

**PENGARUH LAMA INKUBASI *SEXING* SPERMATOZOA
DENGAN METODE SEDIMENTASI PUTIH TELUR
TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI BALI**

SKRIPSI

**MUHAMMAD FAJAR AMRULLAH
I11116347**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**PENGARUH LAMA INKUBASI *SEXING* SPERMATOZOA
DENGAN METODE SEDIMENTASI PUTIH TELUR
TERHADAP KUALITAS SEMEN SAPI BALI**

SKRIPSI

**MUHAMMAD FAJAR AMRULLAH
I11116347**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Peternakan
Pada Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Fajar Amrullah

NIM : 1111 16 347

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul:

Pengaruh Lama Inkubasi *Sexing* Spermatozoa dengan Metode Sedimentasi Putih Telur Terhadap Kualitas Semen Sapi Bali adalah asli.

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

Demikian pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 23 November 2020



Muhammad Fajar Amrullah

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Pengaruh Lama Inkubasi *Sexing* Spermatozoa dengan
Metode Sedimentasi Putih Telur Terhadap Kualitas
Semen Sapi Bali

Nama : Muhammad Fajar Amrullah

NIM : 1111 16 347

Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui oleh:



Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
Pembimbing Utama



Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc.
Pembimbing Anggota



Dr. Ir. Muh. Ridwan, S.Pt., M.Si., IPU.
Ketua Program Studi

Tanggal Lulus: 10 November 2020

ABSTRAK

Muhammad Fajar Amrullah. I111 16 347. Pengaruh Lama Inkubasi *Sexing* Spermatozoa dengan Metode Sedimentasi Putih Telur Terhadap Kualitas Semen Sapi Bali. Dibimbing oleh **Muhammad Yusuf** sebagai pembimbing utama dan **Ambo Ako** sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi *sexing spermatozoa* terhadap kualitas semen sapi Bali. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan (W0= tanpa inkubasi, W1= 25 menit, W2= 30 menit dan W3= 35 menit) dan empat ulangan (penampungan semen). Parameter yang diukur pada penelitian ini yaitu kualitas semen segar (volume, warna, konsistensi, pH, gerakan massa, konsentrasi, motilitas individu dan viabilitas), dan spermatozoa setelah *sexing* (konsentrasi, motilitas dan viabilitas). Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi, motilitas, serta viabilitas spermatozoa ($P > 0,05$). Pengaruh inkubasi terhadap konsentrasi spermatozoa ($\times 10^9/\text{ml}$) diperoleh W0= 0,348, sementara untuk spermatozoa X W1= 0,379, W2= 0,426, W3= 0,420, sedangkan untuk spermatozoa Y W1= 0,615, W2= 0,393, W3= 0,623. Pengaruh lama inkubasi terhadap motilitas spermatozoa (%) diperoleh W0= 88,74, sementara untuk Spermatozoa X W1= 61,47, W2= 67,55, W3= 59,96, sedangkan Spermatozoa Y W1= 58,48, W2= 45,68, W3= 53,20. Pengaruh inkubasi terhadap viabilitas spermatozoa (%) diperoleh hasil W0= 83,47, sementara untuk spermatozoa X W1= 77,98, W2= 75,82, W3= 74,87, sedangkan untuk spermatozoa Y W1= 77,39, W2= 76,43, W3= 78,05. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu pengaruh lama inkubasi *sexing spermatozoa* menunjukkan penurunan kualitas spermatozoa dari kondisi segar, namun tidak berpengaruh nyata terhadap konsentrasi, motilitas, serta viabilitas spermatozoa sapi Bali.

Kata kunci: *Inkubasi, semen, sexing, putih telur.*

ABSTRACT

Muhammad Fajar Amrullah. I111 16 347. The Effect of Different Duration of Sexing Sperms Incubation Using White Egg Sedimentation Method on the Quality of Bali Bull Semen. Supervised by **Muhammad Yusuf** and **Ambo Ako**.

