SKRIPSI

VIABILITAS, ABNORMALITAS DAN PROPORSI SPERMATOZOA SAPI BALI (Bos Sondaicus) HASIL SEXING DENGAN LAMA INKUBASI BERBEDA

Disusun dan diajukan oleh

ZAHRA JINAN FADILLA I011171510



FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR 2021

SKRIPSI

VIABILITAS, ABNORMALITAS DAN PROPORSI SPERMATOZOA SAPI BALI (Bos Sondaicus) HASIL SEXING DENGAN LAMA INKUBASI BERBEDA

Disusun dan diajukan oleh

ZAHRA JINAN FADILLA I011171510

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

> FAKULTAS PETERNAKAN UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

VIABILITAS, ABNORMALITAS DAN PROPORSI SPERMATOZOA SAPI BALI (BOS SONDAICUS) HASIL SEXING DENGAN LAMA INKUBASI BERBEDA

Disusun dan diajukan oleh:

ZAHRA JINAN FADILLA 1011 17 1510

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin Pada Tanggal. J. JVII. 2021 Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

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

NIP 19700725 199903 1 001

Dr. Sutomo, S.Pt., M.Si NIP.19760328 200212 1 001

Ketua Program Studi

Dr. In. Muh. Rid Van, S.Pt., M.Si., IPU

NIP 19760616 200003 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zahra Jinan Fadilla

NIM : 1011171510

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul:

Viabilitas, Abnormalitas dan Proporsi Spermatozoa Sapi Bali (Bos Sondaicus) Hasil Sexing dengan Lama Inkubasi Berbeda

Adalah karya tulisan saya sendiri dan apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini tidak asli atau plagiasi maka saya bersedia dibatalkan dikenakan sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 1 Juli 2021

S TEDAN

Penulis

Zahra Jinan Fadilla

ABSTRAK

Zahra Jinan Fadilla. I011–17–1510. Viabilitas, Abnormalitas dan Proporsi Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) Hasil Sexing dengan Lama Inkubasi Berbeda. Dibimbing oleh **Muhammad Yusuf** sebagai pembimbing utama dan **Sutomo** sebagai pembimbing anggota.

Teknik pemisahan spermatozoa (sexing) menggunakan metode sedimentasi putih telur untuk meningkatkan kelahiran pedet sesuai dengan jenis kelamin yang diinginkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas dan tingkat keberhasilan pemisahan spermatozoa berdasarkan lama inkubasi. Penelitian ini menggunakan empat jenis perlakuan yaitu P0 = kontrol; P1 = 45 menit; P2 = 60 menit; dan P3 = 75 menit dengan lima kali ulangan. Parameter yang diamati adalah kualitas spermatozoa yang terdiri dari viabilitas dan abnormalitas serta proporsi spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas dan abnormalitas pada perlakuan inkubasi yang berbeda tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,005). Viabilitas spermatozoa P0 = 93,30% untuk fraksi atas dan bawah P1, P2, P3 yaitu 92,59%, 92,34%, 91,81% dan 92,92%, 92,39%, 92,42%. Abnormalitas spermatozoa P0 = 2,96% pada fraksi atas dan bawah P1,P2,P3 yaitu 3,16%, 2,84%, 3,61% dan 3,43%, 3,74%, 3,64%. Konsentrasi hasil sexing $P0 = 903 \times 10^6$ untuk fraksi atas dan bawah P1, P2, P3 yaitu 95×10^6 , 105×10^6 , 134×10^6 dan 147x10⁶, 105x10⁶, 169x10⁶. Proporsi spermatozoa X : Y pada pengukuran panjang kepala yaitu P0 = 50,00 : 44,50, hasil sexing untuk fraksi atas dan bawah perlakuan P1, P2, P3 yaitu 15,84 : 81,19, 37,13 : 59,41, 30,54 : 63,05 dan 47,76 : 46,77, 65,85 : 28,71, 83,08 : 28,71. Dapat disimpulkan bahwa lama inkubasi tidak mempengaruhi kualitas spermatozoa hasil sexing.

