



Karakter Motilitas Spermatozoa Hasil *Sexing* pada Sapi Peranakan Ongole dengan Volume Awal yang Berbeda

(Characteristics of Sexing Spermatozoa Motility in Ongole Cattle with Different Initial Volume)

Rifai Mustofa¹, Aulia Puspita Anugra Yekti², Aryogi³, Dicky Pamungkas³, Rizki Prafitri²,
Asri Nurul Huda², Kuswati² dan Trinil Susilawati^{2*}

¹Program Pasca Sarjana Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

²Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

³Loka Penelitian Sapi Potong Grati, Pasuruan, Indonesia

ABSTRAK. *Sexing* spermatozoa bertujuan untuk mengatur jenis kelamin sesuai harapan. Salah satu metode *sexing* adalah dengan menggunakan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui berbagai parameter motilitas menggunakan *Computer-assisted Sperm Analysis* dan proporsi spermatozoa X dan Y menggunakan metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll dengan volume awal yang berbeda. Penelitian dilakukan di Loka Penelitian Sapi Potong Grati, Pasuruan, pada bulan Januari sampai Maret 2020. Materi yang digunakan adalah Semen Sapi Peranakan Ongole berumur ± 5 tahun dan bobot badan ± 700 kg sebanyak 3 ekor, motilitas masa $\geq 2+$ dan motilitas individu $\geq 70\%$. Metode yang digunakan adalah eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan volume saat *sexing* yaitu P1= 1 ml, P2= 1,5 ml dan P3= 2 ml dengan ulangan 11 kali. Ulangan juga berfungsi sebagai kelompok (*block*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah dilakukan *sexing* dan pendinginan hingga 5°C persentase motilitas adalah P1: $71,02 \pm 10,08\%$; P2: $79,63 \pm 8,65\%$ dan P3: $83,38 \pm 6,67\%$, sedangkan motilitas progresif pada P1: $47,68 \pm 8,71\%$; P2: $59,61 \pm 7,26\%$ dan P3: $62,21 \pm 6,74\%$. *Curvilinear Velocity* (VCL) pada P1: $50,9 \pm 7,73 \mu\text{m/s}$, P2: $55,2 \pm 5,03 \mu\text{m/s}$ dan P3: $53,2 \pm 5,97\%$. *Straight-line Velocity* (VSL) pada P1: $20,8 \pm 8,19 \mu\text{m/s}$; P2: $21,6 \pm 6,02 \mu\text{m/s}$; P3: $22,1 \pm 5,77 \mu\text{m/s}$, sedangkan *Average Path Velocity* (VAP) pada P1: $30,2 \pm 7,82 \mu\text{m/s}$; P2: $32,5 \pm 6,14 \mu\text{m/s}$ dan P3 : $31,5 \pm 6,18 \mu\text{m/s}$. *Linearity* (LIN) pada P1: $40,2 \pm 12,26\%$; P2: $39,1 \pm 10,31\%$; P3: $39,8 \pm 7,25\%$. *Straightness* (STR) pada P1: $67,2 \pm 11,20\%$; P2: $65,7 \pm 10,06\%$; P3: $67,2 \pm 7,92\%$ sedangkan *Wobble* (WOB) pada P1: $59 \pm 9,49\%$; P2: $58,8 \pm 8,63\%$ dan P3: $59,1 \pm 7,74\%$. Kesimpulan dari penelitian adalah motilitas dan motilitas progresif spermatozoa pada sampel dengan volume awal 2 ml lebih baik dibandingkan dengan sampel dengan volume awal 1 ml dan 1,5 ml.

