

**KUALITAS SEMEN SAPI BALI HASIL SEXING
MENGUNAKAN MEDIA ALBUMIN FREEZE DRIED**

**THE QUALITY OF BALI BULL SEXED SEMEN USING
FREEZE-DRIED ALBUMIN**

RIZKI AMALIAH



**ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**KUALITAS SEMEN SAPI BALI HASIL SEXING
MENGUNAKAN MEDIA ALBUMIN FREEZE DRIED**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu dan Teknologi Peternakan

Disusun dan diajukan oleh

RIZKI AMALIAH

Kepada

**ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

TESIS**KUALITAS SEMEN SAPI BALI HASIL SEXING
MENGUNAKAN MEDIA ALBUMI FREEZE DRIED**

Disusun dan Diajukan oleh

RIZKI AMALIAH**Nomor Pokok I012192001**Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
Pada Tanggal 17 Januari 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat**Menyetujui
Komisi Penasihat**Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D. IPU

Ketua

Prof. Dr. Ir. Abd. Latief Toleng, M.Sc

Anggota

Ketua Prodi
Ilmu dan Teknologi PeternakanProf. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc. IPUDekan Fakultas Peternakan
Universitas HasanuddinProf. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc., IPU, ASEAN Eng

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Rizki Amaliah
Nomor Mahasiswa : I012192001
Program Studi : Ilmu dan Teknologi Peternakan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Januari 2022

Yang menvatakan

A 10,000 Rupiah postage stamp with a signature over it. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'SEPULUH RIBU RUPIAH', '10000', and 'METERAN TEMPEL'. The serial number '8BE68AJX65685379' is visible at the bottom left of the stamp.

Rizki Amaliah

PRAKATA

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatu

Segala Puji ke hadirat Allah SWT atas Rahmat, Nikmat dan Taufiknya, sehingga dapat diselesaikannya hasil tesis yang berjudul “Kualitas Semen Sapi Bali Hasil *Sexing* Menggunakan Media Albumin *Freeze Dried*”. Makalah ini diajukan sebagai bagian dari tugas akhir dalam rangka menyelesaikan studi di Program Magister Ilmu dan Teknologi Peternakan di Universitas Hasanuddin.

Dalam penyelesaian hasil penelitian tesis ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt, IPU sebagai komisi pembimbing utama dan Bapak Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc selaku komisi pembimbing anggota yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan dan memberikan nasihat serta motivasi dalam penyusunan tesis ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc, bapak Dr. Hasbi, S.Pt, M.Si dan bapak Dr. Muhammad Hatta, S.Pt., M.Si selaku Dosen Pembahas dan Bapak Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M. Sc. selaku Ketua Program Studi S2 Peternakan yang bersedia meluangkan waktu dan memberikan saran-saran untuk perbaikan penyusunan tesis ini.
3. Bapak Dekan Fakultas Peternakan beserta Wakil Dekan I, Wakil Dekan II dan Wakil Dekan III, Bapak Ketua Prodi Ilmu dan Teknologi

Peternakan, Bapak dan Ibu Dosen serta seluruh Pegawai Fakultas Peternakan UNHAS.

4. Kedua orang tua "M. Tahir dan Najmiah" serta saudara penulis Hilman Setiawan, Nasrullah, Muhammad Khaerul Ihsan atas segala doa, motivasi, pengetahuan dan dukungan penuh kasih sayang terbesar kepada penulis.
5. Kepada Insan Putra Pratama, Siti Mardiyah Mallawakkang, Andi Faradhiba Dwi Julianti Asapa, Tim Repro (Bapak Sahiruddin, Ibu Masturi, Kak Milawati, Khusnul Khatimah, Nur Eni Nur, Athhar Manabi, Kak Hasrin, Indra, Rahmat, Wandu, Asrullah dan Syafik), keluarga besar ASTECH'192 dan keluarga besar RANTAI'15 yang telah banyak membantu dan memotivasi sehingga penulis tetap percaya diri dalam menulis tesis ini.

Makassar, 20 Januari 2022



Rizki Amaliah

RIZKI AMALIAH. Kualitas Semen Sapi Bali Hasil *Sexing* Menggunakan Media Albumin *Freeze Dried*. Dibimbing Oleh Muhammad Yusuf dan Abd Latief Toleng.