Kata kunci; viabilitas, abnormalitas, sexing, inkubasi.

ABSTRACT

Zahra Jinan Fadilla. I011 17 1510. Viability, Abnormality and Proportion of Bali Bull (Bos Sondaicus) Sexed Sperms at Different Incubation Times. Supervised by **Muhammad Yusuf** and **Sutomo**.

Sperms sexing technique using the egg white sedimentation method is intended to increase the calving rate of desired sex. This study aimed to determine the quality and success rate of sperms sexing based on different incubation time. This study used four treatments of incubation time, P0 = control; P1 = 45 minutes; P2 = 60 minutes; and P3 = 75 minutes with five replications. The parameters observed were the quality of spermatozoa which consisted of viability and abnormality and proportion of the sperms. The results of this study showed that the viability and abnormality of the different incubation treatments did not show a significant difference (P<0,05). Sperms' viability in P0 was 93.30%, while for the upper and lower fractions for the treatments of P1, P2, P3 were 92.59%, 92.34%, 91.81% and 92.92%, 92.39%, 92.42%, respectively. Sperms' abnormality in P0 was 2.96%, while in the upper and lower fractions for the treatments of P1, P2, P3 were 3.16%, 2.84%, 3.61% and 3.43%, 3.74%, 3.64%, respectively. The concentration of sexed sperms in P0 was 903×10^6 , while for the upper and lower fractions for the treatments of P1, P2, P3 were 95x10⁶, 105x10⁶, 134x10⁶ and 147x10⁶, 105x10⁶, 169x10⁶, respectively. Proportion of the sperms length X : Y in P0 was 50.00 : 44.55, while sexed sperms for the upper and lower fractions of P1, P2, P3 were 47.76: 46.77, 65.85: 28.71, 83.08: 28.71 and 15.84: 81.19, 37.13: 59.41, 30.54: 63.05, respectively. It can be concluded that the incubation times did not affect the quality of sexed Bali bull sperms.

Keywords; Viability, Abnormality, Sexing, Incubation.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, Tuhan yang telah memberikan beragam nikmat-Nya kepada kita semua sehingga Alhamdulillah saya diberikan kelancaran dalam menyelesaikan makalah usulan penelitian yang berjudul "Viabilitas, Abnormalitas dan Proporsi Spermatozoa Sapi Bali (Bos Sondaicus) Hasil Sexing Dengan Lama Inkubasi Berbeda". Shalawat dan salam semoga selamanya tercurah dan terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis hanturkan dengan segala keihklasan dan kerendahan hati kepada :

- 1. Kedua orang tua penulis yaitu **Muh. Siarah** dan **Ummy Riasari**, serta saudara penulis **Sasqia** dan **Fachrul** juga seluruh **Keluarga** penulis yang senantiasa mendoakan sehingga makalah ini dapat selesai tepat waktu serta dukungan berupa moril, materil, dan saran.
- 2. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU**, selaku pembimbing utama yang telah memberikan banyak ilmu, waktu, tenaga, dan saran-saran serta semangat untuk penulis dalam penyusunan skripsi ini.
- 3. **Dr. Sutomo, S.Pt., M.Si**, selaku pembimbing anggota yang telah bersedia membantu dan memberikan arahan serta semangat kepada penulis sampai skripsi ini selesai.
- 4. **Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc**, selaku penguji / pembahas yang telah bersedia memberi masukan dan saran kepada penulis, serta kesempatan untuk bisa penelitian dan mengambil sampel semen di *Samata Integrated Farming System*.