Kata kunci: CASA, motilitas, *sexing*, spermatozoa

ABSTRACT. Sperm *sexing* is a technique of sorting a specific type of sperm cell to fertilize the egg cell. One of the *sexing* methods that can be used for spermatozoa *sexing* is percoll gradient density centrifugation. This research aims to find out various motility parameters using *Computer-assisted Sperm Analysis* and the proportion of spermatozoa X and Y using density gradient centrifugation method percoll with different initial volume. The study was conducted at Grati Beef Cattle Research Station, Pasuruan, from January to March 2020. Materials of the study were Semen of 3 Filial Ongole Cattles, aged ± 5 years, with ± 700 kg body weight, mass motility $\geq 2+$, and individual motility $\geq 70\%$. The method used was experimental using a Randomized Group Design with 3 treatment volume when *sexing* i.e. T0= 1 ml, T1= 1.5 ml dan T2= 2 ml with repetition 11 times. The repetition also functions as groups (blocks). The results showed that after *sexing* and cooling up to 5°C , the percentage of motility is T0: $71.02 \pm 10.08\%$; T1: $79.63 \pm 8.65\%$ and T2: $83.38 \pm 6.67\%$. Progressive motility on T0: $47.68 \pm 8.71\%$; T1: $59.61 \pm 7.26\%$ and T2: $62.21 \pm 6.74\%$. *Curvilinear Velocity* (VCL) on T0: $50.9 \pm 7.73 \mu\text{m/s}$, T1: $55.2 \pm 5.03 \mu\text{m/s}$ and T2: $53.2 \pm 5.97\%$. *Straight-line Velocity* (VSL) on T0: $20.8 \pm 8.19 \mu\text{m/s}$; T1: $21.6 \pm 6.02 \mu\text{m/s}$; T2: $22.1 \pm 5.77 \mu\text{m/s}$. The *Average Path Velocity* (VAP) on T0: $30.2 \pm 7.82 \mu\text{m/s}$; T1: $32.5 \pm 6.14 \mu\text{m/s}$ and T2 : $31.5 \pm 6.18 \mu\text{m/s}$. *Linearity* (LIN) on T0: $40.2 \pm 12.26\%$; T1: $39.1 \pm 10.31\%$; T2: $39.8 \pm 7.25\%$. *Straightness* (STR) on T0: $67.2 \pm 11.20\%$; T1: $65.7 \pm 10.06\%$; T2: $67.2 \pm 7.92\%$. *Wobble* (WOB) on T0: $59 \pm 9.49\%$; T1: $58.8 \pm 8.63\%$ and T2: $59.1 \pm 7.74\%$. The conclusion of the study is the motility and progressive motility of spermatozoa in samples with an initial volume of 2 ml is better than samples with an initial volume of 1 ml and 1.5 ml.

Keywords: CASA, motilitas, *sexing*, sperms

PENDAHULUAN

Sexing spermatozoa merupakan suatu teknologi pengaturan jenis kelamin anak yang akan dilahirkan, sehingga peternak atau industri pembibitan dapat merencanakan jenis kelamin

sesuai harapan (Susilawati *et al.*, 2014). Sapi dengan jenis kelamin jantan mempunyai nilai jual yang lebih tinggi dibandingkan dengan betina, sehingga minat masyarakat untuk mendapatkan anak dengan jenis kelamin jantan juga meningkat (Wiranto *et al.*, 2020). Dengan adanya metode ini peternak dapat merencanakan jenis kelamin jantan untuk penggemukan, sedangkan untuk pembibitan sapi dibutuhkan pedet betina (Prakash *et al.*, 2014). Boro *et al.* (2016) mengatakan bahwa

*Email Korespondensi: tsusilawati@ub.ac.id

Diterima: 9 Juni 2020

Direvisi: 24 Juli 2020

Disetujui: 23 September 2020

DOI: <https://doi.org/10.17969/agripet.v20i2.16932>

inseminasi buatan (IB) menggunakan semen sexing dapat menguntungkan industri peternakan.

