependent T-Test). The results showed that the supplementation of micronutrients (Se, Zn, Vit. A and Vit. E) had a significantly different effect ($P < 0.05$) on abnormality of frozen semen, but not significantly different ($P > 0.05$) on motility, viability and plasma membrane intact of frozen semen. It can be concluded that the supplementation of micronutrients (Se, Zn, Vit A and Vit. E) can reduce abnormalities in frozen semen of Bali cattle and can maintain motility and intact plasma membrane.

Keyword: Frozen Semen, Micronutrients, Quality of Spermatozoa

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah *Subhanahu Wata'ala* yang telah melimpahkan seluruh rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Pengaruh Pemberian Mikronutrisi (Se, Zn, Vita. A dan Vit. E) Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali**” .Shalawat serta salam juga tak lupa penulis junjungkan kepada Nabi Muhammad *Shallallahu Alaihi Wasallam* sebagai suri tauladan bagi umatnya. Berbagai kesulitan telah dihadapi penulis dalam penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan doa dari berbagai pihak, sehingga kesulitan yang dihadapi penulis dapat dilewati dengan mudah. Maka dari itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak **M. Nasiruddin** dan Ibu **Anning Mandarana**, selaku orang tua penulis yang selalu mendukung anaknya dalam menempuh dunia pendidikan, dan kepada **Haniatul** selaku adik dari penulis yang selalu memberikan semangat kepada penulis.
2. Rektor Unhas **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc**, Dekan Fakultas Peternakan **Dr. Syahdar Baba, S.Pt., M.Si**, Wakil Dekan, Ketua Departemen Produksi Ternak beserta jajarannya.
3. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** selaku pembimbing utama dan **Dr. Sutomo, S.Pt., M.Si** selaku pembimbing anggota yang telah membimbing dan mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. **Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Tolleng, M. Sc**, Ibu **Masturi M, S.Pt., M.Si**, Bapak **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., IPM., ASEAN Eng** dan Pak **Hasrin, S.Pt., M.Si** atas segala bantuan dalam mengarahkan penulis dalam pembuatan skripsi.

5. **Kiran, Sila dan Ayu**, selaku sahabat seperjuangan yang selalu bersama dalam suka dan duka menghadapi berbagai tantangan mulai dari penelitian hingga pada proses pembuatan skripsi ini.
6. **Tim Riset 2023 (Pian, Ayu, Kiran dan Sila)**, kak Yodi dan Nanang serta seluruh **Tim Laboratorium Reproduksi Ternak Unit Processing Semen** yang membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi yang selalu bekerja sama dengan baik dan menguatkan satu sama lain.
7. **Poultry Crew, KKN-T 108 Posko 3 Balumbang**, dan teman – teman **Vastco-19** yang memberi semangat, motivasi dan menemani kuliah dari awal hingga saat ini. Serta teman seperjuangan penulis, **Peternakan A, Ciwi-Ciwi A** yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan, semangat serta teman berbagi selama penyusunan skripsi ini .

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak yang bersifat membangun.

Makassar, 3 Agustus 2023

Dian Fitriani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Sapi Bali	4
2.2. Mekanisme Spermatogenesis	5
2.3. Peranan Mikronutrisi (Se, ZN, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Kualitas Semen.....	6
2.4. Kualitas Semen Segar Sapi Bali.....	9
2.5. Produksi Semen Beku.....	14
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	15
3.2. Materi Penelitian.....	15
3.3. Rancangan Penelitian.....	15
3.4. Prosedur Penelitian	16
3.5. Analisis Data.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Kualitas Semen Segar Sapi Bali	23
4.2. Motilitas Semen Beku Sapi Bali dengan Pemberian Mikronutrisi	26
4.3. Viabilitas Semen Beku Sapi Bali dengan Pemberian Mikronutrisi	28
4.4. Abnormalitas Semen Beku Sapi Bali dengan Pemberian Mikronutrisi	30
4.5. Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi Bali dengan Pemberian Mikronutrisi	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36

