

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Daging sapi merupakan salah satu komoditas pangan yang selama ini memberikan kontribusi besar terhadap gizi masyarakat, khususnya di Indonesia. Badan Pusat Statistik (BPS) mencatat per tahun 2022, kebutuhan dan konsumsi daging dalam negeri mencapai 627.952 ton yang mana jauh melebihi produksi dalam negeri yakni 413.669 ton. Angka ini tentunya akan terus mengalami peningkatan, seiring dengan perkembangan jumlah penduduk Indonesia setiap tahunnya (Lumawir et al., 2023; Heatubun dan Matatula, 2023). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk memenuhi angka permintaan daging sapi dalam negeri adalah dengan memilih jenis sapi yang memiliki persentasi karkas yang tinggi dan mudah untuk dikembangkan di Indonesia. Adapun salah satu sapi yang memenuhi kriteria tersebut yaitu sapi Simmental. Sapi Simmental banyak digemari oleh para peternak karena memiliki ukuran tubuh yang besar, pertumbuhan otot yang bagus, fertilitas yang tinggi, pertumbuhannya yang cepat, serta penambahan bobot badan harian yang tinggi (Sugiyanto et al., 2021).

Dalam meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak dengan efektif dan cepat, para peternak melakukan inseminasi buatan (IB) yang dinilai sebagai teknologi reproduksi yang paling efektif untuk memperoleh bibit unggul dan mengembangkan populasi ternak dengan cepat. Para peternak juga dapat mengontrol hasil bibit unggul dan mengembangkan jumlah sapi secara selektif dengan menentukan jenis kelamin sebelum dilakukannya IB sesuai dengan tujuan pemeliharaan, misalnya sapi jantan dibutuhkan karkasnya, sedangkan untuk bibit serta produksi susu dibutuhkan sapi betina. Teknologi pengaturan jenis kelamin ini dikenal dengan istilah *sexing* spermatozoa. Melalui teknologi ini, spermatozoa dipisahkan berdasarkan kromosomnya dengan melihat sejumlah karakteristik pembeda yang dimiliki kedua kromosom spermatozoa (Trinil, 2014).

Metode *sexing* spermatozoa menawarkan beberapa manfaat, dalam hal jenis kelamin yang diinginkan, peningkatan pasokan sapi dara, perluasan ternak, penurunan kasus distokia, perolehan genetik dan biosekuriti ternak. Pada saat yang sama, penerapan metode *sexing* juga berdampak pada lingkungan. Dengan melakukan pembiakan selektif, maka populasi ternak dapat dioptimalkan. Hal ini akan mengurangi total emisi gas rumah kaca dari peternakan. Kegunaan *sexing* semen harus dimanfaatkan untuk meningkatkan efisiensi produksi, memastikan permintaan produk hewani yang berkelanjutan secara sosial, ekonomi, dan lingkungan (Thakur dan Birthal, 2023).

Berbagai metode *sexing* dalam dunia peternakan telah banyak dikembangkan. Pemisahan dengan menggunakan kolom albumin merupakan metode yang cukup



diterapkan yang didasarkan pada perbedaan motilitas dari kedua zoa. Dibandingkan metode *sexing* lainnya, kolom albumin menjadi sering digunakan dengan tingkat keberhasilan yang tinggi. Selain g mudah ditemukan, albumin yang digunakan pada metode ini juga melindungi spermatozoa ekstraseluler sehingga spermatozoa dapat tilitasnya saat *sexing* berlangsung (Zuhdi dan Ducha, 2022). Salah im ditemukan yaitu dengan menggunakan *Bovine Serum Albumin*

(BSA) sebagai medium pemisahannya. Namun dengan pertimbangan harga medium yang mahal dan terbatas, diperlukan medium pemisah alternatif yang terjangkau dan tentunya memiliki efektifitas yang mirip dengan medium aslinya (Trinil, 2014; Rahmat, 2022).

