

Kualitas Spermatozoa Y Hasil Separasi Seks dengan Medium Bovine Serum Albumin (BSA) dan Lama Inkubasi yang Berbeda pada Domba Sakub

Quality of Spermatozoa Y From Sex Separation With Bovine Serum Albumin Medium and Different Incubation Duration in Sakub Sheep

Setiadi Imam Prasetyo¹, Ahmad Dzulfahmi Anis², Mas Yedi Sumaryadi², Dadang Mulyadi Saleh³

¹²³Study Program of Animal Science, Faculty of Animal Science, University of Jenderal Soedirman. Jl. Dr. Soeparno No.60, Karangwangkal, Purwokerto Utara, Banyumas 53122, Jawa Tengah, Indonesia

*Corresponding Author. E-mail address: mas.sumaryadi@unsoed.ac.id

(Diterima: 2 Agustus 2025 ; Disetujui: 31 Januari 2025; Terbit: 28 Februari 2025)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh medium Bovine Serum Albumin (BSA) dan lama inkubasi yang berbeda terhadap kualitas spermatozoa Y domba Sakub. Penelitian dirancang menggunakan pola factorial 2x3 dengan rancangan dasar acak kelompok (RAK). Faktor I gradien BSA (G) terdiri dari dua tingkat konsentrasi dua level ($g_1=4:8\%$ dan $g_2=5:10\%$) dan faktor II lama inkubasi (T) terdiri dari level ($t_1=30$, $t_2=40$, dan $t_3=60$ menit). Variabel yang diamati yaitu motilitas, abnormalitas, konsentrasi dan viabilitas spermatozoa Y. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada interaksi antara gradien BSA dan lama inkubasi ($P>0,05$) terhadap kualitas spermatozoa. Namun gradien BSA berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) dan lama inkubasi berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kualitas spermatozoa Y domba Sakub. Nilai motilitas tertinggi pada t_1 ($73,67 \pm 1,41\%$), abnormalitas terendah pada t_1 ($9,92 \pm 1,06\%$), konsentrasi tertinggi pada g_2 ($1196,67 \times 10^6$), dan viabilitas tertinggi pada t_1 ($73,5 \pm 1,00\%$). Disimpulkan bahwa untuk memperoleh kualitas spermatozoa Y yang tinggi sebaiknya digunakan medium BSA dengan konsentrasi 5-10% (g_2) dan lama inkubasi 30 menit (t_1) dan masih memenuhi standar untuk pelaksanaan inseminasi Buatan (IB).

Kata kunci: Abnormalitas, Konsentrasi, Motilitas, Separasi Seks, Viabilitas

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of Bovine Serum Albumin (BSA) medium and different incubation times on the quality of Y spermatozoa in Sakub sheep. The research was designed using a 2x3 factorial pattern with a basic randomized block design (RAK). Factor I BSA gradient (G) consists of two levels ($g_1=4:8\%$ and $g_2=5:10\%$) and factor II incubation time (T) consists of levels ($t_1=30$, $t_2=40$, and $t_3=60$ minutes). The variables observed were motility, abnormalities, concentration and viability of Y spermatozoa. The results of statistical analysis showed that there was no interaction between BSA gradient and incubation time ($P>0.05$) on spermatozoa quality. However, the BSA gradient had a very significant effect ($P<0.01$) and the incubation time had a significant effect ($P<0.05$) on the quality of Y spermatozoa in Sakub sheep. The highest motility value was at t_1 ($73.67 \pm 1.41\%$), the lowest abnormality was at t_1 ($9.92 \pm 1.06\%$), the highest concentration was at g_2 (1196.67×10^6), and the highest viability was at t_1 ($73.5 \pm 1.00\%$). It was concluded that to obtain high quality Y spermatozoa, BSA medium with a concentration of 5-10% (g_2) and an incubation time of 30 minutes (t_1) should be used and this still meets the standards for artificial insemination (AI).

Keywords: Abnormality, Concentration, Motility, Seks Separation, Viability

PENDAHULUAN

Domba merupakan ternak ruminansia kecil yang cukup berpotensi untuk dikembangkan di berbagai wilayah Indonesia.) Produksi ternak domba pada tahun 2022 secara nasional mengalami penurunan populasi dibandingkan dengan tahun 2021 sebanyak 10,06%, namun demikian terdapat peningkatan pemotongan domba sebesar 1,86% (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2023). Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan upaya peningkatan populasi ternak domba untuk memenuhi kebutuhan protein hewani masyarakat. Ternak domba yang memiliki potensi cukup baik untuk dikembangkan salah satunya yaitu domba Sakub.

Domba Sakub masih memiliki populasi yang tergolong sedikit yaitu 16.484 ekor, dimana dari keseluruhan jumlah tersebut domba jantan hanya berjumlah 5.334 ekor (Kementrian Pertanian, 2022). Berdasarkan hal tersebut, domba Sakub perlu ditambah populasinya melalui inseminasi buatan. Namun, peluang domba dalam menghasilkan keturunan jantan dan betina memiliki perbandingan 50:50 (Pitanlakor et al., 2024). Hal tersebut menjadi permasalahan sehingga diperlukan sebuah terobosan teknologi reproduksi yang dapat memisahkan antara spermatozoa jantan (Y) dan spermatozoa betina (X). Teknologi terobosan tersebut adalah separasi seks spermatozoa X dan spermatozoa Y. Menurut Sumaryadi et al. (2010), semen hasil separasi seks digunakan untuk meningkatkan jumlah kelahiran anak dengan jenis kelamin yang diinginkan.

