

**KUALITAS SPERMATOZOA PASCA IMOBILISASI BEBERAPA  
BAGIAN SPERMAOZOA SAPI FH MENGGUNAKAN LASER DIODA**

**SKRIPSI**

**OLEH**

**ATHHAR MANABI DIANSYAH  
I 111 15 353**



**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**

**KUALITAS SPERMATOZOA PASCA IMOBILISASI BEBERAPA  
BAGIAN SPERMAOZOA SAPI FH MENGGUNAKAN LASER DIODA**

**SKRIPSI**

**OLEH**

**ATHHAR MANABI DIANSYAH  
I 111 15 353**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana  
Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



## PERNYATAAN KEASLIAN

1. Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Athhar Manabi Diansyah

NIM : I111 15 353

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

- a. Karya skripsi yang saya tulis adalah asli
- b. Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini, terutama bab hasil dan pembahasan tidak asli atau plagiasi maka bersedia dibatalkan atau dikenakan sanksi yang berlaku.

2. Demikian pernyataan keaslian ini dibuat untuk dapat diperlukan semestinya

Makassar, 26 Februari 2019



Athhar Manabi Diansyah



## HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Kualitas Spermatozoa Pasca Imobilisasi Beberapa Bagian Spermatozoa Sapi FH Menggunakan Laser Dioda  
Nama : Athhar Manabi Diansyah  
Nomor Induk Mahasiswa : I111 15 353  
Fakultas : Peternakan

Skripsi ini Telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama



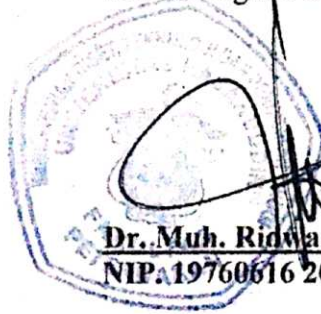
**Prof. Dr. Muhammad Yusuf, S.Pt**  
NIP.19700725 199903 1 001

Pembimbing Anggota



**Dr. Ekayanti M. Kaiin, M.Si**  
NIP. 19660914 199203 2 004

Ketua Program Studi Peternakan



**Dr. Muh. Ridwan, S.Pt., M.Si**  
NIP. 19760616 200003 1 001



Lulus: 26 Februari 2019

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Puji dan Syukur senantiasa penulis panjatkan atas kehadiran Allah Subhanahu Wa Taala Tuhan Yang Maha Esa, karena atas Kehendak, Rahmat dan InayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah hasil penelitian yang berjudul “**Kualitas Spermatozoa Pasca Imobilisasi Beberapa Bagian Spermatozoa Sapi FH Menggunakan Laser Dioda**”. Tak lupa pula salam serta shalawat senantiasa penulis haturkan kepada Rasulullah Muhammad Shallallahu Alaihi Wasallam sebagai suri tauladan ummat manusia.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan makalah hasil penelitian ini, antara lain:

1. Kepada Bapak **Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc** sebagai Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
2. Kepada Bapak **Dr. Ir. Syahrudin Said, M.Agr** sebagai Kepala Laboratorium Reproduksi, Pemuliaan dan Kultur Sel Hewan, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Bogor, Jawa Barat.
3. Kepada Bapak **Prof. Dr. Muhammad Yusuf, S.Pt** sebagai Pembimbing Utama yang telah mengarahkan dan memberikan banyak masukan.
4. Kepada Ibu **Dr. Ekayanti M. Kaiin, M.Si** sebagai Pembimbing Anggota yang telah membimbing, mengarahkan, memberi berbagai ilmu, petuah dan semangat.

...da Bapak **M. Gunawan, S.Pt., M.Si** dan Bapak **Tulus Maulana, S.Pt.,**

... yang telah mengarahkan dan memberikan berbagai ilmu, petuah dan  
...ngat.



