

**PROPORSI SPERMATOZOA X DAN Y KAMBING PERANAKAN
ETEWA (PE) DENGAN KONSENTRASI PUTIH TELUR DAN LAMA
INKUBASI**

SKRIPSI

oleh :

ZULIATI NINGSIH

NIM : 01110078



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG**

MALANG

2007

**PROPORSI SPERMATOZOA X DAN Y KAMBING PERANAKAN
ETEWA (PE) DENGAN KONSENTRASI PUTIH TELUR DAN LAMA
INKUBASI**

SKRIPSI

Diajukan kepada :

Universitas Islam Negeri Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

oleh :

ZULIATI NINGSIH

NIM : 01110078

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG**

MALANG

2007

**PROPORSI SPERMATOZOA X DAN Y KAMBING PERANAKAN
ETEWA (PE) DENGAN KONSENTRASI PUTIH TELUR DAN LAMA
INKUBASI**

SKRIPSI

oleh :

ZULIATI NINGSIH

NIM : 01110078

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan diterima Sebagai Salah Satu persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal

Susunan Dewan Penguji :

Tanda Tangan

- | | | | |
|-------------------------|--|----------|----------|
| 1. Penguji Utama | : Drs. Eko Budi Minarno, M.Pd | (|) |
| 2. Ketua | : Kiptiyah, M.Si | (|) |
| 3. Sekretaris | : drh.Bayyinatl Muchtaromah, M.Si | (|) |

Mengesahkan

Ketua Jurusan Biologi

drh.Bayyinatl Muchtaromah, M.Si

NIP. 150 229 505

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Segala puji Bagi Allah SWT karena atas rahmat, taufiq dan hidayahNya, penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, utamanya kepada :

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Malang
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, SU. DSc. Selaku Dekan fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
3. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang sekaligus Dosen Pembimbing, karena atas bimbingan, bantuan dan kesabaran beliau penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Abah dan Ibu tercinta yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan moril maupun spirituil serta ketulusan do'anya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Teman-teman Biologi, terutama angkatan 2001 beserta semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini.
6. Teman-teman di LPPA Manba'ul Huda Malang yang telah membantu penyelesaian skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah Ilmu Pengetahuan.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Malang, 2 Agustus 2007

Penulis



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sexing spermatozoa X dan Y merupakan salah satu teknologi yang selama ini dikembangkan terutama untuk menunjang inseminasi buatan. Tujuan akhir dari pengembangan metode pemisahan ini adalah agar peternak dapat menentukan jenis kelamin sesuai keinginan sebelum inseminasi buatan (Johnson, 1995).

Ericsson dan Glass (1982) yang dikutip (Hafez, 1993) menyatakan bahwa : spermatozoa berkromosom X (spermatozoa X) dan spermatozoa berkromosom Y (spermatozoa Y) dapat dipisahkan, karena memiliki beberapa sifat fisik yang berbeda. Perbedaan ini didasarkan atas ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil, kandungan DNA yang lebih sedikit, dan pergerakannya yang lebih cepat. Sedangkan spermatozoa X lebih tahan hidup.

Teknik pemisahan spermatozoa X dan Y dapat dilakukan dengan cara dan bahan bermacam-macam. Percobaan yang pernah dilakukan diantaranya dengan menggunakan *albumin gradien*, *gradien percoll*, *sphadex kolom*, modifikasi *swim up*, *flow cytometric*, *pengendapan* (dengan skim milk powder, glisin, sodium sitrat, gliserol), *velocity sedimentation sentrifugasi gradien densitas*, *elektroforesis* (Fugger, Black, 1998).

Pemisahan spermatozoa dengan menggunakan albumin telah dilakukan dengan bahan dasar bovine serum albumin (BSA) yang dilakukan dalam kolom. Selain itu albumin juga dapat memisahkan spermatozoa X dan Y pada manusia dan sapi. Metode ini didasarkan atas perbedaan motilitas spermatozoa X dan Y

sebagai implikasi dari perbedaan massa dan ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dari spermatozoa X, menyebabkan spermatozoa tersebut mampu bergerak lebih cepat atau mempunyai daya penetrasi yang lebih tinggi untuk memasuki suatu larutan.

Banyak yang mengungkapkan tentang kegunaan putih telur, karena putih telur mengandung bermacam-macam protein, enzim inhibitor, anti bakteri, vitamin terikat dan mineral-mineral terikat. Protein merupakan bagian terbanyak penyusun putih telur yang terdiri atas *oval bumin*, *conal bumin*, *ovomuroid*, *lysozyme*, *globulin* dan *ovomucin* sebagai komponen utamanya (Li-Chan, Powrie dan Nakai, 1995).

Saili (1999) juga telah melakukan penelitian menggunakan 50 % putih telur dalam medium Brackett-Oliphant (BO) pada pemisahan spermatozoa sapi yang cukup efektif dalam merubah rasio alamiah spermatozoa yaitu terdapat 73,50 % spermatozoa Y hal ini terjadi karena spermatozoa yang mempunyai motilitas tinggi saja yang mampu menembus putih telur dengan konsentrasi tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah gradien konsentrasi putih telur pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi spermatozoa X dan Y serta kualitas semen kambing PE ?

2. Apakah lama inkubasi pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi spermatozoa X dan Y kualitas semen kambing PE ?
3. Apakah gradien konsentrasi putih telur dan lama inkubasi pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah gradien konsentrasi putih telur pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE.
2. Untuk mengetahui apakah lama inkubasi pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE.
3. Untuk mengetahui apakah gradien konsentrasi putih telur dan lama inkubasi pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan hasil sexing spermatozoa X dan Y untuk diaplikasikan di lapangan agar memperoleh anak dengan jenis kelamin sesuai harapan.
2. Sebagai bahan informasi untuk melakukan sexing spermatozoa X dan Y dengan menggunakan gradien konsentrasi putih telur dan lama inkubasi yang tepat.
3. Penerapan teknologi ini diharapkan dapat meningkatkan efisiensi reproduksi ternak.

1.5 Hipotesis

1. Gradien konsentrasi putih telur pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE
2. Lama inkubasi pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE
3. Gradien konsentrasi putih telur dan lama inkubasi pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE.



Abstrak

Ningsih, Zuliati. 2007. 01110078. **Proporsi Spermatozoa X dan Y Kambing Peranakan Etawa Dengan Konsentrasi Putih Telur Dan Lama Inkubasi.**
Pembimbing : Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.

Kata Kunci : Spermatozoa X dan Y, Putih Telur, Inkubasi.