5.1. Kesimpulan.....	36
5.2. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	45
BIODATA PENELITI.....	50

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Kualitas Semen Segar Sapi Bali	23

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Sapi Bali.....	4
2. Diagram Alir Prosedur Penelitian.....	16
3. Diagram Motilitas Semen Beku Sapi.....	26
4. Pengamatan Viabilitas Semen Beku Sapi Bali	28
5. Diagram Viabilitas Semen Beku Sapi.....	29
6. Pengamatan Abnormalitas Semen Beku Sapi Bali	30
7. Diagram Abnormalitas Semen Beku Sapi	31
8. Pengamatan Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi Bali.....	33
9. Diagram Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi	34

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Persentase Motilitas Semen Beku Sapi Bali.....	45
2. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Persentase Viabilitas Semen Beku Sapi Bali.....	45
3. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Persentase Abnormalitas Semen Beku Sapi Bali.....	46
4. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Pemberian Mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Persentase Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi Bali	46
5. Formulasi Mikronutrien (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E).....	47
6. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian.....	48

BAB I

PENDAHULUAN

Sapi Bali adalah sapi potong lokal hasil domestikasi banteng (*Bibos banteng*), dan merupakan plasma nutfah asli Indonesia yang berasal dari pulau Bali. Sapi Bali memiliki banyak keunggulan, sehingga banyak dipelihara oleh peternak (Saputra dkk., 2019). Rendahnya kualitas pejantan khususnya ternak sapi lokal (sapi Bali) akan berdampak pada penurunan tingkat reproduksi dan kualitas genetik sapi lokal. Kemampuan reproduksi pejantan unggul memiliki korelasi dengan kualitas spermatozoa yang dihasilkan. Peningkatan kuantitas dan kualitas sperma dapat menjadi solusi dalam rangka pengembangan peternakan khususnya pengembangan pejantan unggul (Widyari dkk., 2015).

Kualitas semen sapi pejantan dipengaruhi oleh pakan (Martinet dkk., 2010), umur dan musim (Bhakat dkk., 2011). Kandungan nutrisi pakan berpengaruh pada proses spermatogenesis (Toleng dkk., 2017). Pada proses spermatogenesis, membutuhkan asam amino, lemak, vitamin A, C, dan E, serta Zn dan Se agar dapat memproduksi semen yang berkualitas tinggi (Cheah dan Yang, 2011). Pada penelitian Wong dkk. (2002) menemukan bahwa vitamin E sangat berperan penting dalam pengaturan testes untuk produksi spermatozoa dan pelepasan hormon gonad, yaitu testosteron, sedangkan mineral Zn berpengaruh pada proses spermatogenesis.

Kualitas semen dapat dipertahankan pada saat penyimpanan dan pembekuan dengan cara penambahan bahan pengencer yang dapat mendukung kelangsungan hidup spermatozoa. Kualitas semen setelah penyimpanan dipengaruhi oleh kualitas semen segar sebelum diencerkan, sehingga ejakulasi

semen dari seekor pejantan harus memenuhi standar bahwa semen segar memiliki motilitas minimum 70% sesuai SNI 4869-1:2017 tentang semen beku sapi. Nilai motilitas dapat dijadikan sebagai faktor penentu semen yang dihasilkan, agar dapat diolah lebih lanjut untuk penyimpanan dingin maupun beku (Tethool dkk., 2022).

Proses pengolahan seperti penampungan semen, pengenceran, ekuilibrisasi atau penyesuaian suhu, dan pembekuan memengaruhi kualitas semen beku yang akan diaplikasikan pada ternak. Salah satu penyebab kerusakan pada spermatozoa selama kriopreservasi sampai dengan pencairan kembali (*thawing*) adalah peroksidasi lipid. Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas, terutama radikal hidroksil (OH⁻) (Feradis, 2009).

