

Pengaruh Durasi Waktu Pada Sexing Spermatozoa Sapi Bali Terhadap Kualitas Dan Efektivitas Sexing Spermatozoa Dengan Menggunakan Alat *Electric Separating Sperm* (ESS)

(THE EFFECT OF DURATION ON SEXING SPERMATOZOA BALI CATTLE ON QUALITY AND EFFECTIVENESS SEXING SPERMATOZOA USED ELECTRIC SEPARATION SPERM (ESS))

Lukman Ashari^{1*}, Imam Mustofa², Maya Nurwartanti Yunita³, Trilas Sardjito², Amung Logam Saputro⁴, Ragil Angga Prastiya²

¹Bachelor of Veterinary Medicine,

²Department of Veterinary Reproduction,

³Department of Veterinary Microbiology,

⁴Department of Clinic and Animal Hospital,

Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga,

UNAIR C-Campus Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115

Telp. (031)5993016, Fax. (031)5993015

*Corresponding author: lukman.ashari-2014@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan kualitas (viabilitas, motilitas dan abnormalitas) spermatozoa Sapi jantan Bali hasil sexing menggunakan alat ESS yang dialiri listrik selama lima menit dan sepuluh menit pada sisi anoda dan katoda dan mengetahui perbedaan efektivitas pemisahan spermatozoa Sapi Bali hasil sexing menggunakan alat ESS yang dialiri listrik selama lima menit dan sepuluh menit pada sisi anoda dan katoda. Penelitian ini menggunakan Sapi Bali yang berumur 4 tahun sampai 7 tahun dengan motilitas di atas 45% dan di bawah 60%. Penelitian ini menggunakan diluter tris kuning telur. Sexing spermatozoa menggunakan alat ESS yang dialiri listrik dengan durasi 5 menit dan 10 menit pada masing-masing anoda dan katoda. Hasil penelitian ini menunjukkan kualitas (viabilitas, motilitas dan abnormalitas) mengalami penurunan. Kualitas terbaik pada sexing spermatozoa terdapat pada durasi lima menit. Efektivitas pemisahan spermatozoa yang paling baik yaitu pada durasi sepuluh menit pada sisi katoda spermatozoa X sebesar $62,17 \pm 0,240\%$ dan pada sisi anoda spermatozoa Y sebesar $67,33 \pm 1,03\%$.

Kata kunci: sexing spermatozoa, *Electric Separating Sperm*, Sapi Bali, electrophoresis

Abstract

The aim of this research was to know the differences of quality (viability, motility and abnormality) spermatozoa Bali bulls result of sexing used ESS which powered by electricity for five minutes and ten minutes on anode and cathode side and know the differences effectiveness of sexing spermatozoa Bali bulls which powered by electricity for five minutes and ten minutes on the side of anode and cathode. This study used Bali bulls aged 4 to 7 years old with motility above 45% and below 60%. This research used eggs yolk tris dilution. Sexing spermatozoa used ESS which powered by electricity for five minutes and ten minutes on anode and cathode side. The results of this study showed quality (viability, motility, and abnormality) decreased. The best quality of sexing spermatozoa on five minutes duration. The best effectiveness of sexing spermatozoa on the ten minute duration X sperm on cathode side $62,17 \pm 0,240\%$ and Y sperm on anode side $67,33 \pm 1,03\%$.

Key words: sexing spermatozoa, *Electric Separating Sperm*, Bali cattle, electrophoresis

PENDAHULUAN

Sapi Bali merupakan plasma nutfah sapi lokal Indonesia yang sudah tersebar hampir seluruh provinsi di Indonesia dan mempunyai

perkembangan cukup pesat karena mempunyai keunggulan yaitu mempunyai daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan buruk dan mempunyai fertilitas yang baik yaitu 83% sehingga dapat digunakan untuk usaha sapi potong (Guntoro,

2002). Sapi potong di Indonesia agar dapat mengimbangi permintaan dalam negeri sehingga perlu dilestarikan kemurniannya dan dikembangkan produktivitasnya dengan menggunakan penerapan bioteknologi reproduksi. Penerapan bioteknologi reproduksi pada sapi yang digunakan adalah teknologi sexing spermatozoa (Rodiah dkk., 2015).