Sexing spermatozoa X dan Y merupakan salah satu teknologi yang selama ini dikembangkan terutama untuk menunjang inseminasi buatan. Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian dilakukan dengan tujuan : (1) Mengetahui konsentrasi putih telur pada proses sexing dapat mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE ; (2) Mengetahui lama inkubasi yang berpengaruh terhadap proporsi dan kualitas semen kambing PE; (3) Mengetahui konsentrasi putih telur dan lama inkubasi pada proses sexing yang mempengaruhi proporsi dan kualitas semen kambing PE.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium BBIB Singosari Malang pada tanggal 20 Januari sampai dengan 3 April 2006. rancangan penelitian yang digunakan rancangan acak kelompok dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi putih telur yang meliputi : konsentrasi 10% dan 30 %, faktor yang kedua inkubasi yang meliputi : inkubasi 10 menit, 20 menit, dan 30 menit.

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan ANAVA 2 jalur dan jika data tersebut tidak signifikan dilanjutkan dengan UJBD. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ada pengaruh terhadap proporsi spermatozoa X dan Y. proporsi spermatozoa X dan Y tertinggi adalah pada inkubasi 20 menit pada fraksi atas sebesar $69,80 \pm 3,94\%$ sedangkan pada fraksi bawah sebesar $74,00 \pm 9,52\%$.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Kambing Peranakan Etawa (PE)

Ternak kambing PE mempunyai peranan penting dalam menambah penghasilan peternak karena dapat diperoleh dengan biaya murah dan mempunyai daya produksi tinggi (Setiadi dan Sitorus, 1984).

Bangsa kambing PE, sebagaimana diperiksa oleh Rumich (1968) dan Paramsothy (1957) merupakan keturunan kambing jamnapari yang diimpor dari India pada tahun 1920-an merupakan kambing besar, dengan tinggi 70-80 cm, berat badan 40-45 kg (Devandra dan Burns, 1994).

2.2 Pengertian Semen

Semen adalah cairan atau suspensi seluler semigelatin yang mengandung gamet jantan dan seleksi yang berasal dari kelenjar aksesories organ reproduksi jantan. Bagian cairan dari suspensi ini yang terbentuk pada saat ejakulasi disebut seminal plasma (Garner dan Hafez, 1993).

Seminal plasma merupakan sekresi kelenjar kelamin aksesoris yaitu ampula, vesikula seminalis, kelenjar prostat dan bulbouretralis (Lindsay, Entwistle dan Winantea, 1982). Seminal plasma mempunyai fungsi yaitu : (1) sebagai pembawa spermatozoa, transportasi dari sistem reproduksi jantan pada saat ejakulasi (2) menyediakan medium aktivitas sebelum spermatozoa non-motil (3) sebagai *buffer* dan penyedia nutrisi untuk membantu

kelangsungan hidup spermatozoa setelah dideposisikan ke dalam kelamin betina (Evans dan Maxwell, 1987).

2.3 Karakteristik Semen Kambing

Semen kambing berwarna putih dan krem jika konsentrasi spermatozoa tinggi. Kadang-kadang sering berwarna kuning, karena mengandung riboflavin yang disekresikan oleh kelenjar vesikula (Evans dan Maxwell, 1987). Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa semakin keruh semen maka jumlah spermatozoa permililiter semen semakin banyak (Partodihardjo, 1992).

Volume semen setiap penampungan untuk masing-masing ternak berbeda-beda menurut bangsa, umur, ukuran ternak, dan makanan (Partodihardjo, 1992). Volume semen kambing bervariasi setiap penampungan yaitu 0,5 – 1,0 ml (Devandra dan Burns, 1994) atau 0,5 – 1,5 ml (Wildeus, 1995).

Penilaian konsentrasi spermatozoa tiap milliliter semen sangat penting, karena faktor ini dipakai sebagai kriteria penentu kualitas semen dan menentukan tingkat pengencerannya (Foote, 1980). Konsentrasi yaitu jumlah spermatozoa perunit volume (permililiter). Konsentrasi spermatozoa tiap ejakulasi berkisar antara $1,5 - 5,0 \times 10^9$ spermatozoa / ml (Wildeus, 1995). pH rata-rata semen kambing berkisar sekitar 7,0 (Partodihardjo, 1992).

Konsistensi semen tergantung pada rasio kandungan spermatozoa dan seminal plasma. Konsistensi adalah derajat kekentalan yang erat kaitanya dengan

konsentrasi spermatozoa. Semen kambing dapat diklasifikasikan berdasarkan jumlah spermatozoa seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi konsistensi semen kambing PE

Skor	Konsistensi	Jumlah spermatozoa ($\times 10^9$) per ml	
		Rata-rata	Kisaran
5	Krem kental	5,0	4,5 -6,0
4	Krem	4,0	3,5 - 4,5
3	Krem encer	3,0	2,5 – 3,5
2	Putih susu	2,0	1,0 – 2,5
1	Keruh	0,7	0,3 – 1,0
0	jernih	-	-

Sumber : Evans dan Maxwell (1987)

2.4 Sifat fisik dan kimia spermatozoa

Struktur morfologi spermatozoa berbagai jenis hewan sama, spermatozoa normal kambing PE tersusun dari kepala dan ekor. Bentuk kepala spermatozoa bulat lonjong, lebar dan datar pada satu pandangan dan sempit pada pandangan lain. Sedangkan ekor spermatozoa dibagi menjadi bagian tengah dan bagian ujung, bagian ekor sangat penting untuk pergerakan spermatozoa (Toelihere, 1993).

Spermatozoa sebagian besar tersusun dari bahan kimia yaitu *Deoxyribonucleprotein* yang terdapat dalam nukleus yang terletak pada kepala spermatozoa. *Muco-polysaccharide* yang terikat pada molekul-molekul protein terdapat diakrosom yaitu bagian pembungkus kepala, *polysaccharide* yang terdapat pada akrosom mengandung 4 macam gula yaitu : *Fructose*, *galactose*, *mannose* dan *hexosamine* (Partodihardjo, 1992).

Permukaan spermatozoa dilapisi oleh suatu membran *lipoprotein*, selama spermatozoa hidup. Lapisan ini tidak dapat ditembus oleh sejumlah besar zat warna, tetapi bila spermatozoa mati zat warna akan masuk sampai ke bagian tengah kepala spermatozoa yang membedakan spermatozoa hidup dan mati (Lindsay dkk, 1982).

2.5 Sifat fisik dan kimia seminal plasma

Seminal plasma merupakan bagian terbesar kandungan semen yaitu sekitar 90 persen berupa sekresi dari kelenjar aksesoris, sehingga mempengaruhi sifat fisik dan kimia semen (Toelihere, 1993). Seminal plasma memiliki tekanan osmosis sama dengan darah (ekivalen dengan 0,9 persen sodium klorida) (Bearden dan Fuquay, 1984).