This study aimed to determine the effect of different duration of sexing sperms incubation on the quality of Bali bull semen. This study used a randomized complete design with four treatments (W0 = without incubation (control), W1 = 25 minutes, W2 = 30 minutes and W3 = 35 minutes) and four replications (semen collection). The parameters measured in this study were the quality of fresh semen (volume, color, consistency, pH, mass movement, concentration, individual motility and viability), and spermatozoa after *sexing* (concentration, motility and viability). The results of this study showed that the duration of incubation did not significantly affect the concentration, motility, and viability of spermatozoa ($P > 0.05$). The effect of incubation on the concentration of spermatozoa ($\times 10^9 / \text{ml}$) was obtained W0 = 0.348, while for spermatozoa X was W1 = 0.379, W2 = 0.426, W3 = 0.420, respectively, while for spermatozoa Y was W1 = 0.615, W2 = 0.393, W3 = 0.623, respectively. The effect of duration of incubation on sperms motility (%) was obtained W0 = 88.74, while for spermatozoa X was W1 = 61.47, W2 = 67.55, W3 = 59.96, respectively, while Spermatozoa Y was W1 = 58.48, W2 = 45.68, W3 = 53.20, respectively. The effect of duration of incubation on the viability of spermatozoa (%) resulted in W0 = 83.47, while for spermatozoa X was W1 = 77.98, W2 = 75.82, W3 = 74.87, respectively, while for spermatozoa Y was W1 = 77.39, W2 = 76.43, W3 = 78.05, respectively. It can be concluded that the effect of incubation duration during sexing the sperms showed a decrease in the quality of sperms from fresh conditions, but did not significantly affect the concentration, motility, and viability of Bali bull sperms spermatozoa.

Keywords: *Incubation, semen, sexing, egg white.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wata'ala* atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi, dengan judul “Pengaruh Lama Inkubasi *Sexing* Spermatozoa dengan Metode Sedimentasi Putih Telur Terhadap Kualitas Semen Sapi Bali”.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat kelulusan pada Mata Kuliah Seminar (Skripsi) Produksi Ternak di Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi teman-teman terutama bagi penulis. Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang ikut berpartisipasi dan membantu dalam penyelesaian skripsi ini, oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada:

1. Kedua Orang tua tercinta **Bapak Amrullah** dan **Ibu Sulaeha** yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan moril maupun spiritual serta ketulusan do'anya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan. Serta kepada kakak dan adik saya **Nursinah Amrullah** dan **Nurul Khaeriyah Amrullah** yang tidak henti memberi support dalam penyelesaian tugas akhir.
2. **Rektor Universitas Hasanuddin**, penulis ucapkan banyak terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan sarjana (S1) pada program studi Peternakan.
3. Bapak **Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc.** selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, beserta jajarannya dan juga kepada dosen-dosen pengajar Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin yang mentransfer ilmunya yang tak ternilai harganya kepada penulis, serta kepada staf fakultas

yang telah membantu dalam proses pengurusan berkas selama penulis berkuliah.

4. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** selaku pembimbing utama yang senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam mengarahkan dan membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dan **Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc** selaku pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan serta arahan selama penyusunan skripsi ini.
5. Bapak **Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc.** dan bapak **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si.**, selaku penguji yang telah memberikan arahan dan masukan dalam proses perbaikan tugas akhir ini.
6. Kepada Bapak **Prof. Dr. Ir. Ambo Ako, M.Sc. dan Bapak Dr. Ir. Zulkharnaim, S.Pt., M.Si. IPM**, selaku Panitia Usulan Penelitian Departemen Produksi Ternak
7. Kepada Bapak **Dr. Muhammad Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si** dan Ibu **Dr. Agr. Ir. Renny Fatmyah Utamy, S. Pt., M.Agr., IPM**, selaku Panitia Seminar Hasil Departemen Produksi Ternak
8. Kepada Bapak **Dr. Ir. Wempie Pakiding, M.Sc.** selaku Panitia Ujian Sarjana Departemen Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin.
9. Bapak **Ir. Muhammad Aminawar, MM**, selaku penasehat akademik penulis yang memberikan nasehat-nasehat selama berkuliah.
10. Bapak **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si, IPM** yang telah membantu penulis dalam berdiskusi ide penelitian serta pelaksanaan penelitian di Laboratorium Reproduksi Ternak Unit Prosesing Semen.

