

**KARAKTERISTIK SPERMATOZOA
SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*) YANG DISEXING DENGAN FREEZE
DRY PUTIH TELUR PADA LAMA INKUBASI YANG BERBEDA**

***CHARACTERISTICS OF BALI BULL (*BOS SONDAICUS*) SEXED
SPERMS WITH FREEZE DRY EGG WHITE AT DIFFERENT
INCUBATION TIMES***

**PUTRI DAMAYANTI
I012182002**



**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**KARAKTERISTIK SPERMATOZOA
SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*) YANG DISEXING DENGAN FREEZE
DRY PUTIH TELUR PADA LAMA INKUBASI YANG BERBEDA**

***CHARACTERISTICS OF BALI BULL (*BOS SONDAICUS*) SEXED
SPERMS WITH FREEZE DRY EGG WHITE AT DIFFERENT
INCUBATION TIMES***

**PUTRI DAMAYANTI
I012182002**



**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**KARAKTERISTIK SPERMATOZOA
SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*) YANG DISEXING DENGAN FREEZE
DRY PUTIH TELUR PADA LAMA INKUBASI YANG BERBEDA**

Tesis

Sebagai Salah Satu
Syarat Untuk Mencapai
Gelar Magister

Program Studi
Ilmu dan Teknologi Peternakan

Disusun dan Diajukan Oleh

PUTRI DAMAYANTI

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

TESIS

KARAKTERISTIK SPERMATOZOA SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*) YANG DISEXING DENGAN FREEZE DRY PUTIH TELUR PADA LAMA INKUBASI YANG BERBEDA

Disusun dan Diajukan oleh

PUTRI DAMAYANTI
Nomor Pokok I012182002

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
Pada Tanggal 04 Februari 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui
Komisi Penasihat

Prof. Dr. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., IPU
Ketua

Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, S.Pt., IPU
Anggota

Ketua Program Studi
Ilmu dan Teknologi Peternakan

Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M. Sc., IPU

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc., IPU, ASEAN Eng

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Putri Damayanti

NIM : I012182002

Program Studi : Ilmu dan Tehnologi Peternakan

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

Bakunge, 2 Februari 2022

Yang menyatakan



PUTRI DAMAYANTI

PRAKATA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah Dengan memanjatkan puji syukur ke-hadirat Allah SWT karena berkat limpahan rahmat-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. tesis ini berjudul ” **KARAKTERISTIK SPERMATOZOA SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*) YANG DISEXING DENGAN FREEZE DRY PUTIH TELUR PADA LAMA INKUBASI YANG BERBEDA**” merupakan syarat untuk menyelesaikan pendidikan jenjang Strata Dua (S2) pada Program Studi Ilmu dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Makassar. Salawat serta salam kita peruntukkan kepada baginda Rasulullah Muhammad SAW, sebagai pedoman dalam menjalankan kehidupan untuk keselamatan dunia dan akhirat.

Dalam penyusunan tesis ini, penulis banyak menemukan hambatan dan tantangan, sehingga penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan sebagai suatu karya ilmiah, hal ini disebabkan oleh faktor keterbatasan penulis sebagai manusia yang masih berada dalam proses pembelajaran. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan partisipasi aktif dari semua pihak berupa saran dan kritik yang bersifat membangun demi penyempurnaan tulisan ini. Ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya penulis haturkan dengan rasa hormat kepada:

1. Ayahanda tercinta **H.Ali Tibu** dan ibunda tersayang **Hj. Andi Mattingara Hamid** yang telah melahirkan, membesarkan, mendidik dan mengiringi setiap langkah penulis dengan doa restu yang tulus serta tak henti-hentinya memberikan dukungan baik secara moril maupun materil. Terima kasih kepada

Kakak tercinta **Arvayanti,SE, dan Andi Putra Anugrah,S.Kom** yang selalu memberi doa dan dukungan.

2. **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, M.A**, selaku Rektor Universitas Hasanuddin yang telah memberi kesempatan untuk saya mengenyam pendidikan di Universitas Hasanuddin.
3. **Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc**, selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, beserta jajarannya dan juga Kepada **Dosen- dosen pengajar** Program Studi S2 Ilmu dan Teknologi Peternakan Universitas Hasanuddin yang telah memberi ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis selama perkuliahan.
4. **Prof. Dr. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., IPU**, selaku pembimbing utama dan **Prof. Dr. Ir. Ambo Ako., M.Sc., IPU**, selaku pembimbing anggota yang telah memberikan nasehat, arahan, petunjuk dan bimbingan serta dengan sabar dan penuh tanggung jawab meluangkan waktunya mulai dari penyusunan hingga selesainya tesis ini.
5. **Dr. Muhammad Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si, Dr. Muh. Hatta, S.Pt., M.Si , Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si** selaku penguji / pembahas yang telah berkenan mengarahkan dan memberi saran dalam perbaikan tesis ini kedepannya.
6. **Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc**, yang telah memberikan kesempatan untuk bisa penelitian dan mengambil sampel semen di Samata Integrated Farming System.
7. **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., IPM** dan **Athar Manabi Diansyah, S.Pt, Indra Wahyudi, Zahra Jinan** yang telah banyak membantu penulis dari pra - penelitian sampai Tesis ini selesai dan arahan serta masukan selama di Laboratorium Processing Semen.