ABSTRAK

Metode *Sexing* spermatozoa menggunakan media *Freeze Dried* albumin dengan penambahan pengencer sari kedelai dapat mempertahankan kualitas semen sapi Bali, karena mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (cold shock). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kualitas semen segar hasil *sexing* menggunakan media *Freeze Dried* albumin yang diencerkan dengan sari kedelai. Semen pejantan sapi Bali ditampung sebanyak lima kali dengan tiga perlakuan pengencer yakni pengencer sari kedelai, pengencer tris dan pengencer sari kedelai+tris. Parameter yang diamati adalah kualitas semen segar, kualitas semen setelah *sexing* dan viskositas media *sexing Freeze Dried* albumin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas semen segar secara makroskopis yang meliputi volume sebanyak 4,75 ml, warna krem, bau khas, pH 6, konsistensi sedang dan secara mikroskopis meliputi motilitas individu spermatozoa sebesar 94,2%, viabilitas 96,1%, abnormalitas 4,9% dan konsentrasi 1596×10^6 sel/ml. Motilitas dan viabilitas spermatozoa setelah *sexing* menggunakan media *Freeze Dried* albumin menunjukkan bahwa pada lapisan atas berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap semen segar (P_0), namun pada lapisan bawah tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap P_0 . Abnormalitas spermatozoa menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) lebih rendah pada lapisan atas maupun lapisan bawah terhadap P_0 . Konsentrasi spermatozoa menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) antara P_0 dengan semua perlakuan. Persentase proporsi berdasarkan lebar dan panjang kepala menunjukkan spermatozoa X lapisan atas lebih tinggi dibandingkan lapisan bawah, sedangkan spermatozoa Y lapisan atas lebih rendah dibandingkan lapisan bawah pada semua perlakuan. Albumin segar dan *Freeze Dried* memiliki viskositas yang hampir sama sehingga albumin *Freeze Dried* dapat digunakan sebagai media *sexing*. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kualitas semen hasil *sexing* menggunakan media *Freeze Dried* pada pengencer sari kedelai lebih baik dibandingkan pengencer *Tris Aminomethan* dan Sari Kedelai+Tris, dan albumin *Freeze Dried* dapat digunakan sebagai media *sexing*.

Kata Kunci : *Sexing*, Albumin *Freeze Dried*, Pengencer Kedelai, Kualitas Spermatozoa, Viskositas.

RIZKI AMALIAH. The Quality of Bali Bull Sexed Semen Using Freeze-dried Albumin. Supervised by Muhammad Yusuf and Abd Latief Toleng.

ABSTRACT

Spermatozoa sexing method using Freeze Dried albumin media with the addition of soybean extract extender can maintain the quality of Bali bull semen, because it contains lipoproteins and lecithin which protect spermatozoa from cold shock. This study aimed to determine the quality of fresh semen from Freeze Dried sexing media using soybean extract extender. Semen from Bali bull was collected five times with three extender treatments, namely soybean extract extender, tris extender and soybean extract + tris extender. Parameters measured were the quality of fresh semen, the quality of semen after sexing and the viscosity of the Freeze Dried albumin sexing media. The results of the study showed that the quality of fresh semen macroscopically was a volume of 4.75 ml, beige color, distinctive smell, pH 6, medium consistency and microscopically including individual motility was 94.2%, viability 96.1%, abnormality 4.9% and concentration 1596×10^6 cells/ml. Motility and viability of spermatozoa after sexing using Freeze Dried albumin showed that the upper layer was significantly different ($P < 0.05$) than fresh semen (P_0), but the lower layer was not significantly different ($P > 0.05$) in comparison to P_0 . Abnormality of spermatozoa showed that there was a significantly lower ($P < 0.05$) on the upper and lower layers compared to P_0 . Concentration of spermatozoa showed a significantly different ($P < 0.05$) between P_0 and all treatments. The percentage proportion based on head width and length showed that the upper layer X spermatozoa were high than the lower layer, while the upper layer Y spermatozoa were low than the lower layer in all treatments. Fresh albumin and Freeze Dried has almost the same viscosity so that Freeze Dried albumin can be used as a sexing media. Based on the results of the study, it can be concluded that the quality of semen from sexing using Freeze Dried media on soybean extract extender were better than Tris Aminomethan and Soybean extract + Tris extender, and Freeze Dried albumin can be used as a sexing media.

Keywords : Sexing, Freeze Dried Albumin, Soy Extender, Spermatozoa Quality, Viscosity.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR KEASLIAN	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL..	xii
DAFTAR LAMPIRAN.	xiii
PENDAHULUAN.....	1
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	2
Tujuan Penelitian	3
Manfaat Penelitian.....	3
TINJAUAN PUSTAKA	5
Gambaran Umum Sapi Bali.....	5
Inseminasi Buatan.....	6
Kualitas Semen	7
Sexing	10
Putih Telur <i>Freeze Dried</i>	12
Pengencer Sari Kedelai.....	14
Pengencer Tris Aminomethan	17
Viskositas Putih Telur.....	17
Kerangka Pemikiran	20

Hipotesis	22
METODE PENELITIAN	23
Waktu dan Tempat	23
Materi Penelitian	23
Metode Penelitian.....	23
a. Rancangan Penelitian	23
b. Parameter yang Diukur	24
c. Prosedur Penelitian.....	27
d. Analisis Data	31
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
Kualitas Semen Segar Sapi Bali.....	33
Motilitas Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Menggunakan Media Albumin <i>Freeze Dried</i>	36
Viabilitas Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Menggunakan Media Albumin <i>Freeze Dried</i>	38
Abnormalitas Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Menggunakan Media Albumin <i>Freeze Dried</i>	40
Konsentrasi Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Menggunakan Media Albumin <i>Freeze Dried</i>	42
Proporsi Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Menggunakan Media Albumin <i>Freeze Dried</i>	44
Viskositas Albumin Segar dan Albumin <i>Freeze Dried</i>	47
PENUTUP	49
Kesimpulan	49
Saran	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Sapi Bali.....	5
Gambar 2. Kacang Kedelai	14
Gambar 3. Kerangka Pemikiran.....	20
Gambar 4. Diagram Alur Penelitian	32
Gambar 5. Grafik Konsentrasi Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Standar Evaluasi Secara Makroskopis Semen Sapi.....	8
Tabel 2. Kualitas Semen Segar Sapi Bali	33
Tabel 3. Motilitas Spermatozoa Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	36
Tabel 4. Viabilitas Spermatozoa Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	38
Tabel 5. Abnormalitas Spermatozoa Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i> ..	41
Tabel 6. Rata-Rata Proporsi Spermatozoa <i>Sexing</i> Berdasarkan Lebar Kepala	45
Tabel 7. Rata-Rata Proporsi Spermatozoa <i>Sexing</i> Berdasarkan Panjang Kepala	45
Tabel 8. Perbandingan Rata-Rata Diameter Viskositas Albumin Segar dan <i>Albumin Freeze Dried</i>	47

