

# KUALITAS DAN FERTILITAS SPERMATOZOA SAPI BALI HASIL SEXING DENGAN MENGGUNAKAN METODE SWIM-DOWN

Febiang Lopulalan<sup>1</sup>, Takdir Sali<sup>2</sup>, La Ode Baa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Alumnus Program Studi Peternakan Prgram Pascasarjana UHO

<sup>2</sup>Dosen Program Studi Peternakan Prgram Pascasarjana UHO

Email : Takdir69@yahoo.com

## ABSTRAK

Metode sexing spermatozoa telah banyak digunakan dalam upaya memproduksi anak ternak sapi dengan jenis kelamin yang bisa dikendalikan. Pada penelitian ini telah dilakukan kajian tentang kualitas dan fertilitas spermatozoa setelah *sexing* menggunakan metode *swim down*. Semen yang didapat berasal dari pejantan milik UPTD Balai Perbibitan dan Pakan Ternak Provinsi Sulawesi Tenggara. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 3 perlakuan dengan 6 kali ulangan. Perlakuan adalah lama waktu *sexing* P1 (10 menit), P2 (20 menit), P3 (30 menit) dan ulangannya adalah 6 kali penampungan. Media *sexing* yang digunakan adalah Tris-Kuning Telur. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama waktu *sexing* berpengaruh nyata terhadap konsentrasi spermatozoa, persentase motilitas spermatozoa dan *Post Thawing Motility* (PTM) spermatozoa hasil *sexing* yang telah dibekukan. Persentase *Non Return Rate* (NRR) 21 hari setelah inseminasi pada 120 ekor sapi betina menunjukkan persentase kebuntingan berkisar antara 77,5% - 87,5%. Kesimpulan penelitian ini adalah kualitas spermatozoa hasil *sexing* dan motilitas spermatozoa hasil *sexing* yang dibekukan masih baik dan memenuhi syarat untuk digunakan pada inseminasi buatan. Fertilitas spermatozoa hasil *sexing* yang dibekukan masih mampu menghasilkan angka kebuntingan yang tinggi berdasarkan nilai *Non Return Rate*.

**Kata kunci:** Spermatozoa, sapi bali, *sexing*, swim down

## ABSTRACT

Sperm sexing has been used widely in an attempt to produce the desired sex of calf. In this research, study on quality and fertility of bali bull following sexing using swin down method. Semen was taken from bali bull raised in UPTD Balai Perbibitan dan Pakan Ternak South-east Sulawesi Province. Completely Randomized Design was applied in this research with here treatment and six replications. The treatment was sexing period consisted of 10 minute (P1), 20 minute (P2) and 30 minute (P3). Sexing media used was Tris-Egg Yolk media. The results showed that the treatments had significant effect on sperm concentration, sperm motility after sexing and post thawing motility. Non return rate of 120 inseminated cow using sexed-thawed sperm ranged between 77.5% - 87.5%. It was concluded that quality of sexed sperm and post thawing motility of sexed sperm were still met the requirement for artificial insemination. The sexed-thawed sperm of bali bull still had high fertilizing ability based on the Non Return Rate results.

**Keywords:** Spermatozoa, bali bull, *sexing*, swim down

## PENDAHULUAN

Teknologi reproduksi yang ditujukan untuk meningkatkan produktivitas ternak ada beberapa macam, antara lain Insmeinasi Buatan (IB), Embrio Transfer (ET) dan In Vitro Fertilisasi (IVF). Keberhasilan penerapan teknologi reproduksi tersebut di lapangan sangat bervariasi dan sangat tergantung dari peruntukannya. Namun demikian, penerapan teknologi IB di lapangan sudah sangat luas. Pada awalnya, teknologi IB hanya diaplikasikan pada ternak sapi perah karena umumnya ternak sapi perah dipelihara secara intensif sehingga memudahkan untuk pengamatan berahinya. Seiring dengan perkembangan teknologi sinkronisasi dan keinginan peningkatan produktivitas ternak sapi lokal di masyarakat, maka teknologi IB juga sudah banyak diaplikasikan pada ternak sapi potong. Sapi induk dapat dikawinkan baik secara alam (menggunakan penjantan) maupun melalui penggunaan teknologi IB. Pada wilayah yang basis sistem pemeliharaan sapi masih bersifat ekstensif, ketersediaan sapi jantan menjadi kunci keberhasilan program ini. Pada sisi lain, penjualan sapi jantan masih cukup banyak dilakukan masyarakat karena mempunyai nilai ekonomi yang lebih tinggi dibanding ternak sapi betina. Oleh karena itu, perlu diterapkan sistem manajemen perkawinan ternak agar lebih banyak jantan yang dilahirkan dalam suatu kebuntingan dibandingkan ternak sapi betina.

