

PENGARUH LAMA WAKTU *SEXING* DENGAN METODE ELEKTRIK TERHADAP DAYA TAHAN HIDUP SPERMATOZOA SAPI ACEH YANG DISIMPAN PADA SUHU 5°C

The Effect of Long Time Sexing with Electrical Method on the Survival of Aceh Cow's Spermatozoa Stored at a Temperature of 5°C

Anisa Diah Ulfa¹, Dasrul², Dian Masyitha³, Azhar⁴, Erdiansyah Rahmi³, Roslizawaty⁵

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

²Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

³Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

⁴Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

⁵Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

E-mail: anisadiahulfa@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh lama waktu *sexing* dengan metode elektrik terhadap daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh yang disimpan pada suhu 5°C. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola satu arah. Semen ditampung dari 2 ekor pejantan menggunakan vagina buatan. Semen yang berkualitas baik dibagi ke dalam 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok *sexing* dengan metode elektrik yang dialiri listrik 1,5 volt selama 3 menit (P1); 6 menit (P2); dan 10 menit (P3) yang selanjutnya disimpan dalam suhu 5°C. Tiap perlakuan diamati bagian anoda (P1a, P2a, P3a) dan katoda (P1k, P2k, P3k). Data yang diperoleh dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) pola satu arah yang dilanjutkan dengan uji Duncan untuk melihat perbedaan daya tahan hidup spermatozoa antar perlakuan, sedangkan untuk melihat daya tahan hidup spermatozoa antara bagian anoda dan katoda diuji dengan uji T. Hasil pengamatan daya tahan hidup spermatozoa setelah pendinginan pada bagian anoda secara berturut-turut 8,92 ± 0,74 jam; 7,00 ± 1,70 jam; 5,00 ± 1,00 jam, sedangkan bagian katoda secara berturut-turut 9,42 ± 1,16 jam; 8,33 ± 1,17 jam; 5,92 ± 1,11 jam. Lama waktu *sexing* dengan metode elektrik berpengaruh secara nyata (P<0,05) terhadap daya tahan hidup spermatozoa. Waktu *sexing* selama 3 menit menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh lebih lama dibandingkan waktu *sexing* 6 menit dan 10 menit selama penyimpanan pada suhu 5°C. Tidak ada perbedaan yang bermakna antara daya tahan hidup spermatozoa bagian anoda dengan katoda.

Kata Kunci: spermatozoa, waktu *sexing*, metode elektrik, daya tahan hidup

ABSTRACT

The study aims to determine the effect of long time sexing with electrical method on the survival of aceh cow's spermatozoa stored at a temperature of 5°C. This study using one way completely randomized design. Semen was collected from 2 males, using artificial vagina. Good quality semen was divided into 3 groups; group was electrified with 1,5 volt during 3 minutes (P1); 6 minutes (P2); and 10 minutes (P3) and stored in temperature of 5°C. Each group observed the anode (P1a, P2a, P3a) and cathode (P1k, P2k, P3k). The data obtained was analyzed with the one way analysis of variance (ANOVA), followed by Duncan test to analyzed the viability of spermatozoa between groups, while to analyzed the viability of spermatozoa between the anode and the cathode used the T test. The result show the viability after cooling in groups anode were 8,92 ± 0,74 hours; 7,00 ± 1,70 hours; 5,00 ± 1,00 hours and in groups cathode were 9,42 ± 1,16 hours; 8,33 ± 1,17 hours; 5,92 ± 1,11 hours. Long time sexing with electrical method affects significantly (P<0,05) sperm viability. Sexing time during 3 minutes showed the viability of aceh cow's spermatozoa longer than sexing time during 6 minutes and 10 minutes stored at a temperature 5°C. There was no significant differences of the viability between the anode and the cathode.

Key word: spermatozoa, sexing time, electrical method, viability

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Dalam pembangunan peternakan dimensi bioteknologi reproduksi mempunyai peranan penting di dalam meningkatkan produksi dan produktivitas ternak. Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu bioteknologi reproduksi ternak yang pesat dikembangkan untuk meningkatkan produksi dan produktivitas ternak pada masa sekarang dan mendatang. Bioteknologi IB ini akan lebih berdaya guna apabila anak yang dilahirkan berjenis kelamin sesuai tujuan peternakan, misalnya anak yang berjenis kelamin jantan untuk peternakan

potong dan anak yang berjenis kelamin betina untuk peternakan susu. Dari segi ekonomi, penentuan jenis kelamin anak sebelum dilahirkan lebih menguntungkan, selain dapat menekan biaya pemeliharaan juga dapat menunjang program *breeding* dalam pemilihan bibit unggul (Hafez, 2004 dan Sunarti *et al.*, 2016). Untuk mencapai tujuan tersebut dapat dilakukan dengan cara menginseminasikan seekor betina birahi dengan spermatozoa yang sudah dipisahkan (Yuliani dan Lukman, 2013).