- 5. **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si** selaku penguji / pembahas yang telah bersedia dan melancarkan seminar serta memberi saran-saran dan masaukan kepada penulis dan sebagai penasehat akademik yang telah banyak membantu penulis selama masa perkuliahan sampai selesai perkuliahan.
- 6. **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, M.A**, selaku Rektor Universitas Hasanuddin. **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 telah memberi ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis selama perkuliahan.
- 7. **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.SI., IPM** dan kak **Athar Manabi Diansyah, S.Pt** yang telah banyak membantu penulis dari pra-penelitian sampai skripsi ini selesai dan arahan serta masukan selama di Laboratorium *Processing Semen*.
- 8. **Hasrin, S.Pt., M.Si** yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk membantu penulis dalam penampungan semen di *Samata Integrated Farming System*.
- 9. Special thanks to **Indra Wahyudi Syarif dan Andri Tamiyadi**, teman seperjuangan selama penelitian yang telah bersama-sama selama kurang lebih 8 bulan bertukar pikiran dan masukan serta kerja sama menyelesaikan penelitian ini.
- 10. Teman/sahabat seperjuangan penulis anggota Cemara yaitu Reski Amalia, S.Pt, Andi Tifal Nurgina,S.Pt, A. Andri Tamiyadi, S.Pt, A. Irdayanti, S.Pt, Yohana Desi, S.Pt, Andi Nismalasari, S.Pt, Nurhasmiati, S.Pt, Fauziyyah Divayanti,S.Pt dan Suardi, S.Pt yang sudah banyak membantu

dan sangat berjasa selama perkuliaan hingga penulis menyelesaikan skripsi

ini.

11. **Masturi, S.Pt., M.Si**, **Milawati, S.P**, serta kakak dan teman – teman

ASLAB Reproduksi Ternak yang sudah menemani dan mendukung

penulis juga memberikan banyak pengalaman selama masa perkuliahan.

12. Terima kasih yang juga tak terhingga untuk teman angkatan **Grifin17** yang

senantiasa memberi dukungan dan senantiasa menemani penulis dari awal

dengan sangat baik dan ikut melancarkan seminar penulis.

Serta semua pihak yang turut membantu menyelesaikan skripsi ini yang

tidak dapat disebut satu persatu. Penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh

dari kata sempurna, oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang

membangun dari pembaca demi kesempurnaan penulisan ini.

Makassar, Juli 2021

Zahra Jinan Fadilla

ix

DAFTAR ISI

I	Ialaman
DAFTAR ISI	. X
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
PENDAHULUAN	. 1
TINJAUAN PUSTAKA	. 3
Gambaran Umum Sapi Bali	. 4
Gambaran Umum Sexing Spermatozoa	. 5
Metode Sexing Spermatozoa	. 6
Faktor Keberhasilan Sexing	. 8
Viabilitas	. 10
Abnormalitas	. 11
METODE PENELITIAN	. 12
Waktu dan Tempat Penelitian	. 12
Materi Penelitian	. 12
Prosedur Penelitian	. 13
Metode Pelaksanaan	. 14
Rancangan Penelitian	. 16
Parameter yang Diamati	. 16
Analisis Data	. 17
HASIL DAN PEMBAHASAN	. 19
Kualitas Semen Segar	. 19
Viabilitas Spermatozoa Hasil Sexing dengan Inkubasi Berbeda	22
Abnormalitas Spermatozoa Hasil Sexing dengan Lama Inkubas	i
Berbeda	. 24
Konsentrasi Spermatozoa Hasil Sexing	. 26
Proporsi Spermatozoa X dan Y Hasil Sexing	. 28
KESIMPULAN DAN SARAN	. 32
Kesimpulan	. 32

Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	
RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR TABEL

No.	No. Hal	
1.	Metode Sexing (Pemisahan Jenis Kelamin)	6
2.	Kualitas Semen Segar Sapi Bali	19
3.	Rata - Rata Viabilitas Spermatozoa Hasil Sexing	22
4.	Rata – Rata Abnormalitas Spermatozoa Hasil Sexing	24
5.	Rataan Konsentrasi Spermatozoa Hasil Sexing	26
6.	Rataan Proporsi Spermatozoa Hasil Sexing berdasarkan panjang	
	kepala	27
7.	Rataaan Proporsi Spermatozoa Hasil Sexing berdasarkan Lebar	
	Kepala	29

DAFTAR GAMBAR

No.		Halaman	
1.	Diagram Alir Prosedur Penelitian	13	
2.	Abnormalitas spermatozoa sapi Bali	25	