11. Kepada Kak **Hasrin, S.Pt., M.Si.** yang telah membantu dalam penampungan semen di **Samata Integrated Farming System** serta **seluruh karyawan yang terlibat.**
12. Kepada teman seperjuangan **Team Semen Rahmat, Andrianurs Tombilangi, Nurul Fasira, Andi Nirmala,** dan **Hasriani** serta sahabat-sahabat saya yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir.
13. Kepada saudara-saudariku dari mahasiswa baru sampai sekarang tetap saling support, **Aan Darmawan Saputra, Putri Indrasari, Sumarni, dan Retno Meitia.**
14. Kepada adik-adik **PKL Prosesing Semen (Rezki, Tifal, Zahra, Andri)** yang membantu penulis dalam penelitian di laboratorium dan penampungan semen.
15. Kepada Kak **Masturi, S.Pt., M.Si,** dan **Milawati, S.P** terimakasih telah memberikan nasehat masukan selama penelitian di Laboratorium Reproduksi Ternak.
16. Kepada **Makmur Jaya Usman, S.Pt,** **sekeluarga dan peternakan ayam peterlur CV. BAJIMINASA di Desa Barammamase Kecamatan Galesong Selatan Kabupaten Takalar,** yang telah memberikan telur ayam segar untuk bahan penelitian ini.
17. Kepada adik dan teman-teman **Asisten Laboratorium Fisiologi Ternak (Nunu, Fadil, Rian, Cica, Risya, Anika, Pia, Rizam, Jon, Fadhil, dan Rin)**
18. Kepada adik dan teman-teman **Asisten Laboratorium Reproduksi Ternak 2020 Rahmat, Andrianus, Rezal, Andri, Zahya, Tifal, dan Reski.**

19. Kepada saudara keluarga besar **APM17 HIMAPROTEK-UH**, teman-teman peternakan, terutama **BOSS'16** beserta semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini.
20. Kepada **Rekan PKL Prosesing Semen 2019 Dina Ardiana, Hasriani, Agung Gumelar, dan Irgi Fahresi** terimakasih atas kerja sama selama PKL di Prosesing Semen.
21. Kepada Kawan **KKN 102 Tematik Kemendes Luwu Timur** Kecamatan Towuti, khususnya Wilayah Pertanian Mahalona Raya **TIM Desa Tole Hamka Hamdaris, Ika Setianingrum, Nina Kurnia Dewi, dan Tri Ainun M.**
22. Kepada Relawan **Ikasa Makassar (Fahmi, Friska, Amal, Angel, Nisa, Aas, dan seluruh staf), Relawan NTS_Peduli_Sosial, Fasilitator Program Pendidikan Anak Bangsa KITA Bhineka, serta Adik-adik Rumah Belajar Kampung Amanah** yang tak henti memberi support agar penulis menyelesaikan studinya dengan tetap waktu.

Semoga segala bentuk apresiasi yang telah diberikan kepada penulis mendapat imbalan yang layak dari Allah SWT. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan, oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran ataupun kritikan yang bersifat konstruktif dari pembaca. .

Makassar, November 2020

Muhammad Fajar Amrullah

DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi.....	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Lampiran	xiii
PENDAHULUAN.....	1
TINJAUAN PUSTAKA.....	4
Pengembangan Sapi Bali.....	4
<i>Sexing</i> Spermatozoa	4
Jenis-jenis Metode <i>Sexing</i> Spermatozoa	6
<i>Sexing</i> Spermatozoa Metode Sedimentasi Putih Telur	9
Faktor Pengaruh Waktu Inkubasi <i>Sexing</i> Spermatozoa	14
METODE PENELITIAN.....	16
Waktu dan Tempat	16
Materi Penelitian	16
Rancangan Penelitian	17
Metode Pelaksanaan	17
Parameter yang Diukur.....	19
Analisis Data	23
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
Karakteristik Semen Segar Sapi Percobaan	24
Konsentrasi Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	28
Motilitas Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	29
Viabilitas Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	31
KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	38
BIODATA.....	52

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Jenis-jenis Metode pengaturan jenis kelamin (<i>sexing</i> spermatozoa) ...	7
2. Kualitas Semen Sapi Bali.....	24
3. Konsentrasi Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	28
4. Motilitas Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	30
5. Viabilitas Spermatozoa Setelah <i>Sexing</i>	32