Separasi seks spermatozoa pada domba Sakub menggunakan media Bovine Serum Albumin (BSA) belum pernah dilakukan. Medium separasi Bovine Serum Albumin (BSA) merupakan bahan yang mudah didapat, namun kendala dari penggunaannya adalah harganya yang cukup tinggi (Anwar et al., 2019). Pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menggunakan metode kolom yang mengandung larutan Bovine Serum Albumin

(BSA), didasarkan pada perbedaan motilitas (kecepatan pergerakan) antara spermatozoa X dan Y saat melewati larutan yang mengandung albumin (Sudarma et al., 2014). Prinsip utamanya adalah adanya perbedaan densitas dan muatan listrik permukaan membran yang dan migrasi dalam medium BSA dengan konsentrasi bertingkat. Spermatozoa Y memiliki densitas rendah sehingga lebih ringan dan lebih cepat menembus lapisan BSA sebagai media dengan viskositas tinggi. lapisan lincah motilitas dan ada dasarnya larutan BSA memiliki viskositas tinggi Selanjutnya dinyatakan bahwa BSA

Penelitian ini menggunakan gradien BSA dengan konsentrasi 4:8% dan 5:10%. Penelitian Rasad et al. (2021) menunjukkan gradien BSA dengan konsentrasi 5:10% menunjukkan hasil viabilitas dan motilitas spermatozoa yang tinggi. Inkubasi dilakukan dengan tiga waktu yang berbeda, yaitu 30, 45, dan 60 menit. Yusrina et al. (2018) menyatakan bahwa 30, 45, dan 60 menit merupakan waktu yang optimum untuk separasi seks. Penilaian kualitas spermatozoa secara mikroskopis dilakukan untuk mengetahui apakah spermatozoa hasil separasi seks memiliki kualitas yang baik atau tidak. Penilaian mikroskopis tersebut diantaranya adalah motilitas, abnormalitas, dan viabilitas. Uraian tersebut menjadi dasar untuk dilakukannya penelitian mengenai pengaruh penggunaan gradien BSA dan lama inkubasi terhadap kualitas spermatozoa domba Sakub.

METODE

Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada 22 Oktober – 10 Desember 2024. Penelitian dilaksanakan di Teaching and Experimental Farm Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, pada Laboratorium Bioteknologi Ternak Integrated Academic Building Universitas Jenderal Soedirman, dan Laboratorium Kesehatan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.

Materi Penelitian

Materi yang digunakan yaitu 1 ekor domba Sakub jantan usia 2 tahun dengan bobot sekitar 45-50 Kg. Bahan-bahan yang digunakan berupa semen dari domba Sakub yang dikoleksi, gradien BSA 4% dan 8% serta 5% dan 10%, Phospat Buffer Saline (PBS) sebagai pengencer medium BSA, aquabidest, tris amino methane sebagai pengencer semen, laktosa, antibiotik penisilin dan streptomycin, raffinose pentatydrate, asam sitrat, kuning telur dan eosin. Alat yang digunakan yaitu vagina buatan, micropipet, mikroskop, microtip, object glass, cover glass, sentrifugator, tabung sentrifuge, thermometer, tabung eppendorf waterbath, erlenmeyer, stopwatch, dan gelas beker.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian experimental tersebut adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 2 x 3 dengan ulangan frekuensi penyadapan sebanyak 3 kali dan terdiri dari dua faktor yaitu:

1. Faktor gradien (G) yang terdiri dari dua tingkat konsentrasi level, yaitu:

g1 : Medium BSA gradien 4 : 8%

g2 : Medium BSA gradien 5 : 10%

2. Faktor lama inkubasi (T) pada suhu 37°C yang terdiri dari tiga level, yaitu:

t1: Lama inkubasi pada 30 menit

t2: Lama inkubasi pada 45 menit

t3: Lama inkubasi pada 60 menit

Dari kedua faktor diperoleh 6 kombinasi perlakuan, Masing-masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali berupa koleksi semen penyadapan dan diperoleh total 18 unit percobaan.

Prosedur Penelitian

a. Tahap Persiapan

Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan sebelum penelitian dilaksanakan.

b. Pembuatan Pengencer Tris Kuning Telur

Pembuatan pengencer tris kuning telur berdasarkan Iskandari et al. (2020) :

a). Mencampurkan tris amino methane 1,6 gr, asam sitrat 0,9 ml, raffinose pentatydrate 2,5 gr, laktosa 1,4 gr, dan aquabidest 80 ml ke dalam erlenmeyer.

b). Campuran larutan dalam Tabung Erlenmeyer dimasukkan ke dalam bejana berisi air panas dengan suhu 92-95°C selama 10 menit.

c). Larutan selanjutnya didinginkan hingga suhu 20-23°C secara perlahan.

d). Larutan ditambah dengan antibiotik penicillin 1000 iu/ml dan streptomycin 1 mg/ml, kemudian ditambahkan kuning telur 20 ml lalu dihomogenkan.

c. Tahap Adaptasi

Domba Sakub diadaptasikan dengan lingkungan setempat baik pakan maupun iklim selama 14 hari. Domba Sakub latihan dikoleksi semennya dengan vagina tiruan setiap 3 hari sekali.