8. **Hasrin, S.Pt., M.Si , Shafik, Kifli, Rahmat** yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk membantu penulis dalam penampungan semen di Samata Integrated Farming System. **Masturi, S.Pt., M.Si , Milawati, S.P** , serta kakak dan teman – teman ASLAB Reproduksi Ternak yang sudah menemani dan mendukung penulis dengan sangat baik.
9. **Special Thanks to Mami, Papi, Tante Kiky, Daddy, Beby, Geby, Feby, Om Itto, Om Inno, Om Itti, Tante Ira, Furqan Manggabarani, Arif Aditya** yang telah mengiringi setiap langkah penulis dengan doa restu yang tulus serta tak henti-hentinya memberikan dukungan baik secara moril maupun materil kepada penulis
10. **Keluarga Besar Puang Tibu Petta Bebasa dan Keluarga Besar Petta Hamid** yang telah mengiringi setiap langkah penulis dengan doa restu yang tulus tak henti-hentinya kepada penulis.
11. **Civitas Akademika Polbangtan Gowa Kampus I dan II** yang tak henti-hentinya mendoakan dan mensupport kepada penulis.
12. **Dr. Mufidah Muis, SP., M.Si, Syamsu Marlin, SE, Dr. Ir.Kartika Ekasari Z., M.Si**, yang telah mengiringi setiap langkah penulis dengan doa restu yang tulus dan tak henti-hentinya memberikan dukungan kepada penulis.
13. **Special Thanks to Rekha Indriana Arsyad Nurwahyuni Nahru, Afdhal Demiral, Muhammad Reza Pahlevi** yang selalu mengiringi setiap langkah penulis dengan doa yang tulus serta tak henti-hentinya sabar menemani, menyemangati serta memberikan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan tesis ini.

14. Teman/Sahabat **Tzwara Ssi, Cikafillah**, yang sudah memberi masukan dan dorongan maupun semangat yang tak henti kepada penulis untuk menyelesaikan tesis ini.
15. **Keluarga Besar Aspuri/Aspura Tingkat I dan Tingkat II** yang tak henti-hentinya mendoakan dan memberikan dukungan kepada penulis.
16. Terima kasih yang juga tak terhingga untuk teman angkatan **ITP PASCA 2018 - 2019** dan **DARBADAKARA XI** yang senantiasa memberi dukungan dan kepada penulis untuk menyelesaikan tesis ini.

Serta semua pihak yang turut membantu menyelesaikan Tesis ini yang tidak dapat saya sebut satu persatu Semoga kebaikan yang diberikan kepada kami mendapatkan balasan budi terbaik yang penulis telah sebutkan diatas maupun yang belum sempat ditulis. Akhir kata, Harapan Penulis kiranya tesis ini dapat memberikan manfaat kepada pembacanya dan diri pribadi penulis. Aamiin

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Bakunge, 2 Februari 2022

Putri Damayanti

ABSTRAK

PUTRI DAMAYANTI. Karakteristik Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) yang Disexing dengan Freeze Dry Putih Telur pada Lama Inkubasi yang Berbeda. (Dibimbing oleh Muhammad Yusuf dan Ambo Ako)

Perkembangan teknologi reproduksi pemisahan spermatozoa dengan kromosom X dan Y, yang lebih dikenal dengan istilah *sexing* dapat dilakukan secara *in-vitro* dengan menggunakan berbagai metode, salah satunya adalah menggunakan freeze dry putih telur. Penelitian ini bertujuan mengetahui kualitas semen berdasarkan lama inkubasi. Penelitian ini menggunakan empat jenis perlakuan yaitu P0 = Tanpa Inkubasi, P1 = Inkubasi 30 menit, P2 = Inkubasi 45 menit, P3 = Inkubasi 60 menit dengan enam kali ulangan. Parameter yang diamati adalah kualitas spermatozoa secara makroskopis (volume, bau, warna dan konsistensi) dan mikroskopik (motilitas, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi, proporsi, membran plasma utuh, tudung akrosom utuh). Hasil penelitian ini dianalisis dengan menggunakan analisis keragaman satu arah selanjutnya proporsi spermatozoa X dan Y menggunakan uji statistic deskriptif. Hasil analisis sidik ragam bahwa sexing spermatozoa menggunakan freeze dry putih telur pada lama inkubasi berbeda menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap viabilitas, membran plasma utuh (MPU), tudung akrosom utuh (TAU), namun tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap konsentrasi, motilitas, dan abnormalitas. Evaluasi terhadap karakteristik spermatozoa sapi Bali dalam kondisi segar menunjukkan hasil yang sesuai dengan standar untuk diproses lebih lanjut menjadi semen sexing. Lama inkubasi 30 menit pada proses sexing spermatozoa menyebabkan terjadinya penurunan yang nyata terhadap motilitas dan konsentrasi, sedangkan viabilitas, membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa hasil sexing mengalami penurunan yang nyata pada lama inkubasi 60 menit, namun angka penurunan tersebut masih dalam kisaran normal bagi spermatozoa yang akan digunakan dalam proses inseminasi buatan. Proporsi spermatozoa terbaik untuk spermatozoa X berdasarkan lebar kepala spermatozoa adalah inkubasi 60 menit (50,00) dan spermatozoa Y adalah inkubasi 40 menit (96,53%).