Penambahan mineral mikro selenium sebagai komponen enzim glutathion peroksidase, dapat menghancurkan radikal bebas dalam sitoplasma. Fungsi lain selenium adalah sebagai antioksidan untuk komponen/bahan pembentuk enzim dan daya tahan tubuh serta reproduksi ternak (Lubis dkk., 2015). Pada penelitian terdahulu menyebutkan bahwa, mikronutrisi seperti Vitamin A, Vitamin E, Zinc serta Selenium telah diketahui memiliki peran penting dalam mendukung proses spermatogenesis dan mempertahankan kualitas spermatozoa pada saat pembekuan dari peroksidasi lipid.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) terhadap kualitas semen beku sapi Bali.

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai informasi bagi calon peneliti dan bahan kajian dalam bidang reproduksi ternak dan instansi Balai Inseminasi Buatan mengenai pengaruh dari pemberian mikronutrisi (Se, Zn, Vit. A dan Vit. E) terhadap kualitas semen beku sapi Bali.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Bali

Sapi Bali adalah sapi potong hasil domestikasi dari banteng liar dan merupakan salah satu plasma nuftah yang cukup potensial untuk dikembangkan. Sapi Bali juga sebagai rumpun sapi asli Indonesia dan telah menyebar diseluruh wilayah Indonesia serta mempunyai peranan penting dalam penyediaan daging Nasional (Crisdayanti dkk., 2020). Sapi Bali dikembangkan, dimanfaatkan dan dilestarikan sebagai sumberdaya ternak asli yang mempunyai ciri khas tertentu dan mempunyai kemampuan untuk berkembang dengan baik pada berbagai lingkungan yang ada di Indonesia. Sapi Bali juga memiliki performa produksi yang cukup bervariasi dan kemampuan reproduksi yang tetap tinggi (Hikmawaty dkk., 2014).



Gambar 1. Sapi Bali
Sumber: Astiti, 2018

Sapi Bali harus dijaga kelestariannya karena memiliki keunggulan komparatif dibanding ternak lainnya. Sapi Bali mampu beradaptasi di berbagai lingkungan pemeliharaan, serta memperlihatkan kemampuan untuk berkembang biak. Daya adaptasi yang sangat tinggi terhadap lingkungan ditunjukkan dengan

kemampuan memanfaatkan pakan yang berkualitas rendah, tetapi fertilitas dan *conception rate* yang baik (Rachma dkk., 2011). Dalam rangka meningkatkan produktivitas sapi Bali, pejantan memberikan sumbangan yang lebih berarti dibandingkan dengan betina. Kemampuan pejantan menyebarkan materi genetik jauh lebih besar jika dibandingkan dengan betina. Pejantan dengan kualitas yang unggul sebagai pemacek penting untuk diperhatikan dalam program perkawinan dimana peran pejantan berpengaruh besar terhadap keberhasilan kebuntingan. Salah satu kriteria yang harus dipenuhi dalam menentukan keunggulan ternak sapi yang akan digunakan sebagai pejantan adalah berdasarkan kualitas dan kuantitas spermatozoanya (Seuk, 2018).

2.2. Mekanisme Spermatogenesis

Spermatogenesis merupakan proses yang kompleks dan berkesinambungan. Spermatogenesis dimulai saat masa pubertas setelah terjadi periode persiapan yang panjang (prespermatogenesis) dari masa fetus (Holstein dkk., 2003). Proses spermatogenesis pada sapi berlangsung selama 55 hari dan berlangsung pertama kali ketika sapi berumur 10 sampai 12 bulan (Nuryadi, 2000). Proses spermatogenesis diawali dari perubahan spermatogonium yang merupakan *stem cell* untuk pembentukan spermatozoa. Pada saat spermatogonium mengalami mitosis, sebagian spermatogonium terlepas dari membran basalis tubulus seminiferus, kemudian akan berkembang menjadi spermatosit primer pada masa pubertas. Spermatosit primer mengalami pembelahan meiosis sehingga jumlah kromosom menjadi separuh kromosom awal, kemudian membelah menjadi spermatosit sekunder yang berkembang menjadi spermatid dengan

jumlah kromosom haploid. Spermatid berkembang menjadi spermatozoa (Griswold, 2016).