Upaya mengendalikan jenis kelamin anak ternak yang dilahirkan sudah banyak dilakukan dengan merekayasa sel spermatozoa sebelum digunakan untuk membuahi sel telur. Salah satu teknologi tersebut adalah *sexing* sperma, yaitu teknologi yang berupaya memisahkan spermatozoa Y dari X dengan menerapkan berbagai macam metode. Beberapa jenis 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. Metode *sexing* yang mudah diaplikasikan adalah separasi dengan albumin (Saili dkk., 2000). *Sexing* dengan metode kolom albumin didasarkan pada perbedaan motilitas antara spermatozoa X dan Y (Saili dkk., 2000; Saili dkk., 2006; Purwoistri, 2013).

Upaya memodifikasi metode pemisahan spermatozoa dilakukan untuk mendapatkan kualitas dan kuantitas sperma yang memenuhi syarat untuk digunakan pada program IB. Pada penelitian ini akan dilakukan modifikasi baik terhadap medium *sexing* maupun metode *sexing*. Medium *sexing* yang akan digunakan adalah medium Tris-Kuning Telur yang telah digunakan secara luas sebagai pengencer semen, sedangkan metode yang digunakan adalah metode *swim down*.

Metode *swim down* yaitu sperma dibiarkan berenang ke arah bawah tabung *sexing* Spermatozoa Y lebih cepat bergerak atau mempunyai daya penetrasi yang tinggi untuk masuk kesuatu larutan seperti pengencer Tris-kuning telur.

## MATERI DAN METODE

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis Daerah Balai Perbibitan dan Pakan Ternak Dinas Tanaman Pangan dan Peternakan Provinsi Sulawesi Tenggara di Desa Morome Kecamatan Konda Kabupaten Konawe Selatan Provinsi Sulawesi Tenggara. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2018.

### Materi Penelitian

Materi utama yang digunakan pada penelitian ini adalah semen/spermatozoa yang diperoleh dari sapi bali jantan dengan umur  $\pm 4$  tahun dan berat  $\pm 350$ kg. Medium Tris-Kuning Telur (Tris-KT) sebagai

medium *sexing* spermatozoa dan juga medium pengencer spermatozoa, vagina buatan, tabung reaksi, haemocytometer, water bath, mikroskop, alat pendingin dengan suhu 2-5<sup>0</sup>C, IB kit untuk keperluan inseminasi, dan lain-lain.

## **Prosedur Penelitian**

### **Penampungan Semen**

Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan vagina buatan yang terbuat dari rangkaian tabung karet yang berlubang pentil, karet *inner liner*, karet pengikat, corong karet, dan tabung penampung bersekala. Air panas (40-52<sup>0</sup>C) dimasukkan ke dalam vagina buatan melalui lubang pentil hingga mencapai setengah bagian, kemudian lubang pentil ditutup dan dipompa. Kekenyalan vagina buatan diukur dengan jari jika dirasakan cukup, karet bagian luar vagina buatan diberi pelicin hingga 1/3 bagian panjangnya. Semen yang tertampung segera dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis.

### **Pemisahan Spermatozoa**

Pada penelitian ini semen sapi yang ditampung (ejakulat) dicampurkan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga konsentrasi spermatozoa menjadi 200 juta sel per milliliter. Medium pengencer Tris-KT telah dipersiapkan pada tabung reaksi kemudian pada bagian atas dengan perlahan dimasukan larutan NaCl fisiologis yang telah dicampur dengan cairan spermatozoa, kemudian dibiarkan selama 10 menit, 20 menit dan 30 menit sesuai perlakuan pada suhu kamar. Fraksi semen bagian atas yaitu larutan NaCl fisiologis dan spermatozoa selanjutnya dipisahkan dari fraksi semen bagian bawah dengan menyedot masing-masing fraksi menggunakan pipet. Fraksi semen bagian bawah kemudian dievaluasi secara mikroskopis yang meliputi konsentrasi, viabilitas, motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa.