Teknologi sexing spermatozoa telah berhasil memisahkan spermatozoa berkromosom X pada sapi perah yang digunakan untuk memperoleh sapi pedet betina (Taylor, 2005). Pemisahan spermatozoa berkromosom Y digunakan pada sapi potong untuk memperoleh sapi pedet jantan (Said dkk., 2005). Salah satu alat teknologi sexing yaitu menggunakan alat *Electric Separating Sperm* (ESS) yang mempunyai kelebihan yaitu lebih murah, cepat, mudah dalam melakukan sexing spermatozoa. ESS bekerja pada tegangan listrik rendah yaitu 1.5 Volt. Alat ini mampu memisahkan kromosom X dan Y pada spermatozoa dalam waktu yang relatif singkat pada domba Merino (Saputro, 2012).

Upaya memodifikasi sexing spermatozoa terus dilakukan untuk mendapatkan kualitas dan kuantitas spermatozoa yang memenuhi syarat untuk digunakan pada program IB. Durasi waktu sexing yang tepat diprediksi akan dapat memberikan hasil sexing yang optimal (Sunarti dkk., 2016).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan kualitas (viabilitas, motilitas dan abnormalitas) spermatozoa Sapi jantan Bali hasil sexing menggunakan alat ESS yang dialiri listrik selama lima menit dan sepuluh menit pada sisi anoda dan katoda dan mengetahui perbedaan efektivitas pemisahan spermatozoa Sapi Bali hasil sexing menggunakan alat ESS yang dialiri listrik selama lima menit dan sepuluh menit pada sisi anoda dan katoda.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Malang dan pemeriksaan morfometri di Laboratorium Patologi UNAIR Surabaya pada bulan Januari dan Februari 2018. Penelitian ini menggunakan

tiga ekor sapi Bali di BBIB Singosari yang berumur 4-7 tahun. Penelitian ini menggunakan semen segar Sapi yang berada di BBIB (Balai Besar Inseminasi Buatan) Singosari. Semen yang digunakan adalah semen yang mempunyai motilitas 45% ke atas.

Semen sapi Bali diambil menggunakan vagina buatan 2 kali dalam seminggu lalu diperiksa kelayakannya, setelah itu sampel spermatozoa siap untuk di separasi menggunakan alat *Electric Separating Sperm* (ESS). Pemeriksaan semen meliputi pemeriksaan makrokopis dan mikrokopis. Pemeriksaan makrokopis meliputi pemeriksaan volume, warna, pH dan konsistensi. Pemeriksaan mikroskopis meliputi konsentrasi, motilitas, viabilitas, abnormalitas dan morfometri luas kepala spermatozoa.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap yaitu faktor yang mempengaruhi uji hanya berasal dari satu faktor saja yaitu durasi waktu yang berbeda (Al-Arif, 2016). Penelitian ini menggunakan 6 ulangan dan hasil penelitian di uji menggunakan ANOVA. Berikut masing-masing perlakuan: (P0) Semen sapi diberikan diluter tris kuning telur tanpa disexing; (P1) Semen sapi diberikan diluter tris kuning telur selanjutnya disexing menggunakan alat ESS dengan tegangan 1,5 volt selama 5 menit; (P2) Semen sapi diberikan diluter tris kuning telur selanjutnya disexing menggunakan alat ESS dengan tegangan 1,5 volt selama 10 menit.

Pemeriksaan motilitas massa dilakukan dengan cara melihat dibawah mikroskop cahaya pembesaran 10x10 tanpa ditutup dengan cover glass. Kriteria penilaian motilitas massa dapat dilakukan dengan melihat aktivitas gerakan massa berupa gelombang dimana cepat berpindah mendapat nilai +++, sedang mendapat nilai ++ dan kurang dengan nilai + (Tambing, dkk., 2003; Pamungkas, dkk., 2008).