Kata Kunci : Sexing, Inkubasi, Konsentrasi, Motilitas, Viabilitas, MPU, TAU, Proporsi

ABSTRACT

PUTRI DAMAYANTI. Characteristics Of Bali Bull (*Bos Sondaicus*) Sexed Sperms With Freeze Dry Egg White At Different Incubation Times.
(supervised by Muhammad Yusuf and Ambo Ako)

The development of reproductive technology for the separation of spermatozoa with X and Y chromosomes, which is better known as sexing, can be carried out in vitro using various methods, one of which is using freeze dry egg whites. This study aims to determine the quality of semen based on incubation time. This study used four types of treatment, namely P0 = No Incubation, P1 = Incubation 30 minutes, P2 = Incubation 45 minutes, P3 = Incubation 60 minutes with six replications. The parameters observed were the quality of the spermatozoa macroscopically (volume, odor, color and consistency) and microscopically (motility, viability, abnormalities, concentration, proportion, intact plasma membrane, intact acrosome cap). The results of this study were analyzed using one-way analysis of diversity. the proportion of spermatozoa X and Y using a descriptive statistical test. The results of analysis of variance that sexing spermatozoa using freeze dry egg white at different incubation times showed a significant effect ($P < 0.05$) on viability, intact plasma membrane (MPU), intact acrosome cap (TAU), but had no significant effect ($P > 0,05$) on concentration, motility, and abnormalities. Evaluation of spermatozoa characteristics of Bali cattle in fresh condition showed the results were in accordance with the standard for further processing into sexing semen. The incubation time of 30 minutes in the spermatozoa sexing process caused a significant decrease in motility and concentration, while the viability, intact plasma membrane (MPU) and intact acrosome cap (TAU) of spermatozoa produced by sexing experienced a significant decrease in incubation time of 60 minutes, but the rate of decrease was significant. This is still within the normal range for spermatozoa to be used in the artificial insemination process. The best proportion of spermatozoa for X spermatozoa based on the width of the spermatozoa head was an incubation of 60 minutes (50.00) and the incubation of Y spermatozoa was 40 minutes (96.53%).

Keywords : *Sexing, Incubation, Concentration, Motility, Viability, MPU, TAU, Proportion*

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
PRAKATA	vi
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	3
Tujuan Penelitian	4
Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
Tinjauan Umum Sapi Bali (<i>Bos Sondaicus</i>)	5
Gambaran Umum Spermatozoa	6
Sexing Spermatozoa	10
Jenis-Jenis Metode Sexing Spermatozoa	11
Metode Freeze Dry Putih Telur	13
Waktu Inkubasi Sexing Spermatozoa	16
Kerangka Pikir	18
Hipotesis	19

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian	21
Materi Penelitian	21
Metode Penelitian	21
Rancangan Penelitian	25
Analisis Data	30

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar Sapi Bali	31
Konsentrasi Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	34
Motilitas Spermatozoa Sapi Bali Setelah <i>Sexing</i>	36
Viabilitas Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	37
Abnormalitas Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	39
Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	42
Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	45
Proporsi Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Dengan waktu Inkubasi Berbeda	48