PENDAHULUAN

Ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK) dari tahun ke tahun semakin bertambah maju dan berkembang pesat. Penemuan teknologi ini dapat dimanfaatkan untuk mengatasi masalah-masalah dan tantangan yang dihadapi subsektor peternakan terutama dalam meningkatkan populasi, produksi dan produktifitas ternak secara kualitas maupun kuantitas (Sophian dan Fifi, 2016). Teknologi dibidang reproduksi yang telah berkembang diantaranya ada Inseminasi Buatan (IB), Embrio Trasnfer (ET) dan In Vitro Fertilisasi (IVF). Dari ketiga jenis teknologi ini yang paling sederhana pelaksanaannya ialah IB (Lopulalan dkk., 2018).

IB merupakan suatu usaha manusia memasukkan sperma ke dalam saluran reproduksi betina dengan menggunakan suatu peralatan khusus (Hastuti, 2008). Melalui kegiatan IB maka penyebaran bibit unggul tenak sapi akan lebih mudah, murah, cepat dan beberapa keunggulan seperti mengurangi penyebaran penyakit utamanya penyakit kelamin serta dapat mengatur jarak kebuntingan ternak dengan baik (Afiati., dkk, 2013). Pengembangan dari IB yaitu *sexing* dalam mengontrol jenis kelamin anak ternak yang akan di produksi sesuai dengan kebutuhan peternak agar lebih efisien (Sunarti dkk., 2016).

Sexing atau pemisahan spermatozoa adalah kegiatan yang bertujuan untuk memisahkan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dengan betina (Yuliani., dkk, 2020). Sexing dalam pelaksanaannya membutuhkan bahan pengencer sebagai media bertahan hidup sperma. Pengencer semen komersil yang siap pakai dan sudah terbukti dalam mempertahankan kondisi spermatozoa yaitu pengencer Andromed (Damayanti dkk., 2017).

Metode *sexing* yang tepat untuk memisahkan spermatozoa X dan Y pada hewan dan manusia yang cukup valid yaitu sedimentasi putih telur yang dapat menghasilkan 75-80% spermatozoa Y (Hafez, 2008). Pemisahan spermatozoa menggunakan kolom putih telur merupakan metode yang paling mudah diterapkan dan albumin pada putih telur berfungsi sangat efektif terhadap proporsi spermatozoa X dan Y (Saili dkk,, 2000). Menurut Takdir dkk., (2017) prinsip metode ini dengan membuat medium yang memiliki konsentrasi berbeda agar spermatozoa dengan motilitas tinggi yang diketahui merupakan spermatozoa Y dapat menembus medium yang lebih pekat, sedangkan spermatozoa X dengan motilitas rendah akan berada pada medium yang sama (konsentrasi rendah), serta kandungan protein yang tinggi pada putih telur sangat bermanfaat sebagai sumber energi bagi spermatozoa.

Waktu inkubasi dapat mempengaruhi keberhasilan proses pemisahan sperma X dan Y. Waktu inkubasi yang terlalu singkat akan menghasilkan proporsi sperma X dan sperma Y sedikit, dan apabila terlalu lama dapat mengakibatkan peningkatan kerusakan pada sel sperma dan menurunkan kualitasnya (Yusrina dkk., 2018). Lama waktu inkubasi *sexing* sangat berpengaruh terhadap jumlah konsentrasi dan motilitas namun tidak pada persentase viabilitas spermatozoa Sapi Bali (Luzardin dkk., 2020). Hal yang sama juga dijelaskan oleh Lopulalan dkk., (2018) bahwa lama waktu inkubasi *sexing* mempengaruhi konsentrasi dan motilitas spermatozoa, namun tidak begitu pada viabilitas, namun ada kecenderungan penurunan persentase viabilitas spermatozoa sejalan dengan lama waktu inkubasi.