Diungkapkan oleh Susilawati *et al.* (2017) perlakuan *sexing* spermatozoa mengakibatkan penurunan kualitas spermatozoa. Hal inilah yang menjadikan dasar inseminasi buatan (IB) menggunakan semen *sexing* dobel dosis atau dua straw untuk satu kali IB. Penelitian yang dilakukan oleh Susilawati *et al.* (2018) menunjukkan nilai NRR1 dan NRR2 lebih tinggi IB dengan non *sexing* dibandingkan semen *sexing* yaitu berturut-turut 90,62%, 83,81% dan 81,53%, 76,92%. Sedangkan nilai CR hasilnya berkebalikan hasil IB dengan semen *sexing* lebih tinggi yaitu 53,84% dibandingkan IB dengan non *sexing* 40,62%. Pada IB dengan menggunakan semen beku *sexing single* dosis keberhasilannya lebih rendah sedangkan apabila dobel dosis tingkat keberhasilannya mencapai 72% dan pedet jantan yang dihasilkan 80% sesuai dengan proporsi spermatozoa X dan Y hasil *sexing* yaitu spermatozoa X 20% dan Y 80% (Susilawati *et al.*, 2019). Namun pada tahun 2019 hasil IB dengan menggunakan *double* dosis menggunakan semen *sexing* Y tidak menunjukkan hasil yang diharapkan, pada non *sexing* dihasilkan CR sebesar 85,37 dengan jumlah kelahiran jantan 53,97% dan betina 46,03%. Pada semen *sexing* Y dihasilkan 77,78% dengan jumlah kelahiran jantan 44,44% dan betina 55,56%. Kathiravan *et al.* (2011) menyatakan bahwa motilitas adalah karakteristik kualitas semen yang terbaik dalam menentukan fertilitas spermatozoa yang menunjukkan viabilitas dan struktur integritas. Computer-assisted semen analyser (CASA) mempunyai presisi dan keakuratan informasi berdasar pada perbedaan karakteristik spermatozoa. Contri *et al.* (2011) mengatakan bahwa analisa motilitas semen beku sapi dapat menggunakan Hamilton-Thorne IVOS 12.3. pada 30 ternak per hari dengan presisi yang tinggi.

Metode *sexing* menggunakan sentrifugasi gradien densitas percoll yang digunakan saat ini adalah menggunakan volume awal 1 ml, sehingga mendapatkan ketepatan pemisahan bagian lapisan atas 80% adalah spermatozoa Y dengan motilitas setelah dibekukan 40% akan tetapi konsentrasi kurang dari 25 juta, untuk itu perlu meningkatkan konsentrasi spermatozoa hasil *sexing* tetapi tetap mempunyai motilitas diatas 40% dengan ketepatan hasil pemisahan tetap di atas 80%, untuk itu perlu dilakukan penelitian dengan volume awal yang berbeda terhadap karakter motilitas spermatozoa setelah proses *sexing* menggunakan metode sentrifugasi gradien densitas percoll.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Loka Penelitian Sapi Potong, Grati Pasuruan pada 2 Januari sampai 15 Maret 2020, sedangkan penelitian mengenai uji proporsi spermatozoa X dan Y dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya.

Materi

Sampel semen yang digunakan pada penelitian ini adalah semen yang berasal dari 3 ekor pejantan sapi PO (Peranakan Ongole) berumur ± 5 tahun dengan bobot badan ± 700 kg. Semen yang digunakan memiliki kriteria motilitas masa $\geq 2+$, motilitas individu $\geq 70\%$.

Metode

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimental. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan 3 perlakuan volume semen saat *sexing* terdiri dari P0 = 1 ml semen, P1 = 1,5 ml semen dan P2 = 2 ml semen, dengan pertimbangan bila volume awal 1 ml menghasilkan konsentrasi kurang 25 juta /straw, sehingga perlu ditingkatkan volume awalnya. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 11 kali sebagai kelompok (blok). Parameter yang diukur adalah persentase motilitas, motilitas progresif, *Curvilinear Velocity* (VCL), *Straight-line Velocity* (VSL), *Average Path Velocity* (VAP), *Linearity* (LIN), *Straightness* (STR), dan *Wobble* (WOB).

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan 10 densitas dengan konsentrasi 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% percoll dalam pengencer andromed yang ditambahkan aquabidest dengan perbandingan 1:4. Masing-masing 0,5 ml dibuat gradien menjadi 10 gradien dari 65% sd 20%, kemudian dimasukkan semen sesuai perlakuan yaitu P0: 1ml, P2: 1,5 ml, P3: 2 ml. Semen kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan pengencer Andromed dan kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2250 rpm selama 5 menit. Setelah sentrifugasi, diambil sebanyak 2 ml bagian bawah (spermatozoa X) dan bagian atas (spermatozoa Y) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda yang telah berisi 3 ml pengencer. Kemudian dilakukan pencucian melalui sentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm

selama 3 menit, bagian atas (supernatan) dibuang dan disisakan endapan sebanyak 1 ml di dalam tabung. Kemudian ditambahkan pengencer dengan prediksi konsentrasi 25 juta/ml. Selanjutnya tahap pendinginan dengan memasukkan semen *sexing* ke dalam tabung reaksi yang berada di dalam *waterbath* suhu 30°C dan dilanjutkan pada suhu 4°C.

Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah gerak individu spermatozoa yang dapat diamati dengan menggunakan sistem CASA dengan *Sperm Class Analyzer* (SCA). v. 5.2. Microptic, Barcelona, Spanyol. *Standard Frame rate* (FR) yang digunakan adalah 25 fps (*frame per second*). Analisis dilakukan dengan mengambil sampel semen sebanyak 3-4 µl, diletakkan sampel pada *object glass* pada suhu yang dijaga konstan 37°C dengan menggunakan *cover glass*. Mikroskop diatur pada pembesaran 10 x10 dan fase kontras pH1. Digunakan *green filter* pada cermin *reflektor* dan dilakukan pengaturan cahaya serta diafragma, disesuaikan dengan standar warna pada layar komputer, dan dilakukan pengambilan gambar pada 5 sudut pandang, hasil analisa berupa nilai rata-rata gambar yang didapatkan (Ratnawati *et al.*, 2017; Ratnawati *et al.*, 2018; Contri *et al.*, 2011). Parameter yang diamati adalah motilitas, motilitas progressif, *Curvilinear Velocity* (VCL), *Straight-line Velocity* (VSL), *Average Path Velocity* (VAP), *Linearity* (LIN), *Straightness* (STR) dan *Wobble* (WOB). *Curvilinear Velocity* yang disingkat dengan VCL adalah kecepatan spermatozoa pada lintasannya yang dinyatakan dalam satuan µm/s. Nilai parameter ini hanya menunjukkan kekuatan pergerakan spermatozoa, namun tidak memberikan informasi tentang progresivitas spermatozoa maupun arah gerak spermatozoa (Perreault, 2002). *Straight-line velocity* VSL adalah kecepatan pergerakan spermatozoa dalam satu jalur/arah lurus yang dinyatakan dalam satuan µm/s. Parameter ini menunjukkan progresivitas gerakan spermatozoa, namun tidak menunjukkan pola gerakan spermatozoa (Perreault, 2002). *Average path velocity* atau VAP adalah kecepatan rata-rata spermatozoa, yang dihitung dengan membagi panjang alur dengan waktu tempuhnya yang dinyatakan dalam satuan µm/s (Perreault, 2002). Udrayana (2009) menyatakan bahwa LIN merupakan kelurusan lintasan *curve linear*. Nilai LIN didapatkan dengan membagi VSL dengan VCL dikalikan dengan 100 dan dinyatakan dalam

%. Nilai STR didapatkan dengan membagi VSL dengan VAP dikalikan dengan 100 dan dinyatakan dalam %. STR merupakan kelurusan rata-rata jalur spatial. Nilai WOB didapatkan dengan membagi VAP dengan VCL dikalikan 100 dan disajikan dalam %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas semen setelah penampungan

Kualitas semen sebelum dilakukan perlakuan dilakukan uji kualitas yang meliputi makroskopis dan mikroskopis sesuai dengan standar kualitas semen, seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas semen sapi PO setelah penampungan

Volume (ml)	7,82± 2,31	Putih susu
pH	6,5	
Konsistensi	Sedang – kental	
Motilitas individu (%)	71,27 ± 3,90	
Viabilitas (%)	86,98 ± 5,4	
Konsentrasi (Juta/ml)	1.031,18± 121,89	

Berdasarkan pada data tersebut di atas menunjukkan persentase motilitas awal di atas 70% sehingga memenuhi syarat untuk dapat diproses menjadi semen cair maupun semen beku, karena motilitas menentukan terjadinya fertilisasi. Ratnawati *et al.* (2018) mengatakan bahwa kualitas semen sapi PO saat setelah penampungan adalah volume 4,7 ± 1,9 ml; pH 6,6± 0,4; warna *cream*, konsentrasi 1.286± 230 juta/ml, motilitas massa 3,0, viabilitas 84 ± 6,2 %, motilitas progresif: 71 ± 2,2 %; total spermatozoa motil: 4.349± 22.139,7 juta dan abnormalitas 2,2 ± 1,5 %. Karakter motilitas spermatozoa sapi PO setelah dilakukan penampungan ditunjukkan seperti pada Tabel 2, merupakan karakter yang normal untuk kualitas spermatozoa.