Salah satu upaya pemisahan spermatozoa berkromosom X dengan spermatozoa berkromosom Y dapat dilakukan dengan metode elektrik dalam medium isotonis. *Sexing* spermatozoa dengan metode elektrik adalah suatu teknik pemisahan spermatozoa menggunakan aliran listrik berdasarkan perbedaan muatan listrik pada membran spermatozoa X dan spermatozoa Y. Spermatozoa berkromosom Y memiliki muatan positif pada membrannya akan bergerak kearah anoda, sedangkan spermatozoa berkromosom X memiliki muatan negatif pada membrannya akan bergerak kearah katoda (Prastiya *et al.*, 2014; Saputro *et al.*, 2016 dan Lailiyah *et al.*, 2018).

Menurut beberapa peneliti terdahulu, tingkat keberhasilan *sexing* spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada metode elektrik dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya adalah spesies, kualitas spermatozoa, media, voltase (Hafez, 2004) dan lama waktu pemisahan yang digunakan (Prastiya *et al.*, 2014 dan Saputro *et al.*, 2016). Hasil penelitian Saputro *et al.* (2016), *sexing* spermatozoa domba merino menggunakan metode elektrik dengan voltase 1,5 volt dengan lama waktu yang berbeda (3 menit, 7 menit, dan 10 menit), hasil *sexing* yang efektif dengan persentase pemisahan tertinggi terdapat pada waktu 10 menit. Beberapa peneliti lain juga melaporkan *sexing* spermatozoa dengan metode elektrik menunjukkan adanya penurunan kualitas spermatozoa setelah pemisahan (Prastiya *et al.*, 2014 dan Lailiyah *et al.*, 2018). Hal tersebut terjadi karena semakin lama spermatozoa bergerak maka semakin banyak energi yang dibutuhkan sehingga pada akhirnya akan mengurangi kemampuannya bergerak.

Pengenceran merupakan cara yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas dan volume spermatozoa selama penyimpanan (Pubiandara *et al.*, 2016), serta penyimpanan semen pada suhu dingin merupakan salah satu alternatif guna memperpanjang daya hidup spermatozoa (Indriani *et al.*, 2013). Penambahan bahan pengencer bertujuan untuk menyediakan sumber energi bagi spermatozoa sehingga menjamin kelangsungan hidup spermatozoa selama pendinginan atau pembekuan (Munazaroh *et al.*, 2013). Larutan pengencer semen yang memiliki komposisi kimia lebih lengkap akan memberikan fungsi yang baik bagi spermatozoa yang diencerkan (Ridwan, 2009). Sitrat kuning telur merupakan salah satu pengencer spermatozoa yang mengandung lesitin, lipoprotein dan karbohidrat yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bagi spermatozoa (Pubiandara *et al.*, 2016). Banyak penelitian membuktikan bahwa menggunakan pengencer sitrat kuning telur dapat mempertahankan daya tahan hidup spermatozoa yang disimpan pada suhu dingin.

Sejauh ini penelitian yang mengkaji tentang daya tahan hidup spermatozoa hasil *sexing* yang disimpan pada suhu dingin belum pernah dilaporkan, khususnya pada spermatozoa sapi aceh. Berdasarkan pernyataan diatas maka peneliti tertarik untuk melihat pengaruh lama waktu *sexing* yang berbeda dengan metode elektrik terhadap daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh yang disimpan pada suhu 5°C.

Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh lama waktu *sexing* dengan metode elektrik terhadap daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh yang disimpan pada suhu 5°C?

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama waktu *sexing* dengan metode elektrik terhadap daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh yang disimpan pada suhu 5°C.

Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah lama waktu *sexing* dengan metode elektrik berpengaruh terhadap penurunan daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh yang disimpan pada suhu 5°C.

Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang lama waktu *sexing* dengan metode elektrik berpengaruh terhadap penurunan daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh yang disimpan pada suhu 5°C. Penelitian ini juga dapat diaplikasikan dalam pelaksanaan IB untuk memperoleh kelahiran anak dengan jenis kelamin yang diinginkan.

MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Aceh yang berlokasi di Saree, Kabupaten Aceh Besar. Kegiatan penelitian telah dilaksanakan pada bulan Desember 2018 - Januari 2019.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah semen yang diambil dari 2 ekor sapi aceh yang dipelihara di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Aceh yang berlokasi di Saree, Kabupaten Aceh Besar.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi vagina buatan, mikroskop, *stopwatch*, *refrigerator*, pemanas air, cawan petri, kabel, baterai, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, *beaker glass*, termometer, tabung *erlenmeyer*, tabung *eppendorf*, pipet tetes, *object glass*, *cover glass*, lampu spiritus dan pinset steril. Sedangkan bahan yang digunakan adalah semen segar sapi aceh, vaselin, air hangat, telur ayam kampung, Na-sitrat, kertas indikator pH, NaCl fisiologis, *aquadest*, alkohol 70%, eosin 2%, selotip, kertas label, dan kertas saring.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan pola satu arah terdiri dari tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok *sexing* dengan metode elektrik yang dialiri listrik 1,5 volt selama 3 menit (P1); 6 menit (P2); dan selama 10 menit (P3) dengan masing-masing enam kali ulangan. Tiap perlakuan ini diamati pada bagian anoda (P1a, P2a, dan P3a) dan bagian katoda (P1k, P2k, dan P3k).

Prosedur Penelitian

Pembuatan Pengencer Sitrat Kuning Telur

Timbang 2,9 gram Na-sitrat dan larutkan didalam 100 ml *aquadest*. Panaskan sampai dengan 92°C, dinginkan pada temperatur kamar. Siapkan telur yang diperlukan, bersihkan kerabang telur memakai kapas beralkohol 70%. Kemudian pecahkan kerabang telur hingga 1/3 – 1/2 bagian menggunakan pinset steril, buanglah cairan putih telur dengan hati-hati. Kuning telur yang utuh dan terbungkus selaput vitelin pindahkan di atas kertas saring untuk

menghilangkan cairan putih telur yang tersisa. Setelah itu pecahkan selaput vitelin dan alirkan kuning telur ke dalam gelas ukur, lalu tuangkan Na-sitrat dengan perbandingan 1: 4 serta ditambahkan antibiotik penisilin dan streptomisin, lalu aduk dengan merata.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel berupa semen diperoleh dari Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Dinas Kesehatan Hewan dan Peternakan Aceh yang berlokasi di Saree Kabupaten Aceh Besar. Sampel spermatozoa diambil menggunakan vagina buatan dari seekor pejantan. Penampungan semen diambil sebanyak 6x ejakulasi sebagai ulangan dan dilakukan 1x ejakulasi/minggu, selama 3 minggu.

Pemeriksaan Kualitas Semen Segar

Setelah penampungan semen, segera lakukan pemeriksaan kualitas semen segar. Pemeriksaan kualitas semen segar meliputi pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pada pemeriksaan secara makroskopis diamati volume, warna, pH, dan konsistensi semen. Sedangkan pada pemeriksaan secara mikroskopis diamati motilitas spermatozoa ($\geq 70\%$), viabilitas spermatozoa ($\geq 75\%$), dan abnormalitas spermatozoa ($\leq 20\%$). Sampel penelitian yang digunakan diambil dari semen hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis yang berkualitas baik.

Pemisahan (*Sexing*) Spermatozoa dan Penyimpanan Hasil *Sexing* pada Suhu 5°C

Pemisahan spermatozoa kromosom X dan Y dilakukan dengan menggunakan metode elektrik 1,5 volt dengan tiga kelompok lama waktu *sexing* yang berbeda yaitu selama 3 menit (P1); 6 menit (P2); dan selama 10 menit (P3) dengan masing-masing enam kali ulangan. Sebanyak 0,5 ml semen segar berkualitas baik diteteskan pada bagian tengah cawan petri yang telah berisi 10 ml sitrat kuning telur, kemudian dialirkan listrik dengan cara menghubungkan kabel dengan baterai kedalam cawan petri tersebut sesuai perlakuan. Selanjutnya, ambil dengan pipet tetes suspensi spermatozoa yang mengarah ke anoda (P1a, P2a, dan P3a) dan katoda (P1k, P2k, dan P3k), lalu masukkan ke dalam tabung *ependorf* yang berbeda dan disimpan kedalam *refrigerator* bersuhu 5°C.

Daya Tahan Hidup Spermatozoa Hasil *Sexing*

Pengukuran daya tahan hidup spermatozoa hasil *sexing* dilakukan dengan mengamati seberapa lama spermatozoa tersebut dapat bertahan hidup setelah disimpan ke dalam *refrigerator* bersuhu 5°C. Daya tahan hidup spermatozoa diamati setiap jam sampai motilitas mencapai 40%.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan daya tahan hidup spermatozoa (jam) hasil *sexing* menggunakan metode elektrik dengan lama waktu berbeda akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pola satu arah. Bila terdapat pengaruh perlakuan maka data selanjutnya diuji dengan uji Duncan, sedangkan untuk melihat daya tahan hidup spermatozoa antara bagian anoda dan katoda diuji dengan uji T. Pengolahan data dengan menggunakan *statistical program for social science* (SPSS) 25.0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Sapi Aceh