Proses perkembangan spermatid menjadi spermatozoa merupakan tahap akhir dari spermatogenesis yang disebut sebagai spermiogenesis. Pada tahap ini tidak terjadi proses pembelahan, tetapi terjadi pengurangan sitoplasma dan diferensiasi bagian ekor. Terjadi perubahan bentuk sel dari yang semula berbentuk *spheris* atau bundar menjadi berbentuk memanjang dan terbentuk akrosom pada bagian kepala spermatozoa. Proses maturasi sperma selama spermatogenesis ini berakhir dengan peningkatan jumlah sel dalam tubulus seminiferus, karena dari satu spermatosit akan berkembang menjadi empat sperma matur yang terdiri dari dua sperma X dan dua sperma Y (Pramaningtyas dkk., 2022).

2.3. Peranan Mikronutrisi (Se, ZN, Vit. A dan Vit. E) Terhadap Kualitas Semen

Mikronutrisi merupakan zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah sedikit, namun mempunyai peran yang sangat penting dalam pembentukan hormon, aktivitas enzim serta mengatur fungsi sistem imun dan sistem reproduksi. Mikronutrisi essensial terdiri dari vitamin dan mineral (Azizah dan Fatmawati, 2020).

Selenium adalah salah satu mineral penting yang berperan dalam spermatogenesis di dalam seluler dan selenium dalam bentuk *gluthathione peroxidases* dikenal sebagai antioksidan. Selenium dibutuhkan dalam proses spermatogenesis dari plasma selenoprotein membentuk *selenoenzymes glutathione peroxidases* untuk proses perkembangan spermatid dan selanjutnya menjadi spermatozoa (Sukandar dkk., 2014). Menurut penelitian Ganabadi dkk. (2010)

bahwa selenium dapat meningkatkan jumlah spermatid, terutama bekerja dalam merubah spermatosit dalam pembelahan meosis kedua untuk membentuk spermatid.

Zinc (Zn) merupakan mikronutrien yang berperan dalam proses reproduksi dan terlibat dalam reaksi-reaksi enzimatik yang terkait dengan metabolisme karbohidrat, sintesis protein dan metabolisme asam nukleat (Khairi dkk., 2014). Pada penelitian Widhyari dkk. (2015) melaporkan bahwa mineral Zn dapat menstimulasi sel Leydig pada testis untuk memproduksi testoteron, sehingga merangsang terjadinya libido. Pada proses spermatogenesis, mineral Zn berperan dalam aktivitas ribonuklease pada awal spermatogenesis dan pematangan spermatozoa selama spermatogenesis serta meningkatkan motilitas sperma pada akhir spermatogenesis.

Zinc di dalam sel fungsinya sama seperti gonad, yaitu berfungsi aktif dalam pertumbuhan dan pembelahan sel, konsekuensinya defisiensi Zn akan mempengaruhi fungsi reproduksi, khususnya spermatogenesis (Pradhan, 2008). Mineral Zn dapat menyediakan energi gerak bagi sperma sehingga sperma lebih aktif. Mineral Zn dapat membantu pematangan spermatozoa dan dapat meningkatkan kadar androgen dalam plasma darah dan berhubungan dengan aktivitas spermatogenesis yang normal sehingga terjadi peningkatan motilitas. Pemberian Zn organik juga berpengaruh pada proses sintesis energi untuk motilitas spermatozoa (Hindrawati dkk., 2020).

Hogarth dan Griswold (2010) menyatakan bahwa vitamin A dibutuhkan dalam proses spermatogenesis. Vitamin A mengontrol inisiasi meiosis. Vitamin A juga berperan dalam dalam pembentukan siklus epitel seminiferus dan gelombang

spermatogenik. Proses spermatogenesis vitamin A berperan dalam diferensiasi spermatogonia menjadi spermatisit pada saat inisiasi meiosis dan siklus epitel dalam tubulus seminiferus. Pada penelitian Widodo (2010) menyatakan bahwa vitamin A salah satunya mempunyai fungsi memelihara reproduksi normal.