Tabel 2. Karakter motilitas spermatozoa sapi PO setelah penampungan

Motilitas (%)	95,05 ± 5,16
Motilitas Progressif (%)	71,13 ± 5,82
Visual (%)	71,18±3,92
VCL (µm/s)	53,3±5,91
VSL(µm/s)	24,6±4,15
VAP(µm/s)	36±2,86
LIN (%)	49,1±12,31
STR(%)	68,2±8,81
WOB(%)	68,2±8,81

Berdasarkan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa motilitas individu secara visual hampir sama dengan motilitas progressif

yaitu $71,27 \pm 3,90\%$ dan $71,13 \pm 5,82 \%$, hal ini mengindikasikan bahwa pengujian kualitas semen pada motilitas progresif bila menggunakan CASA sama dengan motilitas progresif secara visual yaitu pengujian menggunakan mikroskop cahaya sesuai dengan standard SNI semen beku.

Persentase motilitas dan motilitas bergerak progresif menggunakan SCA 5.2. berdasarkan pada standar WHO. Persentase motilitas spermatozoa adalah persentase spermatozoa yang mempunyai $VAP < 25 \mu\text{m/s}$. Sedangkan persentase motilitas progresif spermatozoa merupakan persentase spermatozoa dengan nilai $VAP > 25 \mu\text{m/s}$ (Contri *et al.*, 2010). Berdasarkan pendapat Massanyi *et al.* (2008) spermatozoa motil progresif apabila kecepatan gerak $> 20 \mu\text{m/s}$ dan spermatozoa motil apabila kecepatan gerak $> 5 \mu\text{m/s}$. Nilai persentase motilitas, motilitas progresif dan integritas membran adalah kriteria yang penting karena berperan dalam penilaian fertilitas sapi jantan (Abavisani *et al.*, 2013). Ratnawati *et al.* (2018) berpendapat bahwa karakter motilitas spermatozoa pada sapi PO menggunakan CASA setelah penampungan adalah sebagai berikut: Motilitas: $96,8 \pm 1,9 \%$, Motilitas Progresif: $78,5 \pm 6,5\%$, VCL $50,2 \pm 4,3\%$; VSL : $26,9 \pm 5,4 \%$; VAP : $35,9 \pm 4,6\%$. LIN : $53,2 \pm 8,6\%$; STR : $74,5 \pm 6,3\%$ dan WOB : $71,1 \pm 6,5 \%$.

Persentase motilitas dan motilitas progresif setelah *sexing* dan pendinginan.

Persentase motilitas dan motilitas progresif setelah proses *sexing* dan pendinginan seperti yang tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase motilitas dan motilitas progresif setelah *sexing* dan pembekuan pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Motilitas (%)	Motilitas Progresif (%)
P0	$71,02 \pm 10,08^a$	$47,68 \pm 8,71^a$
P1	$79,63 \pm 8,65^b$	$59,61 \pm 7,26^b$
P2	$83,38 \pm 6,67^b$	$62,21 \pm 6,74^b$

Keterangan: Superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Persentase motilitas spermatozoa mengalami penurunan dari $95,05 \pm 5,16\%$ menjadi $71,02 \pm 10,08\%$ pada P0, $79,63 \pm 8,65\%$ pada P1 dan $83,38 \pm 6,67 \%$ pada P2. Di antara perlakuan terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,01$) sedangkan di antara ulangan tidak terdapat perbedaan ($P > 0,05$). Sedangkan pada motilitas progresif pada perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), sedangkan di antara ulangan

tidak menunjukkan perbedaan ($P > 0,05$). Persentase motilitas dan motilitas progresif yang terbaik adalah P2 yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan P1 akan tetapi berbeda nyata dengan P0 ($P < 0,05$).