Penilaian kualitas semen segar yang dilakukan dalam penelitian ini dibagi dalam dua kategori, yaitu evaluasi secara makroskopis yang meliputi pengukuran volume, warna, konsistensi, pH serta bau semen dan evaluasi secara mikroskopis yang meliputi perhitungan

gerakan massa, persentase motilitas, viabilitas, dan abnormalitas. Pemeriksaan kualitas semen sapi segar bertujuan untuk mengetahui apakah semen yang digunakan layak untuk diproses lebih lanjut. Hasil penilaian kualitas semen segar sapi aceh setelah enam kali penampungan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata (\pm SD) kualitas semen segar sapi aceh setelah koleksi

Parameter	Hasil Pengamatan
A. Makroskopis	
Volume (ml)	4,25 \pm 0,88
Warna	Putih susu
Konsistensi	Kental
pH	7,00 \pm 0,00
Bau	Khas semen sapi (amis)
B. Mikroskopis	
Gerakan massa	++ dan +++
Motilitas individu (%)	79,08 \pm 3,26
Viabilitas (%)	85,00 \pm 1,52
Abnormalitas (%)	7,58 \pm 1,93

Pemeriksaan makroskopis yang dilakukan meliputi pemeriksaan volume, warna, konsistensi, pH dan bau. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semen memiliki rata-rata volume sebesar 4,25 \pm 0,88 ml dengan kisaran 3 ml sampai 5 ml. Volume semen sapi aceh pada penelitian ini termasuk volume yang berada pada kisaran normal. Hal ini sesuai dengan Hartanti *et al.* (2012), yang melaporkan bahwa kisaran normal volume semen sapi berkisar antara 3,2-7,3 ml.

Warna semen merupakan cerminan dari kekentalan semen. Dalam kondisi normal, semakin pekat warna semen yang terlihat maka semakin kental konsistensi semen tersebut. Pada penelitian ini warna dan konsistensi semen segar sapi aceh yaitu putih susu dan kental, sesuai pendapat Feradis (2010), bahwa semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh.

Rata-rata pH semen segar sapi aceh yang didapatkan pada penelitian ini adalah 7,00 \pm 0,00. pH tersebut normal, karena kisaran pH spermatozoa sapi adalah 6,4-7,8 (Garner dan Hafez, 2000). Bau semen segar sapi aceh yang didapatkan pada penelitian ini adalah bau khas sapi. Rizal dan Hendris (2008), mengatakan bahwa pada umumnya bau semen dikategorikan sebagai bau khas, hal ini sesuai dengan pendapat Kartasudjana (2001), yang mengemukakan bahwa semen yang normal mempunyai bau yang khas disertai bau dari hewan tersebut.

Pemeriksaan makroskopis yang dilakukan meliputi pemeriksaan gerakan massa, motilitas individu, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Gerakan massa spermatozoa merupakan cerminan dari motilitas atau gerakan individu spermatozoa. Gerakan massa spermatozoa semen segar sapi aceh yang diperoleh pada penelitian ini adalah (++) dan (+++). Hal ini menunjukkan bahwa semen memiliki gerakan massa normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Hafez (2008), bahwa gerakan massa semen sapi adalah (++) sampai (+++).

Motilitas individu atau daya gerak progresif spermatozoa adalah patokan atau cara yang paling sederhana dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan. Rata-rata persentase motilitas individu spermatozoa semen segar sapi aceh yang diperoleh pada penelitian ini adalah 79,08 \pm 3,26% dengan kisaran 75% sampai 83%. Menurut Toelihere (1993), motilitas individu semen segar yaitu 50-80% spermatozoa progresif. Susilawati (2011), juga menyatakan bahwa motilitas semen segar sapi berkisar 70-90%.

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa (Sukmawati *et al.*, 2014). Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa semen segar sapi aceh

yang diperoleh pada penelitian ini adalah $85,00 \pm 1,52\%$ dengan kisaran 82,5% sampai 87%. Menurut Garner dan Hafez (2000), viabilitas spermatozoa untuk pembuatan semen yang diencerkan atau semen beku minimal memiliki 60% sampai 75% spermatozoa hidup.

Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa semen segar sapi aceh pada penelitian ini rata-rata $7,58 \pm 1,93\%$ dengan kisaran 5% sampai 10,5%. Toelihere (1993), menyatakan bahwa selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20%, maka semen tersebut masih bisa dipakai untuk inseminasi.