Seminal plasma mengandung bermacam-macam zat organik, inorganik dan air (Bearden dan Fuquay, 1984) yang dapat diklasifikasikan :

1. Zat inorganik : terdiri dari sodium dan klorin sebagai zat inorganik utama, kalsium dan magnesium dalam jumlah yang kecil
2. Buffer, merupakan zat organik dalam pembentukan seminal plasma, sebagai zat utama adalah bikarbonat yang diproduksi oleh kelenjar vesikula
3. Substrat energi, komponen utama sebagai substrat untuk spermatozoa dalam seminal plasma terdiri dari fruktosa (gula sederhana), sorbitol (gula alkohol) yang diproduksi oleh kelenjar vesikula dan glycerylphorylcholine (GPC) yang diproduksi di epididimis

4. Komponen organik lain : komponen pembentuk seminal plasma dalam konsentrasi yang cukup besar tetapi tidak digunakan sebagai substansi energi adalah inositol dan asam sitrat keduanya diproduksi oleh kelenjar aksesoris

2.6 Kandungan kromosom spermatozoa

Setiap individu mempunyai kromosom kelamin yang dalam perkembangannya menentukan jenis kelamin anak yang dilahirkan. Sepasang kromosom terdiri dari pasangan kromosom yang sejenis atau homozigot (XX), dan pasangan kromosom yang tidak sejenis atau heterozigot (XY). Ternak jantan pada mamalia membawa pasangan kromosom kelamin yang heterozigot (XY) dan memproduksi dua macam gamet dalam proporsi yang seimbang yaitu gamet yang membawa kromosom X dan Y. Betina membawa pasangan kromosom yang homozigot (XX), sehingga hanya menghasilkan satu jenis gamet. Kombinasi dari gamet yang mungkin terbuahi hanya dua dan hasilnya 50 % jantan dan 50 % betina (Pineda, 1989).

Spermatozoa hanya mengandung setengah jumlah DNA pada sel-sel somatik sebagai hasil pembelahan reduksi selama spermatogenesis, sehingga terbentuklah dua macam kromosom. Spermatozoa yang membawa kromosom X disebut spermatozoa X dan spermatozoa yang membawa kromosom Y disebut spermatozoa Y. Spermatozoa X pada mamalia jika membuahi sel telur akan menghasilkan embrio betina sedangkan spermatozoa Y akan menghasilkan embrio jantan (Graves, 1994 dan Toelihere, 1985).

Semua sel tubuh akan didapatkan autosom-autosom yang berpasangan yang diploid dan satu pasang seks kromosom. Secara primer jenis kelamin ditentukan oleh kromosom seks. Hewan mamalia dalam semua sel tubuh betina didapatkan dua kromosom X dan pada hewan jantan didapatkan satu kromosom X dan satu kromosom Y (Yatim, 1986).

2.7 Sexing spermatozoa X dan Y menggunakan albumin

Ueda dan Fujiwara (1987) menerangkan bahwa Ericsson pada tahun 1973 telah melakukan sexing spermatozoa X dan Y pada manusia berdasarkan pergerakan spermatozoa, spermatozoa Y yang lebih cepat gerakannya dibanding spermatozoa X, yaitu dengan menggunakan medium BSA didapat lebih dari 85 % spermatozoa Y. Spermatozoa sapi hasil seleksi dengan kolom albumin telah berhasil dibekukan dan dapat dilakukan secara komersial (Hafez, 1993 ; Krzyzaniak dan Hafez, 1987).

Hendri (1992) telah melakukan penelitian dengan menggunakan konsentrasi tunggal BSA 6 % dalam kolom cukup efektif untuk memisahkan spermatozoa X dan Y pada sapi. Inseminasi dengan spermatozoa yang masuk ke dalam suspensi BSA menghasilkan anak jantan yang lebih banyak dari anak betina yaitu masing-masing sebesar 83,3 % dan 16,7 %, sedangkan inseminasi menggunakan semen bagian atas diperoleh anak betina lebih banyak dari pada anak jantan yaitu masing-masing sebesar 61,5 % dan 38,5 %. Jaswandi (1992) menggunakan konsentrasi bertingkat larutan BSA 6 % (lapisan atas) dan 10 % (lapisan bawah) pada ternak sapi perah. Hasil penelitian tersebut

mengungkapkan bahwa inseminasi dengan fraksi semen bagian bawah didapatkan rasio jenis kelamin ternak jantan 62,5 % dan betina 37,5 %, sedangkan inseminasi dengan fraksi semen bagian tengah diperoleh jantan 22,2 % dan betina 77,8 %.

Saili (1999) melakukan pemisahan dengan menggunakan konsentrasi putih telur secara bertingkat antara 10 % dan 30 % pada lapisan atas dan 50 % pada lapisan bawah. Pada lapisan bawah dengan dengan konsentrasi 30 % dalam pengencer dapat mengisolasi 71,50 persen dan pada konsentrasi 50 % dapat mengisolasi 73,50 % spermatozoa Y.

2.8 Pengenceran Semen

Pengenceran semen selain menambah volume semen juga berfungsi untuk melindungi dan memperpanjang hidup spermatozoa. Pengencer tris aminomethan kuning telur dibuat dengan komposisi bahan tris (*hydroxymethyl*) aminomethan, asam sitrat, raffinosa, fruktosa, laktosa, kuning telur streptomycin, penicillin dan gliserol (Anonimous, 1998).

Tris (*hydroxymethyl*) aminomethan merupakan komponen penyangga pH (*buffer*) untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat hasil metabolisme spermatozoa dan mampu mempertahankan tekanan osmosis serta keseimbangan elektrolit. Asam sitrat selain berfungsi sebagai *buffer* juga mengikat butir-butir kuning telur serta mempertahankan tekanan osmosis dan keseimbangan elektrolit. Fruktosa menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Laktosa berfungsi penyedia zat-zat makanan pada saat pembekuan.

Kuning telur dan Gliserol berfungsi sebagai pelindung *cold shock* dan sumber energi (Evans dan Maxwell, 1987). Antibiotik ditambahkan dalam pengencer berfungsi untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Gliserol dalam pengencer berfungsi sebagai *cryoprotectan* yaitu perlindungan spermatozoa terhadap efek letal pada saat pembekuan (Anonimus,1998).

2.9 Sifat Fisik dan Kimia Putih Telur

Putih telur yang sering disebut albumin, merupakan bagian dari telur yang berfungsi sebagai antibakteri dan buffer untuk mempertahankan sifat fisik dan kimia telur (Li-Chan, Powrie dan Nakai, 1995). Putih telur terdiri dari tiga lapisan materi yaitu *inner thin albumin* berbentuk cairan agak kental yang terletak pada bagian paling dalam dari putih telur, *thick albumin* merupakan lapisan bagian tengah dan sifat kental, serta lapisan *outer thin albumin* yang merupakan kantung albumen yang terletak pada bagian paling luar putih telur (Mc Williams, 1997).

