

Kualitas Spermatozoa Kambing Saanen Hasil Separasi Seks Menggunakan Bovine Serum Albumin Dengan Perbandingan Konsentrasi Berbeda

Pandu Setiawan*, Dadang Mulyadi Saleh, Aras Prasetyo Nugroho

Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Banyumas-Jawa Tengah

Email: pandu.s@mhs.unsoed.ac.id

Article Info	Abstrak
<p>Article history: Received 13 Agustus 2024 Received in revised form 6 November 2024 Accepted 7 November 2024 DOI: https://doi.org/10.32938/ja.v10i1.7963 Keywords: Separasi Seks Viabilitas Motilitas Individu Kambing Saanen</p>	<p>Teknologi separasi seks spermatozoa adalah teknologi yang dapat membuat pemisahan spermatozoa yang mengandung kromosom X dan Y, sehingga memungkinkan pembiakan ternak secara selektif berdasarkan jenis kelamin yang diinginkan agar dapat memberikan keuntungan lebih bagi peternak. Penggunaan medium bovine serum albumin (BSA) dalam riset ini bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa yang dihasilkan dari separasi seks dengan melihat kualitas spermatozoa berdasarkan motilitas individu dan viabilitas spermatozoa. Perlakuan yang digunakan yaitu perbedaan gradien atau konsentrasi BSA dengan P1 5:10% dan P2 15:20%. Materi penelitian yang dipakai adalah semen segar yang didapat dari seekor Kambing Saanen jantan berumur dua tahun yang diberi pakan hijauan dan konsentrat. Penelitian separasi seks spermatozoa dilaksanakan secara eksperimental di laboratorium menggunakan metode kolom albumin dengan perlakuan konsentrasi BSA yang berbeda. Hasil penelitian dianalisis menggunakan uji t test berpasangan dengan ulangan sebanyak delapan kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas individu spermatozoa pada P1 konsentrasi 5% = $64,30 \pm 5,43\%$ dan 10% = $64,61 \pm 9,69\%$ sedangkan pada P2 konsentrasi 15% = $57,22 \pm 5,29\%$ dan 20% = $54,58 \pm 2,55\%$ dan viabilitas spermatozoa rata-rata pada konsentrasi P1 konsentrasi 5% = $71,66 \pm 11,80\%$ dan 10% = $84,03 \pm 6,61\%$ sedangkan pada P2 konsentrasi 15% = $79,47 \pm 4,51\%$ dan 20% = $78,20 \pm 5,17\%$. Disimpulkan bahwa spermatozoa dengan konsentrasi BSA 5:10% memiliki kualitas berdasarkan viabilitas dan motilitas individu yang lebih baik daripada spermatozoa dengan konsentrasi BSA 15:20%.</p>

1. PENDAHULUAN

Ternak kambing adalah salah satu jenis ternak yang paling sering dibudidayakan oleh masyarakat, terutama mereka yang tinggal di pedesaan. Peternak kambing rakyat menjadikan kambing sebagai ternak yang potensial untuk menguntungkan ekonomi mereka. Ternak kambing cocok untuk dibudidayakan karena memiliki keunggulan diantaranya memiliki kemampuan reproduksi yang baik serta daya adaptasi terhadap lingkungan yang cukup tinggi. Usaha peternakan kambing selain menghasilkan daging juga menghasilkan susu. Salah satu ternak kambing yang sering dibudidayakan untuk diambil susunya adalah Kambing Saanen. Kambing Saanen merupakan ternak eksotik yang berasal dari lembah Saanen di Swiss, yang merupakan kambing penghasil susu terbaik di Indonesia dengan produksi susu tiga liter per hari (Christi *et al.*, 2021). Menurut Febriana *et al.* (2018) dalam beberapa tahun terakhir, usaha peternakan kambing perah di Indonesia mulai menunjukkan peningkatan. Hal tersebut juga didukung dengan data statistik peternakan dan kesehatan hewan tahun 2021 menunjukkan populasi kambing pada tahun 2020 mengalami kenaikan 1,23% daripada tahun 2019 (Kementerian Pertanian, 2021). Peternak sekarang memiliki kesadaran dalam melihat potensi pengembangan kambing perah yang cukup tinggi. Hal tersebut membuat kebutuhan akan kambing perah terutama indukan meningkat. Jumlah populasi induk kambing perah dapat ditingkatkan dengan cara peningkatan efisiensi reproduksi ternak. Teknologi reproduksi dapat digunakan sebagai salah satu media penyedia ternak indukan berupa anak betina melalui teknologi separasi seks dengan perkawinan menggunakan Inseminasi Buatan (IB).

Perkawinan pada kambing menghasilkan rasio seks jantan dan betina sebesar 50:50, dengan adanya teknologi separasi seks maka jenis kelamin anak dapat diatur yaitu dengan pemisahan antara spermatozoa yang mengandung kromosom X dan Y. Separasi seks digunakan untuk memisahkan spermatozoa berkromosom X dan Y berdasarkan karakteristik yang dimiliki spermatozoa tersebut. Perbedaan sifat spermatozoa berkromosom X dan Y dapat dilihat dari karakteristik *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), ukuran tubuh, identitas, gerakan, muatan, ukuran kepala, bentuk kepala, daya hidup, kemotaksis, dan derajat pH (Susilawati, 2014).