### **Pengenceran, Pengemasan dan Pembekuan Semen**

Semen yang memenuhi persyaratan kemudian diencerkan dengan konsentrasi 20x10<sup>6</sup> ( menggunakan pengencer tris-kuning telur. Proses *sexing* spermatozoa dengan menggunakan medium pengencer tris-kuning telur sekaligus tahap awal pengenceran pada suhu ruang. Tabung yang digunakan sebagai wadah *sexing* disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 2-5<sup>0</sup>C. Setelah 3 jam dibiarkan kemudian tabung yang berisi sperma hasil *sexing* dipisahkan antara endapan dan supernatan. Supernatan dibuang dan endapan spermatozoa digabung untuk dihitung konsentrasinya. Setelah diketahui konsentrasi spermatozoa tersebut ditambahkan pengencer tris-kuning telur + gliserol yang dibuat dengan total gliserol adalah 7% dari volume total pengenceran sperma pada suhu 2-5<sup>0</sup>C. Setelah itu dikemas dalam ministraw 0,25 ml.

### **Volume**

Setelah penampungan semen dilanjutkan pengukuran volume yang diejakulasikan oleh pejantan. Volume semen dapat dilihat melalui tabung pengumpul yang telah dilengkapi dengan garis volume.

### **Warna**

Warna pada semen dapat dievaluasi secara visual setelah penampungan, semen yang baik berwarna putih sampai krem.

### **Derajat Keasaman (pH)**

Derajat Keasaman (pH) diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar kemudian dilakukan pengukuran dengan alat pengukur pH elektrik. pH normal semen 6,4-7,8 (Garner dan Hafez, 2000). pH sangat menentukan status kehidupan spermatozoa di dalam semen.

Sedangkan evaluasi kualitas spermatozoa secara mikroskopis baik sebelum maupun sesudah *sexing* terdiri atas :

### **Konsentrasi**

Evaluasi terhadap konsentrasi dilakukan dengan menggunakan pipet *haemocytometer* dan kamar hitung Neubauer. Semen diisap sampai skala 0.5 kemudian ditambah dengan larutan NaCl 3% dan diisap sampai mencapai angka 1.01. Larutan dalam pipet digoyang-goyang membentuk angka delapan selama 2-3 menit agar larutan homogen, selanjutnya larutan tersebut dibuang beberapa tetes. Setelah itu semen diteteskan pada kamar hitung Neubauer yang ditutup dengan gelas penutup, kemudian diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Menghitung spermatozoa yang terdapat di dalam lima kotak dengan arah diagonal. Hasil perhitungan konsentrasi spermatozoa dalam jumlah kamar yang dihitung lima kotak dengan 80 ruangan

Konsentrasi semen di dalam setiap straw adalah  $25 \times 10^6$  sperma motil. Semen dibekukan dalam uap N<sub>2</sub> cair selama 9 menit dengan jarak antara permukaan N<sub>2</sub> cair dengan straw semen adalah  $\pm 2$  cm. Proses terakhir adalah pencelupan straw yang berisi semen/sperma ke dalam N<sub>2</sub> cair yang mempunyai suhu -196°C.

### **Inseminasi Buatan**

Sebanyak 120 ekor sapi bali akseptor dengan persyaratan minimal satu kali melahirkan diinseminasi dengan semen beku *sexing* dengan uraian 40 ekor diinseminasi dengan semen beku yang disexing selama 10 menit (P1), 40 ekor dengan semen beku yang disexing selama 20 menit (P2), dan 40 ekor dengan semen beku yang disexing selama 30 menit (P3).

### **Rancangan Percobaan**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah waktu *sexing* yang terdiri atas 10 menit (P1), 20 menit (P2) dan 30 menit (P3). Ulangannya adalah penampungan semen sebanyak enam kali. Data yang dikumpulkan

selanjutnya dianalisis dengan sidik ragam dan perbedaan antar perlakuan dianalisis dengan uji beda nyata terkecil (Mattjik dan Sumertajaya, 2013).