Putih telur terdiri dari bermacam-macam protein, enzim inhibitor, anti bakteri, vitamin terikat dan mineral-mineral yang terikat (Froning, 1994). Komponen utama yang terdapat dalam putih telur seperti pada tabel 2.

Tabel 2. komponen-komponen pokok kandungan putih telur

Komponen	Kandungan (%)		
	Protein	12,0	9,7-10,6*
Glukosa	0,4	0,4-0,9*	-
Lemak	0,3	0,03*	0,2**
Garam	0,3	-	-
Abu	-	0,5-0,6*	0,8**
Air	87,0	87,87-89,37*	88,0**

Sumber : Wootton (1978); Li-Chan, * Powrie dan Nakai (1995);
 ** Mc Williams (1997)

Protein merupakan bagian terbanyak bahan organik yang menyusun putih telur yang terdiri atas *ovalbumin, ovotransferin, ovomucoid, ovomucin, lysozyme, avidin* dan *globulin* sebagai komponen utamanya (Froning, 1994; Wood, 1983 dan Mc Williams, 1997). Persentase protein yang terdapat pada putih telur seperti pada tabel 3.

Tabel 3. kandungan protein dalam putih telur

Protein	Kandungan (%)	titik isoelektrik	Berat molekul (Dalton)
Ovalbumin	45	4,5	45000
Ovotransferin	12	6,1	76000
Ovomucoid	11	4,1	28000
Ovomucin	3,5	5,5-5,0	$5,5-8,3 \times 10^6$
Lysozyme	3,4	10,7	14300
G ₂ - Globulin	4,0	5,5	$3,0-4,5 \times 10^4$
G ₃ - Globulin	4,0	4,0	-
Ovoinhibitor	1,5	5,1	49000
Ficin(cystatin)inhibitor	0,05	5,1	12700
Ovoglycoprotein	1,0	3,9	24400
Ovomacroglobulin	0,5	4,5	$7,6-9,0 \times 10^5$
Avidin	0,05	10	68300

Sumber : Powrie dan Nakai (1986) disitasi Froning (1994)

Sifat dan fungsi beberapa komponen penyusun putih telur (Froning, 1994; Hazel wood, 1983 dan Mc Williams, 1997) yaitu :

- 1.Ovalbumin : merupakan protein yang terdapat di dalam putih telur yang berlimpah kurang lebih 45% bersifat Phosphoglycoprotein
- 2.Ovotransferin : sering disebut Conalbumin yang potensial mengikat Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} dan Ni^{2+} .

3. Ovomuroid : merupakan kekuatan pelindung proteolisis, pelindung tripsin dan pelindung spesies spesifik serta mengandung 22 % karbohidrat.
4. Ovomucin : sebagai cadangan karbohidrat yang dapat dipecahkan, merupakan serat protein dan fungsi sebagai penjaga viskositas putih telur.
5. Lysozyme : menghidrolisis ikatan β (1-4) Glycosidic dalam dinding sel bakteri peptidoglycan, membantu pembentukan oligosaccharides dari dinding sel bakteri tetrasaccharide oleh transglycosylation.
7. Ovoinhibitor : sebagai pelindung proteolytic bermacam enzim, misalnya tripsin, chymotrypsin, papain dan facin.
8. Facin (cystatin) inhibitor : melindungi thioproteasa.
9. Ovoglycoprotein : sebagai sialoprotein
10. Ovomacroglobulin : sebagai antigenik kuat
11. Avidin : sebagai gen anti bakteri dan mengikat biotin.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental*. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktor dengan 6 perlakuan serta 10 ulangan pada masing-masing kelompok

3.1.1 Identifikasi Variabel Penelitian

3.1.1.1 Variabel bebas : lama inkubasi 10 menit, 20 menit, 30 menit dan gradien konsentrasi putih telur

3.1.1.2 Variabel tergantung : motilitas spermatozoa, persentase spermatozoa X dan Y.

3.2 Tempat dan waktu

Penelitian ini dilakukan di Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari Kab. Malang, pada tanggal 20 januari sampai 3 april 2006.

3.3 Alat-alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat :

3.3.1.1 Mengambil semen kambing : vagina buatan, slongsong hitam, tabung reaksi label, gloves, overal, helmet, safety boots dan kun

3.3.1.2 Pemeriksaan semen segar : mikroskop, obyek glass, cover glass, spektrofotometer, kertas lakmus, Nacl dan tabung reaksi

3.3.1.3 Pengenceran semen segar : mikropipet, Erlenmeyer

3.3.1.4 Separasi spermatozoa : sentrifugasi, tabung sentrifugasi berskala dengan kapasitas 15 ml, tabung reaksi dan mikropipet kapasitas 200 UI dan 1000 UI

3.3.1.5 Pemeriksaan kualitas semen hasil sexing : mikroskop cahaya binokuler, obyek glass dan counter

3.3.1.6 Pengukuran kepala spermatozoa X dan Y : mikroskop cahaya binokuler, obyek glass, mikroskop obyektif dan mikroskop okuler

3.2 Bahan penelitian

3.2.1 Sperma uji : sperma kambing peranakan etawa (PE) yang telah birahi dengan cara *bull teaser* yang berasal dari BBIB Singosari Malang

3.2.2 Bahan pengencer : tris amino methan 0,6815 g, citrid acid 1,3810 g, laktosa 0,7500 g, raffinosa 1,3500 g, fruktosa 0,1875 g, kuning telur 100 ml, penicillin 0,050 g, streptomycin 0,050 g dan aquadest 37,75 ml

3.2.3 Bahan separasi spermatozoa X dan Y : putih telur dan tris amino methan kuning telur

3.2.4 Bahan pemeriksaan sperma hasil sexing : pewarna eosin-negrosin dan Nacl 0,3%

3.2.5 Bahan pengukuran kepala spermatozoa X dan Y : preparat ulas hasil dari pemeriksaan spermatozoa setelah sexing

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan Acak Kelomok (RAK) dengan dua faktor, yaitu:

3.4.1 Gradien konsentrasi putih telur, yaitu:

3.4.1.1 Gradien konsentrasi putih telur 10 persen

3.4.1.2 Gradien konsentrasi putih telur 30 persen

3.4.2 Lama inkubasi, yaitu :

3.4.2.1 Lama inkubasi 10 menit

3.4.2.2 Lama inkubasi 20 menit

3.4.2.3 Lama inkubasi 30 menit

dengan 6 perlakuan serta 10 ulangan pada masing-masing kelompok.