V. KESIMPULAN DAN SARAN**DAFTAR PUSTAKA****LAMPIRAN**

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.	Kualitas Semen Segar Sapi Bali	31
2.	Konsentrasi Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	35
3.	Motilitas Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	36
4.	Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	38
5.	Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	39
6.	Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	43
7.	Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali Sebelum dan Setelah <i>Sexing</i>	46
8.	Proporsi Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Dengan Waktu Inkubasi Berbeda Berdasarkan Panjang Kepala Spermatozoa	48
9.	Proporsi Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> Dengan Waktu Inkubasi Berbeda Berdasarkan Lebar Kepala Spermatozoa	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.	Sapi Bali	5
2.	Kerangka Pikir	20
3.	Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali	40
4.	Membran Plasma Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	42
5.	Tudung Akrosom Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Motilitas X	60
2. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Motilitas Y	62
3. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Konsentrasi X	64
4. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Konsentrasi Y	66
5. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Viabilitas X	68
6. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Viabilitas Y	70
7. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Abnormalitas X	72
8. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam Abnormalitas Y	74
9. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam MPU X	76
10. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam MPU Y	78
11. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam TAU X	80
12. Hasil Analisis Perhitungan Sidik Ragam TAU Y	82
13. Hasil Uji Descriptive statistic Proporsi X dan Y	84

BAB I PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pengembangan peternakan di Indonesia khususnya dalam rangka meningkatkan populasi ternak adalah untuk mencukupi kebutuhan konsumsi dalam negeri, perlu didukung oleh berbagai faktor. Hal itu tidak terlepas dari pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi (Pasaribu, dkk., 2014). Dengan adanya kemajuan iptek juga berpengaruh terhadap kemajuan teknologi di bidang reproduksi misalnya dalam meningkatkan produktivitas ternak. Beberapa teknologi reproduksi telah diaplikasikan untuk meningkatkan produktivitas ternak, salah satu teknologi tersebut adalah aplikasi teknologi inseminasi buatan (IB). Aplikasi teknologi IB di samping mampu meningkatkan produktivitas dan mempercepat penyebaran populasi dengan mutu genetik yang lebih baik, juga diharapkan akan dapat mengoptimalkan fungsi seekor pejantan (Toelihere, 1985; Hafez, 2004).

IB dapat ditingkatkan nilainya dengan menghasilkan bibit unggul dengan jenis kelamin sesuai tujuan pemeliharaan, misalnya untuk dipotong (produksi daging) dibutuhkan jantan, sedang untuk produksi susu bibit yang dibutuhkan yaitu betina. Teknologi yang dibutuhkan untuk pengaturan jenis kelamin tersebut dengan sexing spermatozoa. Hal ini dapat berguna untuk mendapatkan jenis kelamin yang diharapkan. Teknologi sexing adalah proses pemisahan spermatozoa X dan Y, merupakan salah satu teknologi untuk memperoleh kelahiran pedet sesuai dengan yang diinginkan (Susilawati, 2014). Untuk mencapai tujuan tersebut dapat dilakukan dengan cara menginseminasikan seekor betina berahi dengan spermatozoa yang sudah dipisahkan (spermatozoa

berkromosom X dan spermatozoa berkromosom Y). Pada mamalia, spermatozoa yang berkromosom X bila berhasil membuahi sel telur akan menghasilkan anak berjenis kelamin betina (XX), sebaliknya bila spermatozoa yang berkromosom Y bila membuahi sel telur akan menghasilkan anak berjenis kelamin jantan (XY) (Hafez, 2004).

Teknologi pemisahan spermatozoa untuk mengubah rasio spermatozoa X dan Y dengan menggunakan medium pemisah berbeda dan lama masa inkubasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis medium, konsentrasi medium, waktu atau lama spermatozoa menembus larutan medium, dan konsentrasi spermatozoa yang akan dipisahkan dalam cairan pengencer. Medium sexing spermatozoa sedimentasi dengan perbedaan konsentrasi larutan yang umum digunakan adalah *Bovine Serum Albumin* (BSA), media ini mudah diperoleh, namun kendala dari penggunaan medium ini adalah harganya relatif mahal dan motilitas sperma pasca sexing yang masih rendah (Ferlianthi, 2016).

Berbagai teknik dan metode sexing sperma telah diterapkan pada hewan ternak dan teknik yang digunakan untuk memisahkan spermatozoa X dan Y salah satunya yaitu egg white freeze dry atau biasa disebut pengeringan beku putih telur, metode freeze drying ini didasarkan 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). Metode ini mudah sekali diterapkan di lapangan karena putih telur mudah diperoleh dan harganya terjangkau. Selain pengaruh medium, hasil sexing semen juga dipengaruhi oleh waktu inkubasi

selama proses sexing (Anwar, dkk., 2019). Beberapa peneliti telah melaporkan tentang pengaruh waktu inkubasi. Waktu inkubasi yang cepat menyebabkan proporsi sperma X dan Y yang diperoleh akan sedikit namun energi yang dikeluarkan oleh spermatozoa untuk berpisah lebih sedikit sehingga masih terjaga kualitas sperma yang diperoleh, jika waktu inkubasi semakin lama maka dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa X dan Y dan dapat meningkatkan kerusakan pada sel sperma dikarenakan spermatozoa menggunakan banyak energi untuk memisah sehingga menurunkan kualitasnya.