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Hasil Olahan Data SPSS.....	56
Lampiran 2. Dokumentasi	68

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Penerapan berbagai teknologi di bidang peternakan telah berkembang pesat untuk meningkatkan produktivitas dan mutu genetik sapi Bali. Pada penerapan teknologi ini, inseminasi buatan (IB) merupakan teknologi yang tepat untuk diterapkan pada peternakan dan merupakan teknologi yang dapat mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul, sehingga kapasitas reproduksi pejantan dapat dimanfaatkan secara maksimal.

Teknologi IB dalam perkembangannya kini dapat menggunakan metode *sexing* atau pemisahan spermatozoa X dan Y. Metode ini dianggap efisien untuk menghasilkan kelahiran anak sesuai yang diinginkan baik jantan maupun betina. Pada metode ini diperlukan media *sexing* untuk memisahkan spermatozoa X dan Y, salah satu media yang sering digunakan adalah putih telur (albumin) segar. Namun, albumin segar memiliki viskositas yang berbeda-beda, sehingga digunakan albumin *Freeze Dried*. Penggunaan albumin *Freeze Dried* ini bertujuan untuk keseragaman viskositas pada media *sexing*. Metode ini implikasi dari perbedaan massa dan ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dibandingkan spermatozoa X, sehingga sperma Y lebih cepat bergerak untuk masuk ke dalam larutan media putih telur *Freeze Dried* (Akhdiat, 2012).

Selain pengaruh dari media *sexing*, hasil dari *sexing* semen juga dipengaruhi oleh pengencer. Kualitas semen pada dasarnya cepat

menurun, sehingga diperlukan bahan pengencer yang dapat meminimalisir penurunan kualitas dari spermatozoa. Bahan pengencer yang dapat digunakan sebagai pengencer yaitu sari kedelai. Selain ekonomis, kedelai juga memiliki kandungan lipoprotein dan lesitin sehingga dapat melindungi spermatozoa dari cekaman dingin atau cold shock (Aku dkk, 2007). Diharapkan dengan penggunaan sari kedelai sebagai bahan pengencer ini dapat menghindari kontaminasi mikroorganisme yang dapat mengganggu kehidupan spermatozoa.

Penelitian mengenai kualitas semen hasil *sexing* media albumin *Freeze Dried* menggunakan pengencer sari kedelai terkait motilitas, viabilitas, abnormalitas dan proporsi spermatozoa X dan Y membutuhkan penelitian lebih lanjut sehingga dapat bermanfaat dan dapat dikembangkan.

Rumusan Masalah

Salah satu teknologi yang dapat digunakan untuk pengembangan produktivitas dan mutu genetik sapi Bali adalah IB. IB dalam perkembangannya dapat menggunakan metode *sexing* atau pemisahan spermatozoa X dan Y. Media *sexing* untuk memisahkan spermatozoa X dan Y yaitu dengan menggunakan putih telur (albumin) *Freeze Dried*. Penggunaan albumin *Freeze Dried* ini bertujuan untuk keseragaman viskositas pada media *sexing*. Hasil dari *sexing* ini dipengaruhi oleh pengencer sehingga dibutuhkan pengencer yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa. Bahan pengencer yang dapat digunakan sebagai pengencer adalah sari kedelai. Penggunaan pengencer sari kedelai dapat

melindungi spermatozoa dari cekaman dingin karena mengandung lipoprotein dan lesitin. Hasil dari informasi ini sangat penting dalam upaya meningkatkan produktivitas dan mutu genetik sapi Bali. Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yakni:

1. Apakah pengencer sari kedelai dapat mempertahankan kualitas semen segar hasil *sexing* media albumin *Freeze Dried*?
2. Apakah albumin *Freeze Dried* dapat digunakan sebagai media *sexing*?

Tujuan Penelitian

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas semen. Adapun tujuan khusus dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui kualitas semen segar hasil *sexing* media albumin *Freeze Dried* menggunakan pengencer sari kedelai.
2. Membandingkan viskositas dari media *sexing* albumin *Freeze Dried* dengan albumin segar.

Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk meningkatkan produktivitas dan mutu genetik sapi Bali di Indonesia. Adapun manfaat khusus dari penelitian ini adalah dapat menjadi sumber informasi kepada setiap orang terkait kualitas semen segar hasil *sexing* media albumin *Freeze Dried* menggunakan pengencer sari kedelai, tris aminomethan, dan sari kedelai-tris, proporsi spermatozoa X dan Y hasil *sexing* media albumin

Freeze Dried serta hasil perbandingan viskositas dari media *sexing* albumin

Freeze Dried dengan albumin segar.