6. Kepada **Staff** Laboratorium Reproduksi, Pemuliaan dan Kultur Sel Hewan, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Bogor, Jawa Barat.
7. Kepada rekan mahasiswa dari **Universitas Teknologi Sumbawa, Universitas Indonesia, Institut Pertanian Bogor dan Universitas Soedirman.**
8. Kepada kedua Orangtua saya, Bapak **Dr. Ir. Syahrudin Said, M.Agr** dan Ibu **dr. Rosdiana Rasyidi, MARS** atas dorongan dan dukungan baik moril maupun materil.
9. Kepada kedua adik saya, **Faiqoh Dian Syahrudin dan Athoillah Ahkam Diansyah** atas dorongan dan dukungan baik moril maupun materil.
10. Kepada keluarga besar **RANTAI 15**, keluarga besar **HIMAPROTEK-UH**, keluarga **HmI Komisariat Peternakan Unhas Cab. Makassar Timur**, keluarga besar **SEMA FAPET-UH**, keluarga besar **ISMAPETI** dan keluarga **KKN Reguler Kab. Bantaeng Kec. Pa'jukukang Desa Biangloe** yang telah memberikan bantuan dan semangat kepada penulis.
11. Kepada **St. Azizah Mahmud dan Adinda Maharani** atas dorongan dan dukungan baik moril maupun materil.
12. Kepada **Hamdiyani Rusman, Fatiha Aprilianti dan Tuty Alawiyah** atas dorongan dan dukungan baik moril maupun materil.
13. Kepada **Rekan Rusunawa Blok C no. 308** atas dorongan dan dukungan baik moril maupun materil.
14. Kepada **Fadillah Ahmad Agasi dan Glorinda Ella Teken** atas dorongan dan dukungan baik moril maupun materil.



erta semua pihak atas segala perhatiannya dan bantuan kepada penulis,  
k dapat penulis tulis satu persatu. Penulis menyadari bahwa makalah ini  
kesempurnaan, akan tetapi penulis telah berusaha melakukan yang terbaik

dalam penyusunannya. Semoga makalah ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

*Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Makassar, 26 Februari 2019



Athhar Manabi Diansyah



## ABSTRAK

**ATHHAR MANABI DIANSYAH.** I111 15 353. Kualitas Spermatozoa Pasca Imobilisasi Beberapa Bagian Spermatozoa Sapi FH Menggunakan Laser Dioda. Pembimbing Utama **MUHAMMAD YUSUF** Pembimbing Anggota **EKAYANTI M. KAIIN.**

---

Tujuan dari penelitian ini adalah menemukan metode yang tepat untuk imobilisasi sperma tanpa menurunkan integritas DNA dan merusak keutuhan spermatozoa sapi. Imobilisasi sperma dilakukan dengan penembakan Laser Octax MTG panjang gelombang sebesar 1,48  $\mu\text{m}$  sebanyak 2 kali dengan bantuan *software Eye Ware 3.0*. Penembakan dilakukan pada 4 titik yaitu ujung ekor spermatozoa, pertengahan ekor spermatozoa, leher spermatozoa dan kepala spermatozoa masing-masing sebanyak 20 sel spermatozoa. Penembakan laser 1,48  $\mu\text{m}$  memberikan pengaruh terhadap imobilitas tertinggi mencapai 100% pada bagian kepala dengan integritas DNA spermatozoa mencapai 90%, keutuhan sperma tetap normal (100%) dan tidak menunjukkan pengaruh nyata. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa (1) penembakan laser dioda pada bagian badan ekor yang paling efektif dalam imobilitas spermatozoa; (2) penggunaan laser dioda dengan panjang gelombang 1,48  $\mu\text{m}$  dapat digunakan untuk melakukan imobilisasi spermatozoa sebelum *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI). Penembakan laser dioda dengan panjang gelombang 1,48  $\mu\text{m}$  pada bagian badan ekor yang paling efektif dalam imobilisasi spermatozoa dengan imotilitas sebesar  $95,00 \pm 5,98$  dan integritas DNA sebesar  $85,00 \pm 11,65$ .