Penurunan motilitas ini karena pengaruh dari proses *sexing* dan pendinginan. (Ratnawati *et al.*, 2018), berpendapat bahwa motilitas dan motilitas progresif menggunakan CASA setelah pendinginan selama 5 hari pada sapi PO adalah $79,9 \pm 6,5 \%$ dan $62,1 \pm 6,5\%$, apabila dilihat dari motilitasnya masih tidak banyak beda, akan tetapi pada motilitas progresifnya lebih rendah. Hal ini disebabkan karena spermatozoa mengalami penurunan setelah proses *sexing* dan pendinginan, karena pada proses *sexing* dilakukan sentrifugasi, sehingga terjadi proses pergesekan antara spermatozoa dengan medium pengencer, sesama spermatozoa dan juga tabung reaksi. Berdasarkan pendapat Kusumawati *et al.* (2019) motilitas spermatozoa *sexing* mengalami penurunan motilitas hingga $48 \pm 8,28\%$ pada lapisan atas dan $53 \pm 7,93\%$ pada lapisan bawah. Susilawati *et al.* (2014) menyatakan bahwa spermatozoa setelah dilakukan *sexing* menggunakan metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll akan mengalami penurunan kualitas disebabkan karena terjadinya kerusakan membran spermatozoa. Proses sentrifugasi menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas yang disebut dengan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) hal ini disebabkan oleh adanya kerusakan membran (Zanella *et al.*, 2016). Radikal bebas yang berpengaruh terhadap pengaturan fisiologi sespermatozoa pada saat kapasitas, dan hiper aktivasi (Aitkel *et al.*, 2012).

***Curvilinear velocity* (VCL), *straight-line velocity* (VSL), *average path velocity* (VAP) setelah *sexing* dan pendinginan**

Sexing dan pembekuan dapat mengakibatkan penurunan nilai VCL, VSL dan VAP, dapat dilihat pada Tabel 4.

VCL terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara P0 dengan P2 sedangkan VSL, dan VAP di antara perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P > 0,05$), sedangkan di antara ulangan terdapat perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$). Hal ini menunjukkan bahwa diantara ulangan terdapat kualitas yang berbeda, yang dipengaruhi oleh kondisi awal saat semen belum perlakuan yaitu dipengaruhi oleh pakan, libido dan penanganan saat penampungan (Yekti *et al.*, 2017). VSL dan VAP tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Parameter VSL dan VAP menunjukkan kecepatan gerak

spermatozoa yang dipengaruhi oleh beberapa bahan yaitu sumber energi yang akan dijadikan sumber ATP, juga unsur mineral misalnya Zn, sehingga dengan tidak adanya perbedaan menunjukkan kandungan ATP dan mineral yang ada pada ketiga perlakuan adalah sama. Susilawati (2011) menyampaikan bahwa pergerakan spermatozoa dipengaruhi oleh kandungan energi dan mineral yang ada pada media spermatozoa. Hasil penelitian Ratnawati *et al.* (2018), pada sapi PO yang dilakukan pendinginan selama 5 hari menunjukkan VCL : 41,6±6,4, (µm/s) VSL :21,3±3,7 (µm/s) dan VAP : 25,6± 3,1(µm/s).

Tabel 4. *Curvilinear Velocity (VCL), Straight-line Velocity (VSL), Average Path Velocity (VAP) spermatozoa setelah sexing dan pendinginan*

Perlakuan	VCL (µm/s)	VSL (µm/s)	VAP (µm/s)
P0 (1 ml)	50,9±7,73 ^a	20,8±8,19	30,2±7,82
P1(1,5 ml)	55,2±5,03 ^b	21,6±6,02	32,5±6,14
P2 (2 ml)	53,2±5,97 ^{ab}	22,1±5,77	31,5±6,18

Keterangan: Superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,05)

Linearity (LIN), straightness (STR), Wobble (WOB)