Putih telur unggas dapat digunakan sebagai medium pemisah alternatif jika ditilik dari kandungan protein albumin yang tinggi didalamnya. Telur unggas yang banyak ditemukan di tengah masyarakat yaitu telur ayam dan telur bebek. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Kusumawati et al. (2017) menunjukkan kombinasi sedimentasi putih telur ayam dengan pengencer *Tris Aminomethan* kuning telur menghasilkan motilitas dan viabilitas semen *sexing* kambing Peranakan Etawa (PE) yang baik. Adapun *sexing* dengan menggunakan sedimentasi putih telur bebek belum pernah dipublikasikan sebelumnya. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Sun et al. (2019) menunjukkan viskositas dan kandungan albumin yang berbeda pada kedua putih telur yang tentunya akan mempengaruhi kemampuan separasi dan kualitas spermatozoa yang disexing dengan kedua medium tersebut. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian untuk menentukan perbedaan kualitas spermatozoa hasil *sexing* yang disedimentasi dengan kedua medium putih telur tersebut.

1.2 Tujuan dan Manfaat

1.2.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menilai kualitas spermatozoa sapi Simmental setelah dilakukan *sexing* dengan menggunakan putih telur ayam dan putih telur bebek sebagai medium pemisah.

1.2.2 Manfaat Penelitian

a. Manfaat Pengembangan Ilmu

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi mahasiswa untuk melakukan kajian lebih lanjut mengenai perbedaan kualitas spermatozoa sapi Simmental setelah dilakukan *sexing* dengan menggunakan putih telur ayam dan putih telur bebek sebagai medium pemisah.

b. Manfaat Aplikasi

Manfaat aplikasi pada penelitian ini agar dapat menjadi rujukan bagi penelitian selanjutnya dan dapat menjadi pertimbangan bagi praktisi ternak mengenai medium pemisah alternatif untuk metode *sexing* kolom albumin.

1.2.3 Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, dapat diambil hipotesis penelitian bahwa adanya perbedaan kualitas spermatozoa sapi Simmental hasil *sexing* dengan metode sedimentasi putih telur ayam dan bebek.

1.2.4 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai Evaluasi Kualitas Spermatozoa Sapi Simmental Hasil *Sexing* dengan Metode Sedimentasi Putih Telur Ayam dan Bebek belum pernah



a, tetapi penelitian serupa dilakukan oleh Kusumawati et al. (2017) tas dan Viabilitas Spermatozoa Semen *Sexing* Menggunakan Putih Telur dengan Pengencer yang Berbeda”. Selain itu terdapat akdir et al. (2017) dengan judul “Proporsi X dan Y, Viabilitas dan a Domba Sesudah Pemisahan dengan Putih Telur”.

ika

ntal

1.3.1.1 Karakteristik Sapi Simmental

Menurut Ziegler (1962), sapi Simmental (*Bos taurus*) memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Ungulata
Sub ordo	: Artiodactyle
Famili	: Bovidae
Genus	: <i>Bos</i>
Spesies	: <i>Bos taurus</i>

Sapi Simmental (*Bos taurus*) berasal dari Simmevalley, Swiss. Ras ini merupakan salah satu ras sapi tertua di dunia yang bertahan hingga saat ini. Sapi Simmental telah didomestikasi sejak abad ke-13 dan berkontribusi terhadap terciptanya ras baru lainnya (Sutarno dan Setyawan, 2016). Ras Simmental dikenal sebagai ras sapi dwiguna (sapi yang menghasilkan daging dan susu) yang memiliki pertumbuhan yang cepat. Di sebagian besar negara, sapi Simmental berkembang biak digunakan untuk produksi daging dengan menyilangkannya dengan sapi potong dan sapi perah (Sadikova et al., 2023). Ras sapi ini diimpor oleh pemerintah pertama kali pada tahun 1974 (Putra et al., 2020). Karena sapi Simmental merupakan hewan subtropis, maka di Indonesia ras murninya hanya dipelihara untuk diambil spermnya (Sutarno dan Setyawan, 2016).



Gambar 1. Sapi Simmental

Sumber : Hasnudi et al., 2015. *Buku Ajar Pengelolaan Ternak Sapi Potong*. CV. Anugrah Pangeran Jaya : Medan.