Penilaian motilitas individu spermatozoa dilakukan dengan cara menempatkan satu tetes spermatozoa pada object glass yang ditutup dengan cover glass dan diamati dibawah mikroskop pembesaran 400x. Pengamatan dilakukan secara subjektif terhadap spermatozoa yang bergerak progresif dengan angka yang

diberikan berkisar antara 0 hingga 100% (Rizal, 2005).

$$\% \text{ motilitas} = \frac{\text{spermatozoa bergerak progresif}}{\text{spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

Pemeriksaan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan preparat ulas eosin-negrosin. Cara kerjanya adalah semen ditetaskan pada *object glass* menggunakan ose. Kemudian eosin-negrosin ditetaskan menggunakan ose lain dan dicampurkan dengan semen yang sudah ditetaskan di atas *object glass* sebelumnya. Campuran semen dengan eosin-negrosin dibuat olesan dengan ujung *object glass* yang lain hingga terbentuk olesan sepanjang permukaan *object glass*. Kemudian preparat ulas dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Spermatozoa yang masih hidup tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa yang sudah mati menyerap warna dan berwarna merah. Persentase spermatozoa hidup dapat dihitung menggunakan rumus persentase spermatozoa hidup sama dengan jumlah spermatozoa hidup dibagi spermatozoa yang diamati dikali 100 persen (Ducha, dkk., 2013 ; Varasofiari, dkk., 2013).

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

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa adalah hasil ulasan eosin-negrosin untuk pemeriksaan viabilitas, kemudian dilanjutkan pengamatan dibawah mikroskop cahaya pembesaran 400x (Susilawati, 2016). Persentase abnormalitas spermatozoa dapat dihitung menggunakan rumus abnormalitas spermatozoa

sama dengan spermatozoa abnormal dibagi spermatozoa yang diamati dikali 100 persen (Ridwan, 2009).

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

Pemeriksaan morfometri menggunakan mikroskop NISS Element dengan pembesaran 1000x. cara pilih ikon area dan block area kepala spermatozoa sehingga menghasilkan luas kepala. Luas kepala spermatozoa yang lebih besar dari rata-rata luas kepala spermatozoa adalah spermatozoa berkromosom X dan luas kepala spermatozoa lebih kecil dari rata-rata spermatozoa adalah spermatozoa berkromosom Y (Garner and Hafez, 2008).

$$\% \text{ spermatozoa X} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa X}}{100} \times 100\%$$

$$\% \text{ spermatozoa Y} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa Y}}{100} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Volume pada semen segar Sapi Bali yang digunakan dalam penelitian ini termasuk mendekati normal karena volume semen segar sapi yang normal yaitu 5-8 ml (Toelihere, 1985). Volume semen segar Sapi Bali dalam penelitian ini adalah 4,95±1,36 ml (Tabel 1). Pemeriksaan makroskopis semen segar menunjukkan pH 6,6±0,27 dengan warna putih kekuningan. Rata-rata semen segar sapi normal memiliki pH 6,4-7,8 dengan warna putih kekuningan (Garner and Hafez, 2008).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan semen segar Sapi Bali

Parameter	Nilai±SD
Volume (ml)	4,95±1,36
Warna	Putih kekuningan
pH	6,6±0,27
Motilitas (%)	48,33±2,58 / 2-3
Konsentrasi (10 ⁶ /ml)	1001,33±148,59

Tabel 2. Motilitas, viabilitas, abnormalitas spermatozoa pada sisi katoda dan anoda setelah sexing

Parameter	Kontrol	5 menit		10 menit	
		Katoda	Anoda	Katoda	Anoda
Motilitas(%)	46,67 ^a ±2,58	44,16 ^{ab} ±2,04	42,5 ^b ±2,73	41,66 ^b ±2,58	38,33 ^c ±2,58
Viabilitas(%)	66,9 ^a ±1,41	63,08 ^b ±2,66	59,31 ^c ±1,43	58,41 ^{cd} ±2,88	55,67 ^d ±2,96
Abnormalitas(%)	4,8 ^a ±0,92	7,98 ^b ±1,51	8,61 ^b ±1,45	10,45 ^c ±1,10	10,53 ^c ±2,96

Tabel 3. Sexing spermatozoa kromosom X dan Y pada kontrol dan kedua sisi anoda dan katoda