### **Variabel Penelitian**

Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah kualitas semen segar meliputi pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, kualitas spermatozoa sesudah *sexing* yaitu evaluasi motilitas dan viabilitas spermatozoa hasil *sexing* dan evaluasi motilitas spermatozoa yang dibekukan serta fertilitas spermatozoa hasil *sexing*.

Pengamatan kualitas semen dan spermatozoa secara makroskopis adalah :

#### **Viabilitas**

Satu tetes semen dengan dua tetes pewarna eosin dihomogenkan, dibuat dengan preparat ulas pada gelas obyek dan difiksasi di atas *heating table*. Perhitungan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa obyek sebesar 40X pada 5 lapangan pandang dengan jumlah spermatozoa minimal 200 sel (Arifiantini, 2012). Spermatozoa yang mati akan menyerap warna sedangkan yang hidup tidak menyerap warna (transparan). Persentase motilitas spermatozoa dinilai dari 0-100%.

#### **Persentase Motilitas**

Evaluasi persentase motilitas spermatozoa dilakukan baik terhadap spermatozoa pada semen segar, spermatozoa hasil *sexing* maupun spermatozoa beku. Evaluasi dilakukan pada 5 lapangan pandang (Arifiantini, 2012)

#### **Evaluasi Fertilitas Spermatozoa Beku Hasil Sexing**

Pengujian fertilitas spermatozoa beku hasil *sexing* dilakukan dengan cara menginseminasikan spermatozoa ke betina akseptor. Evaluasi dilakukan pada hari ke-21 setelah IB dengan menghitung jumlah sapi betina yang tidak minta kawin lagi

(non return rate atau NRR). Sapi betina yang telah diinseminasi dan tidak minta kawin lagi pada hari ke 21 setelah IB dikategorikan sebagai sapi yang diprediksi bunting.

Rataan hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen dan spermatozoa segar yang diperoleh pada penelitian ini pada kisaran yang baik. Bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Arifiantini dkk., (2006) pada 10 ekor sapi bali di UPTD Baturiti, Denpasar-Bali didapatkan kualitas semen segar yaitu rata-rata volume semen segar 6,30 ml, rata-rata warna semen segar adalah krem, rata-rata konsistensi semen segar adalah sedang,

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Evaluasi Kualitas Sperma sebelum Sexing (semen segar)

Pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen segar merupakan salah satu syarat untuk menentukan kualitas semen segar setelah penampungan. Berikut ini adalah rata-rata hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen segar pada 6 (enam) kali penampungan.

Tabel 4.1. Rataan hasil penilaian kualitas semen segar sapi bali

Parameter	Nilai
Warna	Krem
Bau	Khas
Volume (ml)	6,57±1,63
Konsistensi	Kental
pH	6,42±0,23
Motilitas (%)	86,67±5,16
Konsentrasi (juta/ml)	1.518,50±424,05

Keterangan: Pengamatan dilakukan di Laboratorium UPTD BPPT Prov. Sultra

Rataan hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen dan spermatozoa segar yang diperoleh pada penelitian ini pada kisaran yang baik. Bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Arifiantini dkk., (2006) pada 10 ekor sapi