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Inkubasi Terhadap Konsentrasi Spermatozoa X.....	38
2. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Inkubasi Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Y	40
3. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Inkubasi Terhadap Motilitas Spermatozoa X	42
4. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Inkubasi Terhadap Motilitas Spermatozoa Y	44
5. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Inkubasi Terhadap Viabilitas Spermatozoa X	46
6. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Inkubasi Terhadap Viabilitas Spermatozoa Y	48
7. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian.....	50

PENDAHULUAN

Tingkat fertilitas yang tinggi pada ternak dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak populasi sapi Bali dengan program inseminasi buatan. Inseminasi buatan merupakan program yang telah dikenal oleh peternak sebagai teknologi reproduksi dalam mengawinkan ternak dengan cara menyuntikkan semen yang telah diencerkan dengan pengencer tertentu ke dalam saluran reproduksi betina yang sedang berahi menggunakan metode dan alat khusus yang disebut dengan *insemination gun* (Fatah, dkk., 2018).

Inseminasi buatan 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 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 (Susilawati, 2014).

Semen hasil *sexing* (pemisahan) menggunakan medium pemisah tertentu dengan lama inkubasi yang berbeda 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. Medium spermgrand (SG) adalah medium *sexing* sperma yang sudah umum digunakan sebagai medium *sexing* pada manusia, namun belum ada literatur yang melaporkan tentang keberhasilan *sexing* menggunakan medium ini pada hewan ternak khususnya pada sapi. Prinsip pada metode kolom BSA dan SG, yaitu pemisahan sperma berkromosom X dan sperma berkromosom Y berdasarkan pada perbedaan kecepatan bergerak (motilitas) menembus kolom (Anwar, dkk., 2019)

Berbagai teknik dan metode *sexing* sperma telah diterapkan pada berbagai hewan ternak teknik yang digunakan untuk memisahkan spermatozoa X dan Y salah satunya yaitu *Egg White Sedimentation* (EWS) atau sedimentasi putih telur. Metode ini didasarkan atas perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y sebagai implikasi dari perbedaan massa dan ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dibandingkan spermatozoa X, sehingga sperma Y lebih cepat bergerak atau mempunyai daya penetrasi yang tinggi untuk masuk ke suatu larutan seperti albumen telur (putih telur) (Akhdiat, 2012). 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 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.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi *sexing* spermatozoa dengan metode sedimentasi putih telur terhadap kualitas semen sapi Bali, serta mengetahui berapa lama waktu inkubasi yang optimal untuk menghasilkan kualitas spermatozoa yang baik pada sapi Bali. Adapun manfaat dari penelitian ini sebagai sumber data/informasi dan tambahan pengetahuan kepada mahasiswa dan masyarakat tentang pengaruh lama inkubasi *sexing* spermatozoa dengan metode sedimentasi putih telur terhadap kualitas semen sapi Bali.

TINJAUAN PUSTAKA

Pengembangan 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.

Sapi Bali merupakan plasma nutfa sapi lokal Indonesia yang mempunyai perkembangan cukup pesat karena mempunyai keunggulan yaitu mempunyai daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan buruk dan mempunyai fertilitas yang baik yaitu 83% (Ashari, dkk., 2019) sehingga dapat digunakan untuk usaha sapi potong. Sapi potong di Indonesia agar dapat mengimbangi permintaan dalam negeri perlu dilestarikan kemurniaanya dan dikembangkan produktivitasnya dengan penerapan bioteknologi reproduksi. Salah satu bioteknologi reproduksi yang digunakan yaitu teknologi *sexing* spermatozoa.

***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 countercurrent 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 bawah 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).

Teknik yang digunakan untuk memisahkan spermatozoa X dan Y beserta hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis-jenis Metode pengaturan jenis kelamin (*sexing* spermatozoa)