Adapun beberapa karakteristik yang dapat ditemukan pada sapi ini antara lain tubuh panjang, padat dan berotot berwarna coklat kemerahan atau merah bata, bagian muka, lutut hingga digit, serta ujung ekor berwarna putih, pada jantan dewasa memiliki berat badan mencapai 1.150 kg sedangkan pada betina dewasa mencapai 800 kg (Hasnudi et al., 2015). Pada umur 2,5 tahun, seekor sapi Simmental bisa mencapai berat 1.000 kilogram. Di Indonesia, sapi Simmental sebagian besar dipelihara sebagai sapi potong dan banyak disilangkan dengan sapi lokal melalui IB, khususnya sapi peranakan dan sapi Bali. Dari hasil persilangan, keturunan jantan lebih disukai nya yang lebih cepat, sedangkan keturunan betina tidak tumbuh nya menghasilkan sedikit susu (Sutarno dan Setyawan, 2016). ototnya yang sangat baik dan tidak banyak terdapat penimbunan , menjadikan pejantan dari sapi ini menjadi opsi terbaik untuk potong dikarenakan persentase karkasnya yang tinggi. Sehingga



hal tersebut juga yang mendasari banyak sapi ras ini banyak dilakukan IB (Hasnudi et al., 2015).

1.3.1.2 Karakteristik Semen Sapi Simmental

a. Volume Semen

Volume semen segar dapat dievaluasi secara langsung dalam tabung penampung yang berskala. Rata-rata volume semen sapi Simmental dalam satu kali ejakulasi berkisar antara 5 – 10 ml. Setiap ras sapi memiliki volume semen yang berbeda setiap ejakulasinya. Selain ras, volume semen juga dipengaruhi oleh bobot badan, umur, pakan, waktu dan suhu lingkungan saat penampungan serta frekuensi penampungan (Manehat et al., 2021).

b. Warna Semen

Warna semen normal sapi Simmental adalah krem dengan konsistensi kental. Warna semen segar sapi umumnya dikategorikan dalam empat warna yaitu krem, putih susu, kuning dan abnormal (Muada et al., 2017). Warna bening pada semen dapat disebabkan oleh banyaknya seminal plasma yang disekresikan sehingga semen terlihat lebih bening. Sedangkan, warna kuning pada semen dapat dipengaruhi oleh pigmen riboflavin, namun tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap fertilitas (Aisah et al., 2017).

c. Bau Semen

Bau semen dievaluasi dengan mencium bau semen setelah penampungan dilakukan. Bau semen sapi yaitu amis yang mana merupakan bau khas semen. Hal tersebut menunjukkan bahwa semen termasuk dalam kategori normal dan tidak terdapat kontaminasi sehingga dapat dilakukan proses lebih lanjut (Manehat et al., 2021).

d. Konsistensi dan Konsentrasi Semen

Semen sapi memiliki konsistensi kental dengan konsentrasi normal 1000×10^6 – 2000×10^6 atau lebih sel per ml. Umur pejantan juga dapat mempengaruhi konsentrasi spermatozoa pada semen segar, dimana semakin tua umur pejantan sapi, maka konsentrasi spermatozoanya juga semakin menurun (Brillianti et al., 2021). Konsistensi dan konsentrasi semen saling berkaitan satu dengan yang lainnya dimana jika semen semakin encer, maka konsentrasi spermatozoa semakin rendah (Aisah et al., 2017).

e. Motilitas Spermatozoa

Tabel 1. Parameter motilitas massa spermatozoa

Motilitas Massa	
Nilai	Interpretasi
+++ (Sangat baik)	Terlihat gelombang besar, tebal dan aktif yang berpindah-pindah tempat secara cepat
++ (Baik)	Terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang dan bergerak lambat
aik)	Tidak terlihat gelombang, hanya terdapat gerakan-gerakan individual aktif progresif dan buruk



2021. Jurnal Sains dan Teknologi Peternakan. 3(1) : 12 – 18.

ssa spermatozoa yang normal berkisar antara (++) dan (+++).

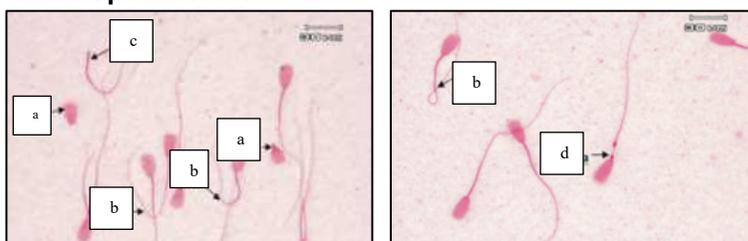
rmatzoa normal setelah penampungan berada diatas 70% yang

ditandai dengan adanya pergerakan progresif spermatozoa. Salah satu ciri utama spermatozoa dengan kualitas sangat baik dapat dilihat dari gerakan massa dan motilitas dengan daya gerak yang progresif. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa bergerak kedepan, maka gerakan massa akan semakin baik yang mana ketika dilihat dibawah mikroskop akan semakin tebal dan pergerakannya semakin cepat (Rosnizar et al., 2021).

f. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa dievaluasi melalui preparat ulas eosin-negrosin. Spermatozoa hidup ditandai dengan spermatozoa yang tidak menyerap pewarnaan eosin, dalam hal ini tetap berwarna bening atau putih, sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah. Nilai viabilitas dapat dikatakan normal sesuai dengan standar persentase hidup semen sapi segar yaitu berada pada rentang 60 – 80% (Leyn et al., 2021).

g. Abnormalitas Spermatozoa



Gambar 2. Spermatozoa abnormal; tidak memiliki ekor (a), ekor melengkung (b), tidak memiliki kepala (c), *proximal droplet* (d) (Perbesaran 100x).

Sumber : Utami dan Tophianong. 2014. Jurnal Sain Veteriner. 32(1) : 32 – 39.

Abnormalitas spermatozoa dievaluasi dengan pewarnaan eosin negrosin dan diamati dibawah mikroskop. Pengamatan abnormalitas spermatozoa dilihat berdasarkan bentuknya yang abnormal seperti tidak memiliki kepala, bentuk kepala yang besar, ekor putus dan ekor melingkar (Manehat et al., 2021). Abnormalitas spermatozoa dapat disebabkan oleh faktor alami, seperti kegagalan saat proses spermatogenesis ataupun spermiogenesis, faktor genetik, penyakit hingga kondisi lingkungan yang tidak sesuai. Namun dalam beberapa kasus, dapat juga berasal dari kesalahan pada saat *prossesing* semen yang dapat menyebabkan abnormalitas seperti spermatozoa tidak memiliki ekor, tidak memiliki kepala, leher bengkok hingga ekor melingkar (Aliyah et al., 2022).

1.3.2 Sexing

Sexing merupakan metode pemisahan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dan betina. *Sexing* spermatozoa merupakan upaya pemisahan spermatozoa berdasarkan kromosomnya. Proses ini sudah banyak diujicobakan dan terbukti efisien sehingga bisa menghasilkan keturunan yang diharapkan (Suoth et al., 2022). Semen berdasarkan jenis kelamin ditandai dengan adanya sperma yang om X atau Y, sehingga memungkinkan produksi keturunan dengan nginkan (Quelhas et al., 2021). Dengan menentukan jenis kelamin , biaya manajemen pemeliharaan dapat dikurangi. Hasil bibit yang ditentukan sesuai dengan rasio yang diinginkan peternak. Teknologi agai tindakan preventif untuk mengurangi resiko terjadinya distokia



Berbagai metode *sexing* berbeda untuk memisahkan spermatozoa yang mengandung kromosom X dan Y telah dicoba selama 20–30 tahun terakhir. Semua teknik ini sebagian besar didasarkan pada banyak perbedaan teoritis dalam spermatozoa X dan Y, seperti pada mamalia, spermatozoa X mengandung lebih banyak kromatin dibandingkan spermatozoa Y. Beberapa metode *sexing* spermatozoa yang telah banyak berkembang secara umum didasarkan pada perbedaan sifat imunologi spermatozoa, kemampuan berenang yang berbeda, pemisahan diferensial dalam *percoll* dan pemisahan diferensial dalam gradien albumin. Saat ini, pemisahan spermatozoa yang mengandung X dan Y berdasarkan perbedaan kandungan kromosomnya melalui metode *flow cytometric* dianggap sebagai metode yang paling andal dan efektif dimana spermatozoa dari jenis kelamin yang diinginkan dapat ditemukan dan diperoleh dengan kemurnian lebih dari 90% (Khamlor et al., 2014). Namun, teknik ini memerlukan keterampilan dan keahlian yang sesuai. Metode *sexing* dengan teknik *flow cytometric* juga masih memiliki kerugian dalam hal kerusakan spermatozoa, biaya alat dan prosedur yang tinggi, kompleksitas prosedur, dan fertilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan semen konvensional (Bhalakiya et al., 2018). Dengan melihat berbagai kelebihan dan kekurangan dari berbagai metode *sexing*, hanya sedikit metode *sexing* yang dikomersilkan hingga saat ini. Salah satu metode *sexing* yang paling umum, khususnya di Indonesia, adalah dengan menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) pada metode kolom albumin (Solihati et al., 2019).