Parameter	Kontrol	5 menit		10 menit	
		Katoda	Anoda	Katoda	Anoda
Spermatozoa Y (%)	51 ^a ±1,50	44,17 ^a ±2,04	56,83 ^a ±2,06	37,83 ^a ±0,40	67,33 ^a ±1,03
Spermatozoa X (%)	49 ^a ±1,50	55,83 ^b ±2,04	43,17 ^b ±2,06	62,17 ^b ±0,240	32,67 ^b ±1,03
Jumlah (%)	100	100	100	100	100

Motilitas semen segar yang dipakai dalam proses semen beku di BBIB Singosari yaitu di atas 60% dan minimal mempunyai kecepatan massa +2. Penelitian ini menggunakan semen sapi Bali di BBIB Singosari minimal mempunyai motilitas 45%. Motilitas semen segar Sapi Bali di penelitian ini sebesar 48,33±2,58% dengan kecepatan +2-+3. Hasil pemeriksaan konsentrasi semen pada sapi Bali yaitu 1001,33±148,59 x 10⁶/ml. Konsentrasi semen sapi yang normal berkisar antara 800×10⁶-2000×10⁶/ml (Garner and Hafez, 2008).

Hasil pemeriksaan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen hasil sexing pada motilitas dan viabilitas mengalami penurunan sedangkan pada abnormalitas mengalami peningkatan. Hasil pemeriksaan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen hasil sexing pada durasi lima menit hasilnya lebih baik dibanding hasil sexing pada durasi waktu sepuluh menit (tabel 2). Motilitas spermatozoa pada penelitian ini mengalami penurunan kualitas hal ini sama dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Prastiya dkk tahun (2014).

Hasil pemeriksaan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen hasil sexing pada motilitas dan viabilitas mengalami penurunan sedangkan pada abnormalitas mengalami peningkatan. Hasil pemeriksaan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas semen hasil sexing pada durasi lima menit hasilnya lebih baik dibanding hasil sexing pada durasi sepuluh menit. Hasil tersebut dikarenakan adanya tarikan spermatozoa dari sisi anoda dan katoda. Spermatozoa yang berkromosom Y akan tertarik ke sisi anoda sedangkan spermatozoa yang berkromosom X akan tertarik ke sisi katoda (Garner and Hafez, 2008).

Hasil perhitungan statistik (tabel 3) menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata pada kontrol ($p < 0,05$) sedangkan pada perlakuan

menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$). Menurut hafs and boyd tahun 1986 yaitu pergerakan spermatozoa dengan menggunakan aliran listrik pada larutan ion lemah ditemukan 2 tipe spermatozoa yaitu tipe kepala anoda spermatozoa bergerak menuju anoda sedangkan tipe ekor katoda bergerak menuju sisi katoda. Spermatozoa yang tertarik ke sisi anoda diduga memiliki kromosom Y sedangkan spermatozoa yang tertarik ke sisi katoda diduga memiliki kromosom X (Shirai et al., 1989).

Penelitian sebelumnya dilakukan Hafs and Boyd pada tahun 1986 dengan menggunakan electrophoresis yang dialiri listrik sebesar 8 Volt dan 21 Volt selama satu menit pada sapi. Hasil penelitiannya menunjukkan berhasil memisahkan 55% pada sisi anoda. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penelitian ini jauh lebih baik daripada penelitian sebelumnya yaitu pada sisi anoda dengan durasi sepuluh menit sebesar 67,33% dengan dialiri listrik 1,5 Volt pada sisi anoda dan katoda..

Persentase efektivitas pada anoda yang di sexing selama sepuluh menit lebih tinggi yaitu sebesar 67,33±1,03% dibanding katoda yang di sexing selama sepuluh menit yaitu sebesar 62,17±0,24%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada sisi anoda jauh lebih baik dibanding pada sisi katoda. Hasil ini menunjukkan bahwa durasi waktu dalam proses sexing sangat mempengaruhi hasil kualitas sexing, dengan durasi waktu yang tepat akan dapat memberikan hasil kualitas sexing yang optimal (Sunarti dkk., 2016).