Berdasarkan hasil penilaian semen segar pada Tabel 1. diatas, dapat disimpulkan bahwa semen segar sapi aceh yang digunakan pada penelitian ini mempunyai kategori layak dan bagus untuk digunakan sebagai sampel semen untuk proses *sexing* maupun pendinginan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Toelihere (1985), bahwa terdapat beberapa persyaratan yang harus dipenuhi untuk semen yang layak diproses lebih lanjut yaitu dengan perkiraan persentase motilitas minimal 70%, persentase viabilitas minimal 75%, abnormalitas tidak lebih dari 20% dan semen memiliki gerakan massa (++)/(+++).

Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Aceh Hasil *Sexing* Menggunakan Metode Elektrik dengan Lama Waktu *Sexing* yang Berbeda yang Disimpan pada Suhu 5°C

Daya tahan hidup spermatozoa yang dimaksud dalam penelitian ini adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup selama penyimpanan yang diperlihatkan melalui sanggupnya spermatozoa bergerak sampai tidak adanya pergerakan lagi, namun daya tahan hidup spermatozoa yang diamati dalam penelitian ini adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup selama motilitas spermatozoanya masih berada diatas motilitas spermatozoa layak IB, yakni minimal 40% (Toelihere, 1993), sedangkan persentase motilitas dibawah 40% tidak lagi dilakukan pengamatan. Rata-rata daya tahan hidup spermatozoa semen cair sapi aceh yang diamati dari ketiga perlakuan waktu *sexing* menggunakan metode elektrik yang disimpan pada suhu 5°C dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata (\pm SD) daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh hasil *sexing* menggunakan metode elektrik dengan lama waktu *sexing* yang berbeda yang disimpan pada suhu 5°C

Perlakuan	Daya tahan hidup spermatozoa (jam)	
	ANODA (a)	KATODA (k)
P1	$8,92 \pm 0,74^c$	$9,42 \pm 1,16^b$
P2	$7,00 \pm 1,70^b$	$8,33 \pm 1,17^b$
P3	$5,00 \pm 1,00^a$	$5,92 \pm 1,11^a$

Ket : ^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

P1: *sexing* spermatozoa selama 3 menit

P2: *sexing* spermatozoa selama 6 menit

P3: *sexing* spermatozoa selama 10 menit

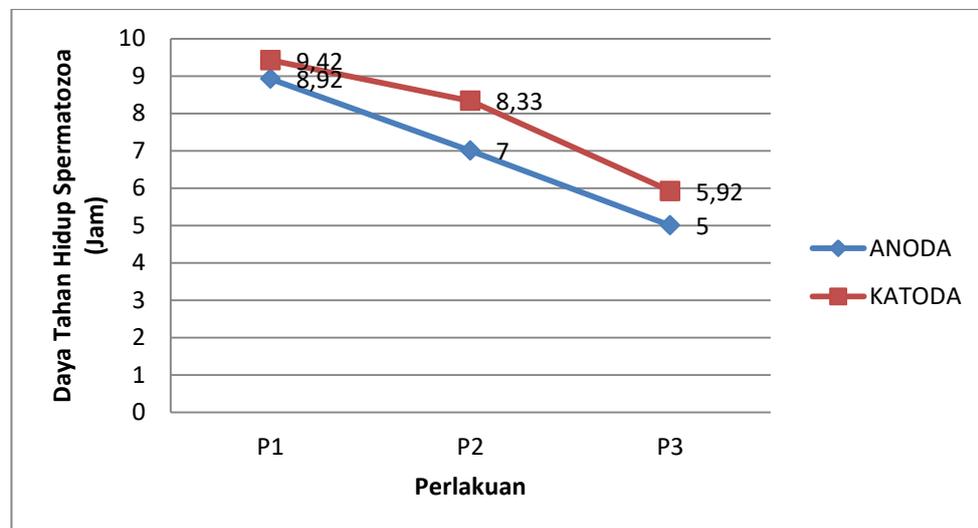
Pada Tabel 2. memperlihatkan bahwa pada *sexing* spermatozoa selama 3 menit bagian katoda (P1k) menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh yang lebih lama, yakni $9,42 \pm 1,16$ jam kemudian diikuti oleh *sexing* spermatozoa selama 3 menit bagian anoda (P1a), *sexing* spermatozoa selama 6 menit bagian katoda (P2k), *sexing* spermatozoa selama 6 menit bagian anoda (P2a), *sexing* spermatozoa selama 10 menit bagian katoda (P3k), dan *sexing* spermatozoa selama 10 menit anoda (P3a), secara berturut-turut yakni selama $8,92 \pm 0,74$ jam; $8,33 \pm 1,17$ jam; $7,00 \pm 1,70$ jam; $5,92 \pm 1,11$ jam; dan $5,00 \pm 1,00$ jam.