TINJAUAN PUSTAKA

Gambaran Umum Sapi Bali

Sapi Bali (*Bos sondaicus*) merupakan sapi asli Indonesia yang diduga sebagai hasil domestikasi (penjinakan) dari banteng liar. Sebagian ahli yakin bahwa domestikasi tersebut berlangsung di Bali sehingga disebut sapi Bali. Sapi Bali telah tersebar hampir di seluruh provinsi di Indonesia dan berkembang cukup pesat di banyak daerah karena memiliki beberapa keunggulan. Sapi Bali mempunyai daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan yang buruk, seperti daerah yang besuhu tinggi, mutu pakan yang rendah/kasar, dan lain-lain (Guntoro, 2002). Matondang dan Talib (2015) menyatakan bahwa Sapi Bali merupakan salah satu sapi terbaik di dunia karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan rumpun sapi lainnya. Hal ini antara lain adalah memiliki fertilitas dan persentase karkas tinggi dan mampu beradaptasi dengan baik pada lingkungan.



Gambar 1. Sapi Bali

Abidin (2002) menyatakan bahwa kemampuan reproduksi sapi Bali adalah terbaik di antara sapi-sapi lokal di Indonesia, karena sapi Bali bisa

beranak setiap tahun. Manajemen yang baik dapat meningkatkan berat badan harian hingga mencapai 0,7 kg per hari.

Inseminasi Buatan

IB adalah suatu teknologi tepat guna yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan mutu dan produktivitas ternak. Keuntungan yang dicapai dalam program IB adalah untuk memperbaiki mutu genetik, efisien dalam pemakaian pejantan, terbukanya kesempatan untuk menggunakan pejantan unggul secara luas, mencegah penularan penyakit, mengurangi gangguan fisik yang berlebihan terhadap sapi betina pada waktu kawin, serta menghemat biaya (Djanah, 1985).

Menurut Udin (2012) IB merupakan salah satu teknologi yang dapat memberikan peluang bagi pejantan unggul untuk menyebarkan keturunannya secara maksimal, dimana penggunaan pejantan pada kawin alam terbatas dalam meningkatkan populasi ternak, karena setiap ejakulasi dapat membuahi seekor betina.

Salah satu faktor yang menentukan keberhasilan IB adalah kualitas semen yang digunakan (Situmorang, 1991). Untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa in vitro dan mengoptimalkan semen pada saat IB, dibutuhkan bahan pengencer semen yang baik. Seperti diketahui bahwa jenis pengencer semen sangat bervariasi dan masing-masing memiliki keistimewaan (Winarno dan Koswara, 2002).

Menurut Susilawati (2014), IB dengan menggunakan semen sexing dengan menggunakan putih telur pada lapisan atas yang mempunyai

populasi spermatozoa X banyak berhasil memberikan kebuntingan sebanyak 80%. Tampaknya antara spermatozoa X dan Y tidak terdapat perbedaan, yang menyebabkan masalah adalah pengemasan didalam strawnya, sehingga banyak straw yang rusak, dengan demikian menyebabkan penurunan motilitas. Dalam penelitian ini menggunakan teknik *Deep Insemination* yaitu melakukan IB pada posisi di dalam uterus dan melihat hasilnya pada semen sexing beku maupun yang bukan sexing menghasilkan kebuntingan yang tinggi, walaupun hasil evaluasi motilitas spermatozoa hanya sekitar 30–40%. Sehingga dapat dikatakan bahwa IB dengan sexing tidak menjadi kendala keberhasilan kebuntingannya, sehingga memungkinkan untuk di aplikasikan di masyarakat.

Kualitas Semen

Untuk keberhasilan IB, semen harus diproduksi dalam jumlah dan kualitas yang tinggi. Pemeriksaan dan evaluasi meliputi keadaan umum contoh semen, volume, konsentrasi dan motilitas atau daya geraknya. Observasi ini perlu untuk penentuan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan (Toelihere, 1993). Salisbury dan Van Demark (1985) menyatakan bahwa kriteria mengenai penilaian semen bertujuan untuk mendapatkan suatu cara pendugaan tidak langsung mengenai potensi semen untuk memperlihatkan fungsi fertilisasinya.

Pemeriksaan dan evaluasi semen penting dilakukan untuk menentukan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan, khususnya

untuk menentukan kadar pengencer, karakteristik semen dapat digunakan sebagai indikator dari fertilitas (Toelihere, 1993).

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). Standar evaluasi semen sapi secara makroskopis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Standar Evaluasi Secara Makroskopis Semen Sapi

Parameter	Nilai atau Kategori
Volume	5-10 ml
Warna	Putih susu sampai krem
Bau	Khas
Konsistensi	Encer/sedang/kental
pH	6,4 – 7,8

(Purwasih dkk. 2013)

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 dkk, 2000). Gerakan massa dapat dinilai ke dalam tiga kategori yaitu cukup, baik, dan 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 dan 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).

Pengamatan kualitas semen secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan *Computer Assisted Semen Analysis (CASA)*. Penggunaan *CASA* dalam pengujian motilitas spermatozoa dimaksudkan untuk mengatasi subyektifitas penilaian. Penggunaan metode ini didasarkan atas pengembangan digital-image teknologi untuk mendapatkan hasil analisa spermatozoa yang cepat, akurat, mampu meningkatkan dan menstandarkan pengujian parameter motilitas spermatozoa yang relevan untuk menilai fertilitasnya (Simmet, 2004).