KESIMPULAN

Kualitas sexing spermatozoa terbaik menggunakan alat ESS adalah pada durasi lima menit, sedangkan efektivitas sexing spermatozoa terbaik pada durasi sepuluh menit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Inseminasi Buatan di Singosari atas izin yang diberikan untuk melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ducha, N., Susilawati, T., Aulanni'am, Wahjuningsih, S. 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Refrigerator dalam Pengencer Cep-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 7(1), 5-8.
- Garner, D.L., Hafez, E.S.E. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animal*. Edited By Hafez, E. S. E., and B. Hafez 7th Edition. Blackwell Publishing. USA: p96-108.
- Guntoro, S. 2002. *Membudidayakan Sapi Bali*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Hafs, H.D., Boyd, L.D. 1986. Galvanic separation of X and Y Chromosome Bearing Spermatozoa. In SE Hafez (ed). *Reproduction in Farm Animals 5th edition*, By Lea and Febiger. Philadelphia. p498-500.
- Pamungkas, F.A., Mahmilia, F., Elieser, S. 2008. Perbandingan Karakteristik Semen Kambing Boer dengan Kacang. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2008*.
- Prastiya, R.A., Saputro, A.L., Zainab, S., Hermadi, H.A. 2014. Perbandingan Kualitas Spermatozoa Hasil Pemisahan Kromosom X dan Y Antara Metode Kolom Albumin dan Metode Electric Separating Sperm (ESS) pada Domba Ekor Gemuk. *Veterinaria Medika*. Surabaya.
- Ridwan. 2009. Pengaruh Pengencer Semen terhadap Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Kambing Lokal pada Penyimpanan Suhu 5°C. *J. Agroland*, 16(2), 187-192.
- Rizal, M., Herdis. 2010. *Inseminasi Buatan pada domba*. Penerbit Rineika Cipta. Jakarta.
- Rodiah, E. Yuliani, A.S., Dradjat, C., Arman. 2015. Efektifitas Kinerja Pentoksifilin Terhadap Kualitas dan Integritas Membran Plasma Utuh pada Sperma Sapi Bali Hasil Pemisahan dengan Menggunakan Albumin. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertenakan Indonesia*, 1(1), 60-65.
- Said, S., Kaiin, E.M., Tappa, B. 2005. Produksi anak sapi potong dan sapi perah berjenis kelamin sesuai harapan. *Prosiding Seminar Nasional Industri Peternakan Modern II*. Puslit Bioteknologi LIPI, Mataram.
- Saputro, A.L. 2012. Kualitas Spermatozoa Domba Merino Pada Sisi Anoda Hasil Pemisahan Dengan Teknis Anoda. *Universitas Airlangga*. Surabaya.
- Shirai, M., Matsuda, M.S., Mitsuhawa. 1989. Electrophoresis separation of X and Y chromosome bearing sperm in human sperm. Dalam N. Isnaini. 1994. Pemisahan spermatozoa X dan Y pada sapi FH dengan sentrifugasi. p121-129.
- Sunarti, Saili, T., Nafiu, L.O. 2016. Karakteristik Spermatozoa Sapi Bali Setelah Sexing Menggunakan Metode Kolom Albumin Dengan Lama Waktu Sexing Yang Berbeda. *Pertenakan UHO. JITRO*, 1(1).
- Tambing, S.N., Toelihere, M.R., Yusuf, T.L., Bambang, P., Utama, I.K., Polmer, Z.S. 2003. Pengaruh Frekuensi Ejakulasi Terhadap Karakteristik Semen Segar dan Kemampuan Libido Kambing Saanen. *J. Sain Vet.*, 21(2), 57-65.
- Taylor, T.M. 2005. Comparing Calf Sex Ratio and Semen Sex Ratio Determined by Conventional PCR. [Thesis]. The

Interdepartmental Program In Animal and Dairy Sciences. Southern Arkansas University, Arkansas.

Varasofiari, L.N., Setiatin, E.T., Sutopo. 2013. Evaluasi Kualitas Semen Segar Sapi Jawa Brebes Berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan. *Animal Agriculture Journal*, 2 (1), 201-208.