Perlakuan dalam penelitian ini adalah :

P₁: Gradien konsentrasi putih telur 10 persen dengan lama inkubasi 10 menit

P₂: Gradien konsentrasi putih telur 30 persen dengan lama inkubasi 10 menit

P₃: Gradien konsentrasi putih telur 10 persen dengan lama inkubasi 20 menit

P₄: Gradien konsentrasi putih telur 30 persen dengan lama inkubasi 20 menit

P₅: Gradien konsentrasi putih telur 10 persen dengan lama inkubasi 30 menit

P₆: Gradien konsentrasi putih telur 30 persen dengan lama inkubasi 30 menit

3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi persiapan alat dan bahan, pemeriksaan semen segar, pengenceran semen segar, sexing spermatozoa X dan Y, pemeriksaan semen setelah sexing.

3.5.1 Persiapan alat dan bahan

langkah-langkah yang harus dipersiapkan dalam penelitian meliputi :

- a. Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian disterilisasikan terlebih dahulu
- b. Bahan padat yang diperlukan untuk membuat bahan pengencer ditimbang terlebih dahulu kemudian mengukur bahan cair sesuai yang dibutuhkan

c. Ekstrak kuning telur : telur dicuci sampai bersih kemudian digosok dengan alkohol 70% dan dibiarkan sampai kering lalu dipecahkan diruang steril dan hanya diambil kuning telurnya saja. Kuning telur dipisahkan dari selaput vitelin dengan menggunakan kertas saring (Toelihere, 1981).

3.5.2 Pemeriksaan Semen Segar

Pemeriksaan semen segar meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis, antara lain :

- a. Warna : pemeriksaan warna semen dilakukan dengan melihat semen yang ada pada tabung penampungan secara langsung.
- b. Konsistensi : pemeriksaan konsistensi atau derajat kekentalan dilakukan dengan cara mengambil satu tetes semen dimasukkan ke dalam larutan NaCl kemudian dimasukkan pada spektrofotometer, jika konsentrasi semen (>1500) maka konsistensinya pekat, (<1000) konsistensi encer dan jika antara 1000-1500 konsistensi sedang.
- c. Volume : volume diketahui dengan membaca skala yang terdapat pada tabung penampungan. Volume semen untuk masing-masing ternak berbeda tergantung pada bangsa, umur, berat badan, tingkat makanan, frekuensi penampungan (Toelihere, 1981).
- d. pH : untuk mengetahui pH semen, dilakukan dengan menetaskan semen pada kertas lakmus sebanyak satu tetes. Uji pH semen menggunakan pH paper BTB atau MR, pH normal semen biasanya berkisar antara 6,2-6,8.
- e. Konsentrasi : untuk mengetahui konsentrasi semen dilakukan dengan menggunakan spektrophotometer dengan cara mengambil semen sebanyak 2 ml

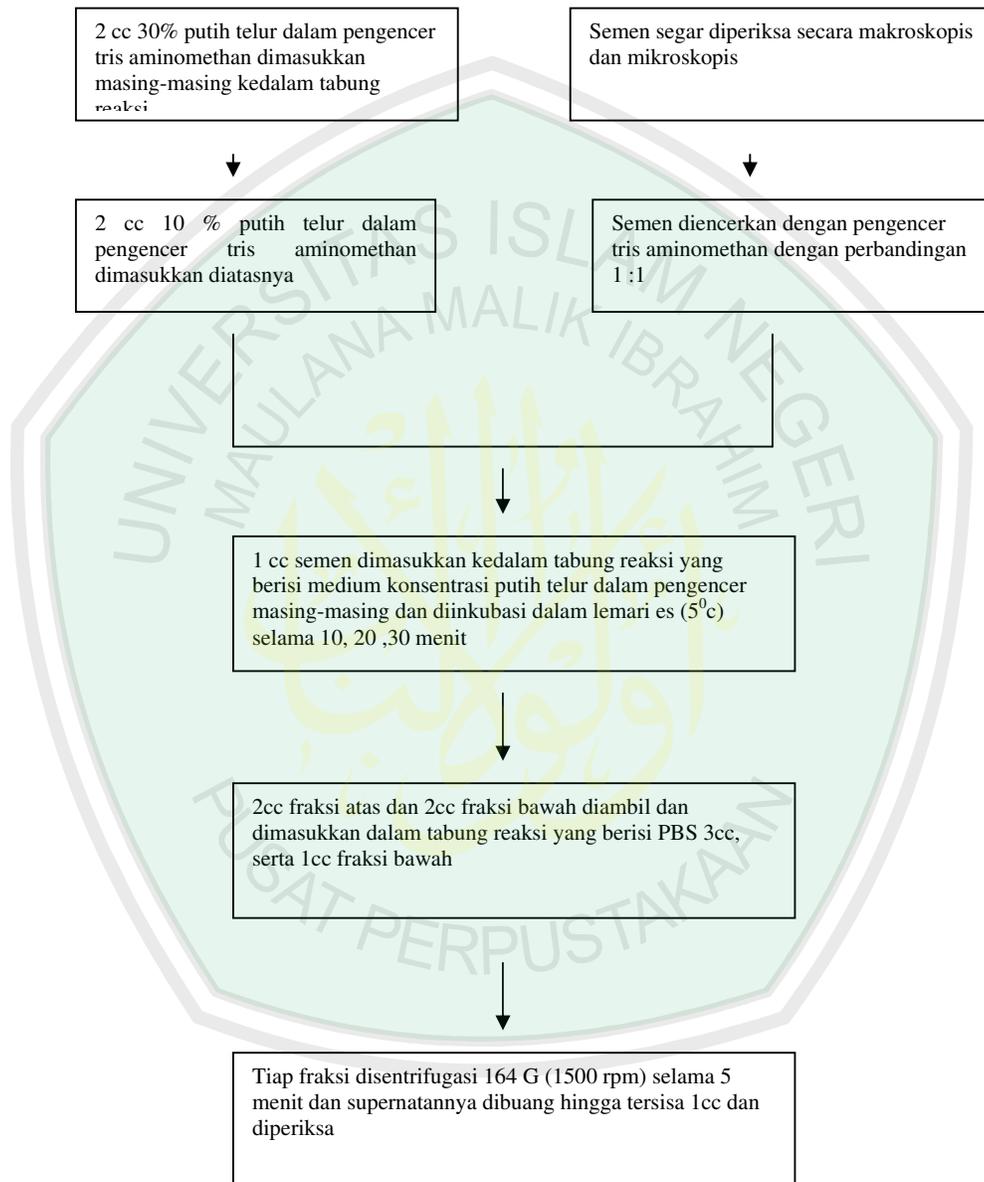
yang dicampur dengan NaCl 0,9 %, kemudian dihomogenkan (dimixer) selama 7 detik setelah homogen dimasukkan ke dalam spectrophotometer dan dilihat jumlah konsentrasi semennya.