Hasil analisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pola satu arah terhadap daya tahan hidup spermatozoa yang disimpan pada suhu 5°C menunjukkan bahwa perbedaan lama waktu *sexing* dengan metode elektrik berpengaruh secara nyata ($P < 0,05$) terhadap daya

tahan hidup spermatozoa sapi aceh. Baik pada anoda maupun katoda hasil ini membuktikan bahwa perbedaan lama waktu *sexing* dengan metode elektrik dapat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa dalam pengencer sitrat kuning telur yang disimpan pada suhu 5°C. Keadaan ini juga menunjukkan bahwa perbedaan lama waktu *sexing* dengan metode elektrik mempengaruhi metabolisme dan fisiologi spermatozoa.

Hasil uji Duncan pada bagian anoda menunjukkan bahwa pada perlakuan P1a lebih tinggi secara nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan P2a dan P3a. Rata-rata daya tahan hidup spermatozoa pada perlakuan P2a lebih tinggi secara nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan P3a. Sedangkan hasil uji Duncan pada bagian katoda menunjukkan bahwa pada perlakuan P1k lebih tinggi secara nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan P2k dan P3k. Rata-rata daya tahan hidup spermatozoa pada P1k tidak berbeda secara nyata ($P > 0,05$) dibandingkan dengan P2k. Rata-rata P2k lebih tinggi secara nyata ($P < 0,05$) dibandingkan P3k, namun keduanya rendah secara nyata dengan P1k.

Untuk melihat lebih jelas perbedaan daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik rata-rata daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh hasil *sexing* menggunakan metode elektrik dengan lama waktu *sexing* yang berbeda yang disimpan pada suhu 5°C

Daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh hasil *sexing* pada bagian katoda lebih lama daripada bagian anoda. Pada Gambar 3. dapat dilihat bahwa daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh hasil *sexing* dengan metode elektrik yang disimpan pada suhu 5°C menurun seiring dengan lama waktu *sexing*. Semakin lama waktu *sexing*, maka semakin menurun daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh selama penyimpanan suhu 5°C. Waktu *sexing* selama 3 menit dengan metode elektrik menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh lebih lama dibandingkan waktu *sexing* 6 menit dan 10 menit selama penyimpanan pada suhu 5°C.

Salah suatu teknik pemisahan spermatozoa X dan Y yaitu menggunakan aliran listrik (Prastiya *et al.*, 2014). Aliran listrik adalah aliran elektron dari suatu konduktor, sedangkan kekuatan yang menyebabkan elektron dapat mengalir adalah tegangan. Aliran listrik secara langsung menyebabkan perubahan energi listrik menjadi energi panas yang dapat mengakibatkan kematian sel. Salah satu respon fisiologi yang terjadi saat adanya aliran listrik yaitu kejutan listrik (Octaviani dan Anggraeni, 2016). Menurut Gould (1995), kejutan listrik memberikan pengaruh terhadap kerusakan membran sel.

Pada penelitian ini kemungkinan paparan listrik saat proses *sexing* menjadi salah satu faktor yang mengakibatkan rusaknya membran sel. Semakin lama spermatozoa terpapar oleh listrik, maka semakin besar juga kemungkinan spermatozoa tersebut mati. Hal ini juga sesuai dengan pendapat Weaver (1995), apabila tegangan yang diberikan terhadap spermatozoa terlalu lama dan berlebihan maka dapat menyebabkan pembukaan pori-pori yang terlalu lebar dan gagal untuk menutup seperti semula, sehingga dapat mengakibatkan sel rusak atau pecah dan hal ini memicu kerusakan pada membran atau selaput spermatozoa.

Secara statistik pada semua kelompok perlakuan penelitian ini tidak memperlihatkan perbedaan yang bermakna antara bagian anoda dengan katoda. Namun ada suatu kecenderungan bahwa daya tahan hidup spermatozoa pada bagian anoda lebih rendah dibandingkan bagian katoda. Hal ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan aktifitas spermatozoa kromosom X dan Y, dimana pada bagian katoda lebih banyak terdapat spermatozoa X sementara pada bagian anoda lebih banyak terdapat spermatozoa Y. Spermatozoa yang berkromosom Y lebih aktif bergerak dibandingkan dengan X dengan demikian energi yang dibutuhkan lebih banyak sehingga cadangan energi yang tersimpan berkurang dan kondisi inilah yang menyebabkan daya tahan hidup spermatozoa menurun.

Selain perbedaan aktifitas spermatozoa X dan Y, lama waktu *sexing* juga mempengaruhi motilitas spermatozoa. Secara umum dapat dikatakan bahwa semakin lama waktu *sexing* maka persentase motilitas spermatozoa semakin menurun. Penurunan motilitas juga dapat terjadi karena spermatozoa hasil *sexing* telah mengalami perlakuan yang membutuhkan banyak energi untuk tetap menormalkan kondisi fisiologisnya. Hal ini sangat logis terjadi karena semakin lama spermatozoa bergerak maka semakin banyak energi yang dibutuhkan dan mengakibatkan motilitas menurun bahkan spermatozoa tidak bergerak sama sekali atau mati (Afiati, 2004; Susilawati, 2014 dan Sunarti *et al.*, 2016).