Sexing

Pejantan pada mamalia menentukan jenis kelamin anak yang dilahirkan. Sebagai hasil pembelahan reduksi selama spermatogenesis, spermatozoa hanya mengandung setengah jumlah DNA pada sel-sel somatik dari spesies yang sama dan terbentuklah dua macam spermatozoa yaitu spermatozoa yang berkromosom X dan spermatozoa yang berkromosom Y. Meskipun diduga kandungan DNA antara kromosom X dan Y pada spermatozoa hanya sekitar 4% untuk ternak. Spermatozoa yang mengandung kromosom X (spermatozoa X) jika terjadi fertilisasi akan menghasilkan embrio betina, sedangkan spermatozoa yang mengandung kromosom Y (spermatozoa Y) akan menghasilkan embrio jantan, karena pada kromosom Y terdapat *sex determining Region Y gen (SRY)* yang menentukan terbentuknya testis pada hewan jantan (Susilawati, 2011).

Penerapan bioteknologi pemisahan (*sexing*) spermatozoa pembawa kromosom X dan Y merupakan salah satu alternatif yang dapat ditempuh untuk dapat memprediksi jenis kelamin anak yang dilahirkan dan dapat disesuaikan dengan permintaan pasar. Pemisahan ini dilakukan karena diketahui bahwa spermatozoa yang dihasilkan oleh pejantan mempunyai dua kromosom seks yang berbeda yaitu X dan Y yang menentukan jenis kelamin anak yang dihasilkan. Spermatozoa pembawa kromosom X dan Y mempunyai perbedaan dalam hal besar, berat, pergerakan, muatan permukaan dan kandungan biokimia spermatozoa. Atas dasar perbedaan tersebut dapat dilakukan pemisahan dengan berbagai macam metode (Hasbi dkk., 2011).

Perencanaan jenis kelamin anak (*sexing* spermatozoa) dalam peternakan sangat diminati dan merupakan teknologi yang penting didalam penyediaan pangan dari hewan di masa mendatang. Dengan adanya penemuan teknologi *sexing*, maka dalam industri peternakan dunia semakin membutuhkan penerapan teknologi *sexing* ini (Susilawati, 2014).

Sexing atau pemisahan spermatozoa X dan Y merupakan pilihan tepat untuk mendukung peran inseminasi buatan (IB) dalam rangka meningkatkan efisiensi usaha peternakan. *Sexing* dengan albumin putih telur didasarkan pada perbedaan motilitas antara spermatozoa X dan Y dengan membuat medium yang berbeda konsentrasinya (Sianturi dkk, 2007).

Jenis spermatozoa X dan Y diketahui dengan cara mengukur panjang dan lebar kepala spermatozoa, mengikuti metode yang dilakukan oleh Bintara (2009), yaitu spermatozoa diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran kuat (objektif 40x) kemudian dilakukan pemotretan. Secara acak sebanyak 200 sel (per lapang pandang) spermatozoa hasil pemotretan diukur panjang dan lebar bagian kepalanya menggunakan micrometer dan image raster pada perangkat lunak optilabpro. Total hasil pengukuran (panjang x lebar) digunakan untuk mengetahui hubungan antara ukuran panjang dan lebar kepala dengan luas kepala spermatozoa (LKS), dihitung menggunakan metoda integral Riemann. Ukuran kepala spermatozoa yang lebih besar dari rerata diidentifikasi sebagai spermatozoa X, sedangkan ukuran kepala yang lebih kecil dari rerata diidentifikasi sebagai spermatozoa Y.

Putih Telur Freeze Dried

Freeze dryer merupakan alat pengering yang menggunakan metode pembekuan dimana alat ini mengeringkan bahan dengan cara mengeluarkan air dan pelarut secara sublimasi. Keunggulan pengeringan beku dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, khususnya untuk produk-produk yang sensitif terhadap panas antara lain dapat mempertahankan stabilitas produk (menghindari perubahan aroma, warna, dan unsur organoleptik lain), dapat mempertahankan stabilitas struktur bahan (pengkerutan dan perubahan bentuk setelah pengeringan sangat kecil) dan hasil pengeringan yang berupa sifat fisiologis, organoleptik dan

bentuk fisik yang hampir sama dengan sebelum pengeringan). Dalam pembuatan tepung putih telur dengan metode freeze dryer, beberapa hal yang harus diperhatikan yaitu suhu freeze dryer dan ketebalan cairan (Simon, 2014).

Telur memiliki volume yang cukup besar, penanganan telur harus dilakukan secara maksimal serta dapat terjadi penurunan mutu sehingga dalam penggunaan telur banyak menimbulkan kendala. Tepung telur merupakan salah satu pengawetan telur agar daya simpannya (self life) dapat diperpanjang. Pengeringan beku (freeze drying) merupakan salah satu strategi yang dapat digunakan dalam pembuatan tepung telur. Freeze drying dapat menghasilkan produk dengan mutu relatif lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan lain. Hasil produk dari freeze drying memiliki struktur yang kaku akibat proses sublimasi, sehingga tidak mengerut pada saat kering, dan saat rehidrasi kondisinya sama dengan bentuk segarnya (Astuti, 2009). Dalam bentuk kering produk tepung telur dapat mudah disimpan dan sewaktu-waktu dapat digunakan untuk berbagai tujuan (Soekarta, 2013).