1.3.2.1 Kolom Albumin

Albumin merupakan salah satu protein larut air yang sering digunakan dalam berbagai percobaan karena memiliki biokompatibilitas, biodegradabilitas, non-imunogenisitas, waktu paruh panjang, toksisitas minimal, stabilitas dan reaktivitas yang baik. Dengan karakteristik tersebut, menjadikan albumin dapat diaplikasikan di berbagai macam bidang (Hutapea et al., 2023). Dalam beberapa praktik teknologi reproduksi, albumin telah banyak digunakan, khususnya sebagai bahan dasar pengencer semen dengan hasil *post thawing* terbaik. Hal ini dikarenakan albumin dapat mempertahankan kelimpahan protein spermatozoa dengan melindungi membran plasma dan akrosom sehingga integritas membran tetap terjaga. Albumin juga merupakan antioksidan yang berperan dalam transpor Fe^{2+} dan Cu^{+} yang dapat meminimalisir peroksidasi lipid spermatozoa yang disebabkan oleh adanya radikal hidroksil (OH^{\cdot}) (Ambarsari dan Ducha, 2021). Albumin juga merupakan protein alami yang dapat ditemukan dalam plasma semen yang mana hal ini juga mendukung albumin sebagai medium separasi yang aman bagi spermatozoa karena menyediakan kondisi lingkungan yang sesuai dengan kondisi fisiologis spermatozoa (Masrizal et al., 2024).

Pemisahan spermatozoa X dan Y menggunakan kolom albumin berhasil dilakukan pertama kali oleh Ericsson pada tahun 1973 (Bhalakiya et al., 2018). Dalam reproduksi, penggunaan albumin untuk memisahkan spermatozoa jenisnya sangat umum digunakan karena dinilai cukup fleksibel dan luas penerapannya. Prinsip pada metode kolom albumin yaitu pemisahan kromosom X dan Y berdasarkan perbedaan motilitas keduanya dalam kolom albumin berkonsentrasi tinggi dan albumin berkonsentrasi rendah (Solihati et al., 2019). Dalam suatu penelitian, disebutkan bahwa pada lapisan kolom



albumin, spermatozoa Y akan bergerak ke bawah dan spermatozoa X akan tetap pada lapisan atas (Trinil, 2014).

1.3.3 Putih telur

Telur merupakan salah satu produk asal hewani yang berasal dari unggas dan dikenal sebagai bahan pangan sumber protein yang bermutu tinggi. Dalam satu butir mengandung putih telur 65,64%, kuning telur 23,61% dan cangkang telur 10,75%. Bagian telur yang mengandung protein yang lebih tinggi terletak pada bagian putih telur (Ramadhani et al., 2018).

Protein putih telur tersusun dari *ovoalbumin*, *ovotransferrin*, *ovomucin*, *ovomuroid*, *lysozyme*, *avidin* dan *globulin* sebagai komponen utamanya. *Ovoalbumin* merupakan protein utama yang terdapat dalam putih telur dengan proporsi kurang lebih 45% dari keseluruhan protein yang terkandung dalam putih telur (Trinil, 2014). Albumin telur merupakan bagian terbesar dari protein telur dimana terdiri atas air (88%), protein (11%), mineral, dan karbohidrat (1%) (Sun et al., 2019). Protein *ovotransferrin* dan *lysozyme* memiliki fungsi sebagai agen antibakteri. Selain sebagai antibakteri, *ovotransferrin* juga berperan sebagai pengangkut zat besi (*transporter*) untuk embrio yang sedang berkembang (Siregar et al., 2016). *Ovomucin* adalah glikoprotein yang mempertahankan viskositas dari putih telur. *Ovomucoid* adalah agen alergen utama dari putih telur dan merupakan glikoprotein tahan panas yang ditemukan sebagai *inhibitor* tripsin (Kulla dan Chrisandy, 2018).

BSA digunakan lebih awal dalam *sexing* spermatozoa dibandingkan putih telur. Putih telur pertama kali dilaporkan sebagai media pengganti BSA dalam *sexing* spermatozoa oleh Saili pada tahun 1999 (Masrizal et al., 2024). Telur unggas yang umumnya banyak ditemukan di tengah masyarakat yaitu telur ayam dan telur bebek. Putih telur ayam sendiri telah sering digunakan sebagai medium pemisah dalam metode *sexing* kolom albumin jika dibandingkan dengan putih telur bebek yang hingga saat ini masih jarang digunakan.