Separasi seks dapat dilakukan dengan berbagai media seperti albumen atau putih telur (Hamdana *et al.*, 2019), *percoll* (Susilawati, 2014), dan *Bovine Serum Albumin* (BSA) (Anwar *et al.*, 2019). Prinsip di balik pemisahan spermatozoa dari media BSA adalah bahwa spermatozoa X dan Y memiliki kecepatan motilitas yang berbeda serta adanya perbedaan konsentrasi BSA. Spermatozoa Y (jantan) yang memiliki motilitas tinggi mempunyai kemampuan menembus konsentrasi BSA yang lebih tinggi, sedangkan spermatozoa X yang memiliki motilitas rendah akan tetap pada konsentrasi BSA yang rendah.

Separasi seks menggunakan *bovine serum albumin* telah terkonfirmasi secara molekuler memisahkan spermatozoa ternak sapi yang membawa kromosom X dan Y. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kaiin *et al.* (2017) yang menemukan bahwa separasi seks yang dilakukan menggunakan metode duplex PCR yang menggunakan gen SRY (318 bp) dan GAPDH (415 bp) dapat membedakan jenis kelamin dari DNA spermatozoa Sapi Simmental. Spermatozoa X berada di kolom BSA 5% dan spermatozoa Y berada di kolom BSA 10%. Penelitian separasi seks menggunakan BSA juga dilakukan oleh Situmorang *et al.* (2013) yaitu menggunakan level konsentrasi BSA 15 dan 20% yang dilakukan dengan teknik *Fluorescence in situ hybridization*.

Kualitas spermatozoa hasil separasi seks dapat mempengaruhi keberhasilan program inseminasi buatan yang perlu diperhatikan diantaranya yaitu viabilitas dan motilitas individu. Pemeriksaan viabilitas dan motilitas individu spermatozoa dilakukan sebelum dan sesudah proses separasi seks untuk mengetahui adanya peningkatan atau penurunan viabilitas dan motilitas individu. Mengacu pada Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku kambing dan domba, menyatakan bahwa semen beku memiliki standar motilitas minimal 40%, gerak individu minimal dua (kurang dari 50%) agar dapat dilakukan inseminasi buatan (Badan Standardisasi Nasional, 2014). Tinggi atau rendahnya viabilitas dan motilitas individu sangat penting dan perlu diperhatikan karena dapat menentukan layak atau tidaknya spermatozoa hasil separasi seks tersebut untuk diaplikasikan ke tahap Inseminasi Buatan. Berdasarkan uraian permasalahan diatas maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengevaluasi kualitas berdasarkan motilitas individu dan viabilitas spermatozoa Kambing Saanen hasil separasi seks menggunakan BSA dengan konsentrasi atau gradien yang berbeda.

2. MATERI DAN METODE PENELITIAN

2.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di *Teaching and Experimental Farm* Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman dan Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman pada tahun 2021.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *object glass*, *cover glass*, *water bath*, tabung *ependorf*, spuit, *counter*, vagina tiruan, pipet tetes dan mikroskop, sedangkan bahan digunakan NaCl fisiologis 0,9% dan *bovine serum albumin*.

2.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah separasi seks menggunakan albumin (BSA) dengan perlakuan konsentrasi BSA. Rancangan penelitian adalah *compare mean* dengan 2 perlakuan dan 8 kali pengulangan. P₁: Separasi seks spermatozoa dengan

medium BSA 5% fraksi atas dan 10% fraksi bawah. P₂ : Separasi seks spermatozoa dengan medium BSA 15% fraksi atas dan 20% fraksi bawah.

2.4 Prosedur Penelitian

A. Koleksi Semen

Semen dikoleksi dari seekor Kambing Saanen yang diberi pakan hijauan dan konsentrat. Koleksi semen dilakukan pada pagi hari menggunakan vagina tiruan kemudian dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis.

B. Pembuatan Medium Separasi Seks

Medium separasi seks dibuat dengan menyampurkan *bovine serum albumin* dengan NaCl fisiologis dengan perhitungan sebagai berikut:

Konsentrasi 5% = 0,5 gram BSA + 10 ml NaCl fisiologis.

Konsentrasi 10% = 1 gram BSA + 10 ml NaCl fisiologis.

Konsentrasi 15% = 1,5 gram BSA + 10 ml NaCl fisiologis.

Konsentrasi 20% = 2 gram BSA + 10 ml NaCl fisiologis.

Medium dimasukkan ke dalam tabung eppendorf dengan mengalirkan secara perlahan melalui dinding tabung dengan konsentrasi yang lebih besar berada pada lapisan bawah sehingga terbentuk cincin sebagai tanda pemisahan lapisan atas dan bawah.