Vitamin E adalah antioksidan untuk dua kelas molekul zat yaitu tokoferol dan tokotrienol yang mempunyai aktivitas dalam nutrisi tubuh. Vitamin E sebagai antioksidan pemutus rantai yang menangkap radikal bebas di membran sel dan lipoprotein plasma bereaksi dengan radikal peroksida lipid. Vitamin ini mampu mengendalikan peroksida lemak dengan menyumbangkan hidrogen ke dalam reaksi yang mampu mengubah radikal peroksil (hasil peroksidasi lipid) menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak dan selanjutnya melindungi sel dari kerusakan dan memperbaiki kualitas spermatozoa (Luhulima dkk., 2014).

Vitamin E mendukung produksi sperma dan hormon-hormon seks serta mencegah kerusakan DNA sperma. Kerusakan pada DNA sperma dapat menyebabkan infertilitas, kekurangan vitamin E juga berpengaruh pada turunnya produksi enzim dan hormon-hormon kunci yang bertanggungjawab pada pembentukan sperma. Vitamin E sebagai antioksidan dapat mencegah kerusakan DNA sperma (Dewantari, 2013). Pada penelitian Agarwal (2010) melaporkan bahwa vitamin E dapat menurunkan kadar malondialdehyde pada spermatozoa, meningkatkan motilitas spermatozoa dan berperan dalam mengurangi fragmentasi DNA spermatozoa.

2.4. Kualitas Semen Segar Sapi Bali

Evaluasi semen segar perlu dilakukan untuk mengetahui kualitas dan kuantitas semen yang ditampung dan untuk mengetahui kadar pengenceran yang dibutuhkan. Evaluasi semen yang umumnya dilakukan yaitu evaluasi secara makroskopis untuk mengetahui volume, warna, dan konsistensi, serta evaluasi mikroskopis untuk mengetahui motilitas spermatozoa dan konsentrasi spermatozoa. Hasil evaluasi semen segar tersebut menjadi dasar untuk menentukan kelayakan semen yang akan diproses lebih lanjut (Witarja dkk., 2020).

2.4.1. Evaluasi Kualitas Makroskopis

2.4.1.1. Warna dan Bau

Semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh (Feradis, 2010). Toelihere (1993) yang mengatakan bahwa sapi pejantan menghasilkan semen yang berbau khas.

2.4.1.2. Volume

Volume semen sapi hasil penampungan berkisar antara 5-8 ml (Garner dan Hafez, 2008). Menurut Evans dan Maxwell (1987) banyaknya volume semen yang dihasilkan per ejakulasi akan menentukan tingkat pengenceran untuk keperluan inseminasi buatan.

2.4.1.3. Konsistensi

Penilaian kekentalan dilakukan pada semen segar yang baru ditampung dengan kriteria penilaian encer, sedang dan kental (Tethool, 2021). konsistensi semen tergantung pada konsentrasi spermatozoa dan seminal plasma, semen yang

mengandung konsistensi kental lebih banyak mengandung spermatozoa dibanding dengan semen yang konsistensinya encer (Evans dan Maxwell (1987).

2.4.1.4. Derajat keasaman (pH)

Nilai pH sangat menentukan status kehidupan spermatozoa di dalam semen (Sunarti dkk., 2016). Penurunan pH selama penyimpanan dapat menyebabkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa. pH semen yang berkualitas baik adalah 6,8-6,7 (Nursyam, 2007).

2.4.2. Evaluasi Kualitas Mikroskopis

2.4.2.1. Motilitas

Motilitas atau daya gerak spermatozoa biasanya digunakan sebagai ukuran kesanggupan spermatozoa untuk melewati saluran dan kemampuan membuahi sel telur (Butta dkk., 2021). Motilitas individu spermatozoa adalah tingkat pergerakan individual spermatozoa secara progresif dan merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan fertilitas seekor pejantan karena semakin tinggi motilitas individu maka semakin tinggi pula fertilitas pejantan (Manehat dkk., 2021). Menurut Garner and Hafez (2000) motilitas semen beku sapi berkisar antara 40-75%, syarat dilakukan semen yang diencerkan atau semen beku memiliki motilitas spermatozoa minimal 70%.