bali di UPTD Baturiti, Denpasar-Bali didapatkan kualitas semen segar yaitu rata-rata volume semen segar 6,30 ml, rata-rata warna semen segar adalah krem, rata-rata konsistensi semen segar adalah sedang, rata-rata persentase motilitas semen segar adalah 71,04% dan rata-rata konsentrasi semen segar adalah 1340 juta/ml. Hasil ini sangat memungkinkan diperoleh karena ditunjang oleh kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan kepada jantan tersebut berupa rumput gajah sebanyak 10% dari bobot badan dan konsentrat 4-5 kg per hari. Selain itu, umur pejantan tersebut juga masih tergolong pada usia produktif. Kebutuhan protein ransum pejantan minimal 12% dengan TDN pakan minimal 65% (Standar Nasional Indonesia, 2009). Menurut Fathul dkk. (2013) rumput gajah memiliki kandungan protein kasar 8,69% dan TDN 52,40%. Sedangkan konsentrat yang diberikan kepada sapi pejantan pada penelitian ini mengandung protein kasar 13% dan TDN 70%. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan (2007) merekomendasikan bahwa pejantan yang tidak dapat digunakan lagi dan harus diafkir atau dikeluarkan apabila telah digunakan selama 6-7 tahun. Toelihere (1993) menyatakan bahwa kualitas pakan dan umur pejantan sangat berpengaruh terhadap kualitas semen yang dihasilkan. Selanjutnya dikatakan bahwa kandungan plasma semen dipengaruhi oleh faktor bangsa dan variasi individu. Plasma semen sebagai indikator kualitas spermatozoa karena sekitar 90% semen sapi terdiri atas plasma semen yang memiliki fungsi utama sebagai medium pembawa spermatozoa dari saluran reproduksi hewan jantan kedalam saluran reproduksi hewan betina, plasma semen juga mengandung bahan penyangga dan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa (Toelihere, 1985). Semen pejantan yang digunakan pada penelitian ini berwarna krem. Nursyam (2007) dan Feradis (2010) mengatakan bahwa semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh. Semen segar sapi bali hasil penampungan

di UPTD BPPT memiliki bau yang khas. Toelihere (1993) mengatakan bahwa sapi pejantan menghasilkan semen yang berbau khas. Rata-rata volume semen sapi bali yang diperoleh pada penelitian ini adalah 6,57 ml. Menurut Toelihere (1993), volume semen sapi yaitu 1-15 ml, sedangkan Feradis (2010) melaporkan bahwa volume semen sapi berkisar 5-8 ml.

Konsistensi atau kekentalan semen segar yang diperoleh pada penelitian ini adalah pekat dengan rata-rata konsentrasi spermatozoa yang diperoleh sebanyak  $1.518,5 \times 10^6$ /ml sperma. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) bahwa semen sapi dikatakan pekat bila konsentrasi spermatozoa > 1.500 juta (di atas 1.500 juta). Menurut Evans dan Maxwell (1987) konsistensi semen tergantung pada konsentrasi spermatozoa dan seminal plasma. Semen yang mengandung konsistensi kental lebih banyak mengandung spermatozoa dibanding dengan semen yang konsistensinya encer. Rata-rata pH semen segar yang diperoleh pada penelitian ini adalah 6,42. Hasil pH tersebut sesuai dengan pendapat Butar (2009) bahwa pH

semen segar adalah 6,4-7,8. Feradis (2010) mengatakan bahwa setiap bangsa sapi mempunyai nilai pH semen segar yang berbeda-beda. Jadi pH semen segar sapi bali yang digunakan sebagai bahan penelitian ini dapat dikatakan normal. Rata-rata persentase motilitas semen segar yang diperoleh pada penelitian ini adalah 86,67%. Susilawati (2011) menyatakan bahwa motilitas semen segar sapi berkisar antara 70-90%. Hal tersebut berarti motilitas individu yang didapat masih dalam kisaran normal dan dapat digunakan untuk produksi semen beku. Sedangkan motilitas spermatozoa di bawah 40% menunjukkan nilai semen yang kurang baik karena kebanyakan persentase yang fertil itu 50-80% spermatozoa yang motil aktif progresif (Feradis, 2010).

### Evaluasi Spermatozoa setelah Mengalami Sexing

#### Evaluasi Konsentrasi Spermatozoa

Pemeriksaan kualitas semen hasil *sexing* dengan metode *swim down* meliputi konsentrasi, viabilitas, persentase motilitas dan membran plasma utuh (MPU).

Tabel 4.2. Rataan konsentrasi spermatozoa hasil *sexing* pada fraksi bawah

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
1	15	26	43
2	17	30	46
3	14	25	41
4	14	24	42
5	8	22	39
6	15	27	42
Rataan	$13,83 \pm 3,06^a$	$25,67 \pm 2,73^b$	$42,17 \pm 2,32^c$

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ).

Data pada Tabel 4.2. menunjukkan bahwa lama waktu *sexing* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap konsentrasi spermatozoa. Sedangkan hasil uji beda nyata menunjukkan bahwa lama waktu *sexing* 30 menit (P3) menghasilkan konsentrasi spermatozoa yang nyata lebih banyak dibandingkan dengan lama waktu *sexing* 20 menit (P2) dan 10 menit (P1).