Putih telur disimpan dalam ruangan dengan suhu 30°C dan kelembaban 75%. Kemudian dihomogenkan menggunakan mixer, lalu dimasukkan ke dalam freeze dryer dengan setting: suhu pemanasan 45°C, suhu pembekuan -10°C dan tekanan 25 Pa selama 15 jam. Putih telur dibekukan menggunakan suhu -10°C selama 3 jam, setelah itu putih telur yang sudah dibekukan dimasukkan ke dalam pengering menggunakan

suhu pemanasan 45°C dengan tekanan 25 Pa selama 12 jam. Setelah menjadi tepung telur, dikemas menggunakan alumunium foil (Fitriyani dkk, 2017).

Pengencer Sari Kedelai

Pemilihan bahan pengencer yang baik dapat berpengaruh bagi kehidupan spermatozoa sehingga dapat menghasilkan kualitas semen yang berkualitas pula. Bahan pengencer semen harus mempunyai kriteria tidak beracun, berenergi, mampu mempertahankan kualitas semen, bersifat sebagai pelindung, buffer, antibiotika, isotonis, keseimbangan mineral dan krioprotektan yang baik untuk kehidupan spermatozoa, dan bahan anti cold shock (Hardijanto dkk, 2010). Bahan pengencer yang dapat digunakan sebagai pengencer yaitu kacang kedelai. Berikut penampakan kacang kedelai dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kacang Kedelai

Kedelai (*Glycine max L. Merr*) merupakan salah satu komoditas tanaman pangan nabati yang cukup diminati oleh masyarakat. Alasan kedelai diminati antara lain karena dalam biji kedelai terkandung zat gizi

yang tinggi terutama protein dengan kualitas yang mendekati daging hewan. Di antara kacang-kacangan, kadar protein kedelai memang yang paling tinggi (Rukmana dan Yuniarsih, 1996).

Kandungan sari kedelai dalam pengencer seperti lesitin terbukti dapat melindungi dan menekan angka abnormalitas spermatozoa selama masa penyimpanan mengurangi kontaminasi mikroorganisme pada spermatozoa. Sari kedelai juga diketahui memiliki kecenderungan terkontaminasi bakteri lebih kecil daripada kuning telur dan air susu sapi sehingga menekan angka abnormalitas lebih kecil (Immelda dkk, 2019). Menurut penelitian Bousseau dkk (1998) bahwa tidak ditemukannya mikroorganisme yang membahayakan bagi spermatozoa pada pengencer yang mengandung lesitin. Hal ini didukung oleh penelitian Aries dkk (2003) bahwa lesitin dari kacang kedelai memiliki bahan yang mirip dengan lesitin dari kuning telur, berperan melindungi integritas selubung protein sel spermatozoa sehingga lebih tahan terhadap pengaruh cold shock. Aku dkk (2007) menambahkan bahwa penggunaan lesitin nabati mengurangi efek cekaman dingin serta lipoprotein dan lesitin nabati seperti kacang kedelai, sedangkan kuning telur dan susu terkontaminasi oleh bakteri dan mycoplasma.

Kemampuan kedelai (lesitin nabati) sebagai bahan pengencer menggantikan kuning telur (lesitin hewani) modifikasi trehalosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) yang merupakan gula nonpereduksi golongan disakarida (α -D-glukopiranosil- (1 \rightarrow 1)- α -D-glukopiranosil) dari dua molekul glukosa yang

terikat melalui ikatan α -1.1 dan mengandung antioksidan, serta rafinosa ($C_{18}H_{32}O_{16}$) yang merupakan gula pereduksi golongan trisakarida dari satu molekul galaktosa dan glukosa yang terikat melalui ikatan α -1.6 serta satu molekul fruktosa. Bahan ini diduga mampu menyimpan cadangan energi lebih lama selama proses penyimpanan di dalam semen cair serta berperan menjaga stabilitas membran plasma karena berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler dan digunakan sebagai dasar untuk pembuatan semen beku (Bender dan Mayes 2009).

Penelitian Rezki dkk (2016) menyimpulkan penambahan pengencer kombinasi antara sari kedelai dan Tris yang digunakan memiliki hasil yang tidak baik pada motilitas, persentase hidup abnormalitas, dan daya hidup sperma sapi pejantan peranakan ongole (PO) Kebumen, namun dapat mempertahankan konfigurasi normal bentuk spermatozoa sehingga dapat meminimalkan persentase abnormalitas. Putra (2012) telah meneliti konsentrasi Tris sari kedelai yang tepat untuk pengencer semen cair kambing Peranakan Etawah, yaitu pengencer Tris sari kedelai dengan konsentrasi 2,50% dan 3,75% lebih baik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa dan spermatozoa hidup.

Diharapkan dengan penggunaan sari kedelai sebagai bahan pengencer ini dapat menghindari kontaminasi mikroorganisme yang dapat mengganggu kehidupan spermatozoa dan seberapa besar pengaruh sari kedelai tersebut terhadap semen yang dijadikan sebagai materi inseminasi buatan (Rezki dkk, 2016).