Secara umum, komposisi protein putih telur pada telur bebek dan ayam memiliki perbedaan. Kandungan protein dalam putih telur bebek yakni 12,15% lebih tinggi dibandingkan dengan putih telur ayam yaitu 10,03% (Chaiyasit et al., 2019). Albumin telur bebek mengandung sekitar 60% metionin, 30% treonin, 25% triptofan, dan 45% asam amino sulfur lebih tinggi dibandingkan telur ayam. Albumin telur bebek mempunyai komponen utama air (88,3%) dan kaya akan protein (8,8%). Sisanya mencakup *crude ash* (0,53%), dan sejumlah kecil lipid (0,13%). Protein utama dalam albumin telur bebek mencakup *ovalbumin*, *ovomuroid*, *ovomucin*, *conalbumin*, dan lisozim (Quan dan Benjakul, 2019). Albumin putih telur bebek juga mengandung total asam amino (TAA) yang lebih tinggi yaitu sebesar 46,32% dibandingkan total asam amino (TAA) pada albumin putih telur ayam yaitu sebesar 43,23% (Sun et al., 2019).



ngan albumin, putih telur ayam dan bebek juga memiliki perbedaan is. Putih telur bebek memiliki tingkat viskositas yaitu 6,25 cP yang ngkan putih telur ayam yang memiliki tingkat viskositas yaitu 7,18 (2019). Adapun tingkat viskositas putih telur utamanya dipengaruhi *ovomucin* pada putih telur. Telur bebek memiliki kadar *ovomucin* (*property*) 29,9 gr, kerapatan *ovomucin* albumin (*adhesiveness*) 5,95 *ovomucin* albumin (*tackiness*) 7,35 mm yang lebih rendah jika

dibandingkan dengan putih telur ayam yang memiliki kadar *ovomucin* albumin (*viscosity property*) 30,7 gr, kerapatan *ovomucin* albumin (*adhesiveness*) 6,59 gr/s dan kelekatan *ovomucin* albumin (*tackiness*) 7,84 mm (Sun et al., 2019). Perbedaan viskositas dari kedua putih telur tersebut tentunya akan mempengaruhi kemampuan separasi dan kualitas spermatozoa hasil *sexing*.

1.3.4 Karakteristik Spermatozoa X dan Y

Secara umum, spermatozoa yang membawa kromosom X akan menghasilkan keturunan betina (XX), sementara spermatozoa yang membawa kromosom Y akan menghasilkan keturunan jantan (XY) (Pasaribu et al., 2014). Pada sapi, panjang total spermatozoa dari kepala hingga ekor berkisar antara 50–70 μm , dengan panjang kepala sekitar 8–10 μm dan lebar 4–4,50 μm , sedangkan ekornya memiliki panjang sekitar 35–45 μm . Dalam metode pemisahan jenis kelamin menggunakan kolom albumin, spermatozoa X dan Y dibedakan berdasarkan perbedaan motilitas yang berkaitan dengan perbedaan ukuran kepala kedua jenis spermatozoa tersebut (Trinil, 2014).

Spermatozoa yang membawa kromosom X memiliki lebih banyak kromatin di bagian akrosom, sehingga kepala spermatozoa X terlihat lebih besar saat diamati. Ukuran kepala spermatozoa X dikatakan sekitar 6% lebih besar dibandingkan dengan spermatozoa Y. Oleh karena itu, dapat diperkirakan bahwa massa dan kecepatan gerakanya juga berbeda (Sudarma et al., 2014). Spermatozoa dengan kromosom Y memiliki motilitas yang lebih cepat dibandingkan spermatozoa X, sehingga saat dilakukan pemisahan dengan kolom albumin, spermatozoa Y akan lebih cepat bergerak menuju lapisan bawah, sementara spermatozoa X akan tertinggal di lapisan atas (Pasaribu et al., 2014).



BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPT Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen (PIBPS) Pucak, Maros pada bulan November – Desember 2024.

2.2 Materi Penelitian

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain vagina buatan, tabung reaksi (Pyrex®), tabung ukur (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), labu erlenmeyer (Pyrex®), tabung sentrifugasi, *minitube*, batang pengaduk, *sperm photometer* (Minitube®), *centrifuge*, mikroskop trinokuler, timbangan analitik, makro dan mikropipet, pipet tetes, pinset, *object glass*, *cover glass*, wadah plastik dan alat tulis (pulpen, label).