**Kata kunci :** Imobilisasi, spermatozoa, laser dioda, ICSI, sapi





## ABSTRACT

**ATHHAR MANABI DIANSYAH.** I11115 353. The Quality of Sperms Post-Immobilization at Some Parts of FH Sperm using Laser Diodes. Main Supervisor: **MUHAMMAD YUSUF** and Co-supervisor: **EKAYANTI M. KAIIN.**

---

The aim of this study was to find the proper method for sperms immobilization without reducing DNA integrity and damaging the shape of bovine sperms . Sperm immobilization was carried out by double shots using laser *Octax MTG* with wavelength of 1.48  $\mu\text{m}$  and *Eye Ware 3.0* software. A total of 20 sperms were shoot at 4 points, which was the tail end, the mid-tail, the neck and the head of the sperms. The shooting of 1.48  $\mu\text{m}$  laser had the highest effect on immobility reaching 100% on the head and the DNA integrity of the sperms reached up to 90%, the shape of sperms were remained normal (100%) and did not showing significant effect. The results of this study indicated that (1) the laser diode with a wavelength of 1.48  $\mu\text{m}$  at the mid-tail section of the sperm was most effective for sperm immobilization; (2) the use of laser diodes with a wavelength of 1.48  $\mu\text{m}$  can be used to immobilize the sperms before intracytoplasmic sperm injection (ICSI). The diode laser shooting with a wavelength of 1.48  $\mu\text{m}$  at the tail was the most effective in immobilizing the sperms with an immobility of  $95.00 \pm 5.98$  and DNA integrity of  $85.00 \pm 11.65$ .

**Key Words :** Immobilization, sperm, laser diode, ICSI, Bovine



# DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>ABSTRAK</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>PENDAHULUAN</b> .....	1
Latar Belakang .....	1
Rumusan Masalah .....	2
Tujuan dan Manfaat .....	3
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
Gambaran Umum Sapi FH .....	4
Gambaran Umum Spermatozoa .....	5
Metode <i>Swim Up</i> .....	9
Imobilisasi Sperma .....	9
<b>METODE PENELITIAN</b> .....	11
Waktu dan Tempat .....	11
Lokasi Penelitian .....	11
Metode Penelitian .....	12
Parameter Penelitian .....	16



Rancangan Penelitian .....	16
Prosedur Penelitian .....	17
Analisis Data .....	17
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>18</b>
Kualitas Spermatozoa Pasca <i>Thawing</i> .....	18
Kualitas Spermatozoa Pasca <i>Swim Up</i> .....	19
Kualitas Spermatozoa Pasca Penembakan Laser Dioda.....	21
<b>PENUTUP .....</b>	<b>24</b>
Kesimpulan .....	24
Saran .....	24
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>27</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>29</b>
<b>RIWAYAT HIDUP.....</b>	<b>34</b>



## DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Kualitas Spermatozoa Pasca <i>Thawing</i> .....	18
2. Kualitas Spermatozoa Pasca <i>Swim Up</i> .....	19
3. Kualitas Spermatozoa Pasca Penembakan Laser Dioda .....	21



## DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Mikroskop <i>inverted</i> yang dilengkapi dengan micromanipulator dan laser dioda.....	15
2. Skema Penembakan Laser Dioda.....	15
3. Alur Penelitian.....	17
4. Motilitas spermatozoa menggunakan CASA.....	20
5. Viabilitas spermatozoa menggunakan perwarnaan Eosin 2%.....	20
6. Abnormalitas spermatozoa menggunakan perwarnaan Eosin 2%.....	21
7. MPU spermatozoa menggunakan larutan HOS.....	21
8. Hasil pengamatan integritas DNA spermatozoa pasca penembakan laser dioda menggunakan mikroskop <i>flouresence</i> . Bar menunjukkan 20 $\mu$ m. ....	23



## DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Data Kualitas Spermatozoa Pasca <i>Thawing</i> .....	29
2. Data Kualitas Spermatozoa Pasca <i>Swim Up</i> .....	29
3. Analisis Data Kualitas Spermatozoa Pasca Penembakan Laser Dioda .....	30
4. Dokumentasi.....	33



# PENDAHULUAN

## Latar Belakang

*Intracytoplasmic Sperm Injection* (ICSI) merupakan metode bioteknologi reproduksi berbantu yang efisien karena hanya membutuhkan satu sel sperma dan sel telur yang telah matang untuk memulai proses pembentukan individu baru (Yanagida, 2009). Metode ini pertama kali ditemukan oleh Hiramoto (1966) untuk membuktikan bahwa peristiwa dekondensasi spermatozoa dan pembentukan pronukleus jantan tidak akan terjadi sebelum spermatozoa masuk ke dalam sel telur. Pada tahun 1976, Uehara dan Yamaguchi melanjutkan penelitian Hiramoto untuk menguji kelayakan penggunaan metode ICSI pada manusia (Said *et al.*, 2006).