Pengencer Tris Aminomethan

Larutan Tris terdiri dari bahan seperti fruktosa sebagai penghasil energi paling besar, asam sitrat sebagai penyangga seperti Tris (hydroxymethyl) aminomethane ($C_4H_{11}NO_3$) dan antibiotik untuk mencegah perkembangan mikroorganisme (Rizal dan Herdis, 2010).

Tris (hydroxymethyl) aminomethane berfungsi sebagai *buffer* bersifat basa yang mampu sebagai *buffer* pH larutan agar tetap stabil (Hafez, 2000). Asam sitrat pada Larutan Tris kuning telur berfungsi sebagai *buffer* pendispersi lemak pada kuning telur dan berfungsi untuk mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit (Susilawati, 2011). Menurut Yildiz *et al.* (2000) fungsi gula dalam larutan pengencer adalah bertindak sebagai krioprotektan, mempertahankan tekanan osmosis larutan pengencer dan sebagai sumber energi bagi spermatozoa selama inkubasi pada proses pembuatan semen.

Viskositas Putih Telur

Putih telur banyak mengandung protein albumin. Putih telur terdiri atas tiga lapisan yang berbeda, yaitu lapisan tipis putih telur bagian dalam (30 %), lapisan tebal putih telur (50 %), dan lapisan tipis putih telur luar (20 %). Pada telur segar, lapisan putih telur tebal bagian ujungnya akan menempel pada kulit telur. Putih telur tebal dekat kuning telur membentuk struktur seperti kabel yang disebut kalaza (Widarta, 2017).

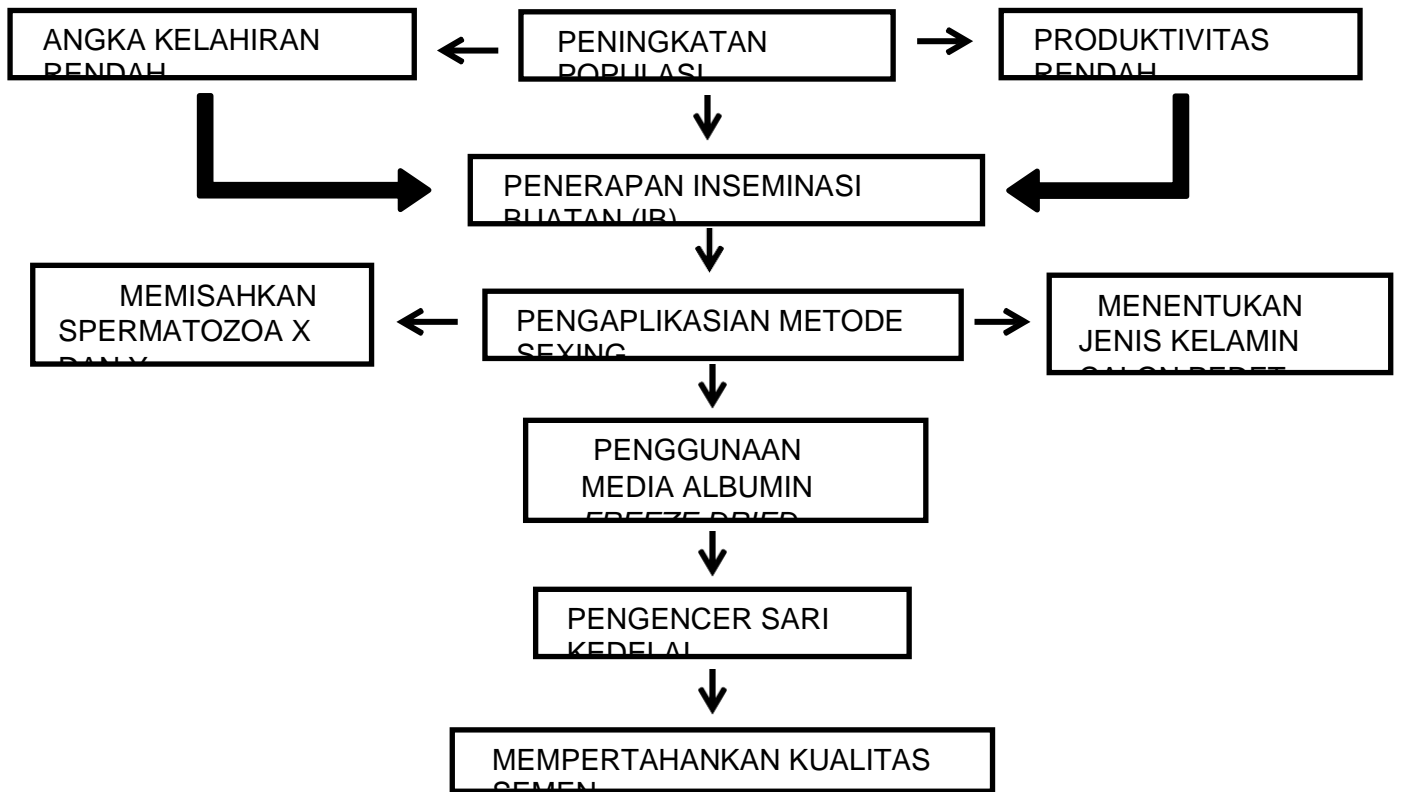
Putih telur merupakan agen pembentuk busa yang baik. Hal ini diakibatkan oleh interaksi diantara berbagai konstituen protein. Kebutuhan