Pemeriksaan mikroskopis, antara lain :

- a. Gerak massa : gerak atau motilitas spermatozoa progresif maju kedepan, bergelombang cepat dan padat dinilai +++, motilitas spermatozoa cepat dan padat membentuk pusaran-pusaran gelombang dinilai ++, dan motilitas spermatozoa membentuk pusaran gelombang dinilai +.
- b. Gerak individu : daya gerak spermatozoa progresif maju ke depan, bergelombang cepat dan padat. Gerak individu sangat menentukan dalam proses sexing, artinya semen yang akan disexing minimal harus mempunyai gerak massa 2+ dan gerak individu 70%, karena meskipun semen mempunyai konsentrasi tinggi tetapi bila gerak massanya kurang dari 2+ dan gerakan individu spermatozoa kurang dari 70% maka semen tersebut afkir. Pergerakan yang lebih baik adalah pergerakan maju dengan rotasi pada sumbu memanjang.
- c. Persentase hidup : persentase hidup spermatozoa yang motil (normal) mempunyai gerak individu 70 % dan gerak massa +++ atau ++, dan spermatozoa yang abnormal kurang dari 10 %.

3.5.3 Prosedur Sexing

Prosedur sexing spermatozoa X dan Y kambing Peranakan Etawa



3.5.4 Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa Hasil Sexing

a. Motilitas Spermatozoa

Penilaian motilitas spermatozoa diamati dengan membuat preparat atau satu tetes semen ditetaskan di atas obyek glas dan di tutup dengan cover glas, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

b. Vabilitas Spermatozoa

Pemeriksaan vabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara meneteskan semen di atas obyek glas sehingga membentuk satu lapisan tipis, kemudian dikeringkan di udara dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna dan spermatozoa yang mati akan menyerap warna (Toelihere, 1993).

c. Pengukuran Kepala Spermatozoa

Preparat ulas yang digunakan untuk menghitung viabilitas spermatozoa, dapat digunakan untuk pengukuran spermatozoa dalam tiap preparat ulas diukur besar kepala spermatozoa (panjang kali lebar) sebanyak 100 spermatozoa untuk semen segar dan 25 spermatozoa untuk semen hasil sexing, di bawah mikroskop cahaya yang dilengkapi dengan mikroskop okuler ukuran 0,01 mm. Cara pengukuran spermatozoa menggunakan micrometer okuler di atas dan mikro meter obyektif di bawah

3.6 Analisis data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan ANAVA dua jalur, jika data yang dianalisis tidak signifikan maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil penelitian

Hasil evaluasi semen segar pada penelitian ini memberikan gambaran karakteristik semen kambing PE yang normal tabel 4.1

Tabel 4.1 Karakteristik semen segar kambing PE

Parameter	Rata-rata ± sd
volume (ml / ejakulat)	0,74 ± 0,37
warna	krem (kekuningan)
pH	6,90 ± 0,32
motilitas massa	baik (++)
motilitas individu (%)	70,00
persentase hidup (%)	82,50 ± 9,55
konsistensi	kental
Konsentrasi (juta / ml)	3730,50 ± 721,74

Tabel 4.2 Rata-rata persentase spermatozoa Y setelah sexing pada tiap fraksi

Perlakuan	Fraksi atas (%)	Fraksi bawah (%)
Inkubasi 10 menit	52,20 ± 6,96 ^c	60,10 ± 8,82 ^a
Inkubasi 20 menit	30,20 ± 3,94 ^a	74,60 ± 9,52 ^{bc}
Inkubasi 30 menit	46,70 ± 4,32 ^b	69,80 ± 7,57 ^b

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom fraksi atas menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P \leq 0,01$) dan kolom fraksi bawah menunjukkan perbedaan yang nyata ($P \leq 0,05$).

Tabel 4.3 Persentase motilitas spermatozoa setelah sexing pada tiap fraksi

Perlakuan	Fraksi atas (%)	Fraksi bawah (%)
Inkubasi 10 menit	49,00 ± 9,07 ^b	48,00 ± 10,33
Inkubasi 20 menit	50,50 ± 5,51 ^{bc}	43,00 ± 4,83
Inkubasi 30 menit	45,00 ± 5,27 ^a	44,00 ± 5,16

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata

Tabel 4.4 Rata-rata viabilitas spermatozoa setelah sexing pada tiap fraksi

Perlakuan	Fraksi atas	Fraksi bawah
Inkubasi 10 menit	66,02 ± 6,00	65,36 ± 4,35 ^a
Inkubasi 20 menit	67,91 ± 11,17	72,00 ± 6,28 ^b
Inkubasi 30 menit	65,38 ± 9,83	72,89 ± 3,41 ^{bc}

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan yang sangat nyata

Tabel 4.5 Rata-rata persentase konsentrasi spermatozoa setelah sexing pada tiap fraksi

Perlakuan	Fraksi atas (%)	Fraksi bawah (%)
Inkubasi 10 menit	50,64 ± 2,45 ^b	35,78 ± 5,25 ^a
Inkubasi 20 menit	40,45 ± 3,23 ^a	41,65 ± 6,28 ^a
Inkubasi 30 menit	37,88 ± 3,09 ^a	49,66 ± 4,42 ^b

Keterangan : superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata

4.2 Analisis hasil penelitian

Pemeriksaan semen segar dilakukan secara makroskopis yang meliputi Volume, warna, konsistensi, pH dan pemeriksaan secara mikroskopis yang meliputi motilitas massa, motilitas individu, dan viabilitas.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap persentase spermatozoa Y pada fraksi atas setelah sexing dan persentase tertinggi ditunjukkan pada waktu inkubasi 10 menit, tetapi tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$) dengan waktu inkubasi 30 menit. Pada fraksi bawah waktu inkubasi memberikan pengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap persentase spermatozoa Y dan waktu inkubasi 20 menit menunjukkan persentase tertinggi tetapi tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$) dengan waktu inkubasi 30 menit (lampiran 5 dan 6).