Laporan keberhasilan ICSI dimulai sejak adanya keberhasilan penerapan metode *In Vitro Fertilization* (IVF) dan *Embryo Transfer* (ET) pada pasangan yang sulit mendapatkan keturunan oleh Edwards *et al.* (1980). Sejak saat itu, para ilmuwan mengembangkan berbagai metode fertilisasi berbantu berupa metode *Zona Thinning* (ZT), *Zona Drilling* (ZD), *Sub-Zonal Insemination* (SUZI) dan ICSI tingkat lanjut untuk memberikan solusi terhadap berbagai kegagalan fertilisasi yang tidak dapat diselesaikan menggunakan metode IVF (Palermo *et al.*, 1992).

Penemuan metode ICSI telah mengantarkan manusia pada era revolusi reproduksi berbantu secara radikal melalui penggunaan sperma tunggal untuk menghasilkan kehamilan pada manusia serta kebuntingan pada hewan (Yanagimachi, 2001). Sali *et al.* (2005) melaporkan bahwa penggunaan metode

berhasil dilakukan pada kelinci (Hosoi *et al.*, 1988; dan Iritani, 1989), Kimura dan Yanagimachi, 1995), kucing (Pope *et al.*, 1998), kuda *et al.*, 1998), domba (Gomez *et al.*, 1998), sapi (Hamano *et al.*, 1999),



keras (Hewitson *et al.*, 1999), babi (Martin, 2000) dan tikus (Said *et al.*, 2003). Sebelum spermatozoa diinjeksikan ke dalam oosit, pada setiap pelaksanaan ICSI dilakukan immobilisasi pergerakan spermatozoa. Hal ini dilakukan agar spermatozoa mudah dimasukkan ke dalam pipet injeksi dan tidak melakukan pergerakan lebih lanjut di dalam pipet injeksi. Immobilisasi spermatozoa umumnya dilakukan dengan menekan ekor spermatozoa sampai ke dasar petri (Dozortzev *et al.*, 1995) atau dengan memisahkan kepala dan ekor dengan ultrasonikasi (Kuretake *et al.*, 1996). Boediono (2001) menyatakan bahwa perlakuan immobilisasi spermatozoa pada kambing sebelum dilakukan ICSI, akan meningkatkan angka pembelahan pada tahap awal perkembangan embrio. Namun, hal tersebut memiliki resiko merusak spermatozoa yang cukup tinggi. Saat ini, terdapat teknik baru dalam immobilisasi sperma sebelum ICSI, yaitu dengan menggunakan laser dioda. Penggunaan laser dioda dapat mengidentifikasi spermatozoa yang layak untuk ICSI dan menunjukkan peningkatan keberhasilan kehamilan (Chen, 2015). Namun, informasi mengenai immobilisasi sperma dengan laser masih sangat terbatas.

### **Rumusan Masalah**

Aplikasi ICSI membutuhkan kondisi spermatozoa yang imotil, untuk memudahkan injeksi spermatozoa ke dalam sel telur. Saat ini immobilisasi spermatozoa dilakukan dengan berbagai metode diantaranya: pemisahan kepala dan ekor dengan metode sonikasi, menekan spermatozoa ke dasar petri dengan pipet injeksi serta memberikan getaran pipet dengan eletrik piezo. Metode immobilisasi tersebut beresiko merusak spermatozoa sehingga mempengaruhi

spermatozoa, oleh karena itu diperlukan suatu metode yang mampu immobilisasi spermatozoa tanpa menurunkan kualitas spermatozoa tersebut. Laser dioda yang biasa digunakan sebagai alat bantu untuk





memudahkan terjadinya fertilisasi juga dapat digunakan untuk mengimobilisasi spermatozoa untuk keperluan ICSI. Penelitian ini mencoba melakukan imobilisasi menggunakan laser dioda pada beberapa bagian spermatozoa.