Salah satu tahapan dari sexing spermatozoa dengan metode freeze dry putih telur yaitu inkubasi. Jika waktu inkubasi terlalu lama dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa X dan Y pada lapisan medium yang berbeda konsentrasi selain itu dapat terjadi kerusakan pada sel sperma sehingga menurunkan kualitasnya. Oleh karena itu diperlukan waktu yang tepat untuk menghasilkan spermatozoa sexing dengan kualitas yang baik.

Berdasarkan uraian tersebut, maka diperlukan penelitian mengkaji karakteristik spermatozoa Sapi Bali yang disexing dengan freeze dry putih telur pada lama inkubasi yang berbeda.

Rumusan Masalah

Dalam rangka meningkatkan populasi ternak, perlu adanya kemajuan IPTEK yang berpengaruh terhadap kemajuan teknologi dibidang reproduksi. Salah satu teknologi tersebut adalah teknologi inseminasi buatan (IB). IB dapat ditingkatkan nilainya dengan menghasilkan bibit unggul dan jenis kelamin yang sesuai tujuan pemeliharaannya, maka teknologi yang dibutuhkan untuk penentuan jenis kelamin yaitu dengan cara sexing spermatozoa, Salah satu tahapan dari sexing spermatozoa yaitu inkubasi jika waktu inkubasi terlalu lama

dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa X dan Y pada lapisan medium yang berbeda konsentrasi selain itu dapat terjadi kerusakan pada sel sperma sehingga menurunkan kualitasnya. Oleh karena itu diperlukan waktu yang tepat untuk menghasilkan spermatozoa sexing dengan kualitas yang baik.

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui lama inkubasi terhadap karakteristik spermatozoa sapi Bali (*Bos Sondaicus*) yang disexing dengan freeze dry putih telur dan kualitas spermatozoa baik makroskopis (volume, bau, warna dan konsistensi) dan mikroskopik (motilitas, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi, proporsi, membran plasma utuh, tudung akrosom utuh).

Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai sumber informasi bagi peneliti, dosen, masyarakat dan peternak dan dapat memberikan kontribusi khususnya didalam dunia teknologi reproduksi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Tinjauan Umum Sapi Bali (*Bos Sondaicus*)

Sapi Bali adalah salah satu jenis sapi lokal Indonesia yang berasal dari Bali yang sekarang telah menyebar hampir ke seluruh penjuru Indonesia bahkan sampai luar negeri seperti Malaysia, Filipina, dan Australia (Oka, 2010). Sapi Bali memiliki keunggulan dibandingkan dengan sapi lainnya antara lain mempunyai angka pertumbuhan cepat, adaptasi dengan lingkungan yang baik, dan penampilan reproduksi yang baik. Sapi Bali merupakan sapi yang paling banyak dipelihara pada peternakan kecil karena fertilitasnya baik dan angka kematiannya yang rendah (Purwantara et al., 2012)



Gambar 1. Sapi Bali (*Bos Sondaicus*)

Sapi Bali merupakan keturunan banteng *Bos bibos* banteng yang telah mengalami proses domestikasi selama berabad-abad. Banteng tersebut menurunkan hampir seluruh jenis sapi di Indonesia setelah mengalami persilangan dengan sapi lain, yang dimasukkan ke Indonesia antara lain sapi Hissar, Ongole, dan lain-lain ketika para penyebar agama Hindu datang ke Indonesia. Sapi Bali memiliki keunggulan dibandingkan dengan sapi lainnya antara lain mempunyai angka pertumbuhan yang cepat, adaptasi dengan lingkungan yang baik, dan penampilan reproduksi yang baik. Sapi Bali

merupakan sapi yang paling banyak dipelihara pada peternakan kecil karena fertilitasnya baik dan angka kematian yang rendah (Purwantara et al., 2012).

Sapi Bali memegang peranan penting sebagai sumber daging dalam negeri. Tingginya permintaan Sapi Bali belum diimbangi dengan usaha-usaha pembibitan atau hal-hal yang berkaitan dengan perbaikan mutu genetik ternak. Dampak dari eksplorasi ternak seperti di atas akan berakibat pada penurunan mutu genetik (Samariyanto, 2004). Disamping itu, penurunan kualitas genetik juga akibat adanya seleksi negatif (Hartati et al., 2009). Ternak Sapi Bali memiliki masalah utama dalam upaya pengembangan yaitu rendahnya kualitas bibit yang ditengarai akibat dari kejadian inbreeding (silang dalam) atau manajemen pemeliharaan.

Gambaran Umum Spermatozoa

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 pergerakan (Applegate, 2011).

Metabolisme Spermatozoa

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

Alur 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 CO₂ dan menghasilkan asetil koenzim A. Selanjutnya, asetil koenzim A teroksidasi sempurna menjadi CO₂ melalui siklus asam sitrat (siklus Krebs). Proses glikolisis dan siklus asam sitrat menghasilkan molekul NADH dan FADH₂. Oksidasi NADH dan FADH₂ 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 substrat glukosa, begitu pula sebaliknya (Storey, 2008).