Menurut Toelihere (1993), energi yang digunakan untuk pergerakan spermatozoa tersimpan dalam bentuk senyawa ATP (Adenosin triphosphat) dan didukung oleh Hafez (1993), yang menyatakan bahwa salah satu faktor utama yang mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah ketersediaan energi ATP. Pergerakan spermatozoa yang terjadi secara terus menerus akibat adanya proses pemisahan dengan listrik akan menyebabkan penggunaan ATP meningkat, sehingga cadangan ATP pada sel spermatozoa semakin menurun yang mengakibatkan motilitas spermatozoa juga menurun (Saputro *et al.*, 2016).

Penurunan motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa terjadi karena adanya kerusakan struktur membran akibat serangkaian proses dalam prosedur pemisahan kromosom seks X dan Y, sehingga menyebabkan proses metabolisme spermatozoa terganggu (Sugiarti *et al.*, 2004 dan Susilawati, 2004). Menurut Solihati *et al.* (2006), penurunan motilitas juga disebabkan oleh kejutan dingin dan ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolisme yang terus berlangsung selama penyimpanan pada suhu 5°C. Semakin lama waktu penyimpanan, maka tingkat penurunan pH juga semakin besar, hal ini sesuai dengan pendapat Werdhany *et al.* (2000), mengatakan bahwa semakin lama semen disimpan pada suhu dingin (5°C) maka semakin banyak spermatozoa yang mati akibat ketidakmampuan medium mempertahankan pH yang semakin asam karena racun sisa metabolisme.

Proses *sexing*, pengenceran dan pendinginan sangat mempengaruhi stabilitas membran (Einarsson, 1992). Membran yang rusak dapat menyebabkan produksi ATP terhambat akibat terganggunya lalu lintas keluar masuknya substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam metabolisme sel, sehingga sel tidak dapat melakukan metabolisme dengan baik (Fiqri *et al.*, 2014). Menurut Inonie *et al.* (2016), hasil metabolisme energi spermatozoa akan meningkatkan asam laktat. Penumpukan asam laktat tersebut dapat mengubah pH menjadi asam yang bisa menyebabkan kematian spermatozoa. Menurut Hayati (2011), selain asam laktat, metabolisme spermatozoa juga menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang berasal dari proses respirasi miokondria. Kadar ROS yang tinggi akan mempengaruhi

kelenturan membran spermatozoa sehingga menurunkan motilitas spermatozoa dan viabilitas spermatozoa.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa lama waktu *sexing* dengan metode elektrik berpengaruh terhadap daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh selama penyimpanan pada suhu 5°C. Waktu *sexing* selama 3 menit dengan metode elektrik menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa sapi aceh lebih lama dibandingkan waktu *sexing* 6 menit dan 10 menit selama penyimpanan pada suhu 5°C. Tidak ada perbedaan daya tahan hidup spermatozoa yang bermakna antara bagian anoda dengan katoda.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F. (2004). Proporsi dan karakteristik spermatozoa X dan Y hasil separasi kolom albumin. *Media Peternakan*, 27(1): 16-20.
- Einarsson, S. (1992). *Concluding Remarks. In: Influence of Thawing Method on Motility, Plasma Membrane Integrity and Morphology of Frozen Stallion Spermatozoa.* (BorgK, Colenbrander B, Fazeli A, Parlevliet J and Malmgren L). *Theriogenology* Vol. 48 Th. 1997: 531-536.
- Feradis. (2010). *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak.* Alfabeta, Bandung.
- Fiqri, M.M., Ducha, N. dan Raharjo. (2014). Motilitas spermatozoa sapi brahman dengan berbagai konsentrasi dalam pengencer CEP-D yang disimpan dalam refrigerator. *LenteraBio*, 3(3): 181-185.
- Garner, D.L. and Hafez, E.S.E. (2000). *Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Reproduction in Farm Animals. 7th Edition.* Lippincott Williams and Wilkins: Maryland. USA.
- Gould, G.W. (1995). *New Methods of Foods Preservation.* Chapman Hall, New York.
- Hafez, E.S.E. (1993). *Semen Evaluation.* Lea and Febiger Philadelphia, USA.
- Hafez, E.S.E. (2004). *X and Y Chromosome Bearing Spermatozoa.* Lea and Febiger Philadelphia, USA.
- Hafez, E.S.E. (2008). *Anatomy of Female Reproduction.* Lea and Febiger Philadelphia, USA.
- Hartanti, D., Setiatin, E.T. dan Sutopo. (2012). Perbandingan penggunaan pengencer semen sitrat kuning telur terhadap persentase daya hidup spermatozoa sapi jawa Brebes. *Animal Agri Journal*, 1(1): 33-42.
- Hayati, A. (2011). *Spermatologi.* Pusat Penerbit dan Percetakan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Indriani., Susilawati, T. dan Wahyuningsih, S. (2013). Daya hidup spermatozoa sapi limousin yang dipreservasi dengan metode *water jacket* dan *free water jacket.* *Jurnal Veteriner*, 14(3): 379-386.
- Inonie, R.I., Baa, L.O. dan Saili, T. (2016). Kualitas spermatozoa kambing boerawa dan kambing kacang pada penggunaan tris-kuning telur yang berbeda. *JITRO*, 3(1): 52-64.
- Kartasudjana, R. (2001). *Teknik Inseminasi Buatan.* Departemen Pendidikan Nasional, Jakarta.
- Lailiyah, F., Srianto, P., Saputro, A.L., Madyawati, S.P., Agustono, B. dan Prastiya, R.A. (2018). Efektifitas daya pisah *Electric Separating Sperm* (ESS) terhadap spermatozoa kromosom X dan Y pada kambing sapera. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3): 93-98.
- Munazaroh, A.M., Wahyuningsih, S. dan Ciptadi, G. (2013). Uji kualitas spermatozoa kambing boer hasil pembekuan menggunakan *mr. frosty*[®] pada tingkat pengenceran *andromed*[®] berbeda. *J. Ternak Tropika*, 14(2): 63-71.
- Octaviani, D. dan Wulan, A.J. (2016). Efek paparan arus listrik terhadap peningkatan biomarker dan kelainan irama jantung. *MAJORITY*, 5(4): 60-64.