Setelah proses sexing dan pendinginan terjadi penurunan nilai LIN, STR dan WOB jika dibandingkan dengan sebelum sexing dan pendinginan, Nilai LIN, STR dan WOB setelah pendinginan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai *Linearity (LIN), straightness (STR), Wobble (WOB) setelah sexing dan pendinginan*

Perlakuan	LIN (%)	STR (%)	WOB (%)
P0 (1 ml)	40,2±12,26	67,2±11,20	59±9,49
P1(1,5 ml)	39,1±10,31	65,7±10,06	58,8±8,63
P2 (2 ml)	39,8±7,25	67,2±7,92	59,1±7,74

LIN, STR, dan WOB di antara perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P>0,05), sedangkan di antara ulangan terdapat perbedaan sangat nyata (P<0,01), hal ini karena pada setiap ulangan kondisinya sapi tidak selalu sama. Mulai dari kondisi fisiologis pejantan, proses penampungan, proses sexing dan lingkungan yang tidak bisa dikontrol. Pola gerak spermatozoa ditentukan oleh nilai LIN dan STR spermatozoa. Udrayana (2009) menyatakan bahwa WOB merupakan pengukuran osilasi lintasan sebenarnya. Hasil penelitian Ratnawati *et al.* (2018) pada sapi PO menunjukkan bahwa setelah

penyimpanan dingin selama 5 hari LIN : 52,0±10,7 %, STR : 82,7± 6,6% dan WOB : 62,2± 8,4 %. Susilawati *et al.* (2018) menyatakan bahwa pengencer berpengaruh terhadap VCL, VAP, STR, dan WOB, hal ini karena pada pengencer yang berbeda kandungan energi yang dapat dirubah sebagai sumber ATP berbeda pula, demikian juga dengan kandungan beberapa mikromineral yang memengaruhi terhadap pola gerak spermatozoa yaitu kecepatan, amplitudo gerak ekor spermatozoa yang dapat di lihat pada karakter VCL , VAP, STR dan WOB

KESIMPULAN

Motilitas dan motilitas progresif spermatozoa pada sampel dengan volume awal 2 ml lebih baik dibandingkan dengan sampel dengan volume awal 1 ml dan 1,5 ml. Volume awal saat sexing spermatozoa tidak memengaruhi Karakter motilitas VCL, VSL, VAP, LIN, STR, dan WOB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih pada Universitas Brawijaya yang memberikan pendanaan penelitian melalui hibah penelitian Guru Besar dan Loka Penelitian sapi Potong yang memfasilitasi tempat penelitian dan fasilitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

Abavisani, A., Arshami, J., Naserian, A.A., Kandelousi, M.A.S., Azizza, M.D. 2013. Quality of Bovine Chilled or Frozen-Thawed Semen After Addition of Omega-3 Fatty Acids Supplementati on to Extender. *Int. J fertil Steril.* 7(3):161-168.

Aitken, R.J., Jones, K.T., Robertson, S.A. 2012. Reactive Oxygen Species and Review sperm function-In Stickness and In Health. *J. Androl.* 22: 1096-1106. DOI : 10.2164/jandrol.112.016535

Boro, P., Naha, B.C., Madkar, A., Prakash, C. 2016. Sexing of semen in bulls: A mini review. *Inter. J. Appl. Res.* 2(4): 460-462.

Contri, A.C., Valorz., Faustini, M., Wegher, L., Carluccio, A. 2010. Effect of Semen Preparation on Casa Motility Results in Cryopreserved Bull Spermatozoa. *J. Theriogenology.* 74(3): 424-35. doi: 0.1016/j.theriogenology.2010.02.025.