d. Tahap Koleksi Semen

a). Koleksi semen dilakukan seminggu dua kali pada pagi hari jam 07.00 di Experimental Farm Fakultas Peternakan Unsoed.

b). Semen hasil koleksi disimpan dalam tabung Eppendorf kemudian dimasukkan ke dalam termos berisi air hangat dengan suhu 37°C.

c). Evaluasi spermatozoa segar secara makroskopis dan mikroskopis.

d). Pengukuran morfometrik (luas kepala) ditentukan berdasarkan rumus (Solihati et al., 2017) yang digunakan sebagai standar :

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

LKS : Luas Kepala Spermatozoa

0,8988 : Faktor koreksi

P : Panjang kepala spermatozoa

L : Lebar kepala spermatozoa

1,63 : Nilai konstanta regresi

e) Sperma Y memiliki nilai LKS yang lebih kecil dari nilai rata-rata standar LKS dikurangi 1 (satu) standar deviasi.

e. Tahap Pembuatan Medium BSA

Media separasi seks dibuat dengan memasukkan larutan BSA dengan berbagai konsentrasi ke dalam tabung sentrifuge sesuai dengan perlakuan yang digunakan.

Media separasi seks ditentukan berdasarkan tingkat gradien konsentrasi larutan BSA 4 : 8% dan 5 : 10% yang dimasukan ke dalam tabung sentrifugase volume 10 ml. Pembuatan gradien larutan BSA tersebut dilakukan dengan cara mencampurkan Phosphate Buffer Saline dengan takaran sebagai berikut :

1. Konsentrasi 4% = 0,24 gr BSA + 6 ml Phosphate Buffer Saline
2. Konsentrasi 8% = 0,48 gr BSA + 6 ml Phosphate Buffer Saline
3. Konsentrasi 5% = 0,3 gr BSA + 6 ml Phosphate Buffer Saline
4. Konsentrasi 10% = 0,6 gr BSA + 6 ml Phosphate Buffer Saline

f. Tahap Separasi Seks

a). Dimasukan larutan BSA ke dalam tabung sentrifuge sesuai dengan perlakuan yaitu :P1 : 2 ml larutan BSA dengan konsentrasi 8% (fraksi bawah) + 2 ml larutan BSA dengan konsentrasi 4% (fraksi atas). P2 : 2 ml larutan BSA dengan konsentrasi 10% (fraksi bawah) + 2 ml larutan BSA dengan konsentrasi 5% (fraksi atas).

b). Semen diteteskan di atas gradien BSA P1 dan P2 masing-masing sebanyak 1 ml

c). Larutan yang berisi semen dan gradien BSA pada P1 dan P2 diinkubasi di dalam waterbath dengan suhu 37°C dengan waktu inkubasi 30, 45, dan 60 menit.

d). 1 ml supernatant larutan paling atas diambil dan kemudian dibuang.

e).Selanjutnya larutan fraksi atas (Spermatozoa X) dan bawah (Spermatozoa Y) dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge yang berbeda menggunakan mikropipet.

f). Larutan BSA fraksi bawah (Y) ditambahkan 3 ml pengencer medium PBS kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit (Anwar et al., 2019).

g). Endapan hasil proses sentrifuge diambil menggunakan mikropipet kemudian diencerkan dengan menggunakan tris kuning telur perbandingan 1:4.fertilitas Spermatozoa yang telah diencerkan diukur morfometrik (luas kepala spermatozoa) sesuai dengan metode Solihat et al. (2017).

h). Hasil pengenceran tersebut ditetaskan pada object glass untuk membuat preparat ulas menggunakan larutan eosin-nigrosin untuk mengamati motilitas, abnormalitas dan viabilitas.

Pengukuran Variabel

1. Motilitas diamati secara subyektif menggunakan mikroskop dalam satuan persen, yaitu spermatozoa yang bergerak progresif dibandingkan dengan gerak spermatozoa yang bergerak berputar di tempat atau mundur, dan spermatozoa yang mati (Manehat et al., 2021).

2. Abnormalitas diamati sesuai dengan metode yang dilakukan Cahyadi (2016) menggunakan preparat ulas, lalu diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Abnormalitas spermatozoa kemudian dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3. Pengukuran konsentrasi spermatozoa dilakukan berdasarkan Yendraliza et al. (2015) yaitu menggunakan bilik hitung neubauer. Jumlah spermatozoa yang telah dihitung lalu dimasukan kedalam rumus untuk mengetahui konsentrasi, yaitu : Total spermatozoa yang dihitung x 10⁶

4. Viabilitas diamati berdasarkan Siswanto et al. (2024), dengan cara membuat preparat ulas menggunakan indikator pewarna eosin-nigrosin, lalu diamati menggunakan mikroskop, dihitung spermatozoa yang hidup dari 200 sel. Untuk mengetahui persentase