Teknik	Hasilnya
Sedimentasi pada media dengan immobilisasi spermatozoa	IB dengan semen tersebut menghasilkan betina sebanyak 70%
<i>Skim-milk powder, glycine, sodium sitrat, dan gliserol</i>	Meningkatkan jumlah anak jantan yang dilahirkan bila yang digunakan spermatozoa pada lapisan atas
<i>Albumin coloumn</i>	Spermatozoa setelah preseleksi dengan metode ini berhasil dibekukan
<i>Velocity sedimentation</i>	Sedimentasi berdasarkan ukuran, densitas dan bentuk kepala, perbedaan ukuran kepala faktor yang dominan pada tipe pemisahan ini, sedangkan bentuk tidak begitu penting
Sentrifugasi gradien densitas	Spermatozoa dipisahkan untuk mendapatkan sedimen dengan sentrifugasi gradien densitas, bahan yang dibuat gradien densitasnya lebih rendah dari spermatozoa. Dikembangkan dengan sentrifugasi pada waktu yang pendek, waktu yang pendek tidak menyebabkan pengaruh difusi yang signifikan
Motilitas dan pemisahan menggunakan elektroforesis	Spermatozoa yang imotile dengan elektroforesis akan bergerak ke anoda pada pH netral, ketika pemisahan dengan elektroforesis pada kondisi yang konsisten maka spermatozoa yang motil akan bergerak ke arah katode. Hasil pengamatan pada daerah kepala spermatozoa mempunyai muatan, sehingga spermatozoa bergerak, jika muatan negatif spermatozoa akan diorientasikan ke daerah ekor yang bergerak ke arah anoda yang mempunyai muatan negatif lebih besar.
<i>Isoelectric focusing</i>	Pemisahan dengan menggunakan kolom dengan menggunakan cairan yang stabil yang dibuat gradient densitas. Spermatozoa membentuk lapisan atau suspensi spermatozoa akan bermigrasi ke arah iso elektrik

H-Y antigen	Spermatozoa diperlakukan dengan anti serum H-Y. inseminasi pada tikus menggunakan spermatozoa yang diperlakukan dengan anti serum H-Y anti gen menghasilkan 45,4% jantan, sedangkan control 53%
<i>Flow sorting</i> oleh kandungan DNA	Spermatozoa Y berhasil di- <i>sorting</i> sebanyak 72-80%
<i>Sephadex Coloumn</i>	Didapat 70% spermatozoa X dengan cara spermatozoa dimasukkan di bagian atas. 65-85% spermatozoa X didapat pada filtrat.

Sumber: Wahjuningsih, 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.

***Sexing* Spermatozoa Metode Sedimentasi Putih Telur**

Berbagai metode pemisahan spermatozoa telah dilakukan sebelumnya, dari beberapa metode tersebut metode *sexing* sedimentasi putih telur atau *egg white sedimentation* (EWS) merupakan metode yang cukup sederhana (Luzardin,

dkk., 2020). Teknologi pemisahan spermatozoa menggunakan sedimentasi putih telur menggunakan dasar bahwa spermatozoa Y mempunyai motilitas yang lebih cepat dibandingkan dengan motilitas spermatozoa X, sehingga semen jika dimasukkan ke dalam tabung, maka spermatozoa akan bergerak ke bawah yang spermatozoa Y dulu dibandingkan spermatozoa X, sehingga dengan metode ini populasi spermatozoa Y berada dilapisan bawah (Wahjuningsih, dkk., 2019). Pemisahan spermatozoa dengan menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai sumber albumin telah dilakukan sebelumnya. BSA merupakan bahan kimia yang berisi albumin yang berasal dari sapi, sedangkan kandungan albumin dalam senyawa BSA, yaitu 100 mg/ml (Susilawati, 2014). Keberhasilan IB menggunakan semen hasil *sexing* dengan metode sedimentasi putih telur sebesar 44,44%, sedangkan perlakuan IB menggunakan semen non *sexing* yakni sebesar 59,25% (Wahyudi, dkk., 2014).

Solihati, dkk., (2017) menyatakan bahwa prinsip dari metode kolom albumin ini adalah adanya perbedaan kecepatan motilitas antara spermatozoa X dan Y serta perbedaan konsentrasi pada media separasi. Spermatozoa Y memiliki motilitas lebih tinggi dibanding dengan X. Adanya perbedaan konsentrasi pada media albumin yang digunakan menyebabkan spermatozoa dengan motilitas tinggi diperkirakan akan mampu menembus lapisan media konsentrasi yang lebih tinggi sedangkan spermatozoa yang motilitasnya rendah akan tertinggal pada media dengan konsentrasi rendah. Dengan demikian pada lapisan bawah dengan konsentrasi lebih tinggi akan ditemukan mayoritas spermatozoa Y, sedangkan pada lapisan atas dengan konsentrasi lebih rendah akan diperoleh spermatozoa X.