Membran plasma yang utuh memiliki kolerasi dengan motilitas spermatozoa, semakin banyak membran plasma spermatozoa yang utuh maka semakin banyak spermatozoa yang motil (Azzahra dkk., 2016). Motilitas akan menurun seiring dengan lama penyimpanan. Selama proses penyimpanan, karbohidrat berupa fruktosa dan glukosa akan dimetabolisir oleh spermatozoa melalui proses glikolisis. Selain menghasilkan energi, metabolisme glikolisis juga

menghasilkan asam laktat. Penyimpanan semen dalam waktu lama mengakibatkan penimbunan asam laktat yang menyebabkan pH semen menurun dan menciptakan kondisi asam bagi spermatozoa yang dapat mempercepat penurunan motilitas serta viabilitas spermatozoa (MataHine dkk., 2014).

2.4.2.2. Viabilitas

Viabilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup setelah diencerkan dan merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa dari seekor pejantan. Semakin tinggi viabilitas spermatozoa maka semakin tinggi peluang untuk terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi baik secara alam maupun buatan (Manehat dkk., 2021). Viabilitas memiliki korelasi dengan motilitas yang ditentukan oleh kekuatan membran plasma spermatozoa (Azzahra dkk., 2016). Perhitungan viabilitas didasarkan atas perbedaan daya permeabilitas terhadap cairan pada spermatozoa yang diberi pewarna eosin dan dibuat preparat ulas untuk membedakan spermatozoa yang hidup dan yang mati (Soi, 2016).

Viabilitas spermatozoa ditentukan dengan metode pewarnaan eosin-negrosin. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan tidak menyerap zat warna, sedangkan spermatozoa yang mati ditandai oleh sel spermatozoa yang menyerap zat warna (Butta dkk., 2021). Viabilitas spermatozoa untuk pembuatan semen yang diencerkan atau semen beku minimal memiliki 60% sampai 75% spermatozoa hidup (Garner and Hafez, 2000). Presentase hidup spermatozoa ditentukan oleh membran plasma yang utuh. Membran plasma spermatozoa berfungsi untuk melindungi organel spermatozoa dan transport elektrolit untuk metabolisme spermatozoa (Salmah, 2014).

Penurunan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan disebabkan oleh meningkatnya jumlah spermatozoa rusak dan mati akibat kekurangan energi (Solihati dkk., 2008). Menurut Dwatmaji dkk. (2007), faktor lain yang mempengaruhi penurunan persentase viabilitas adalah bahan pengencer yang tidak mampu memberikan perlindungan terhadap *cold shock* dan penurunan pH akibat penumpukan asam laktat hasil metabolisme. Penurunan viabilitas spermatozoa yang terjadi secara perlahan dikarenakan kerusakan spermatozoa diawali dengan hilangnya motilitas, terganggu aktivitas metabolisme sel, rusaknya membran plasma, dan terakhir adalah viabilitas spermatozoa yang rendah. Penurunan viabilitas merupakan efek terakhir dari kerusakan spermatozoa (Gundongan dkk., 2010).

2.4.2.3. *Abnormalitas*

Abnormalitas spermatozoa adalah tingkat kelainan atau kerusakan fisik spermatozoa yang terjadi pada saat pembentukan spermatozoa di dalam tubuli simeniferi maupun karena proses transportasi spermatozoa melalui saluran-saluran organ kelamin ternak jantan. Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa karena apabila persentase abnormalitasnya di atas 20% maka tingkat fertilitasnya rendah sehingga berpengaruh pada tidak terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi (Bretzlaff, 1995).