Nilai konsentrasi spermatozoa pada lama waktu *sexing* 10 menit menunjukkan angka konsentrasi spermatozoa terkecil bila dibandingkan dengan lama waktu *sexing* 20 menit dan 30 menit dikarenakan waktu yang cepat sehingga konsentrasi spermatozoa hasil *sexing* sangat sedikit.

### Evaluasi Persentase Viabilitas Spermatozoa

Rataan persentase spermatozoa hidup setelah proses *sexing* dengan menggunakan metode *swim down*

menunjukkan perlakuan lama waktu *sexing* tidak berpengaruh nyata (P 0,05) terhadap persentase spermatozoa hidup.

Tabel 4.3. Rataan Persentase Spermatozoa Hidup Sapi Bali setelah *Sexing*

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
1	98,68	99,08	97,54
2	99,01	95,53	96,37
3	98,81	95,17	97,84
4	98,13	96,49	87,55
5	98,57	96,50	90,82
6	99,05	97,23	96,29
Rataan	98,71±0,34 <sup>a</sup>	96,67±1,40 <sup>a</sup>	94,40±4,22 <sup>a</sup>

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P 0,05)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa waktu *sexing* belum memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase viabilitas spermatozoa. Namun demikian ada kecenderungan penurunan rata-rata persentase viabilitas spermatozoa sejalan dengan lama waktu *sexing*. Bila dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Purwoistri dkk. (2013) menyebutkan nilai persentase hidup spermatozoa dengan menggunakan pengencer CEP-2 ditambah dengan kuning telur 10% pada lapisan atas dan lapisan bawah masing-masing adalah 93,30±4,03% dan 92,90±2,04%. Perbedaan ini menunjukkan bahwa medium Tris Kuning telur sangat baik digunakan untuk media pengencer maupun media *sexing* spermatozoa.

### Evaluasi Persentase Motilitas Spermatozoa

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama waktu *sexing* berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap persentase motilitas spermatozoa. Sedangkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa pada perlakuan lama waktu

*sexing* 10 menit nyata lebih besar (P<0,05) dibandingkan dengan perlakuan lama waktu *sexing* 20 menit dan 30 menit.

Menurut Dixon *et al.* (1980) bahwa motilitas spermatozoa hasil *sexing* mencapai 70%, sedangkan Afiati (2004) melaporkan bahwa persentase motilitas spermatozoa hasil *sexing* menggunakan metode gradient albumin yang diprediksi membawa kromosom Y mencapai 75,00%. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Saili dkk. (2016) perlakuan lama waktu *sexing* 20 menit, 35 menit, dan 50 menit masing-masing mendapatkan persentase motilitas 60,27±1,15%, 60,00±21,31%, dan 52,50±21,21% untuk koleksi spermatozoa Y pada medium albumin konsentrasi 30%. Bila dibandingkan dengan beberapa penelitian terdahulu maka persentase motilitas hasil penelitian dengan metode *swim down* yang menggunakan media Tris Kuning Telur sangat baik dan layak untuk dijadikan semen beku. Persentase motilitas spermatozoa sesudah *sexing* ditampilkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa setelah *Sexing*

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
1	90	80	80
2	80	70	70
3	80	80	70
4	90	80	70
5	90	80	70
6	90	80	80
Rataan	86,67±5,16 <sup>a</sup>	78,33±4,08 <sup>b</sup>	73,33±5,16 <sup>b</sup>

Keterangan: Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

**Evaluasi Fertilitas Spermatozoa Beku Sapi Bali hasil *sexing***

***Evaluasi Semen Beku***

Hasil sidik ragam menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap persentase *post thawing motility* (PTM) spermatozoa. Sedangkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan P1

menghasilkan spermatozoa dengan PTM yang nyata lebih baik dibandingkan perlakuan P3 tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan P2. Sedangkan nilai PTM spermatozoa pada perlakuan P2 tidak menunjukkan perbedaan nyata baik dengan spermatozoa pada perlakuan P1 maupun perlakuan P3.