Pergerakan atau motilitas spermatozoa dapat dipengaruhi secara langsung maupun 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).

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 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 & 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)

Sexing Spermatozoa

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).

Jenis-Jenis Metode Sexing Spermatozoa

Beberapa peneliti telah berusaha untuk memisahkan spermatozoa X dan Y menggunakan teknik berdasarkan prinsip motilitas dan massa berbeda, pola berenang (*swimming patterns*), perubahan permukaan (*surface changes*), perbedaan volumetrik, distribusi arus berlawanan sentrifugal (*centrifugal counter current distribution*), dan sifat yang relevan secara imunologis. Namun tidak ada satu pun dari metode ini yang dapat menghasilkan pemisahan sperma subur yang signifikan secara statistik. Beberapa metode tersebut dapat menurunkan kualitas sperma yang dihasilkan. Misalnya dalam kondisi tertentu tekanan kimia, dan mekanis dari penyortiran dikombinasikan dengan sentrifugasi meningkatkan sperma yang mati atau rusak (Cervantes dan Izquierdo, 2012).

Perlu dipahami bahwa adanya tekanan kimia dan mekanis pada proses *sexing* dapat meningkatkan kerusakan spermatozoa. Selama proses *sexing* spermatozoa membutuhkan energi yang berasal dari proses metabolisme sel baik secara anaerob dan aerob. Kebutuhan energi tentu dapat meningkatkan

intensitas metabolisme sel, yang akhirnya menyebabkan peningkatan konsumsi oksigen pada sperma. Hal ini dapat dikurangi dengan penggunaan medium pemisah yang tepat yang dapat memberikan energi bagi spermatozoa dalam proses metabolismenya (Anwar, dkk., 2019).

Metode yang bisa dilakukan secara komersial untuk pemisahan sperma mamalia adalah dengan menggunakan *flow cytometer*. Kandungan DNA melalui fluorophore Hoechst 33343 yang terikat DNA, dan kemudian memilah sperma menjadi tiga populasi, mungkin X, mungkin Y, dan belum ditentukan. Jutaan dosis inseminasi sperma *sexing* diproduksi setiap tahun dengan metode ini. Meskipun akurasi *sexing* melebihi 90%, metode ini membutuhkan waktu dan biaya yang tinggi, kerusakan sperma yang mengakibatkan tingkat fertilitas (kesuburan) yang lebih rendah, namun tidak memberikan kelainan pada keturunan yang dihasilkan (Seidel, 2012).

Wahjuningsih, dkk., (2019) menyatakan bahwa pemisahan spermatozoa sampai menghasilkan populasi spermatozoa X dan Y yang mendekati murni berdasarkan perbedaan DNA telah dilakukan menggunakan *flow cytometry* modifikasi (peralatan pemilihan sel). Namun, laporan-laporan ini menunjukkan adanya pola kerusakan yang sama seperti analisis DNA spermatozoa yang telah disebutkan sebelumnya, yaitu spermatozoa mati, karena spermatozoa disinari laser untuk menghilangkan ekornya (dibandingkan spermatozoa motil yang masih utuh). Sebagai langkah awal untuk mengetahui kemampuan *flow cytometry* memisah-misahkan spermatozoa yang masih hidup, inti spermatozoa dipilih dan diinjeksikan ke dalam sitoplasma sel telur hamster. Penelitian ini membuktikan bahwa DNA di dalam kepala spermatozoa yang telah dipisahkan

masih aktif, sehingga mampu memfertilisasi sel telur meskipun spermatozoa berada dalam kondisi standar tidak dapat memfertilisasi sendiri.

Berbagai macam metode *sexing* telah digunakan antara lain metode sedimentasi (albumin column), sentrifugasi gradien densitas (percoll), (sphadex kolom), (*flow cytometric*). Metode *sexing* dengan menggunakan albumin (putih telur) pelaksanaannya mudah, bahannya mudah diperoleh serta harganya murah (Ervandi, dkk., 2013). Metode *sexing* yang dianggap cukup sederhana dilakukan adalah metode kolom albumin. Penerapan metode kolom albumin yang menggunakan medium bovine serum albumin (BSA) melalui tahapan pencucian spermatozoa setelah proses *sexing* dengan cara sentrifugasi. Prosedur ini berpotensi menurunkan motilitas spermatozoa. Penelitian yang dilakukan oleh Luzardin, dkk., (2020) menggunakan medium tris-kuning telur yang telah banyak digunakan sebagai bahan pengencer semen ternak sapi. Penggunaan medium Tris-kuning telur pada *sexing* spermatozoa tidak melalui tahapan pencucian spermatozoa setelah *sexing* dilakukan, sehingga penurunan motilitas spermatozoa akibat pencucian dapat dihindari.