Persentase motilitas spermatozoa setelah sexing pada tiap fraksi menunjukkan bahwa perlakuan waktu inkubasi memberikan pengaruh nyata terhadap motilitas spermatozoa fraksi atas setelah sexing. Inkubasi 20 menit memberikan motilitas yang baik dibandingkan dengan inkubasi 10 menit maupun 30 menit, tetapi inkubasi 10 menit tidak beda nyata dengan lama inkubasi 20 menit (Lampiran 7). Dari rata-rata motilitas spermatozoa hasil sexing pada fraksi bawah dengan waktu inkubasi 10 menit menunjukkan hasil tertinggi, namun demikian hasil analisis pada lampiran 8. menunjukkan bahwa waktu inkubasi tidak memberikan pengaruh nyata.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa waktu inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap persentase hidup spermatozoa pada fraksi atas, sedangkan pada fraksi bawah waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata terhadap persentase hidup spermatozoa setelah sexing. Waktu inkubasi 30 menit memberikan hasil yang terbaik yaitu $72,89 \pm 3,41$ % tetapi tidak berbeda nyata

dengan waktu inkubasi 20 menit yaitu sebesar $72,00 \pm 6,28 \%$ (Lampiran 9 dan 10).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata terhadap persentase konsentrasi spermatozoa pada fraksi atas maupun fraksi bawah. Waktu inkubasi 10 menit pada fraksi atas memberikan persentase konsentrasi tertinggi setelah sexing dan pada fraksi bawah persentase konsentrasi tertinggi pada waktu inkubasi 30 menit yang besarnya masing-masing $50,64 \pm 2,45 \%$ dan $49,67 \pm 4,42 \%$ (lampiran 11 dan 12).

4.3 Pembahasan

Volume semen yang dihasilkan oleh kambing PE jantan pada saat ejakulasi sangat bervariasi. Hal ini dipengaruhi antara lain oleh umur kambing, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas makanan dan frekuensi penampungan (Partodihardjo, 1992). Volume semen yang diejakulasikan secara normal pada kambing PE berkisar 0,5 – 1,0 ml (Devandra dan Burns, 1994) atau 0,5 -1,5 ml (Wildeus, 1995). Volume semen yang digunakan dalam penelitian ini rata-rata $0,74 \pm 0,37$ ml tiap ejakulasi, sehingga dapat dikatakan bahwa volume semen tiap ejakulasi pada kambing yang digunakan untuk penelitian ini adalah normal.

Warna semen kambing PE yang digunakan pada penelitian ini adalah baik yaitu krem cenderung kekuningan, semen kambing kadang-kadang berwarna kuning, karena mengandung riboflavin yang disekresikan oleh kelenjar vesikula. Riboflavin tidak berpengaruh terhadap spermatozoa dan kesuburan semen itu sendiri (Partodihardjo, 1992). Derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi

spermatozoa, semakin keruh biasanya jumlah spermatozoa permililiter semen semakin banyak (Evan dan Maxwell, 1987).

Hasil pemeriksaan semen segar menunjukkan pH yang normal yaitu rata-rata 7,0 atau berkisar 6,9 – 7,5 untuk spesies yang berbeda. Pernyataan ini diperkuat oleh Partodihardjo (1992) yang menyatakan rata-rata semen berkisar 7,0.

Spermatozoa mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama dalam kelompok (motilitas massa), sehingga akan membentuk gelombang-gelombang tebal dan tipis. Motilitas massa spermatozoa dapat dilihat secara jelas menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Hasil pengamatan pada semen segar didapatkan motilitas massa adalah baik (++) hal ini didasarkan pada pendapat Partodihardjo (1992) dan Toelihere (1985) bahwa semen dengan kualitas baik mempunyai ciri-ciri : terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang dan bergerak agak lamban.

Motilitas individu yang dihitung adalah gerakan spermatozoa progresif kedepan sebagai gerakan spermatozoa yang normal, sedangkan gerakan spermatozoa yang tidak normal adalah gerakan yang melingkar dan gerakan kebelakang (Bearden dan Fuquay, 1984). Motilitas individu yang diperoleh adalah 70 persen hal ini sesuai dengan pendapat Mc Donald dan Pineda (1989) yang menyatakan bahwa semen kambing menunjukkan kemampuan gerakan progresif rata-rata 70 persen. Bearden dan Fuquay (1984) lebih lanjut menyatakan semen kualitas tinggi yang memiliki morfologi normal menunjukkan motilitas individu 80 – 90 persen.

Viabilitas spermatozoa dari hasil pemeriksaan diperoleh rata-rata $82,50 \pm 9,55 \%$. Hal ini telah memenuhi syarat sebagai semen yang baik, karena menurut Toelihere (1985) semen yang baik mempunyai viabilitas minimal 50 %. Pemeriksaan viabilitas dilakukan dengan penafsiran mikroskopis berdasarkan affinitas mengisap zat warna eosin-negrosin oleh spermatozoa. Spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna eosin-negrosin dan spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna, sehingga dengan menggunakan mikroskop terlihat jelas perbedaan yang kontras antara yang mati (gelap) dan yang hidup (jernih) (Evan dan Maxwell, 1987 ; Partodihardjo, 1992).

Konsistensi semen berhubungan dengan konsentrasi spermatozoa, semakin kental semen, maka akan semakin tinggi konsentrasi spermatozoa yang terkandung didalamnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Evans dan Maxwell (1987) bahwa kekentalan semen akan naik selaras dengan kenaikan konsentrasi spermatozoa. Konsentrasi yang diperoleh setelah pemeriksaan adalah $3730,50 \pm 721,74$ juta spermatozoa / ml. Konsentrasi ini masih dalam kisaran normal sesuai dengan pendapat Evans dan Maxwell (1987) bahwa semen warna krem dengan konsistensi kental memiliki konsentrasi 3500 – 4500 juta spermatozoa / ml. Hal tersebut dipertegas dengan pendapat Wildeus (1995) bahwa konsentrasi spermatozoa kambing PE berkisar 500-1500 juta spermatozoa / ml.

Pengukuran kepala spermatozoa dilakukan dengan cara mengukur panjang dan lebar dari 1000 spermatozoa yang berasal dari semen segar sebelum dipisahkan. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa ukuran spermatozoa pada semen segar memiliki rata-rata panjang kepala $7,93 \pm 0,28 \mu\text{m}$ dan rata-rata lebar

kepala $4,07 \pm 0,24 \mu\text{m}$. Hasil pengukuran besar kepala spermatozoa (pxl) pada semen segar diperoleh rata-rata $32,23 \pm 2,21 \mu\text{m}$.

Hasil pengukuran diatas tidak berbeda dengan batasan yang diberikan Bearden dan Fuquay (1984) tentang ukuran spermatozoa yaitu panjang kepala rata-rata 8 -10 μm , lebar kepala 4 μm dan besar kepala antara 32 – 40 μm , sedangkan Toelihere (1985) menyatakan bahwa panjang kali lebar kepala spermatozoa kira-kira 32 – 45 μm .