C. Proses Separasi Seks

Medium dimasukan melalui dinding tabung menggunakan spuit. Konsentrasi medium yang dimasukan ke dalam tabung eppendorf sebanyak masing masing 2 ml dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibawah konsentrasi lebih rendah. Semen sebanyak 1 ml dimasukan ke dalam tabung eppendorf yang sudah terisi medium separasi seks (BSA) dengan dialirkan melalui dinding tabung. Tabung eppendorf yang telah terisi medium dan semen diinkubasi di dalam *water bath* selama 45 menit dengan suhu 37 °C. Diambil 1 ml lapisan paling atas kemudian diikuti pengambilan medium fraksi atas dan bawah masing - masing diambil 1 ml dan dimasukan ke dalam tabung eppendorf secara terpisah. Medium yang telah dipisahkan masing - masing disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 1.800 rpm dengan tujuan spermatozoa pada medium mengendap ke bawah. Spermatozoa yang telah mengendap diambil menggunakan *micropipet* dan diencerkan dengan NaCl fisiologis 0,9%. Setelah diencerkan, spermatozoa diamati motilitasnya dibawah mikroskop. Spermatozoa yang diamati dengan 5 lapang pandang (Nengsih *et al.*, 2019). Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin-nigrosin.

Pengamatan viabilitas spermatozoa menurut Insani *et al.* (2014) adalah sampel semen dan pewarna eosin-nigrosin (1:3) dicampurkan dan dibuat preparat ulas tipis pada *object glass*. Evaluasi viabilitas spermatozoa dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Persentase sel spermatozoa yang hidup dan mati dihitung dengan menghitung minimal 200 sel dari sepuluh lapang pandang spermatozoa. Bagian kepala spermatozoa yang hidup tidak berwarna, sedangkan yang mati berwarna merah keunguan. Data motilitas individu dan viabilitas spermatozoa yang sudah diperoleh kemudian dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Motilitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Motil Progresif}}{\text{Jumlah Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa yang Hidup}}{\text{Jumlah Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

D. Prosedur Pengambilan Data

Data yang didapatkan dari penelitian ditabulasikan ke dalam tabulasi data.

2.5 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah motilitas dan viabilitas.

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini analisis secara deskriptif menggunakan uji *t test* berpasangan (*equal*).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pemeriksaan Awal Spermatozoa Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Pemeriksaan awal spermatozoa dari semen segar Kambing Saanen dilakukan secara makroskopis dan secara mikroskopis. Pemeriksaan awal spermatozoa dilakukan untuk menilai kualitas dan kuantitas spermatozoa guna memastikan kelayakannya sebelum tahap separasi seks (Nahriyanti *et al.*, 2017). Evaluasi secara makroskopis terdiri atas volume, bau, warna, kekentalan atau konsistensi serta pH semen, sedangkan evaluasi secara meliputi konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen segar Kambing Saanen penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Evaluasi Makroskopis dan Mikroskopis Semen Segar Kambing Saanen

No.	Karakteristik	Rataan
1	Volume (ml)	1,82 ± 0,00
2	Warna	Putih Kekuningan
3	Konsistensi	Sedang
4	Bau	Khas
5	Ph	6,3 ± 0,00
6	Viabilitas (%)	84,77 ± 1,70
7	Motilitas Individu (%)	75,49 ± 3,06
8	Konsentrasi (x 10 ⁶ /ml)	3386,7 ± 60,53
9	Abnormalitas (%)	4.18 ± 1,21

Berdasarkan Tabel 1, hasil pemeriksaan semen segar secara makroskopis didapatkan volume semen yaitu 1,82 ml. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Arifiantini (2012) yang menyatakan bahwa volume semen kambing berkisar 0,5-2,0 ml per ejakulasi. Menurut Hafez (2000), sejumlah variabel dapat mempengaruhi volume semen kambing, seperti ukuran badan, frekuensi ejakulasi, nutrisi pakan, umur, dan perbedaan ras. Warna yang dihasilkan dari evaluasi secara makroskopis yaitu putih kekuningan dengan konsistensi sedang. Hasil evaluasi tersebut sesuai dengan pernyataan Masyitoh *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa biasanya berwarna putih kekuningan. Konsistensi spermatozoa berbanding lurus dengan konsentrasi spermatozoa. Menurut Mokoagow *et al.* (2021), konsistensi semen adalah salah satu ciri fisik semen yang memiliki korelasi positif dengan konsentrasi spermatozoa. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat konsistensi semen semakin tinggi konsentrasi dari semen tersebut.

Pemeriksaan makroskopis selanjutnya adalah bau dan pH. Bau dan pH yang didapatkan berdasarkan hasil evaluasi secara makroskopis yaitu berbau khas amis atau seperti bunga akasia dan memiliki pH asam yaitu 6,30. Hasil yang didapat dari sesuai penelitian yang dilakukan dengan oleh Lestari *et al.*, (2014) yang menunjukkan bahwa semen kambing berbau yang khas yaitu amis dan untuk ph lebih rendah dari pernyataan Kusumawati *et al.* (2017) bahwa pH pada semen kambing biasanya sekitar 6,4-6,8.

Hasil pemeriksaan mikroskopis sesuai dengan Tabel 1 persentase motilitas individu yang didapat dari pemeriksaan secara mikroskopis sebesar 75,49±3,06%. Persentase motilitas individu yang diperoleh dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tambing *et al.* (2003) yang melaporkan motilitas individu pada semen segar Kambing Saanen sebesar 71,67±2,58%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa motilitas individu hasil penelitian lebih baik dari literatur yang menandakan bahwa kondisi motilitas individu spermatozoa baik. Hal tersebut juga diperkuat dengan pendapat Garner dan Hafez (2000) bahwa semen segar dapat diproses ke tahap selanjutnya apabila motilitas individunya minimal 70%.