Spermatozoa dapat ditingkatkan kualitas maupun kuantitasnya dengan memodifikasi proses sexing spermatozoa. Faktor lama waktu inkubasi salah satu penentu keberhasilan sexing spermatozoa. Inkubasi dapat mempengaruhi seberapa efektifnya spermatozoa dalam menembus larutan medium dan kualitas spermatozoa yang dihasilkan setelah sexing. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kualitas (viabilitas dan abnormalitas) dan proporsi spermatozoa hasil sexing sapi Bali dengan lama inkubasi yang berbeda. Kegunaan penelitian ini adalah sebagai bahan kajian bagi ilmu pengetahuan dan teknologi, informasi tambahan bagi Balai Inseminasi Buatan (BIB) serta memberikan informasi bagi peneliti mengenai kualitas viabilitas, abnormalitas dan proporsi spermatozoa sapi Bali hasil sexing dengan lama waktu inkubasi berbeda

TINJAUAN PUSTAKA

Gambaran Umum Sapi Bali

Sapi Bali (Bos Sondaicus) merupakan sapi asli dari Indonesia yang

memiliki jumlah populasi yang besar dan menyebar secara luas (Sarassati dan

Kadek., 2015). Sapi Bali merupakan hasil domestikasi dari banteng (Bos-bibos

banteng) dan memiliki potensi besar untuk memenuhi protein hewani (Dewantari

dan Oka, 2020). Sapi Bali memiliki ciri genetik khas yang tidak kalah dengan

bangsa sapi lainnya. Peranan sapi Bali sangat penting dalam pembangunan

subsektor peternakan melihat kebutuhan daging dalam negeri sangat tinggi

(Hoesni., 2015). Sapi Bali memiliki keunggulan dibandingkan dengan sapi

lainnya yaitu memiliki angka pertumbuhan yang cepat, adaptasi dengan

lingkungan yang baik, dan penampilan reproduksi yang baik. Sapi Bali juga

merupakan sapi yang paling banyak di pelihara utamanya pada peternak kecil

karena fertilitasnya baik dan angka kematian yang rendah (Purwantara et al.,

2012).

Taksonomi sapi Bali menurut Williamson dan Payne (1993),

Pyhlum: Chordata

Sub-Pyhlum : *Vertebrata*

Class: Mammalia

Ordo: *Artiodactyla*

Sub-Ordo: Ruminantia

Family : *Bovidae*

Genus: Bos

Species: Bos Sondaicus

4

Ciri khas sapi Bali adalah postur tubuh kecil, memiliki garis hitam pada punggung yang sering disebut garis belut (sangat jelas saat masih pedet), rambut berwarna coklat kekuningan (merah bata), pada jantan dewasa rambut akan berubah menjadi coklat kehitaman, berwarna putih pada bagian tepi daun telinga bagian dalam, kaki bagian bawah, bagian belakang pelvis dan bibir bawah (Feati, 2011). Secara umum, ciri-ciri fisik sapi Bali yaitu warna rambut kuning kemerah merahan atau merah bata, mempunyai garis hitam di sepanjang punggung sampai pangkal ekor, kaki bawah lutut dan pantat berwarna putih, warna bulu telinga putih, bulu ekor hitam, moncong kehitaman dan tidak berpunuk (Yupardhi, 2009).

Gambaran Umum Sexing Spermatozoa

Sexing spermatozoa merupakan salah satu teknologi bidang reproduksi yang dapat menghasilkan anak sapi dengan jenis kelamin tertentu dan sangat berpotensi dalam mengendalikan perkawinan ternak sehingga peluang kelahiran anak sapi lebih teratur juga memenuhi kebutuhan peternak dan masyarakat (Saili dkk., 2017). Teknologi sexing sangat bermanfaat bagi peternak sapi potong karena dapat memproduksi lebih banyak anak pejantan begitupun peternak sapi perah yang lebih menginginkan sapi betina yang lebih banyak (Sunarti dkk., 2016). Teknik sexing spermatozoa dilakukan melalui pemisahan kromosom X dan Y berdasarkan perbedaan karakteristik morfologi, kandungan DNA, perbedaan protein makromolekul pada kedua kromosom serta perbedaan berat dan pergerakan spermatozoa (Yan et al, 2006).