Tabel 4.5. Evaluasi semen beku berdasarkan nilai *Post Thawing Motility* (PTM)

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
1	40	40	30
2	30	30	20
3	40	40	30
4	40	30	30
5	40	40	30
6	40	40	30
Rataan	36,33±4,08 <sup>a</sup>	36,67±5,16 <sup>ab</sup>	28,33±4,08 <sup>bc</sup>

Keterangan: Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Rataan nilai PTM spermatozoa beku hasil *sexing* yang diperoleh pada penelitian ini masih sedikit di bawah persyaratan nilai PTM spermatozoa beku yang layak untuk IB seperti yang dikemukakan oleh Toelihere (1987). Namun demikian, dengan melakukan inseminasi yang *double dosis* sperma beku hasil *sexing* masih layak digunakan untuk IB. Susilawati (2004) menjelaskan bahwa semen segar setelah dilakukan *sexing* dan pembekuan akan mengalami penurunan motilitas. Lebih lanjut dijelaskan bahwa persentase motilitas spermatozoa setelah *thawing* akan menurun sampai 10%.

***Evaluasi Keberhasilan IB berdasarkan Non Return Rate (NRR)***

*Non Return Rate* (NRR) merupakan alat deteksi kebuntingan berupa persentase jumlah betina yang tidak menunjukkan berahi kembali setelah di-IB dengan spermatozoa hasil *sexing* dengan observasi 21 hari setelah IB. Prinsip dari NRR (*Non Return Rate*) adalah melakukan pengamatan berahi selang siklus berahi *pasca* IB. Toelihere (1985) dan Linsay *et al.* (1982) menyatakan bahwa NRR merupakan persentase jumlah ternak yang tidak kembali estrus atau berahi kembali selang siklus estrus ke-1, ke-2 dan ke-3 *pasca* IB. Hasil pengamatan NRR pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 4.6.



Tabel 4.6. Hasil pengamatan NRR pada sapi bali yang diinseminasi semen *sexing*

Perlakuan	Jumlah Akseptor	NRR	
		0-21 hari	%
P1	40	36	87,5
P2	40	32	80,0
P3	40	31	77,5

Secara deskriptif terjadi korelasi yang baik antara lama waktu *sexing* dengan persentase kebuntingan berdasarkan perhitungan NRR. Persentase NRR perlakuan lama waktu *sexing* 10 menit, 20 menit, dan 30 menit masing-masing adalah 87,5%, 80%, dan 77,5%. Nilai ini sesuai dengan pendapat Iswoyo dan Widiyaningrum (2006) menyebutkan bahwa nilai NRR yang baik adalah  $79,53 \pm 18\%$ . Nilai NRR 50% masih dalam kategori baik (Rosita E.A. *et al.*, 2013).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan dapat disimpulkan bahwa :

1. Evaluasi kualitas spermatozoa setelah mengalami proses *sexing* menunjukkan hasil yang sesuai dengan standar untuk diproses lebih lanjut menjadi semen beku. Kualitas *post thawing motility* spermatozoa Sapi Bali hasil *sexing* dengan lama waktu *sexing* 10 menit, 20 menit, dan 30 menit menunjukkan terjadi penurunan motilitas tetapi semen beku masih layak digunakan untuk inseminasi buatan.
2. Persentase *non return rate* didapat sangat baik yaitu 87,5% pada perlakuan (P1) dengan lama waktu *sexing* 10 menit.

### DAFTAR PUSTAKA

Affandy, L., U.U. Miyasih dan K. Ma`sum. 1999. Evaluasi kualitas semen beku sapi madura dengan berbagai diluter dan kandungan kuning telur yang berbeda. Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner. Bogor, 1 – 2 Desember 1998. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 233 – 239.

Afiati, F. 2004. Proporsi dan karakteristik spermatozoa X dan Y hasil separasi kolom albumin. Jurnal Media Peternakan 27(1):16-20.

Afriani, T., Z. Udin, Jaswandi dan S. Asmairicen. 2011. Pengaruh waktu pelapisan spermatozoa sapi pada media TALP yang disuplementasi *bovine serum albumin* (BSA) terhadap jenis kelamin embrio *in vitro*. Jurnal Peternakan Indonesia 13(2): 141-148

Arifiantini, R.I., T. Wresdiyati dan E.F. Retnani. 2006. Pengujian morfologi spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) menggunakan pewarnaan “Williams”. J. Indon. Trop. Anim. Agric. 31(2):105-110.