mendasar protein sebagai pembentuk busa yang baik adalah kemampuannya menyerap dengan cepat pada interfase air-udara selama pengocokan dan membentuk lapisan viskoelastis melalui interaksi intermolekuler. Busa merupakan dispersi koloid dari fase gas dalam fase cair, yang dapat terbentuk pada saat telur dikocok. Mekanisme terbentuknya busa telur adalah terbukanya ikatan-ikatan dalam molekul protein sehingga rantai protein menjadi lebih panjang. Kemudian udara masuk diantara molekul-molekul yang terbuka rantainya dan tertahan sehingga terjadi pengembangan volume. Pengocokan putih telur dapat mempengaruhi volume busa putih. Semakin sedikit udara terperangkap, buih yang terbentuk semakin lunak sedangkan semakin banyak udara terperangkap, busa yang terbentuk semakin kaku dan kehilangan sifat alirnya. Sifat fungsional ini diperoleh karena adanya protein globulin, ovalbumin, ovotransferrin, lysozyme, ovomucoid dan ovomucin. Ovomucin mampu membentuk lapisan atau film yang tidak larut dalam air dan dapat menstabilkan busa yang terbentuk (Widarta, 2017).

Globulin mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kekentalan dan menurunkan kecenderungan pemisahan cairan dari gelembung udara. Disamping itu, globulin juga dapat menurunkan tegangan permukaan, sehingga membantu tahapan pembentukan busa. Untuk membentuk gelembung udara yang kecil, banyak dan lembut diperlukan tegangan permukaan yang rendah (Widarta, 2017).

Ovalbumin adalah protein yang dapat membantu membentuk busa yang kuat. Volume dan kestabilan busa dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti umur, suhu, kualitas telur, pH, lama pengocokan dan ada tidaknya bahan lain yang ditambahkan. Pengocokan yang dilakukan lebih dari 6 menit tidak akan menambah volume busa, melainkan akan memperkecil ukuran gelembung udara. Ovalbumin dapat membentuk udara paling baik pada pH 3,7 sampai 4,0, sedangkan protein yang lain dapat membentuk busa paling baik pada pH 6,5 - 9,5 (Widarta, 2017). Menurut Georgian Egg Commission (2005) busa yang baik memiliki daya busa sebesar 6 sampai 8 kali volume putih telur.

Kerangka Pemikiran



Gambar 3. Kerangka Pemikiran

Inseminasi buatan (IB) merupakan teknologi yang tepat untuk diterapkan pada peternakan dan merupakan teknologi yang dapat meningkatkan produktivitas dan mutu genetik sapi Bali. IB ini dapat mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul, sehingga kapasitas reproduksi pejantan dapat dimanfaatkan secara maksimal.

Dalam perkembangannya, teknologi IB dapat menggunakan metode *sexing* atau pemisahan spermatozoa X dan Y. *Sexing* merupakan metode yang efisien untuk menghasilkan kelahiran anak sesuai yang diinginkan baik jantan maupun betina. Media *sexing* untuk memisahkan spermatozoa

X dan Y yaitu dengan menggunakan putih telur (albumin) *Freeze Dried*. Penggunaan albumin *Freeze Dried* ini bertujuan untuk keseragaman viskositas pada media *sexing*. Metode ini implikasi dari perbedaan massa dan ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dibandingkan spermatozoa X, sehingga sperma Y lebih cepat bergerak untuk masuk ke dalam larutan media albumin *Freeze Dried*.

Penerapan metode *sexing* spermatozoa pembawa kromosom X dan Y merupakan salah satu alternatif yang dapat ditempuh untuk dapat memprediksi jenis kelamin pedet yang dilahirkan. Pemisahan ini dilakukan karena diketahui bahwa spermatozoa yang dihasilkan oleh pejantan mempunyai dua kromosom seks yang berbeda yaitu X dan Y yang menentukan jenis kelamin pedet yang dihasilkan. Spermatozoa pembawa kromosom X dan Y mempunyai perbedaan dalam hal besar, berat, pergerakan, muatan permukaan dan kandungan biokimia spermatozoa.

Hasil dari *sexing* semen juga dipengaruhi oleh pengencer. Kualitas semen pada dasarnya cepat menurun karena faktor infeksi, ketidakseimbangan hormonal, dan paparan zat kimia beracun, sehingga diperlukan pengencer semen yang dapat meminimalisir penurunan kualitas dari spermatozoa karena. Bahan pengencer yang dapat digunakan sebagai pengencer adalah kacang kedelai. Selain ekonomis, kacang kedelai juga memiliki kandungan lipoprotein dan lesitin sehingga dapat melindungi spermatozoa dari cekaman dingin atau cold shock. Kandungan sari kedelai dalam pengencer seperti lesitin ini terbukti dapat melindungi dan menekan

angka abnormalitas spermatozoa selama masa penyimpanan mengurangi kontaminasi mikroorganisme pada spermatozoa. Diharapkan dengan penggunaan kedelai sebagai bahan pengencer ini dapat mempertahankan kualitas spermatozoa dan menghindari kontaminasi mikroorganisme yang dapat mengganggu kehidupan spermatozoa.

Hipotesis

Diduga bahwa penggunaan pengencer sari kedelai dapat mempertahankan kualitas semen hasil sexing dan media albumin *Freeze Dried* dapat digunakan sebagai media *sexing*.