Putih telur sering disebut albumen merupakan bagian dari telur yang berfungsi sebagai antibakteri 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 *outher 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 lyzozime 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).

Penelitian Mardiyah (2006) mengenai pemisahan sperma pembawa kromosom X dan Y sapi dengan kolom media pemisah albumin mendapatkan hasil bahwa spermatozoa X dan Y dapat dipisahkan berdasarkan motilitas. Dari hasil pengamatan menggunakan konsentrasi albumin 10% pada fraksi atas dan 30% pada fraksi bawah, mampu mengubah rasio perolehan sperma normal X : Y 51,50 ; 48,50% menjadi 73,20 : 26,80% pada fraksi atas dan 31,14 ; 68,86% pada fraksi bawah.

Takdir, dkk., (2016) dalam penelitian proporsi X dan Y, viabilitas dan motilitas spermatozoa domba sesudah pemisahan dengan albumin putih telur (APT) memperoleh hasil albumin putih telur sangat efektif digunakan untuk pemisahan spermatozoa X dan Y domba. Proporsi spermatozoa X dan Y tertinggi diperoleh pada perlakuan medium D fraksi atas (konsentrasi APT 25%) yakni sebesar 76,76% : 23,23% dan fraksi bawah (konsentrasi APT 75%) sebesar 20,81% : 79,18%. Viabilitas dan motilitas spermatozoa hasil pemisahan dengan metode albumin putih telur dalam kategori baik dan layak digunakan untuk IB atau diproses lebih lanjut untuk pembekuan.

Hasil *sexing* yang dilakukan Ervandi, dkk., (2013), dengan gradien albumin (putih telur) menggunakan perlakuan pengencer Andromed dan CEP2+kuning telur 10% tidak terjadi perbedaan (sama) dalam mempertahankan kualitas spermatozoa meliputi motilitas, viabilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa, total spermatozoa motil, dan abnormalitas yang didapatkan rendah. pengencer Andromed dan CEP2+kuning telur 10% dapat menjaga integritas membran, mempunyai spermatozoa belum kapasitasi tetap tinggi, kapasitasi spermatozoa dan reaksi akrosom tetap rendah.

Sholikah, dkk., (2016), dalam penelitian pengaruh penggantian bovine serum albumin (BSA) dengan putih telur pada pengencer CEP-2 terhadap kualitas semen sapi peranakan ongole pada suhu penyimpanan 3-5°C memperoleh hasil substitusi BSA dengan putih telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari 5, sedangkan hari berikutnya putih telur cukup mampu mendekati kemampuan BSA dalam pengencer CEP-2. Putih telur cukup mampu menggantikan BSA untuk mempertahankan viabilitas spermatozoa karena memiliki rataan persentase viabilitas spermatozoa $\geq 70\%$ sampai hari 8 selama penyimpanan dingin.

Kualitas spermatozoa sapi Bali hasil *sexing* dalam penyimpanan 20 menit, 35 menit dan 50 menit menunjukkan penurunan dari kondisi segar baik pada persentase konsentrasi, persentase motilitas, persentase spermatozoa hidup dan persentase membran plasma utuh. Namun penurunannya itu masih diatas batas normal dan layak untuk diinseminasikan pada sapi induk. Aplikasi semen hasil *sexing* pada sapi Bali menunjukkan persentase non return rate yang baik yaitu sebesar 79% (Sunarti, dkk., 2016).

Motilitas rata-rata spermatozoa hasil pemisahan menggunakan kolom putih telur pada sapi mengalami penurunan dibandingkan motilitas spermatozoa sebelum dipisahkan atau semen segar. Penurunan presentase motilitas ini sangat wajar terjadi, karena spermatozoa telah mengalami perlakuan mulai dari proses pemisahan sampai proses pencucian yang membutuhkan banyak energi untuk tetap mempertahankan kondisi fisiologis (Susilawati, 2014).

Faktor Pengaruh Waktu Inkubasi *Sexing* Spermatozoa

Faktor 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 kambing 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 Ferlianthi (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.