Arifiantini, R.I. 2012. Teknik koleksi dan evaluasi semen pada hewan. Bogor : IPB Press.

BSNI . 2009. SNI 3148.2:2009. Pakan konsentrat - Bagian 2: sapi potong. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.

Djanuar, R. 1985. Fisiologi reproduksi dan inseminasi buatan pada sapi. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.

Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.

Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2008. X and Y Chromosome – Bearing Spermatozoa in Animal Reproduction in Farm Animal ed by ESE Hafez and B. Hafez 7th Editon Black well : 390 -393.

Lindsay, D.R.,K.W. Entswistle dan A. Winantea. 1982. Reproduksi Ternak di Indonesia. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.

- Mahaputra, L., M. Maslichah, T. Nusdianto dan D.A. Rhandy. 2012. Pemisahan spermatozoa sapi limousin yang memiliki kromosom X dan Y dengan percoll dan putih telur ayam. *JBP*. 14(3):172-175.
- Purwoistri, R.F., T. Susilawati dan S. Rahayu. 2013. Kualitas spermatozoa hasil *sexing* menggunakan pengencer andromed dan cauda epididymal plasma-2 (CEP-2) ditambah kuning telur 10%. *Jurnal FKH*. 7(2):78-85.
- Rizal, M. 2005. Fertilitas spermatozoa ejakulat dan epididimis domba garut hasil kriopreservasi menggunakan modifikasi pengencer tris dengan berbagai krioprotektan dan antioksidan. [Tesis]. Bogor (ID). Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Rosita, EA., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2013. Keberhasilan IB menggunakan semen beku hasil *sexing* dengan metode sedimentasi putih telur pada sapi *PO cross*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 24(1):72-76.
- Saili, T., M.R. Toelihere, A. Boediono dan B. Tappa. 1998. Pengendalian jenis kelamin anak melalui *sexing* spermatozoa untuk reproduksi ternak. *Warta Biotek* 12(1-2):1-5.
- Saili, T. 1999. Efektifitas penggunaan albumin sebagai medium separasi dalam upaya mengubah rasio alamiah spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada sapi. Tesis Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Saili, T., M.R. Toelihere, A. Boediono dan B. Tappa. 2000. Keefektifan albumen sebagai media pemisah spermatozoa sapi pembawa kromosom X dan Y. *Jurnal Hayati* 7(4):106-109.
- Saili, T., M.A. Setiadi MA, S.A. Priyono, M.R. Toelihere dan A. Boediono. 2006. Pengaruh peneringbekuan terhadap perubahan morfologi spermatozoa domba. *Agriplus* 16:107-117.
- Saili, T., L. Baa, L.A. Sani, S. Rahadi, I.W. Sura dan F. Lopulalan. 2016. Sinkronisasi estrus dan inseminasi buatan menggunakan semen cair hasil *sexing* pada sapi bali induk yang dipelihara dengan sistem yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak*, Vol.16, No.2 : 49 – 55..
- Sukmawati, E, R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. Daya tahan spermatozoa terhadap proses pembekuan pada berbagai jenis sapi pejantan unggul. *Jurnal penelitian JITV* 19(3):168-175.
- Susilawati, T. 2002. Pemisahan spermatozoa X dan Y pada sapi brahman menggunakan gradient putih telur pada pengencer tris kuning telur. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati* 14(2):176-181.
- Susilawati T. 2005. Tingkat keberhasilan kebuntingan dan ketepatan jenis kelamin hasil inseminasi buatan menggunakan semen beku *sexing* pada sapi peranakan ongole. *Animal Production. Jurnal Produksi Ternak*. ISSN 1411-2027 Terakreditasi No 26/DIKTI/kep/2005. Volume 7, Nomor 3, September 2005 : 161-167.
- Toelihere, M.R. 1977. Fisiologi Reproduksi Hewan Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R. 1985. Ilmu Kebidanan pada Ternak Sapi dan Kerbau. Universitas Indonesia Press, Depok.
- Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Walson, P.F. and C.A. Martin. 1975. The Influences of some fractions of egg yolk on the survival of ram spermatozoa at 5<sup>0</sup>C. *Reprod. Fertil. Dev.* 69:856-857.