### **Tujuan dan Manfaat**

Tujuan penelitian secara umum adalah menemukan metode yang tepat untuk imobilisasi sperma tanpa menurunkan integritas DNA dan merusak keutuhan spermatozoa sapi. Secara khusus penelitian ini bertujuan:

1. Menemukan letak posisi paling efektif dalam imobilisasi sperma menggunakan laser dioda dengan panjang gelombang 1,48  $\mu\text{m}$ .
2. Menemukan metode imobilisasi sperma untuk ICSI.

Manfaat penelitian ini adalah adanya tambahan informasi baru terkait dengan metode imobilisasi spermatozoa sapi dengan menggunakan laser dioda.



## TINJAUAN PUSTAKA

### Gambaran Umum Sapi FH

Sapi Friesian Holstein (FH) merupakan bangsa sapi yang paling banyak terdapat di Amerika Serikat, sekitar 80-90% dari seluruh sapi perah yang berada di sana. Sapi ini berasal dari Belanda yaitu provinsi North Holland dan West Friesland yang memiliki padang rumput yang sangat luas. Sapi FH mempunyai beberapa keunggulan, salah satunya yaitu jinak, tidak tahan panas tetapi sapi ini mudah menyesuaikan diri dengan lingkungan. Ciri-ciri sapi FH yang baik adalah memiliki tubuh luas ke belakang, sistem dan bentuk perambingan baik, puting simetris, dan efisiensi pakan tinggi yang dialihkan menjadi produksi susu (Blakely dan Bade, 1998).

Sapi perah yang dipelihara di Indonesia pada umumnya adalah Friesian Holstein (FH) dan peranakan Friesian Holstein (PFH). Sapi Friesian Holstein memiliki ciri-ciri fisik antara lain warna hitam berbelang putih, ekor dan kaki berwarna putih, kepala panjang dan tidak menghadap atau menjulur ke depan, pada dahi terdapat warna putih berbentuk segitiga, produksi susunya tinggi, serta sifatnya tenang dan jinak (Arifiantini dkk., 2005).

Sapi Friesian Holstein (FH) memiliki kemampuan berkembang biak yang baik, rata-rata bobot badan sapi Friesian Holstein (FH) adalah 750 Kg dengan tinggi bahu 139,65 cm. Kemampuan produksi susu sapi FH lebih tinggi dibandingkan bangsa sapi perah yang lain. Untuk mencapai produksi yang optimal sapi perah

di Indonesia dipelihara di tempat yang bersuhu rendah. Suhu lingkungan yang ideal untuk sapi perah dewasa berkisar antara 5-21 C, sedangkan kelembaban



udara tang baik untuk pemeliharaan sapi perah adalah sebesar 60% dengan kisaran 50%-75% (Adriyani dkk., 1980).

## Gambaran Umum Spermatozoa

### 1. Morfologi Spermatozoa

Spermatozoa merupakan sel gamet jantan (Karlinah dkk., 2015). Morfologi spermatozoa terdiri atas bagian kepala, leher, dan ekor. Bagian kepala mengandung materi genetik yang dilindungi oleh membran nukleus. Di bagian ujung kepala, terdapat akrosom yang mengandung enzim untuk membantu penetrasi spermatozoa ke dalam sel gamet betina (Alters, 2000). Leher berfungsi sebagai penyambung bagian kepala dengan ekor spermatozoa. Bagian spermatozoa terdiri atas bagian *principal piece* atau bagian kepala, *mid piece* atau bagian tengah, dan *end piece* atau bagian akhir (Chenoweth & Lorton, 2014). Pada bagian *mid piece*, terdapat mitokondria yang berperan dalam menghasilkan ATP sebagai energi untuk pergerakan spermatozoa (Cochran, 2011). Ekor spermatozoa secara keseluruhan berfungsi sebagai alat pegerakan (Applegate, 2011).

Bentuk dan ukuran spermatozoa beragam pada tiap spesies. Pada sapi, bagian kepala spermatozoa berbentuk seperti dayung, pipih, dan relatif besar (Rouge, 2004). Spermatozoa sapi memiliki ukuran panjang total yaitu sekitar 70, 21  $\mu\text{m}$  (Kondracki dkk., 2005).