Sexing atau yang biasa disebut pemisahan sperma adalah kegiatan yang bertujuan untuk memisahkan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan

dan betina. Dengan adanya pemilihan tetknologi ini maka akan meningkatkan efisiensi reproduksi ternak yang mampu meningkatkan usaha peternakan dalam skala peternakan rakyat maupun komersil. Peternak dapat lebih mudah memilih pedet yang akan lahir jantan atau betina, tergantung tujuan pemeliharaannya apakah penggemukan atau pembibitan. Pengolahan rasio seks yang tepat dan dapat diproduksi secara komersial untuk menghasilkan pejantan atau betina superior sebagai penerus keturunan atau bibit jantan (Yuliani dan Lukman, 2013).

Metode Sexing Spermatozoa

Metode *sexing* yang telah dilakukan antara lain metode sedimentasi (albumin column), sentrifugasi gradien densitas Percoll, elektroforesis, H-Y antigen, *flow cytometri* dan filtrasi dengan *sephadex column* (Lopulalan dkk., 2018). Teknik pemisahan spermatozoa cukup beragam hingga tahap molekuler dan yang pernah di kembangkan yaitu sentrifugasi, elektroforesis, pemilihan ukuran sel, perbedaan tekanan, perbedaan pH, dan viskositas (Priatmoko, 2008).

Tabel 1. Metode *Sexing* (Pemisahan Jenis Kelamin)

Jenis Metode	Penjelasan
Flow Cytrometry	Pemisahan spermatozoa dengan laser dan
	memungkinkan terjadinya kerusakan sel sperma
	akibat sinar laser dan didasarkan kandungan
	DNA 3-4% pada Y
Gradien Densitas Percoll	Pemisahan spermatozoa berdasarkan berat dan
(SGDP)	besar kepala spermatozoa X dan Y dapat
	menghasilkan sekitar 89% sperma terpisah
Filtrasi <i>Sephadex</i>	Sexing dengan prinsip perbedaan besar dan
	elektromagnetik spermatozoa X dan Y,
	dikhususkan untuk sel sperma X
Putih Telur	Sexing dengan prinsip motilitas Y lebih tinggi
	daripada X sekitar 65%-80% setelah pemisahan
Bovine Serum Albumin	Dianggap paling efisien, namun mahal serta
	prinsip yang digunakan yaitu kecepatan bergerak
	sperma 71-76% terpisah
Elektroforesis	Sexing dengan prinsip bahwa spermatozoa
	mengandung muatan, sperma X negatif dan Y
	positif dan akan bergerak menuju muatan yang
	sesuai

Sumber: Wahjuningsih dkk.,(2019); Rahayu dkk., (2020); Anwar dkk., (2019)

Hasil penelitian Herman dan Tjokronegoro (1982) setelah memisahkan spermatozoa manusia menggunakan *Human Serum Albumin* (HSA) fraksi 10% dan 20% didapatkan 71% spermatozoa X dan 71,18% spermatozoa Y dengan rasio kelahiran anak laki-laki 83% dan anak perempuan 27%. Serta Jaswandi (1992) setelah memisahkan spermatozoa sapi perah menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dihasilkan pada fraksi bawah rasio kelamin jantan dan betina (62,5% : 37,5%), sedangkan fraksi atas rasio kelamin jantan dan betina (22,2% : 77,8%).

Sexing menggunakan bahan albumin yang berasal dari putih telur adalah salah satu metode yang paling mudah diaplikasikan dan biaya yang dibutuhkan murah serta penggunaan bahan putih telur efektif dalam pemisahan spermatozoa X dan Y. Putih telur mengandung bermacam-macam protein, enzim inhibitor, anti bakteri, vitamin terikat dan mineral terikat (Susilawati, 2013). Putih telur (Albumin) dapat dengan mudah dibuat densitas gradien pada konsentrasi yang berbeda dan dapat memenuhi prinsip dari metode sexing serta layak dijadikan sebagai bahan alternatif sebagai medium pemisahan spermatozoa X dan Y. Adapun kandungan protein yang tinggi pada putih telur bisa bermanfaat sebagai sumber energi bagi spermatozoa selama proses pemisahan (Takdir dkk., 2017). Penggunaan putih telur cukup efektif sebagai bahan pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menghasilkan spermatozoa Y proporsi bawah sebesar 75,8±18%. (Rosita dkk., 2014). Metode yang paling tepat untuk memisahkan spermatozoa X dan Y pada hewan dan manusia yang cukup valid yaitu sedimentasi putih telur yang menghasilkan 75-80% spermatozoa Y (Hafez, 2008).

Sexing dengan albumin putih telur didasarkan pada perbedaan motilitas antara spermatozoa X dan Y dengan membuat medium yang berbeda konsentrasinya (Sianturi et al., 2004). Jumlah kombinasi medium putih telur yang optimal dan dapat menghasilkan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y serta memiliki motilitas yang tertinggi pada medium 10% dan 30% serta lama waktu masa inkubasi pada semen sapi potong yaitu selama 20 menit pada suhu 5⁰ C (Pamungkas dkk., 2004). Fraksi albumen telur mempengaruhi motilitas, spermatozoa hidup, dan abnormalitas akan tetapi dapat mempengaruhi perolehan proporsi spermatozoa Y yaitu tertinggi 63,58% pada fraksi albumen 10 dan 30% (Akhidat, 2012). Spermatozoa pembawa kromosom Y akan berukuran lebih kecil sehingga bergerak lebih cepat atau memiliki daya penetrasi yang lebih tinggi untuk menembus suatu larutan. Spermatozoa Y akan berenang bergerak ke bawah sedangkan spermatozoa X akan tetap berada di lapisan atas (Susilawati, 2011). Spermatozoa hasil sexing akan digunakan untuk inseminasi buatan dan dapat menghasilkan ternak dari jenis kelamin yang dikehendaki dengan genetik tertentu serta untuk peningkatan genetik dalam kelompok ternak dapat menjadi lebih cepat (Afriani, 2011).

Faktor Keberhasilan Sexing

Keberhasilan proses *sexing* dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu salah satunya adalah lama waktu inkubasi, waktu inkubasi yang terlalu singkat akan menghasilkan proporsi sperma X dan sperma Y yang sedikit, sedangkan waktu inkubasi yang lama dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa X dan Y pada lapisan medium yang berbeda konsentrasi selain itu dapat terjadi peningkatan kerusakan pada sel sperma sehingga dapat menurunkan kualitasnya

(Anwar dkk., 2019). Sperma hasil *sexing* yang membawa kromosom X lebih besar daripada sperma pembawa kromosom Y. Perbedaan waktu inkubasi dapat mempengaruhi kualitas dan daya tahan hidup dari spermatozoa X dan Y, namun masih perlu di teliti lebih lanjut.

Ferlianthi (2016) menghasilkan proporsi spermatozoa pada waktu 45 menit yang paling tinggi dibandingkan perlakuan 60 dan 75 menit yaitu spermatozoa X (74,33%) dan spermatozoa Y (82,33%). Motilitas spermatozoa selama masa inkubasi mengalami penurunan yang signifikan, hal ini disebabkan karena terlalu banyaknya perlakuan yang diberikan selama *sexing* sehingga spermatozoa membutuhkan banyak energi untuk tetap bergerak, begitupun dengan adanya proses sentrifugasi / pencucian sehingga dapat menurunkan motilitas spermatozoa. Waktu inkubasi yang begitu lama juga turut menurunkan kualitas spermatozoa.

Yusrina dkk., (2018) menggunakan waktu inkubasi 45, 60 dan 75 menit dihasilkan rata-rata motilitas dan MPU (Membran Plasma utuh) semen terbaik pada menit ke 45. Motilitas fraksi atas 69,73±2,00 dan fraksi bawah 68,82±2,00 sedangkan untuk MPU fraksi atas 75,00±2,66 dan fraksi bawah 71,33±1,32. Motilitas akan menurun seiring lama waktu inkubasi, sehingga meningkatkan kerusakan pada sperma. Hasil persentase motilitas pada penelitian ini lebih rendah dikarenakan pengamatan dilakukan setelah penyimpanan 3 jam pada suhu 5°C. begitupun pada MPU akan menurun seiring lama waktu inkubasi dikarenakan semakin lama akan memicu peningkatan produksi radikal bebas dan spermatozoa akan mengalami peroksidasi lipid dan merusak membran plasma.

Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa merupakan presentase sel spermatozoa yang hidup ditinjau dari kondisi membran sel. Evaluasi ini dilakukan dengan memberikan zat berupa pewarna bernama *Eosin-negrosin* yang diulas bersamaan dengan sampel semen diatas *object glass* dan kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa yang masih hidup tidak akan menyerap warna karena struktur membran sel masih utuh dan tidak rusak (Isnaini dan Fazrien, 2020). Nilai persentase viabilitas spermatozoa akan sedikit lebih tinggi dari persentase motilitas. Hal ini dapat disebabkan karena spermatozoa yang tidak motil secara progresif namun sebenarnya masih hidup sehingga tidak akan menyerap warna dari larutan *eosin-negrosin* (Ismaya dan Dwitarizki, 2021).

Pemeriksaan viabilitas dapat dijadikan indikator integritas struktur membran spermatozoa (Sukmawati dkk., 2014). Viabilitas memiliki korelasi dengan motilitas yang ditentukan oleh kekuatan membran plasma spermatozoa (Azzahra dkk., 2016). Hasil pemeriksaan viabilitas spermatozoa yaitu sapi Rambon 83% - 90% dengan rata-rata 86,7±2,3 (Prastika dkk., 2018), viabilitas sapi Bali yaitu 82,19±1,41 (Malik dkk., 2017), sapi Bali 89,94±2,84, sapi Madura 90,98±3,13 dan sapi Peranakan Ongole 92,13±2,08 (Yekti dkk., 2018). Sedangkan viabilitas hasil *sexing* oleh Takdir dkk (2017) menghasilkan fraksi atas 68,9-74,2% dan fraksi bawah 59,7-73,0%. Rata-rata viabilitas spermatozoa hasil *sexing* 89,39±4,20 lapisan atas dan 88,16±4,39 pada lapisan bawah (Fatahillah dkk., 2016). Standar minimun bagi kualitas semen yang dapat dipakai untuk inseminasi buatan adalah minimal 50% persentase sperma hidup (viabilitas) dan yang motil (Kusumawati dkk., 2016).

Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh lagi dapat menyebabkan gagal bunting (Yulniwati et al, 2009). Abnormalitas semen segar sebaiknya tidak melebihi 20% karena dapat menurunkan fertilitas (Toelihere, 1981). Menurut Hafez (2008) bahwa abnormalitas sperma telah dikelompokkan menjadi 3 yaitu abnormalitas primer, abnormalitas sekunder, dan abnormalitas tersier. Abnormalitas primer ditandai dengan kepala terlampau besar (macrocephalic), kepala terlampau kecil (microcephalic), kepala yang lebar, ekor dan badan yang berganda. Abnormalitas sekunder yang dapat ditandai dengan adanya butiran protoplasma pada pangkal ekor sperma tepatnya terjadi pada saat di caput epididymis. Sedangkan abnormalitas tersier yang ditandai dengan ekor putus, ekor melingkar, dan kepala membesar.

Abnormalitas primer salah satu kelainan pada sperma yang disebabkan oleh kelainan fisik yang terjadi pada saat proses pematangan spermatozoa didalam tubuli seminiferi, serta pada saat perjalanan spermatozoa melalui saluran organ kelamin jantan (Fitriani, 2010). Beberapa sebab terjadinya abnormalitas primer dikarenakan kegagalan proses spermatogenesis dan spermiogenesis, faktor genetik dan kondisi lingkungan yang tidak sesuai (Barth dan Oko, 1989). Sedangkan pada abnormal sekunder kemungkinan disebabkan karena kesalahan preparasi ataupun pada saat ejakulasi (Arfiantini dkk., 2006). Beberapa hal yang dapat menjadikan spermatozoa abnormal tersier karena pembuatan preparat ulas yang menyebabkan kepala atau ekor spermatozoa putus (Yulniwati dkk., 2010).