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu semen segar sapi pejantan Simmental, *Trishydroxyl methylamine* (Himedia®), asam sitrat (Merck®), fruktosa (Merck®), *streptomycin sulfate* (Meiji®), telur ayam, telur bebek, *aquabidest*, pewarna *eosin negrosine 2%* (Indo Reagen®), *aluminium foil* (Klin Pak®) dan alkohol 70%.

2.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 perlakuan dan 5 kali pengulangan pada setiap kelompok perlakuan sehingga terdapat 10 unit percobaan yang terdiri atas :

P1 = *Sexing* spermatozoa dengan medium putih telur ayam 10% dan 30%.

P2 = *Sexing* spermatozoa dengan medium putih telur bebek 10% dan 30%.

2.4 Variabel yang Diukur

1. Persentase motilitas individu spermatozoa hasil *sexing* pada fraksi atas (10%) dan bawah (30%).
2. Persentase viabilitas spermatozoa hasil *sexing* pada fraksi atas (10%) dan bawah (30%).
3. Persentase abnormalitas spermatozoa hasil *sexing* pada fraksi atas (10%) dan bawah (30%).
4. Proporsi spermatozoa X:Y hasil *sexing* pada fraksi atas (10%) dan bawah (30%).

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Pembuatan bahan pengencer Tris-Kuning Telur (TKT)

Pembuatan pengencer Tris-Kuning Telur (TKT) dilakukan 1 hari sebelum penampungan semen dilakukan. Pembuatan bahan pengencer TKT dilakukan menurut Syuhriatin (2021), dengan metode sebagai berikut : mencampurkan bahan-bahan yang terdiri dari 2,472 gr *Trishydroxyl methylamine*, 1,144 gr fruktosa dan 0,1 gr *streptomycin*



itrat. Bahan-bahan tersebut dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 ml *aquades*, kemudian ditutup dengan *aluminium foil* dan setelah itu, dicampur dengan 20 ml kuning telur bebek dan ali secara perlahan hingga tercampur rata dan disimpan dalam an keesokan harinya. Bila pengencer akan digunakan, supernatan dipisahkan dari larutan dan pengencer diinkubasi terlebih dahulu gan suhu 28°C.

2.5.2 Penampungan semen

Penampungan semen dilakukan pada pagi hari dan mengikuti prosedur penampungan semen UPT Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen (PIBPS) Pucak, Maros. Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan vagina buatan. Betina pemancing diarahkan ke dalam kandang jepit dan pejantan diarahkan ke bagian belakang betina tersebut. Kolektor bersiaga di samping pejantan apabila pejantan akan menaiki betina pemancing. Semen yang ditampung sebaiknya tidak berasal dari ejakulasi pertama agar kualitas dan kuantitas semen yang dihasilkan bisa maksimal. Semen yang telah ditampung kemudian dibawa ke Laboratorium UPT Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen (PIBPS) untuk dievaluasi.

2.5.3 Evaluasi makroskopis semen

Evaluasi makroskopis semen dilakukan mengikuti prosedur UPT Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen (PIBPS) Pucak, Maros dengan melihat volume, warna, bau, konsistensi, dan pH. Volume, warna dan konsistensi dapat dievaluasi secara visual setelah penampungan. Evaluasi bau dilakukan dengan mencium bau semen setelah ditampung. Derajat keasaman (pH) diukur dengan mengambil sedikit semen segar dan diletakkan pada pH *indicator paper*. Adapun parameter normal dari evaluasi semen makroskopik antara lain volume semen berkisar antara 5 – 10 ml per ejakulasi, warna semen krem atau putih kekuningan dengan konsistensi kental, berbau khas semen (amis) dan pH berkisar antara 6,2 – 6,8. Semen kemudian dievaluasi secara mikroskopik untuk melihat kondisi spermatozoa.

2.5.4 Evaluasi mikroskopis spermatozoa

Evaluasi mikroskopis spermatozoa dilakukan mengikuti prosedur UPT Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen (PIBPS) Pucak, Maros dengan melihat motilitas individu dan massa spermatozoa. Evaluasi motilitas dilakukan dengan melihat gerak progresif spermatozoa dilakukan dengan preparat satu tetes semen dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Adapun parameter normal dari evaluasi spermatozoa mikroskopik antara lain motilitas individu > 70%.