### 2. Metabolisme Spermatozoa

Metabolisme merupakan reaksi kimia yang terjadi di dalam sel makhluk hidup. Metabolisme terdiri atas dua reaksi utama yaitu anabolisme dan katabolisme.

Metabolisme merupakan reaksi yang membutuhkan energi untuk pembentukan senyawa sederhana menjadi senyawa kompleks. Katabolisme merupakan reaksi yang menghasilkan energi dari penguraian senyawa kompleks menjadi senyawa



sederhana (Wright, 2000). Metabolisme pada spermatozoa merupakan faktor penting yang mendukung pergerakan spermatozoa (Storey, 2008).

Jalur metabolisme spermatozoa terdiri atas proses glikolisis yang terjadi di kepala spermatozoa serta proses fosforilasi oksidatif yang terjadi di dalam mitokondria pada bagian midpiece (Oliveira & Alves, 2015). Pada proses glikolisis, terjadi perombakan substrat berupa glukosa atau fruktosa menjadi tiga molekul asam piruvat (Susilawati, 2011). Proses tersebut menghasilkan 2 molekul ATP. Asam piruvat kemudian teroksidasi menjadi CO<sub>2</sub> dan menghasilkan asetil koenzim A. Selanjutnya, asetil koenzim A teroksidasi sempurna menjadi CO<sub>2</sub> melalui siklus asam sitrat (siklus Krebs). Proses glikolisis dan siklus asam sitrat menghasilkan molekul NADH dan FADH<sub>2</sub>. Oksidasi NADH dan FADH<sub>2</sub> pada rantai transport elektron menghasilkan molekul ATP melalui proses fosforilasi oksidatif. Jumlah ATP yang dihasilkan pada proses fosforilasi oksidatif 15 kali lipat lebih banyak dibanding pada proses glikolisis (Pasupuleti, 2007).

Preferensi sumber energi untuk mendukung pergerakan spermatozoa dapat berbeda-beda pada tiap spesies. Spermatozoa manusia lebih bergantung besar pada metabolisme glikolitik dibanding pada metabolisme oksidatif. Sebaliknya, spermatozoa babi sangat bergantung pada metabolisme oksidatif dan tidak dapat bergantung pada metabolisme glikolitik untuk mendukung pergerakannya (Pasupuleti, 2007). Pada sapi, spermatozoa dapat bertahan baik dengan metabolisme glikolitik maupun oksidatif. Sperma sapi dapat tetap mempertahankan pergerakannya hanya dengan terdapatnya oksigen tanpa susbtrat glukosa, begitu

liknya (Storey, 2008).

ergerakan atau motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi secara langsung tidak langsung oleh faktor-faktor eksternal seperti suhu ekstrim dan radiasi



ultraviolet. Suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan kejutan dingin pada spermatozoa. Hal tersebut menyebabkan produksi ATP menjadi rendah sehingga spermatozoa kehilangan motilitasnya. Pada umumnya spermatozoa akan inaktif pada suhu 10°C dan sebagian kecilnya dapat bergerak lemah. Suhu yang terlalu tinggi juga dapat merusak spermatozoa melalui denaturasi enzim. Radiasi sinar ultraviolet dilaporkan dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa. Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian yang memaparkan cahaya putih pada spermatozoa sapi. Hasilnya ialah selama 24 sampai 72 jam pemaparan, spermatozoa sapi tersebut kehilangan motilitasnya. Sebaliknya, spermatozoa sapi yang tidak dipaparkan cahaya dapat tetap mempertahankan motilitasnya (Metz & Monroy, 1967).

### 3. Kualitas Spermatozoa

Kualitas semen sapi dapat dievaluasi melalui parameter makroskopis maupun mikroskopis. Parameter makroskopis terdiri atas volume, warna, bau, konsistensi, dan pH semen. Parameter makroskopis penting untuk dievaluasi karena dapat dijadikan sebagai indikator awal untuk mengetahui adanya ketidaknormalan pada semen. Semen yang tidak normal secara makroskopis, dapat mengindikasikan terdapatnya kerusakan ataupun infeksi bakteri pada sistem reproduksi (Agarwal & Said, 2011).