- Kathiravan, P., Kalatharan, J., Karthikeya, G., Rengarajan, K., Kadirvel, G. 2011. Objective Sperm Motion Analysis to Assess Dairy Bull Fertility Using Computer-Aided System--A Review. *J. Theriogenology*. 76(3):448-54. doi: 10.1111 /j.1439-0531.2010.01603.x.
- Kusumawati, E.D., Isnaini, N., Yekti, A.P.A., Luthfi, M., Affandhy, L., Pamungkan, D., Kuswati., Ridhowi, A., Sudarwati, H., Rahadi, S., Rahayu, S., Susilawati, T. 2019. The Motility and Ration of X and Y Sperm Filial Ongole Cattle using Different Sexed Semen Methods. *Am. J. Anim. Vet. Sci.*14(2): 111.114 DOI: 10.3844/ ajavsp.2019.111.114
- Massanyi, P., Chrenek, P., Lukac, N., Makarevich, A.V., Ostro, A., Zivcak., JandBulla, J. 2008. Comparison of Different Evaluation Chambers for Analysis of Rabbit Spermatozoa Motility Parameters Using CASA System. *Slovak J. Anim. Sci.*41(2): 60-66.
- Perreault, S.D. 2002. Smart Use of Computer-Aided Sperm Analysis (CASA) to Character size Sperm Motion. Reproductive Toxicology Division. U.S. Environmental Protection Agency National Health And Environmental Effects Research Laboratory.
- Prakash, M. A., Kumaresan, A., Manimaran, A., Joshi, R.K., Layek, S.S., Mohanty, T.K., Divisha, R.R. 2014. Sexing of Spermatozoa in Farm Animals; A Mini Review. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2(4): 226-232.
- Ratnawati,D., Isnaini, N., Susilawati, T .2017. Pemanfaatan CASA dalam observasi spermatozoa semen cair sapi madura dalam pengencer berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 27(1): 80-95. DOI: 10.21776/ub.jiip.2017.027.01.07
- Ratnawati,D., Isnaini, N., Susilawati, T. 2018. Character Motility of Liquid Semen on Ongole Crossbreed (PO) , Bali and Madura Bullas with Different Diluents ay Cold Storage. *Asian J Microbiol. Biotech. Env. Sci.* 20(1): 21-28
- Susilawati, T. 2011. Spermatology. UB Press, Malang.
- Susilawati, T 2014. *Sexing Spermatozoa*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang.
- Susilawati,T., Kuswati., Yekti, A.P.A. 2019. The Success Rate of Artificial Insemination (AI) using sexing and non sexing frozen semen in ongole crossbred cows. *Asian J Microbiol. Biotech. Env. Sci.* 21(2): 537-540
- Susilawati, T., Kusumawati, E.D., Isnaini, N., Yekti, A.P.A., Sudarwati, H., Ridhowi, A. 2017. *Effect of Sexing Process Using Percoll Density Gradien Centrifugation and Frozen on Motility and Damage to Spermatozoa Membrane of Filial Ongole*. *Anim. Healt Sci. Res.* 5: 227-231.
- Susilawati, T., Rahayu, S., Udrayana, S., Sudarwati, H., Nugroho, E. 2014. *Effect of Different Centrifugation Duration on Simmental Bull Sperm Quality and Mebrane Status After Sexing, Cooling and Freezing Processes*. *J. Sustainable Agric.* 8(7): 28-34.
- Susilawati,T., Ratnawati, D., Isnaini, N., Kuswati., Yekti, A.P.A. 2018. Character of Liquid semen motility in Various Diluents on balinese cattle during cold storage. *Asian J. Microbiol. Biotech. Env. Sci.* 20(1): 172-178
- Udrayana, S.B. 2009 Proteksi Spermatozoa kambing Peranakan Etawah Menggunakan Fosfatidilkolin Dalam Proses Sexing Pada Gradien BSA dan Pembekuan. Disertasi. Program Studi Doktor Ilmu Peternakan. Program Pascasarjana Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro Semarang.
- Wiranto., Kuswati., Prafitri, R., Huda, A.N., Yekti, A.P.A., Susilawati, T. 2020. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku Sexing pada Bangsa Sapi yang Berbeda. *Jurnal Agripet*. 20(1): 17-21
- Yekti, A.P.A., Susilawati, T., Ihsan, M.N., Wahjuningsih, S. 2017. *Fisiologi Reproduksi Ternak* . UB Press
- Zanella, E., Zanella, R., Poetini, M.R., Marques, M.G., Soares, J.C.M. 2016. Oxidative status of boar semen during storage. *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 12: 95-101. DOI: 10.3844/ajbbsp.2016.95.101