- Prastiya, R.A., Saputro, A.L., Zainab, S. dan 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*, 7(3): 216-223.
- Pubiandara, S., Suharyati, S. dan Hartono, M.(2016). Pengaruh penambahan dosis rafinosa dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa sapi ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 4(4): 292- 299.
- 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. dan Hendris. 2008. Peranan beberapa jenis gula dalam meningkatkan kualitas semen beku domba garut. *JITV*, 11(2): 123-130.
- Saputro, A.L., Hermadi, H.A. dan Sosiawati, S.M. (2016). Kualitas spermatozoa domba merino pada sisi anoda hasil pemisahan dengan teknik ESS (*Electric Separating Sperm*). *Veterina Medika*, 9(3): 61-66.
- Solihati, N., Idi, R., Setiawan, R., Asmara, I.Y. dan Sujana, B.I. (2006). Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5°C terhadap periode fertil dan fertilitas sperma. *Jurnal Ilmu Ternak*, 6(1): 7-11.
- Sugiarti, T., Triwulanningsih, M., Situmorang, P., Sianturidan, R.G. dan Kusumaningrum, D.A. (2004). Penggunaan Katalase dalam Produksi Semen Dingin Sapi. *Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, 215–220.
- Sukmawati, E., Arifiantini. dan Purwantara, B. (2014). Daya tahan spermatozoa terhadap proses pembekuan pada berbagai jenis pejantan unggul. *JITV*, 19(3): 168-175.
- Sunarti., Saili, T. dan Nafiu, L.O. (2016). Karakteristik spermatozoa sapi bali setelah *sexing* menggunakan metode kolom albumin dengan lama waktu *sexing* yang berbeda. *JITRO*, 1(1): 65-75.
- Susilawati T. (2004). Keberhasilan IB Menggunakan Semen *Sexing* setelah Dibekukan. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, 195–206.
- Susilawati, T. (2011). *Spermatologi*. UB Press, Malang.
- Susilawati, T. (2014). *Sexing Spermatozoa. Hasil Penelitian Laboratorium dan Aplikasi pada Sapi dan Kambing*. Universitas Brawijaya (UB) Press, Malang.
- Toelihere, M.R. (1985). *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M.R. (1993). *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Weaver, J.C. (1995). *Electroporation Theory: Concepts and Mechanisms*. Humana Press, Totowa.
- Werdhany, I.W., Toelihere, M.R., Supriatna, I. dan Sutama, I.K. (2000). Efek Pemberian Berbagai Konsentrasi a-tokoferol sebagai Antioksidan dalam Pengencer Tris Sitrat terhadap Motilitas Sperma Kambing Peranakan Etawah. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*, 244-252.
- Yuliani, E. dan Lukman, H.Y. 2013. Aplikasi sperma *sexing* berbasis antioksidan terhadap kualitas daya integritas membran serta daya fertilitas induk sapi bali. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, 13: 25-30.