Pemeriksaan mikroskopis selanjutnya yaitu viabilitas spermatozoa dan didapatkan hasil sebesar 84,77±1,70%. Hasil penelitian tidak jauh berbeda dari penelitian yang dilakukan oleh Tambing *et al.* (2003) yaitu sebesar 85,79 ± 3,94. Viabilitas spermatozoa berhubungan erat dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa. Menurut Toelihere (1993), viabilitas spermatozoa dipengaruhi oleh frekuensi ejakulasi kondisi kesehatan reproduksi ternak kambing dan jenis ternak kambing. Viabilitas spermatozoa berhubungan erat dengan motilitas spermatozoa. Prastika *et al.* (2018) menyatakan bahwa viabilitas spermatozoa memiliki hubungan berbanding lurus dengan motilitas spermatozoa yang artinya adalah semakin banyak persentase spermatozoa yang motil berarti semakin banyak juga persentase viabilitas spermatozoa tersebut. Berdasarkan Tabel 1 didapatkan konsentrasi sebesar 3386,7±60,53 juta spermatozoa.

Konsentrasi hasil evaluasi menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan oleh Tambing *et al.* (2003) yang mendapatkan data 2978,38±468,17. Menurut Putranti *et al.* (2010), penampungan dan frekuensi penampungan adalah faktor yang mempengaruhi konsentrasi. Penampungan semen dengan metode vagina buatan menghasilkan konsentrasi spermatozoa yang lebih tinggi daripada menggunakan metode elektroejakulator dan konsentrasi spermatozoa akan lebih rendah jika frekuensi ejakulasi ternak meningkat. Berdasarkan Tabel 1, hasil evaluasi abnormalitas spermatozoa sebesar 4.18±1,21%. Hasil tersebut lebih tinggi daripada hasil penelitian Lestari *et al.* (2014) persentase abnormalitas yang didapatkan sebesar 3,57±0,55%. Abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini tetap dianggap baik karena masih di bawah 10%, seperti yang dinyatakan oleh Bintara (2011) yang menyatakan bahwa tingkat abnormalitas yang baik adalah sekitar 6% hingga 10%.

3.2. Motilitas Individu Spermatozoa Hasil Separasi Seks

Motilitas individu spermatozoa mengacu pada presentase dari pergerakan individual spermatozoa secara progresif. Motilitas spermatozoa juga merupakan salah satu indikator yang dapat menentukan kualitas spermatozoa. Evaluasi motilitas individu spermatozoa penting dilakukan dikarenakan motilitas individu spermatozoa digunakan sebagai indikator kesiapan membuahi ovum. Hasil rata-rata motilitas individu spermatozoa X dan spermatozoa Y pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Motilitas Individu Spermatozoa Hasil Separasi Seks

Parameter	Rataan Setelah Pemisahan (%)			
	Konsentrasi (%)	Fraksi Atas	Konsentrasi (%)	Fraksi Bawah
Motilitas Individu	5:10	64,30 ± 5,43 ^a	5:10	64,61 ± 9,69 ^a
	15:20	57,22 ± 5,29 ^b	15:20	54,58 ± 2,55 ^b

Keterangan: Huruf superscript yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Hasil pengukuran motilitas individu spermatozoa X diperoleh rata-rata sebesar: $X_1 = 64,30 \pm 5,43\%$ dan $X_2 = 57,22 \pm 5,29\%$ sedangkan spermatozoa Y mendapatkan hasil rata-rata sebesar: $Y_1 = 64,61 \pm 9,69\%$ dan $Y_2 = 54,58 \pm 2,55\%$. Persentase motilitas individu berdasarkan hasil analisis menggunakan uji *t-test equal* didapatkan bahwa spermatozoa X dan spermatozoa Y berpengaruh nyata ($P < 0,05$). Hasil pengukuran motilitas Individu di semua perlakuan menunjukkan penurunan dapat dilihat dari angka motilitas individu semen segar yaitu 75,49±3,06. Penurunan persentase motilitas individu dikarenakan spermatozoa sudah kehabisan energi (ATP) untuk melakukan pergerakan. Kartika (2015) mengatakan bahwa penurunan tersebut dikarenakan pengaruh dari medium BSA dan suhu selama proses separasi seks.

Selain pengaruh medium, separasi seks juga dipengaruhi oleh lama waktu inkubasi. Hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh Anwar *et al.*, (2019) yang melakukan separasi seks pada kambing Boer dengan menggunakan medium *bovine serum albumin* yang diinkubasi selama 40, 50, 60 menit menunjukkan hasil pada spermatozoa Y yaitu 72%, 67%, dan 57% dan untuk spermatozoa X didapatkan hasil sebesar 72%, 64%, 57%. Afiati (2004) juga melaporkan bahwa hasil separasi seks menggunakan kolom albumin dengan waktu inkubasi 60 menit menunjukkan persentase motilitas spermatozoa sebesar 70,83% pada spermatozoa X pada fraksi atas dan 75% pada spermatozoa Y pada fraksi bawah. Menurut penelitian Solihati *et al.* (2017) menunjukkan hasil yang cukup optimal dengan waktu inkubasi selama 45 menit. Metabolisme spermatozoa selama inkubasi menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa dikarenakan proses metabolisme memerlukan energi. Kehilangan energi selama proses metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa (Sunarti *et al.*, 2016).

Berdasarkan Tabel 2, hasil motilitas individu yang didapatkan dari separasi seks menggunakan konsentrasi 15:20% spermatozoa X maupun spermatozoa Y lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 5:10%, dengan demikian dapat dikatakan bahwa fraksi atas dan bawah pada konsentrasi 5:10% lebih baik dalam mempertahankan motilitas individu spermatozoa. Hal tersebut dikarenakan spermatozoa pada konsentrasi yang tinggi akan memerlukan energi yang lebih untuk bergerak dikarenakan semakin tingginya viskositas sehingga energi yang digunakan untuk bergerak spermatozoa akan semakin banyak dan mengakibatkan spermatozoa kehabisan energi. Hal tersebut sesuai dengan pendapat dari Manehat *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa penurunan motilitas individu spermatozoa dikarenakan spermatozoa kehabisan energi sehingga menyebabkan membran menjadi tidak stabil dimana hal tersebut dapat mengganggu integritas membran yang disebabkan oleh akumulasi asam laktat. Penumpukan asam laktat akan menjadi racun bagi spermatozoa dan akan berdampak pada kematian spermatozoa tersebut.

Selain perbedaan konsentrasi, medium faktor sentrifugasi juga berpengaruh terhadap motilitas individu spermatozoa. Hal tersebut diduga karena membran spermatozoa kehilangan faktor dekapasitasi (DF) selama proses sentrifugasi. Faktor dekapasitasi dalam plasma semen bertanggung jawab untuk memastikan membran spermatozoa stabil dan mengontrol aktivitas Ca^{2+} -ATPase yang ada pada membran kepala dari spermatozoa. Faktor dekapasitasi dapat mengaktifkan Ca^{2+} -ATPase untuk menjaga konsentrasi Ca^{2+} intraseluler tetap rendah, yang mencegah proses kapasitasi dan reaksi akrosom (Purwoistri *et al.*, 2013). Susilawati (2011) juga mengatakan bahwa proses sentrifugasi dapat merusak tudung akrosom dan juga seminal plasma yang berguna untuk melindungi stabilitas membran spermatozoa dan mengatur ion kalsium yang terdapat pada membran kepala spermatozoa. Menurut Dasrul *et al.* (2013) bahwa berbagai proses, mulai dari pemisahan spermatozoa hingga sentrifugasi, membutuhkan banyak energi untuk mempertahankan kondisi fisiologis spermatozoa, membuat rendahnya persentase motilitas individu spermatozoa. Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa memiliki angka terendah 54,58 ± 2,55% dan tertinggi 64,61 ± 9,69%.

3.3 Viabilitas Spermatozoa Hasil Separasi Seks

Viabilitas spermatozoa adalah parameter penting untuk evaluasi semen karena berhubungan dengan kemampuan hidup dan fertilitas spermatozoa. Viabilitas dipengaruhi oleh motilitas, pH, dan abnormalitas spermatozoa (Putranti *et al.*, 2010). Jika kondisi spermatozoa berada dalam pH netral (7,0) maka membuat meningkatnya nilai rata-rata *metabolisme rate* (MR) dan ketika dalam kondisi asam atau alkali dapat berdampak pada penurunan metabolisme spermatozoa. Varasofiari *et al.* (2013) juga menambahkan bahwa daya hidup spermatozoa dapat dipengaruhi oleh metabolisme spermatozoa alasannya karena aktivitas metabolisme yang tinggi akan menghasilkan asam laktat dalam jumlah banyak hal tersebut dapat menyebabkan spermatozoa mati sehingga persentase viabilitas spermatozoa akan turun. Hasil rata-rata viabilitas spermatozoa X dan spermatozoa Y dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan Viabilitas Spermatozoa Hasil Separasi Seks

Parameter	Rataan Setelah Pemisahan (%)			
	Konsentrasi	Fraksi Atas	Konsentrasi	Fraksi Bawah
Viabilitas	5:10	71,66 ± 11,80 ^a	5:10	84,03 ± 6,61 ^a
	15 :20	79,47 ± 4,51 ^a	15:20	78,20 ± 5,17 ^b

Keterangan: Huruf superscript yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Hasil pengukuran viabilitas spermatozoa X diperoleh rata-rata sebesar $X_1 = 71,66 \pm 11,80\%$ dan $X_2 = 79,47 \pm 4,51\%$ sedangkan spermatozoa Y diperoleh rata-rata sebesar $Y_1 = 84,03 \pm 6,61\%$ dan $Y_2 = 78,20 \pm 5,17\%$. Hasil analisis menggunakan uji *t-test equal* dapat disimpulkan bahwa viabilitas spermatozoa X yang berkonsentrasi 5:10% dan 15:20% hasil separasi seks tidak memiliki perbedaan yang nyata ($P > 0,05$), sedangkan viabilitas spermatozoa Y berkonsentrasi 5:10% dan 15:20% hasil separasi seks memiliki perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Hal tersebut diduga karena spermatozoa di fraksi bawah memiliki pergerakan atau motilitas yang lebih baik, sedangkan spermatozoa di fraksi atas bergerak lambat dan sulit untuk menembus fraksi bawah, mati, dan memiliki kondisi spermatozoa yang tidak normal atau tidak memiliki membran plasma.