Metode Freeze Dry Putih Telur

Berbagai metode pemisahan spermatozoa telah dilakukan sebelumnya, namun dari beberapa metode tersebut metode *sexing freeze dry* putih telur belum pernah dilakukan. 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 dan untuk membuat macam-macam makanan jadi (Soekarto, 2013).

Putih telur sering disebut albumin merupakan bagian dari telur yang berfungsi sebagai anti bakteri dan buffer untuk mempertahankan sifat fisik sebagai dan kimia telur. Putih telur terdiri dari tiga lapisan material, yaitu inner thin albumin berbentuk cairan agak kental yang terletak pada bagian paling dalam dari putih telur, thick albumin merupakan lapisan bagian tengah dan bersifat kental serta lapisan other thin albumin yang terletak pada bagian luar putih telur. Menurut Purwadi, dkk., (2017), putih telur terdiri atas tiga lapisan putih telur bagian dalam (30%), lapisan tebal (thick) putih telur (50%) dan lapisan tipis (thin) putih telur luar (20%). Albumin yang digunakan untuk *sexing* adalah albumin pada putih telur (albumin) yang juga banyak mengandung albumin (Susilawati, 2014).

Soekarta (2013) menyatakan bahwa putih telur mengandung 18 asam amino yaitu alanin, arginin, asam aspartik, asam glutamat, cystin, gysin, histidin, iso leucin, leucin, lysine, methionin, fheny alanin, prolin, serin, theoronin, tryptofhan, tryosin, dan valin. Kandungan asam amino dan albumin pada putih telur diharapkan dapat membantu mempertahankan kondisi spermatozoa. Ama, dkk., (2017) menyatakan bahwa, kandungan albumin pada putih telur terdapat senyawa protein yang disebut lysozyme yang dapat menghancurkan beberapa

bakteri. Selain itu kuning telur mampu melindungi membran kepala spermatozoa sehingga dapat mengurangi peningkatan jumlah abnormalitas spermatozoa. Hal ini didukung oleh pendapat Purwadi, dkk., (2017) bahwa pada putih telur terdapat lysozyme yang merupakan protein yang memiliki sifat antimikroba yang dapat melisis sel bakteri dengan memecah ikatan glikosidik antara N-asetilglukosamin dan khitin dinding sel.

Putih telur (albumin) dapat dan mudah dibuat densitas (fraksi/gradien/kolom) pada berbagai konsentrasi yang berbeda, sehingga memenuhi prinsip dari metode ini serta layak dijadikan bahan alternatif sebagai medium pemisahan spermatozoa X dan Y. Kandungan protein yang tinggi pada putih telur juga bermanfaat sebagai sumber energi bagi spermatozoa pada saat proses pemisahan berlangsung. Secara ekonomis putih telur lebih efisien dan menguntungkan dibanding bahan lainnya karena harganya murah, terjangkau dan mudah diperoleh (Takdir, dkk., 2016).

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).

Waktu Inkubasi Sexing Spermatozoa

Waktu inkubasi dapat menentukan kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y yang diperoleh. Waktu inkubasi yang terlalu singkat akan menghasilkan proporsi sperma X dan sperma Y yang sedikit, sedangkan waktu inkubasi yang terlalu lama dapat menyebabkan sperma X dan sperma Y dapat bercampur kembali, selain itu waktu yang semakin lama saat sexing dapat meningkatkan kerusakan pada sel sperma akibat terlalu banyaknya energi yang dikeluarkan untuk berpisah dan melewati medium yang diberikan (Ferlianthi, 2017).

Beberapa penelitian mengenai pengaruh waktu inkubasi *sexing* spermatozoa telah dilakukan. Luzardin, dkk., (2020) telah melakukan penelitian mengenai hubungan lama waktu *sexing* dengan kualitas spermatozoa sapi Bali pada medium *sexing* tris-kuning telur memperoleh hasil bahwa lama waktu *sexing* sangat berpengaruh terhadap jumlah (konsentrasi) spermatozoa dan persentase motilitas. Konsentrasi terbanyak spermatozoa diperoleh pada lama waktu *sexing* 40 menit sedangkan motilitas tertinggi diperoleh pada lama waktu *sexing* 20 menit. Solihati, dkk., (2017) menyatakan bahwa waktu inkubasi 45 menit adalah waktu optimum menghasilkan proporsi spermatozoa kromosom X-Y paling tinggi dibandingkan lama inkubasi 60 dan 75 menit dan kualitas semen terbaik pasca *sexing*, yaitu proporsi spermatozoa X sebesar $75,40\% \pm 3,20\%$ dengan angka motilitas $75,89\% \pm 2,13\%$ hasil ini diperoleh dari penelitian yang membandingkan lama waktu inkubasi (45, 60 dan 75 menit) pada proses *sexing* spermatozoa sapi peranakan etawah menggunakan media *sexing* BSA.