Spermatozoa abnormal meningkat selama proses pendinginan dan pembekuan disebabkan oleh cekaman dingin/cold shock, ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolisme yang terus berlangsung selama penyimpanan suhu 3-5°C (Solihati dkk., 2008). Pembuatan preparat ulas yang

kurang tepat juga menyebabkan kerusakan pada spermatozoa seperti ekor dan kepala putus. Morfologi abnormalitas pada spermatozoa berhubungan dengan fertilitas. Pengaruh tingginya abnormalitas juga dapat berasal dari prosesing penyimpanan dan kondisi fisiologis dari pengencer tersebut, selain itu juga dari faktor pejantan saat penampungan yang berhubungan dengan fertilitas ternak itu sendiri (Susilawati, 2013).

Abnormalitas morfologi spermatozoa dapat terjadi secara primer, sekunder atau tersier. Abnormalitas primer terjadi pada proses spermatogenesis dalam testis, sedangkan abnormalitas sekunder terjadi selama perjalanan spermatozoa di epididimis. Riadhi (2010) menemukan 13 jenis kelainan spermatozoa primer yaitu *pearshape, narrow at the base, narrow (tapered head), abnormal contour, undeveloped, round head, variable size (macrocephalus/microcephalus), double head, abaxial, knobbed acrosome defect, detached head*, dan *diadem*. Sedangkan yang termasuk kedalam abnormalitas sekunder yaitu kepala saja (tanpa ekor), leher bengkok, ekor melingkar, ekor saja, dan ekor bunting (Rahmiati dkk., 2015).

2.4.2.4. Membran Plasma Utuh

Membran plasma merupakan bagian spermatozoa yang sangat berperan dalam proteksi organel-organel sel. Rusaknya membran plasma utuh biasanya disertai rusaknya organel-organel sel tudung akrosom utuh, sehingga menyebabkan keluarnya enzim-enzim yang diperlukan selama proses fertilisasi (Arvioges dkk., 2021). Membran plasma yang rusak dapat berpengaruh fungsi fisiologis dan metabolisme spermatozoa sehingga menyebabkan spermatozoa mati (Butarbutar, 2009). Membran plasma yang utuh memiliki hubungan dengan motilitas spermatozoa, semakin banyak membran plasma utuh maka semakin

banyak spermatozoa yang progresif aktif Azzahra dkk. (2016). Spermatozoa dengan membran yang masih utuh akan menahan cairan hipoosmotik di dalam sel, sehingga ekornya terlihat melingkar atau bengkok, sedangkan spermatozoa dengan ekor yang lurus menunjukkan membran plasma telah mengalami kerusakan, karena tidak mampu menahan air yang masuk (Arsiwan dkk., 2014).

2.5. Produksi Semen Beku

Semen beku adalah semen yang telah diencerkan kemudian dibekukan di bawah titik beku air. Rendahnya kualitas semen dan tidak optimalnya teknik penanganan semen beku yang digunakan, kondisi reproduksi sapi betina, serta manajemen ternak dan keterampilan inseminator merupakan faktor yang menghambat keberhasilan IB (Herdis, 1998). Semen beku yang berkualitas baik mempunyai persentase motilitas dan spermatozoa hidup yang tinggi. Namun, terdapat banyak faktor yang dapat menurunkan kualitas semen mulai dari proses pengolahan, penyimpanan dalam kontainer, dan distribusi semen beku itu sendiri (Pratiwi dkk., 2020)

Produksi semen beku melalui beberapa tahapan, salah satunya adalah tahap pengenceran yang bertujuan melindungi semen saat pembekuan pada suhu rendah. Masalah yang sering terjadi pada proses ini adalah kejutan dingin (*cold shock*) dan kerusakan sel akibat terbentuknya kristal es pada fase beku, sehingga dibutuhkan pengencer yang mempunyai sifat krioprotektan baik ekstraseluler maupun intraseluler (Sudarmanto dkk., 2015). Semen beku memiliki keunggulan yaitu dapat disimpan dalam jangka waktu lama, namun memiliki kelemahan penurunan kualitas semen selama proses pembekuan karena melewati berbagai suhu ekstrim yang dapat menurunkan kualitasnya (Komariah dkk., 2013).