Tabel 1. Kualitas Semen Segar Domba Sakub

No.	Karakteristik	Hasil
Makroskopis		
1.	pH	6,33 ± 0,24
2.	Konsistensi	Kental
3.	Volume (ml)	1,1 ± 0,14
4.	Warna	Putih Kekuningan
5.	Aroma	Khas Semen
Mikroskopis		
6.	Abnormalitas (%)	8,33 ± 1,04
7.	Viabilitas (%)	82,6 ± 1,61
8.	Motilitas Individu (%)	76,67 ± 3,51
9.	Konsentrasi (Juta/ml)	5166,67 ± 473,80
10.	Luas Kepala (Morfometrik) (µm ²)	38,98 ± 1,99

viabilitas, spermatozoa yang telah dihitung kemudian dimasukkan ke dalam rumus :

$$\frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

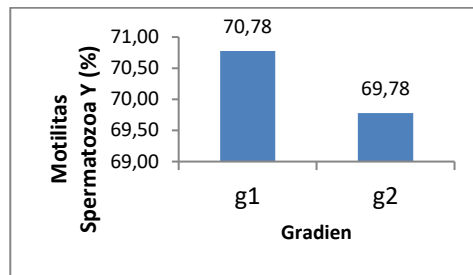
Kualitas Semen Segar Domba Sakub

Berdasarkan hasil pada Tabel 1, rata-rata volume semen domba Sakub adalah 1,1 ml dengan konsistensi kental. Hasil tersebut lebih rendah dari penelitian Solihati et al. (2018), bahwa volume semen pada domba lokal adalah 1,2 ml, namun volume semen domba Sakub lebih tinggi dibandingkan dengan domba Garut yang hanya 0,87 ml (Rizal et al., 2015). Menurut Nahriyanti et al. (2017) menyatakan bahwa volume semen domba yang normal berkisar 0,8 – 1,2 ml. Adapun rata-rata pH semen segar domba sakub sebesar 6,33.

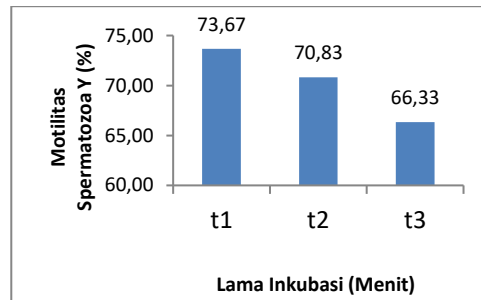
Motilitas individu semen segar domba Sakub (Tabel 1) memiliki rata-rata sebesar 76,67 ± 3,51 %. Chumairoh et al. (2023) menyatakan bahwa motilitas semen yang layak untuk inseminasi buatan (IB) sebesar 70 %. Viabilitas semen segar domba sakub memiliki persentase sebesar 82,6 ± 1,61

%. Hasil tersebut lebih rendah dibandingkan domba lokal dengan viabilitas 91,48 ± 0,52 (Achmad et al., 2024), dan 81,5% ± 4,54 (Nubatonis et al., 2022). Abnormalitas yang dihasilkan memiliki rata-rata 8,33 ± 1,04 %. Menurut Toelihere (1985), semen segar yang dapat diproses lebih lanjut jika presentase abnormalitasnya dibawah 15 %. Konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan memiliki rata-rata 5166,67 ± 473,80 juta/ml. Hasil konsentrasi semen segar pada penelitian ini termasuk normal, sesuai dengan Toelihere (1985) bahwa semen dapat diproses lebih lanjut dengan konsentrasi 1500-3000 juta.

Hasil perhitungan luas kepala spermatozoa (LKS) semen segar (Table 1) adalah sebesar 38,98 ± 1,99 µm². Hasil tersebut menjadi standar untuk menentukan Spermatozoa Y. Spermatozoa Y adalah jika memiliki nilai LKS lebih kecil dari nilai rata-rata standar LKS semen segar dikurangi 1 (satu) standar deviasi. Ini berarti dinyatakan spermatozoa Y jika memiliki nilai LKS lebih kecil dari 36,99 µm². Berdasarkan 200 sampel spermatozoa yang diamati dan memiliki LKS < 36,99 µm² dari 3 kali ulangan. Berdasarkan hasil tersebut maka rata-rata proporsi spermatozoa Y setelah separasi seks menggunakan medium BSA diperoleh sebesar 71,11 ± 2,39%. Proporsi spermatozoa Y yang



Gambar 1. Motilitas Spermatozoa Y Berdasarkan Lama Gradien



Gambar 2. Motilitas Spermatozoa Y Berdasarkan Lama Inkubasi

didapatkan setelah separasi seks menggunakan medium BSA diperoleh sebesar $71,11 \pm 2,39$ %. Hasil tersebut menandakan bahwa separasi seks spermatozoa menggunakan medium BSA dapat dinyatakan berhasil karena lebih dari 50 % spermatozoa Y dapat terpisah.

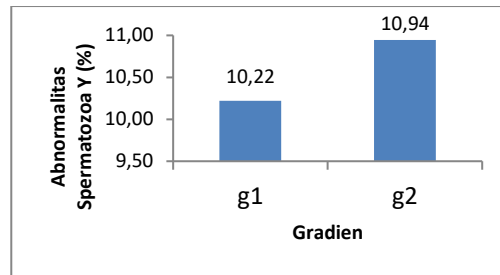
Motilitas Spermatozoa Y pasca separasi seks

Berdasarkan analisis variansi menunjukkan tidak terdapat interaksi antara gradien Bovine Serum Albumin (BSA) dan lama inkubasi ($P > 0,05$). Berdasarkan hasil analisis variansi ternyata tidak terdapat interaksi antara gradien BSA dan lama inkubasi ($P > 0,95$) terhadap motilitas spermatozoa Y. Faktor lama inkubasi memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$), sedangkan tingkat gradien sedangkan gradien tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa Y. Berdasarkan hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) ternyata motilitas spermatozoa pada lama inkubasi 30 menit sangat nyata lebih tinggi dibandingkan dengan lama inkubasi 45 dan 60 menit. Adapun motilitas spermatozoa Y hasil pemisahan menggunakan gradien medium BSA 4:8% (g1) tidak berbeda dengan