Anwar, dkk., (2019), dalam penelitiannya persentase motilitas spermatozoa pada perlakuan medium BSA dan SG pada masa inkubasi 40 menit lebih baik dibandingkan dengan perlakuan dengan medium yang sama

dengan masa inkubasi yang lebih lama 50 dan 60 menit. Hal ini diduga sperma pada perlakuan inkubasi 50 dan 60 menit mengalami penurunan motilitas. Penurunan motilitas spermatozoa pada perlakuan masa inkubasi yang lebih lama disebabkan oleh metabolisme spermatozoa selama proses inkubasi, sehingga spermatozoa kehilangan energi yang berpengaruh terhadap penurunan motilitas.

Penelitian yang dilakukan Ferlianti (2017), memperoleh hasil proporsi spermatozoa X pada fraksi atas dengan waktu inkubasi 45 menit memberikan persentase proporsi spermatozoa X pada fraksi atas tertinggi yaitu 74,33%, sedangkan proporsi spermatozoa Y pada fraksi bawah tertinggi pada waktu inkubasi 75 menit yaitu 82,33%. Motilitas spermatozoa selama inkubasi 45-75 menit mengalami penurunan. Penurunan motilitas terjadi karena pada spermatozoa hasil pemisahan telah mengalami perlakuan yang membutuhkan banyak energi untuk tetap menormalkan kondisi fisiologisnya. Proses pencucian yang mengakibatkan pada pengurangan konsentrasi plasma semen dan menggantinya dengan medium *brackett oliphant* (BO) dimungkinkan sebagai salah satu faktor yang menyebabkan menurunnya nilai motilitas spermatozoa bila dihubungkan dengan ketersediaan sumber energi spermatozoa, walaupun dalam medium BO terdapat glukosa. Bertambahnya waktu pemisahan metabolisme akan juga meningkat sehingga akan menurunkan kualitas spermatozoa.

Kerangka Pikir

Permasalahan yang dihadapi dalam bidang peternakan di Indonesia adalah masih rendahnya produktifitas ternak terutama pada sapi. Sehingga dibutuhkan upaya untuk mengatasi hal tersebut. Langkah yang dapat ditempuh

yaitu dengan menggunakan teknologi reproduksi inseminasi buatan (IB). keberhasilan IB ditentukan oleh kualitas semen yang digunakan.

Aplikasi teknologi IB di samping mampu meningkatkan produktivitas dan mempercepat penyebaran populasi dengan mutu genetika yang lebih baik, juga diharapkan akan dapat mengoptimalkan fungsi seekor pejantan. Inseminasi buatan dapat ditingkatkan nilainya dengan menghasilkan bibit unggul dengan jenis kelamin sesuai tujuan pemeliharaan, misalnya untuk dipotong (produksi daging) dibutuhkan jantan, sedangkan untuk produksi susu bibit yang dibutuhkan yaitu betina. Teknologi yang dibutuhkan untuk pengaturan jenis kelamin anak tersebut dengan *sexing* spermatozoa. Hal ini dapat berguna untuk mendapatkan anak dengan jenis kelamin yang diharapkan. Teknologi *sexing* adalah proses pemisahan spermatozoa X dan Y, merupakan salah satu teknologi untuk memperoleh kelahiran pedet sesuai dengan yang diinginkan. Untuk mencapai tujuan tersebut dapat dilakukan dengan cara menginseminasikan seekor betina berahi dengan spermatozoa yang sudah dipisahkan (spermatozoa berkromosom X dan spermatozoa berkromosom Y)

Salah satu tahapan dari *sexing* spermatozoa dengan metode *freeze dry* putih telur yaitu inkubasi. Jika waktu inkubasi terlalu lama dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa X dan Y pada lapisan medium yang berbeda konsentrasi selain itu dapat terjadi kerusakan pada sel sperma sehingga menurunkan kualitasnya. Oleh karena itu diperlukan waktu yang tepat untuk menghasilkan spermatozoa *sexing* dengan kualitas yang baik.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan *sexing* dengan metode *freeze dry* putih telur pada spermatozoa sapi Bali dengan waktu inkubasi 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Spermatozoa hasil *sexing* diuji kualitasnya dengan

melihat beberapa parameter meliputi konsentrasi, motilitas, viabilitas, abnormalitas, proporsi, MPU dan TAU.

Hipotesis

Diduga spermatozoa sapi Bali hasil *sexing* dengan menggunakan *freeze dry* putih telur dapat mempertahankan kualitas *sexing* semen sapi Bali.

KERANGKA PIKIR