2.5.5 Pembuatan medium kolom albumin

Pembuatan medium kolom albumin putih telur mengikuti metode Takdir et al. (2017), dengan prosedur sebagai berikut : putih telur dibuat dalam 2 medium sesuai perlakuan, yaitu putih telur ayam (A) dan putih telur bebek (B). Masing-masing medium terdiri dari albumin putih telur konsentrasi 10% sebagai fraksi atas dan albumin putih telur konsentrasi 30% sebagai fraksi bawah dengan volume masing-masing 2 ml. Albumin putih telur konsentrasi 30% terdiri atas 0,6 ml putih telur A atau B dan 1,4 ml pengencer TKT. Albumin putih telur konsentrasi 10% terdiri atas 0,2 ml putih telur A atau B dan 1,8 ml pengencer TKT. Putih telur dengan konsentrasi 30% dituangkan terlebih dahulu dan konsentrasi 10% dituang kemudian. Volume total tabung masing-masing medium adalah



spermatozoa

10 ml menggunakan kolom albumin mengikuti Takdir et al. (2017), dengan prosedur sebagai berikut : semen yang telah dievaluasi secara makroskopik dan dianggap layak, kemudian diencerkan dengan pengencer dengan rasio 1:10. Semen dimasukkan sebanyak 1 ml ke dalam masing-masing tabung dan diinkubasi dalam *waterbath* selama 30 menit pada suhu 28°C.

Selanjutnya, spermatozoa fraksi atas dan bawah pada kedua medium perlakuan dipisahkan pada tabung yang berbeda dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Hasil sentrifugasi (supernatan) dibuang sebanyak 1 ml, sehingga volume akhir hasil *sexing* dalam bentuk *pellet* adalah 1 ml. Spermatozoa hasil *sexing* kemudian dievaluasi secara mikroskopik.

2.5.7 Evaluasi mikroskopik spermatozoa hasil *sexing*

Evaluasi mikroskopik spermatozoa *post sexing* meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa mengikuti Standar Nasional Indonesia (SNI). Persentase motilitas spermatozoa yang layak diproses lebih lanjut menurut SNI adalah > 70%. Sedangkan, untuk persentase spermatozoa hidup harus berada pada rentang 60–80%. Perhitungan persentase viabilitas dihitung menggunakan rumus (Uly et al., 2023) :

$$\text{Viabilitas spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa hidup}}{\text{jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Menurut SNI, semen sapi normal memiliki morfologi abnormalitas baik primer maupun sekunder < 20%. Persentase abnormalitas dihitung menggunakan rumus (Aliyah et al., 2022) :

$$\text{Abnormalitas spermatozoa} = \frac{\text{jumlah abnormalitas spermatozoa}}{\text{jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

2.5.8 Identifikasi spermatozoa X dan Y

Identifikasi spermatozoa X dan Y dilakukan mengikuti metode Takdir et al. (2017), dimana jenis spermatozoa X dan Y diidentifikasi melalui pengukuran luas kepala spermatozoa (LKS). Spermatozoa diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x, kemudian dilakukan pemotretan dan diukur panjang dan lebar bagian kepalanya menggunakan *image raster* pada perangkat lunak Optilab Viewer 2.2. Rata-rata dari ukuran luas kepala spermatozoa (LKS) semen segar pada penelitian ini dijadikan sebagai acuan untuk menentukan ukuran spermatozoa X dan Y pada semen sapi Simmental. Perhitungan LKS dihitung menggunakan rumus (Permana et al., 2023):

$$\text{LKS} = (0,8988 \times P \times L) - 1,63$$

Keterangan :

0,8988 = faktor koreksi luas kepala spermatozoa

P = panjang kepala spermatozoa

L = lebar kepala spermatozoa

1,63 = nilai konstanta regresi

Ukuran kepala spermatozoa yang lebih besar dari rerata LKS diidentifikasi sebagai spermatozoa X, sedangkan ukuran kepala yang lebih kecil dari rerata LKS diidentifikasi sebagai spermatozoa Y. Proporsi spermatozoa X : Y dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Proporsi spermatozoa} = \frac{\text{jumlah spermatozoa X atau Y}}{\text{jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

2.6 Analisis Data



penelitian yang mencakup persentase motilitas, viabilitas, proporsi spermatozoa X : Y dianalisis menggunakan uji beda *T Test* untuk membedakan antara kedua kelompok perlakuan. Analisis menggunakan SPSS versi 27.

2.7 Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian