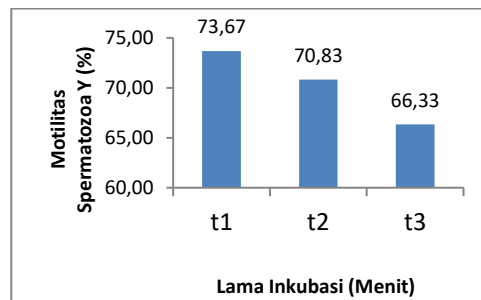
medium BSA 5:10% (g2). Ini berarti bahwa untuk memperoleh motilitas tinggi pada spermatozoa Y, dapat dilakukan pemisahan baik dengan menggunakan medium g1 (4:8%) maupun g2 (5:10%). Motilitas spermatozoa Y pada masing – masing gradien dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata, namun secara numerik, g1 memberikan nilai motilitas spermatozoa Y lebih tinggi ($70,78 \pm 8,02\%$) dibandingkan dengan g2 ($69,78 \pm 14,19\%$) dengan kenaikan 1,4%.

Berdasarkan Gambar 2, t1 (30 menit) dapat menghasilkan spermatozoa Y dengan motilitas tertinggi. Hal tersebut karena pada lama inkubasi yang singkat, spermatozoa masih memiliki cadangan energi yang cukup untuk menembus medium gradien separasi seks. Salah satu komponen yang dapat memberikan sumber energi bagi spermatozoa yaitu pada bahan pengencer yang digunakan. Kandungan rafinosa pada pengencer dapat menyimpan cadangan energi dalam jumlah yang lebih banyak, sehingga dapat digunakan oleh spermatozoa dalam waktu yang lebih lama (Savitri et al.,2014).



Gambar 3. Abnormalitas Spermatozoa Y Berdasarkan Lama Gradien



Gambar 4. Abnormalitas Spermatozoa Y Berdasarkan Lama Inkubasi

Berdasarkan uji lanjut BNJ menunjukkan bahwa pada lama inkubasi t1 (30 menit) memberikan nilai motilitas sebesar $73,67 \pm 1,41\%$ berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi dari lama inkubasi t2 ($70,83 \pm 0,71\%$) dan t3 ($66,33 \pm 7,07\%$). Hal tersebut menandakan bahwa semakin lama inkubasi yang dilakukan dapat menurunkan nilai motilitas spermatozoa. Semakin lama inkubasi yang dilakukan dapat menyebabkan penumpukan sisa hasil metabolisme spermatozoa. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Yusrina et al. (2018) bahwa dalam proses inkubasi, selain kehilangan cadangan energi juga dapat terjadi peningkatan kadar hidrogen peroksida (H_2O_2) akibat proses metabolisme sel yang memiliki sifat toksik sehingga merusak membran plasma dan dapat menurunkan motilitas spermatozoa.

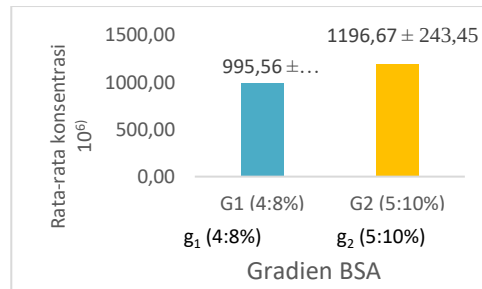
Abnormalitas Spermatozoa Y pasca separasi seks

Berdasarkan analisis variansi menunjukkan tidak terdapat interaksi antara gradien Bovine Serum Albumin (BSA) dan lama inkubasi ($P > 0,05$) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa Y. Faktor lama inkubasi memberikan pengaruh

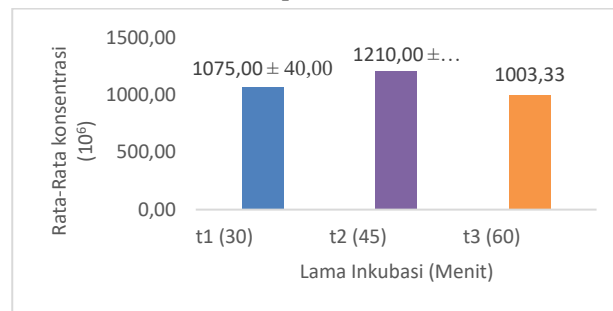
nyata ($P < 0,05$) sedangkan gradien tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa Y. Berdasarkan hasil tersebut maka untuk memperoleh abnormalitas yang rendah pada spermatozoa Y, dapat dilakukan pemisahan dengan menggunakan medium g1(4:8) atau g2(5:10) dengan lama inkubasi 30 sampai 45 menit dengan rata-rata abnormalitas t1 dan t2 masing-masing $9,92 \pm 1,06\%$ dan $10,00 \pm 2,12\%$. Nilai abnormalitas spermatozoa Y pada masing – masing gradien dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan Gambar 3 ternyata walaupun secara statistik tidak berbeda nyata, namun secara numerik, g1 memberikan nilai abnormalitas lebih rendah ($10,22 \pm 2,25\%$) dibandingkan dengan g2 ($10,94 \pm 4,65\%$) dengan penurunan 0,7%.