Menurut pendapat [Susilawati \(2014\)](#), spermatozoa Y lebih mempunyai kemampuan berpindah yang lebih baik dari pada spermatozoa X. Perbedaan level konsentrasi membuat perbedaan viskositas yang berpengaruh pada membran plasma. Spermatozoa yang berenang menuju fraksi bawah akan mengalami gesekan yang membuat membran plasma dari spermatozoa tersebut juga mengalami kerusakan. Kerusakan pada membran plasma dapat menurunkan persentase viabilitas spermatozoa sehingga spermatozoa Y pada medium BSA 15:20% lebih rendah daripada 5:10%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan [Susilawati et al. \(2018\)](#) bahwa dalam proses separasi seks, spermatozoa akan mengalami gesekan dengan medium pemisah maupun dengan dinding tabung dan dapat menyebabkan persentase kerusakan membran spermatozoa meningkat.

Hasil viabilitas spermatozoa yang didapatkan dari separasi seks menggunakan konsentrasi BSA 15:20% pada spermatozoa X memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi BSA 5:10%, dengan demikian dapat dikatakan bahwa fraksi atas pada konsentrasi 15:20% lebih baik dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa X. [Landim et al. \(2004\)](#) menjelaskan bahwa medium BSA dapat memproteksi membran plasma dan membran akrosom. *Bovine serum albumin* (BSA) sebagai makromolekul memiliki fungsi untuk mencegah dan mengikat Ca^{2+} yang masuk berlebihan ke dalam spermatozoa sehingga mampu melindungi integritas membran spermatozoa. [Kusumawati \(2015\)](#) berpendapat bahwa albumin yang terdapat dalam BSA berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid sehingga integritas membran plasma dapat dipertahankan. Berbanding terbalik dengan hasil rata-rata viabilitas pada spermatozoa Y. Spermatozoa Y yang terdapat pada fraksi bawah yang memiliki konsentrasi lebih tinggi yaitu 15:20% cenderung memiliki persentase viabilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan spermatozoa Y yang berada pada konsentrasi 5:10%.

Spermatozoa Y pada konsentrasi 5:10% jauh lebih baik dalam mempertahankan daya hidup spermatozoa. Hal tersebut diduga karena pada penelitian ini menggunakan teknik *swim down* yang merupakan metode pemisahan spermatozoa dengan membiarkan spermatozoa berenang dari atas menuju ke bawah. Metode ini mengakibatkan spermatozoa banyak memerlukan ATP untuk menjaga integritas membran plasma saat spermatozoa menembus lapisan medium *bovine serum albumin* yang memiliki konsentrasi dan viskositas yang lebih tinggi sehingga mengakibatkan banyak spermatozoa yang berada pada fraksi bawah sudah kehabisan ATP yang mengakibatkan spermatozoa tidak mampu mempertahankan integritas membran plasma. Kehilangan kemampuan untuk mengatur membran plasma dapat menimbulkan kerusakan pada membran plasma itu sendiri. Kerusakan membran plasma mengakibatkan pewarna seperti eosin dapat masuk dengan mudah yang menjadi penanda kematian pada spermatozoa. Sejalan dengan pendapat [Dwi et al. \(2013\)](#) yang menyatakan bahwa keutuhan membran plasma sangat penting karena berfungsi untuk mengatur keluar masuknya ion yang diperlukan untuk proses metabolisme dan menjaga keseimbangan elektrolit intrasel dan ekstrasel.

Faktor lain yang mempengaruhi persentase viabilitas spermatozoa adalah proses sentrifugasi. Hal tersebut dikarenakan ketika proses sentrifugasi, spermatozoa mengalami gesekan satu sama lain yang dapat menyebabkan rusaknya keutuhan membran plasma. Viabilitas spermatozoa bergantung pada membran plasmanya. Hal ini dikarenakan apabila membran plasma rusak, spermatozoa akan kehilangan integritas membran plasmanya, yang mengakibatkan kematian spermatozoa, sehingga mengurangi persentase viabilitas spermatozoa. Sesuai dengan pernyataan [Susilawati \(2014\)](#) bahwa proses sentrifugasi selama separasi seks dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) intraseluler pada spermatozoa. Proses sentrifugasi juga dapat menyebabkan gesekan antara spermatozoa dan medium, yang dapat membuat spermatozoa terpisah dari seminal plasma dan mengakibatkan *reactive oxygen species* (ROS) terbentuk.

Berdasarkan [Tabel 3](#); sesuai dengan [Hamdana et al. \(2019\)](#), persentase viabilitas spermatozoa harus melebihi 50%. [Azzahra et al. \(2016\)](#) juga berpendapat bahwa viabilitas spermatozoa yang dihasilkan dari separasi seks dengan *bovine serum albumin* pada konsentrasi 5:10% dan 15:20% masih layak untuk digunakan sebagai semen beku dengan standar minimal memiliki nilai persentase viabilitas sebesar 60%-75%. Pengukuran viabilitas spermatozoa juga digunakan dalam penelitian ini untuk menentukan apakah spermatozoa yang dihasilkan dari separasi seks dengan BSA layak untuk diinseminasikan atau diproses lebih lanjut.

4. SIMPULAN

Penggunaan konsentrasi bovine serum albumin 5:10% mampu menjaga kualitas spermatozoa hasil separasi seks ditinjau dari motilitas individu dan viabilitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F. 2004. Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y Hasil Separasi Kolom Albumin. *Media Peternak*, 27(1):16-20.
- Anwar, A., Solihati, N. & Rasad, S.D. 2019. Pengaruh Medium dan Lama Inkubasi dalam Proses Sexing Sperma terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 19(1):53-61.
- Arifiantini, R. I. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*. Bogor: IPB Press.
- Azzahra, F. Y., Setiatin, E.T., & Samsudewa, D. 2016. Evaluasi Motilitas dan Persentase Hidup Semen Segar Sapi PO Kebumen Pejantan Muda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(2):99-107.
- BSN. 2014. *SNI 4869-3-2014 Semen Beku Kambing dan Domba*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Bintara, S. 2011. Rasio Spermatozoa X:Y dan Kualitas Sperma pada Kambing Kacang dan Peranakan Ettawa. *Sains Peternakan*, 9(2):65-71.
- Christi, R.F., Suharwanto, D & Yuniarti, E. 2021. Karakteristik Kandungan Kimia Kolostrum Kambing Sapera dan Saanen di Sumedang Jawa Barat. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Peternakan*, 9(1):96-101.
- Dasrul, A. Yaman, & Zulfan. 2013. Pemisahan Spermatozoa Berkromosom X dan Y Kambing Boer dan Aplikasinya Melalui Inseminasi Buatan Untuk Mendapatkan Jenis Kelamin Anak Sesuai Harapan. *Jurnal Agripet*, 13(1):6-15.
- Dwi, A., Endang, T. & Sujut, H. 2013. Serbuk Daun Kelor Menurunkan Derajat Perlemakan Hati dan Ekspresi Interleukin-6 Hati Tikus dengan Kurang Energi Protein. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 26(3): 125-130.
- Febriana, N.D., Harjanti, D.W., & Sambodho, P. 2018. Korelasi Ukuran, Badan, Volume Ambing, dan Produksi Susu Kambing Peranakan Etawah (PE) di Kecamatan Turi Kabupaten Sleman Yogyakarta. *Jurnal Ilmu - Ilmu Peternakan*, 28(2) :134-140.
- Garner, D.L., & Hafez, E.S.E. 2008. *Spermatozoa and Seminal Plasma. Reproduction In Farm Animal*. Australia: Blackwell Publishing.
- Hafez, E. S. E. 2000. *Preservation and Cryopreservation of Gametes and Embryos. Reproduction in Farm Animal*. Philadelphia: Awollers Kluwer Company.
- Hamdana, A. H. Sonjaya, & Toleng, L. 2019. Pengaruh Pemberian Heparin pada Level yang Berbeda pada Semen Beku Sapi Limousin

- Hasil Sexing dengan Menggunakan Albumen Telur Ayam. *Jurnal Peternakan Lokal*, 1(2):21-27.
- Isnani, K., Rahayu, S., Permana, A., & Soewndo, A. 2014. Kadar MDA Spermatozoa setelah Proses Pembekuan. *Jurnal Biotropika*, 2(1):142-147.
- Kaiin, E.M., & Gunawan, M. 2017. Kualitas Sperma Sapi Hasil *Sexing* setelah Kapasitasi secara *In Vitro*. Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. Jakarta: Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).
- Kartika, N.M.A. 2015. Proporsi dan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Hasil Separasi dalam Kolom Albumin BSA (*Bovine Serum Albumin*). *GeneC Suara*, 11(2): 45-50.
- Kementerian Pertanian. 2021. *Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2021*. Jakarta: Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan.
- Kusumawati, E. D. 2015. *Sexing Spermatozoa Kambing*. Malang : Media Nusa Creative.
- Kusumawati, E.D., Leondro, H., Krisnaningsih, A.T.N., Susilawati, T., Isnaini, N., & Widhad, R. 2017. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Semen *Sexing* Menggunakan Metode Sedimentsi Putih Telur dengan Pengencer yang Berbeda. Seminar Nasional Hasil Penelitian.Malang: Universitas Kanjuruhan Malang.
- Landim, A.F.C., Graham J.K., & Alvarenga M.A. 2004. *Calcium Influx Into Equine and Bovine Spermatozoa During Invitro Capasitation*. *Journal Animal Reproductive* 1(1) : 96-105.
- Lestari, T. P. S., Ihsan, M.N., & Isnaini, N. 2014. Pengaruh Waktu Simpan Semen Segar dengan Pengencer Andromed pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika*, 15(1): 43-50.
- Manehat, F.X., Dethan, A.A., & Tahuk, P.K. 2021. Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas Spermatozoa dan pH Semen Sapi Bali dalam Pengencer Sari Air Tebu Kuning Telur yang Disimpan dalam Waktu yang Berbeda. *Jurnal of Tropical Animal Science and Technology*, 3(2):76-90.
- Masyitoh, H., Suprayogi, T.W., Praja, R.N., Sianto, P., Madyawati, S.P. & Saputro, A.L. 2018. Persentase Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Sapera dalam Pengencer Tris Kuning Telur dan Susu Skim Kuning Telur *Before Freezing*. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3):105-112.
- Mokoagow, F., Pudjihastuti, E., Hendrik, M.J. & Paputungan, U. 2021. Makroskopik Semen Segar Kambing Bangsa Peranakan Etawa (PE), Boer dan Saanen di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Zootec*. 41(1):150-157.
- Nahriyanti, S.I.T.I., Ondho, Y.S. & Samsudewa, D. 2017. Perbedaan Kualitas Makroskopis Semen Segar Domba Batur dalam *Flock Mating* dan *Pen Mating*. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 12(2): 191-198.
- Nengsih, N.S., Dasrul., Akmal, M., Zainuddin., Riady, G., & Salim. M.N. 2019. Kualitas Spermatozoa Sapi Aceh Hasil *Sexing* Menggunakan Metode Elektrik dengan Voltase 1,5 Volt dan 3,0 Volt dalam Media Sitrat Kuning Telur. *JIMVET*, 3(2):116-125.
- Prastika, Z.,Susilowati, S., Agustono, B., Safitri, E., Fikri, F., & Prastiya, R.A. 2018. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Rambon di Desa Kemiren Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(2):38-42.
- Purwoistri, R.F., Susilawati, T & Rahayu, S. 2013. Membran Spermatozoa Hasil *Sexing Gradien Albumin* Berpengencer Andromed dan Cauda Epididymal Plasma-2 Ditambahkan Kuning. *Jurnal Veteriner*, 14(3):371-378.
- Putranti, O. D., Kustono., & Ismaya. 2010. Pengaruh Penambahan *Crude Tannin* pada Sperma Cair Kambing Peranakan Ettawa yang di Simpan Selama 14 hari terhadap Viabilitas Spermatozoa. *Buletin Peternakan*, 34(1) : 1-7.
- Situmorang, P., Sianturi, R.G.,Kusumaningrum, D.A., Ross., & Maidaswar. 2013. Kelahiran Anak Sapi Perah Betina Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan *Sexed Sperma* yang di Pisahkan dengan Kolom Albumin Telur. *JITV*, 18(3):185-191.
- Solihati, N. 2017. *Proportion and Quality of XY Chromosome Bearing Sperm on Diluted Semen After Incubation in Different Time of Etawah Crossbreed Goat*. International Seminar on Tropical Animal Production. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Sunarti, S., T. Saili, and L. O. Nafiu. 2016. Karakteristik Spermatozoa Sapi Bali Setelah *Sexing* Menggunakan Metode Kolom Albumin dengan Lama Waktu *Sexing* yang Berbeda. *JITRO*. 3(1):65-76.
- Susilawati, T. 2014. *Sexing Spermatozoa* : Hasil Penelitian Laboratorium dan Aplikasi pada Sapi dan Kambing. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Susilawati, T., Kusumawati, E.D., Isnaini, N., Yekti, A.P.A., Sudarwati, H. & Ridhowi, A. 2018. *The Effect of Sexing Process by Using Density Gradient Centrifugation Percoll and Frozen Method to Sperm Motility and Membrane Damage of Ongole Crossbred Bull*. *1st International Conference in One Health*. Malang: Atlantis Press.
- Tambing, S.N., Sutama, I.K., & Arifiantini, R.I., 2003. Efektifitas Berbagai Konsentrasi Laktosa dalam Pengencer Tris Terhadap Viabilitas Semen Cair Kambing Saanen. *JITV*, 8(2): 84-90.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Varasofiri, L.N., Setiatin, E.T. & Sutopo. 2013. Evaluasi Kualitas Semen Segar Sapi Jawa Brebes Berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan. *Animal Agriculture*. 2(1): 201- 208.
- Tahuk, P.K., dan G.F. Bira. 2020. Carcass and Meat Characteristics of Male Kacang Goat Fattened by Complete Silage. *Veterinary World*. 13: 706-715.
- Utomo, R. 2004. Teknologi Pakan Hijauan. Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan. UGM: Yogyakarta.
- Verawati, B., Yanto, N., dan Widawati. 2020. Pembuatan dan Uji Mutu Tepung Porang. Universitas Pahlawan Tuanku Tambusai Bangkinang.
- Wang, W., and Johnson, A. 2003. Konjac: An Introduction. Konjac Company Ltd. Fuzhou City, China.
- Wati, W.S., Mashudi, dan Irsyammawati A. 2018. Kualitas silase rumput odot (*Pennisetum purpureum cv. Mott*) dengan penambahan *Lactobacillus plantarum* dan molasses pada waktu inkubasi yang berbeda. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis*. 1(1): 45-53.