Parameter mikroskopis untuk mengevaluasi kualitas semen meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan membran plasma utuh (MPU).

Gerakan massa spermatozoa merupakan pergerakan sekumpulan spermatozoa pada semen segar yang membentuk gelombang seperti gerakan awan. Pemeriksaan

gerakan massa spermatozoa membantu untuk memprediksi kualitas semen (Sutama & Satrio, 2010). Gerakan massa dapat dinilai ke dalam tiga kategori yaitu cukup, baik,

atau sangat baik. (Sujoko dkk., 2009).



Parameter mikroskopis utama untuk mengevaluasi kualitas semen ialah motilitas dan viabilitas. Penilaian motilitas dan viabilitas penting dilakukan untuk mengetahui keberhasilan kriopreservasi. Hal tersebut dikarenakan motilitas dan viabilitas spermatozoa berkaitan dengan kemampuan spermatozoa dalam membuahi sel ovum (Chian & Quinn, 2010).

Motilitas merupakan kemampuan spermatozoa untuk bergerak bebas. Penilaian motilitas spermatozoa dapat dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang bergerak (motil) pada kamar hitung (Algarubi, 2014). Analisis viabilitas spermatozoa dilakukan untuk mengetahui persentase spermatozoa yang hidup. Penilaian viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan diferensial yang berkaitan pada integritas membran sel. Sel spermatozoa yang hidup dan mati akan menunjukkan reaksi yang berbeda terhadap zat pewarna tertentu, sehingga keduanya dapat dibedakan dan persentase sel spermatozoa yang hidup dapat dihitung (Rurangwa dkk.,2004).

Pewarna diferensial yang umum digunakan untuk mengamati viabilitas spermatozoa ialah eosin (Budai dkk., 2014). Spermatozoa mati memiliki membran plasma yang rusak sehingga dapat menyerap warna eosin. Sebaliknya spermatozoa yang hidup tidak dapat menyerap warna merah dari eosin karena membran plasmanya tidak rusak dan dapat mempertahankan integritasnya. Oleh karena itu ketika diamati di bawah mikroskop, spermatozoa yang mati tampak berwarna merah dan spermatozoa yang hidup tampak berwarna putih (Legato, 2004).

Parameter membran plasma utuh dapat dinilai menggunakan metode *Hypo Swelling Test* (Uji HOS). Uji HOS dapat menilai integritas membran dan kemampuan spermatozoa dalam menjaga keseimbangan antara osmolalitas di dalam sel dengan lingkungan luar (Ramu & Jeyendran, 2012).



Lingkungan hipo osmotik menyebabkan masuknya cairan ke dalam spermatozoa sehingga membuat ekor spermatozoa menggebu. Ekor spermatozoa yang menggebu mengindikasikan membran plasma spermatozoa tidak rusak dan dapat berfungsi dengan baik (Gunawan dkk., 2015).

### **Metode *Swim Up***

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).

### **Imobilisasi Sperma**

Imobilisasi spermatozoa umumnya dilakukan dengan memotong ekor spermatozoa menggunakan pipet suntik dengan cara menekan sambil menggores ekor spermatozoa pada dasar cawan petri. Hal ini dilakukan sesaat sebelum penyuntikan agar spermatozoa menjadi tidak bergerak (imobil) sehingga operator

ngan mudah memasukkan spermatozoa ke dalam pipet suntik untuk  
ya disuntikkan ke dalam sel telur (Boediono, 2001).



Selain itu, Sali dan Said (2005) melaporkan bahwa spermatozoa yang nyata telah mati karena perlakuan pembekuan tanpa krioprotektan dan perlakuan pemisahan kepala spermatozoa dengan ekor, masih mampu mendukung pembentukan pronukleus jantan dan betina setelah diinjeksikan ke dalam sel telur tikus. Hal ini merupakan bukti tambahan bahwa untuk tujuan fertilisasi melalui teknik ICSI, spermatozoa yang digunakan tidak perlu motil dan utuh.