Berdasarkan Gambar 4, dapat disimpulkan bahwa lama inkubasi dengan waktu 30 menit menghasilkan persentase abnormalitas terendah dibandingkan dengan lama inkubasi 45 dan 60 menit. Berdasarkan hasil yang didapatkan, menandakan bahwa semakin singkat lama inkubasi maka dapat menghasilkan kualitas spermatozoa



Gambar 5. Grafik Konsentrasi Spermatozoa Berdasarkan Gradien BSA



Gambar 6. Grafik Lama Inkubasi Terhadap Konsentrasi Spermatozoa Y

yang baik. Persentase abnormalitas yang didapatkan berdasarkan Gambar 4 masih berada pada level normal dan dapat digunakan untuk proses inseminasi buatan. Herdis dan Darmawan (2012) menyatakan bahwa spermatozoa dengan nilai abnormalitas melebihi 15% maka tidak dapat diaplikasikan untuk inseminasi buatan.

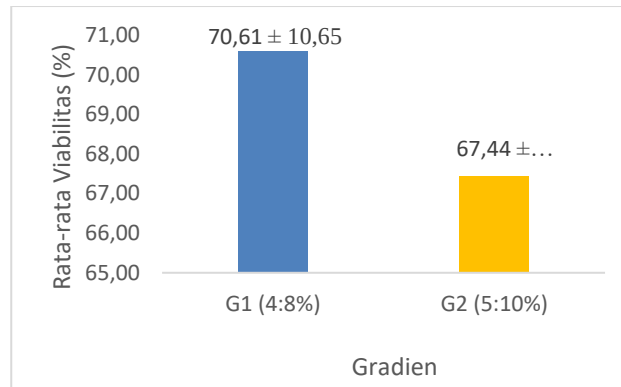
Berdasarkan hasil uji lanjut beda nyata jujur (BNJ) didapatkan bahwa terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) sehingga abnormalitas t1 (9,92%) dan t2 (10,00%) berbeda nyata dengan t3 (11,83%). Inkubasi dengan waktu 60 menit memiliki persentase abnormalitas tertinggi yaitu $11,83 \pm 3,54\%$. Menurut Nalley dan Arifiantini (2013) menyatakan bahwa tingginya abnormalitas disebabkan karena terlalu lama waktu yang digunakan sehingga dapat merubah tekanan osmotik medium separasi seks yang mengakibatkan kerusakan pada spermatozoa. tekanan osmotik medium separasi seks yang mengakibatkan kerusakan pada spermatozoa. Hal yang sama Salisbury dan Denmark (1985) memperkuat bahwa

perubahan tekanan osmotik pada spermatozoa dapat mengakibatkan perubahan dalam pembentukan spermatozoa yang menyebabkan abnormalitas.

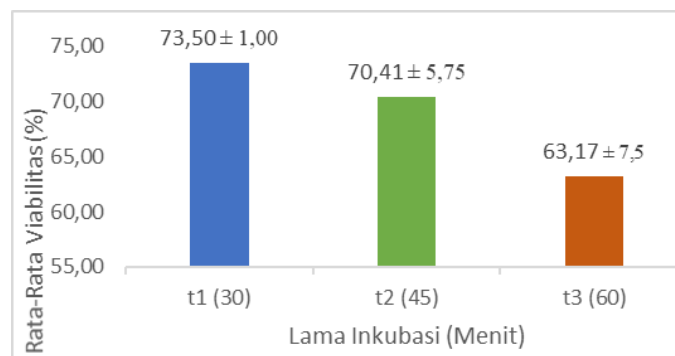
Konsentrasi Spermatozoa Y pasca separasi seks

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perbedaan gradien BSA berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap konsentrasi spermatozoa Y domba sakub. Faktor lama inkubasi tidak memberikan pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap konsentrasi spermatozoa Y dan tidak terdapat interaksi dengan gradien. Berdasarkan hasil analisis, gradien BSA g2 (5 : 10 %) memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap konsentrasi spermatozoa Y.

Berdasarkan grafik pada Gambar 5, rata-rata konsentrasi tertinggi terdapat pada gradien g2 (5 : 10 %) yaitu sebanyak $1196,67 \pm 243,45 \times 10^6$, sedangkan g1 (4 : 8 %) lebih rendah yaitu sebesar $995,56 \pm 430,99 \times 10^6$. Berdasarkan grafik pada Gambar 5, rata-rata konsentrasi spermatozoa Y tertinggi terdapat pada gradien g2 (5 : 10 %) yaitu sebanyak



Gambar 7. Grafik Gradien Terhadap Viabilitas Spermatozoa Y



Gambar 6. Grafik Viabilitas Spermatozoa Berdasarkan Lama Inkubasi

1196,67 ± 243,45 x 106, sedangkan g1 (4 : 8 %) lebih rendah yaitu sebesar 995,56 ± 430,99 x 106. Menurut Afiati (2004) dan Kaiin et al. (2017), bahwa gradien 10% memiliki densitas lebih tinggi, viskositas lebih besar, dan tekanan osmotik lebih kuat dibandingkan BSA 8%, sehingga spermatozoa Y lebih mudah menembus gradien konsentrasi tinggi, sedangkan spermatozoa X lebih banyak tertahan pada gradien konsentrasi rendah.

Berdasarkan Gambar 6, meskipun secara statistik tidak berbeda, namun secara nilai t2 menunjukkan konsentrasi spermatozoa Y yang lebih besar dari t1 dan t3. Nilai menunjukkan kenaikan antara t1 dan t2 sebesar 12,5 %, sedangkan t2 dan t3 sebesar 20,5%.

BSA pada level g2 menghasilkan konsentrasi spermatozoa yang lebih tinggi dari g-1 dapat disebabkan oleh konsentrasi media BSA yang lebih tinggi. Menurut Sudarma (2014), konsentrasi spermatozoa Y dapat berkurang karena bercampur dengan spermatozoa X, tetapi semakin tinggi konsentrasi medium pemisah maka akan

membuat spermatozoa sulit untuk menembus. Hal tersebut yang menyebabkan spermatozoa Y pada g2 lebih tinggi daripada g1, karena pada g1 dengan konsentrasi BSA lapisan yang tinggi akan membuat spermatozoa X lebih sulit untuk bergerak sehingga spermatozoa Y dengan kemampuannya bergerak dengan cepat akan menembus pada lapisan bawah.

Viabilitas Spermatozoa Y pasca separasi seks

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa lama inkubasi memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap viabilitas spermatozoa Y. Perbedaan konsentrasi gradien BSA tidak menunjukkan adanya pengaruh terhadap viabilitas ($P > 0,05$). Hasil tersebut berbeda dari penelitian Rasad et al. (2021) bahwa dalam penelitiannya, gradien berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa dengan hasil terbaik pada gradien 5 : 10 %. Gradien BSA tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas spermatozoa. Namun, berdasarkan Gambar 7, meskipun secara statistik tidak berbeda, namun secara nilai g1

menunjukkan persentase viabilitas lebih besar dari g2 dengan kenaikan 4,7 %.

Berdasarkan uji lanjut BNJ, t1 dan t2 tidak berbeda nyata dalam hal viabilitas, namun berbeda sangat nyata dengan t3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu 30 dan 45 menit merupakan waktu yang optimal untuk mendapatkan viabilitas yang tinggi. Hasil tersebut sesuai dengan Solihati et al. (2019), dalam penelitiannya waktu inkubasi 45 menit menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan waktu 60 menit.

Berdasarkan Gambar 8 viabilitas tertinggi terdapat pada lama inkubasi t1 ($73,5 \pm 1,00$ %), lalu urutan kedua adalah t2 ($70,41 \pm 5,75$ %), paling rendah terdapat pada t3 ($63,16 \pm 7,5$ %). Grafik tersebut menunjukkan bahwa waktu inkubasi yang terlalu lama dapat menyebabkan penurunan persentase viabilitas. Waktu inkubasi yang terlalu lama dapat meningkatkan kematian spermatozoa yang disebabkan oleh stress oksidatif. Kualitas dari media BSA dalam waktu inkubasi yang terlalu lama juga dapat menjadi penyebab menurunnya viabilitas spermatozoa. Rasad et al. (2020) menyatakan bahwa selama inkubasi terbentuk asam laktat dari metabolisme spermatozoa dan menurunkan pH sehingga menurunkan viabilitas.

KESIMPULAN

Disimpulkan bahwa tidak ada interaksi antara gradien BSA dengan lama inkubasi terhadap kualitas spermatozoa Y. Secara keseluruhan tingkat Gradien larutan BSA (g) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap motilitas, abnormalitas, dan viabilitas spermatozoa Y, namun tingkat gradien medium BSA 5:10% menghasilkan konsentrasi spermatozoa Y tertinggi. Lama inkubasi 30 menit berpengaruh terhadap motilitas, abnormalitas, dan viabilitas spermatozoa Y, namun tidak berpengaruh terhadap konsentrasi spermatozoa Y. Kualitas spermatozoa Y hasil separasi seks memenuhi standar untuk digunakan inseminasi buatan (IB). Disarankan untuk memperoleh kualitas

spermatozoa Y hasil separasi seks sebaiknya menggunakan konsentrasi medium BSA 5:10% dan lama inkubasi 30 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, L. A. Z., R. Setiawan, dan N. Solihati. 2024. Motilitas Total Sperma Domba Hasil Separasi Menggunakan Resiquimod pada Penyimpanan Suhu 5°C. *Jurnal Produksi Ternak Terapan* 5(2): 65-71.
- Afiati, F., 2004. Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y Hasil Separasi Kolom Albumin Media Peternakan, Vol. 27, No. 1 hlm. 16–20.
- Anwar, A., N. Solihati, dan S. D. Rasad. 2019. Pengaruh Medium dan Lama Inkubasi dalam Proses Sexing Sperma Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran* 19(1): 53-61.
- Blegur, J., W. M. Nalley, dan T. M. Hine. 2020. Pengaruh Penambahan Virgin Coconut Oil Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Selama Preservasi. *Jurnal Nukleus Peternakan* 7(2):130-138.
- Cahyadi, T. R. T. 2016. Persentase Hidup dan Abnormalitas Sel Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawah (PE) dengan Pakan yang Disuplementasi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Animal Agriculture Journal* 5(4):23-32.
- Chumairoh, Z. 2023. Analisis Kualitas Spermatozoa Segar pada Sapi Limousin (*Bos taurus*) Terhadap Berbagai Variasi Jumlah False Mounting di BBIB Singosari.
- Diliyana, Y. F., T. Susilawati, dan S. Rahayu. 2014. Keutuhan membran spermatozoa disekuensing sentrifugasi gradien densitas percoll berpenger andromed dan CEP-2 yang ditambahkan kuning telur. *Jurnal Veteriner* 15(1):23-30.
- Ditjen, P. K. H. 2023. Buku Statistik Peternakan

- dan Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian, Jakarta.
- Fraser, L., J. Strzeżek, dan W. Kordan. 2014. Karakteristik Sperma Pasca Pencairan Setelah Penyimpanan Semen Babi dalam Jangka Panjang dalam Nitrogen Cair. *Ilmu Reproduksi Hewan* 147(3): 119–127.
- Hafez, E. S. E., dan B. Hafez. 2000. *Reproduction in farm animals*. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.
- Herdis, H. I., dan I. W. A. Darmawan. 2012. Pengaruh Maltose sebagai Krioprotektan Ekstraseluler dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku Guna Mendukung Keberhasilan Teknologi Inseminasi Buatan. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia* 14(3):197-202.
- Kaiin, E. M., M. Gunawan, S. Octaviana, S. Nuswantara, 2017. Verifikasi molekuler metode sexing sperma sapi dengan kolom BSA (Bovine Serum Albumin). *Prosiding (seminar nasional)* hlm. 241–245.
- Kementerian Pertanian. 2022. Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 882/KPTS/PK010/M/12/2022 tanggal 7 Desember Tentang Penetapan Rumpun Domba Sakub.
- Manehat, F. X., A. A. Dethran, and P. K. Tahuk. 2021. Motility, Viability, Spermatozoa Abnormality, and pH of Bali Cattle Semen In Another-Yellow Water Driller Stored In a Different Time. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 3(2):76–90.
- Nahriyanti, S. I. T. I., Y. S. Ondho, dan D. Samsudewa. 2017. Perbedaan Kualitas Makroskopis Semen Segar Domba Batur dalam Flock Mating dan Pen Mating. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 12(2):191-198.
- Nalley, W.M.M., and R. I. Arifiantini. 2013. The hypo osmotic swelling test in fresh Garut ram spermatozoa. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. Volume 38, Issue 4, pp. 212–216.
- Nubatonis, A., T. I. Purwantiningsih, Y. Oki, dan B. Doarce. 2022. Evaluasi Spermatozoa Domba Jantan Berekor Tipis yang Digembalakan di Lahan Kering. *Jurnal Peternakan Indonesia* 24(1): 55-65.
- Pitanlakor, B. M., H. Jesajas, dan P. R. Matitaputty. 2024. Produktivitas Induk dalam Usaha Ternak Kambing Lakor pada Kondisi Pedesaan di Pulau Lakor Kabupaten Maluku Barat Daya. *Jurnal Agroteknologi Pertanian dan Publikasi Riset Ilmiah* 6(1):01-11.
- Rasad, S. D., N. Solihati, K. Winangun, A. Yusrina, and F. Avicenna. 2020. Effect of Incubation Time During Sperm Sexing Process on Sperm Quality of Pasundan Bull. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 25(3):12-119.
- Rasad, S. D., N. Solihati., and K. Winangun. 2021. The quality of Etawah Crossbreed Sperm After Sexing with Different Combination of Bovine Serum Albumin Concentrations. *Animal Reproduction and Artificial Reproduction Laboratory, The Faculty of Animal Husbandry, Universitas Padjadjaran*.
- Rizal, M., N. Herdis, dan M. Riyadhi. 2015. Kriopreservasi Semen Domba Garut dengan Pengencer Tris yang Disuplementasi Ethylene Diamine Tetraacetic Acid. *Jurnal Veteriner Juni* 16(2):249-255.
- Salisbury, G.W. dan N. L. V. Denmark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Savitri, O.A., T.Y. Laswardi, D. Sajuthi dan R.A. Iis. 2014. Kualitas semen cair kambing peranakan Etawah dalam modifikasi pengencer Tris dengan Trehalosa dan Rafinosa. *Jurnal Veteriner*. 15 (1):11- 22

- Solihati, N., S. D. Rasad, A. Yusrina, dan Y. I. Dimiyati. 2017. Identifikasi Morfometrik Sperma Domba Lokal Sebagai Dasar Aplikasi Sexing Sperma. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran* 17(2): 109-113.
- Sudarma, I. M. A., W. M. Nalley, H. L. Belli, dan A. Marawali. 2014. Separasi Spermatozoa X dan Y Menggunakan Level Albumin yang Berbeda Sebagai Media Pemisah Spermatozoa Babi. *Jurnal Nukleus Peternakan* 1(1):37-43.
- Sumaryadi, M. Y., D. M. Saleh, B. Haryanto., D. Herdiansah, S. Sudrajat, dan C.A. Yasin. 2010. Kajian Aspek Reproduksi dan Estimasi Ekonomi pada Ternak Sapi yang di Inovasi Teknologi Reproduksi. *Jurnal Agripet* 10(1): 1-6.
- Toelihere, M. R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa, Bandung
- Yusrina, A., N. Solihati, dan N. Hilmia. 2018. Pengaruh Waktu Inkubasi pada Proses Sexing Sperma Berbasis Glutathione terhadap Motilitas dan Membran Plasma Utuh Chilled Semen Domba Lokal. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran* 18(1):41-46.