Spermatozoa X adalah spermatozoa yang mempunyai besar kepala sama dengan diatas rata-rata dan spermatozoa Y adalah spermatozoa yang mempunyai besar kepala dibawah rata-rata (Saili, 1999). Berdasarkan cara penentuan tersebut diperoleh hasil persentase spermatozoa X sebanyak 45,10 % dan spermatozoa Y sebanyak 54,90 %.

Pengamatan ukuran spermatozoa dari hasil penelitian ini tidak menunjukkan perbandingan 50 % spermatozoa X dan 50 % spermatozoa Y, tetapi menurut hasil perhitungan statistik dengan chi-square menunjukkan bahwa perbandingan 45,10 dan 54,90 tidak memberikan perbedaan nyata ($P \geq 0,05$) atau dapat dikatakan hasil pengukuran tersebut sama dengan teori bahwa rasio spermatozoa X dan Y yaitu 1:1 (lampiran 4). Bearden dan Fuquay (1984), Pineda (1989) dan Graves (1994) berpendapat bahwa perbandingan spermatozoa X dan Y yang dihasilkan dari proses spermatogenesis pada fase meiosis yang secara normal adalah 1 : 1 sehingga masing-masing mempunyai besar peluang yang sama untuk membentuk embrio jantan dan embrio betina.

Berdasarkan cara penentuan macam spermatozoa yang dilakukan pada spermatozoa semen segar bahwa spermatozoa dengan ukuran besar kepala lebih kecil dari $32,23 \pm 2,21 \mu\text{m}$ adalah spermatozoa Y. Persentase spermatozoa Y hasil sexing pada tiap fraksi ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Histogram persentase spermatozoa Y hasil sexing

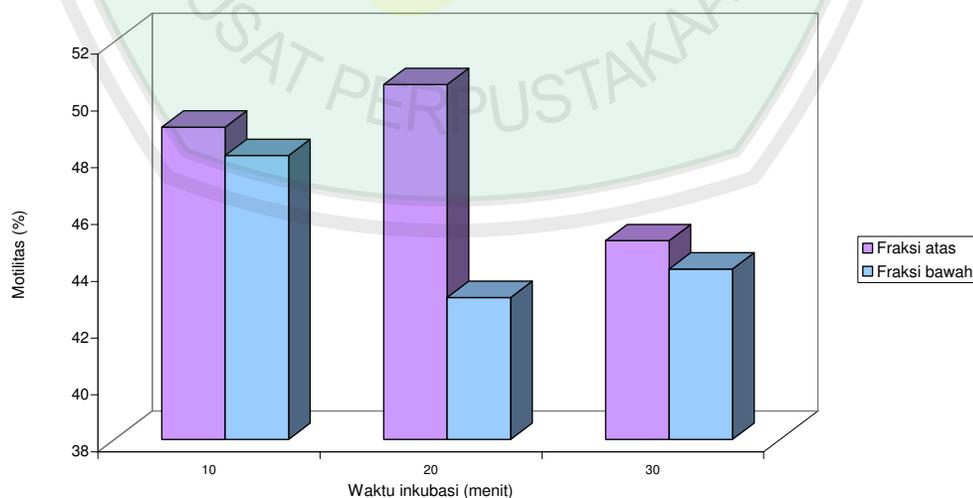
Hasil analisis statistik dan histogram dapat dilihat bahwa rata-rata persentase spermatozoa Y yang terdapat pada fraksi bawah lebih tinggi dari pada fraksi atas. Menurut Ericsson dan Glass yang disitasi Hafez (1993) hal ini disebabkan oleh perbedaan massa dan ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dibanding dengan spermatozoa X, sehingga berimplikasi pergerakan sperma Y yang lebih cepat dan mempunyai daya penetrasi yang lebih tinggi untuk memasuki suatu larutan.

Persentase spermatozoa Y tertinggi pada fraksi bawah dengan waktu inkubasi 20 menit dan cenderung menurun pada waktu inkubasi 30 menit. Hal ini diduga akibat spermatozoa Y memiliki sifat tidak tahan hidup dan mengalami

penurunan motilitas, sehingga tidak dapat menembus larutan dengan konsentrasi putih telur lebih tinggi. Sebaliknya spermatozoa X yang lebih tahan hidup dengan waktu relative lebih lama masih dapat menembus medium 30 % putih telur, sehingga persentase spermatozoa Y mulai menurun akibat spermatozoa X mulai masuk fraksi bawah.

Persentase spermatozoa Y pada fraksi atas mengalami penurunan pada inkubasi 20 menit dan hal ini diduga spermatozoa Y bergerak menuju fraksi bawah dan spermatozoa X yang lambat bergerak masih berada di fraksi atas. Selanjutnya spermatozoa Y pada inkubasi 30 menit mulai naik, karena disebabkan spermatozoa Y yang cepat mati dan spermatozoa X bergerak memasuki fraksi bawah.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata motilitas spermatozoa hasil sexing pada fraksi atas dan fraksi bawah ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Histogram perubahan motilitas spermatozoa hasil sexing pada tiap fraksi.

Hasil analisis statistik dan histogram dapat dilihat bahwa rata-rata motilitas spermatozoa yang terdapat pada fraksi bawah menunjukkan hasil lebih rendah disbanding dengan fraksi atas. Hal ini diduga disebabkan oleh jarak yang ditempuh spermatozoa yang terdapat pada fraksi bawah lebih jauh, hal tersebut berhubungan dengan jumlah penggunaan energi bagi pergerakannya. Spermatozoa yang banyak menggunakan energi pada gilirannya akan menurun motilitasnya bahkan tidak bergerak sama sekali (Saili, 1999). Motilitas dipengaruhi kemampuan metabolisme spermatozoa yang ditunjang oleh lingkungannya antara lain temperatur, lama hidupnya serta komponen-komponen yang terdapat dalam medium. Motilitas spermatozoa akan mengalami penurunan dengan semakin meningkatnya waktu inkubasi. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya waktu inkubasi menyebabkan berkurangnya persediaan energi untuk mempertahankan hidup dan mendukung pergerakan spermatozoa walaupun spermatozoa berada dalam medium yang menyediakan kebutuhan untuk metabolisme, akan tetapi lama kelamaan fungsi optimal medium akan menurun.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa waktu inkubasi tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas spermatozoa pada fraksi atas, sedangkan pada fraksi bawah waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata terhadap viabilitas spermatozoa setelah sexing. Waktu inkubasi 30 menit memberikan hasil yang terbaik yaitu $72,89 \pm 3,41$ % tetapi tidak berbeda nyata dengan waktu inkubasi 20 menit yaitu sebesar $72,00 \pm 6,28$ %. Perubahn viabilitas hasil sexing pada tiap fraksi di tunjukkan pada gambar 3.



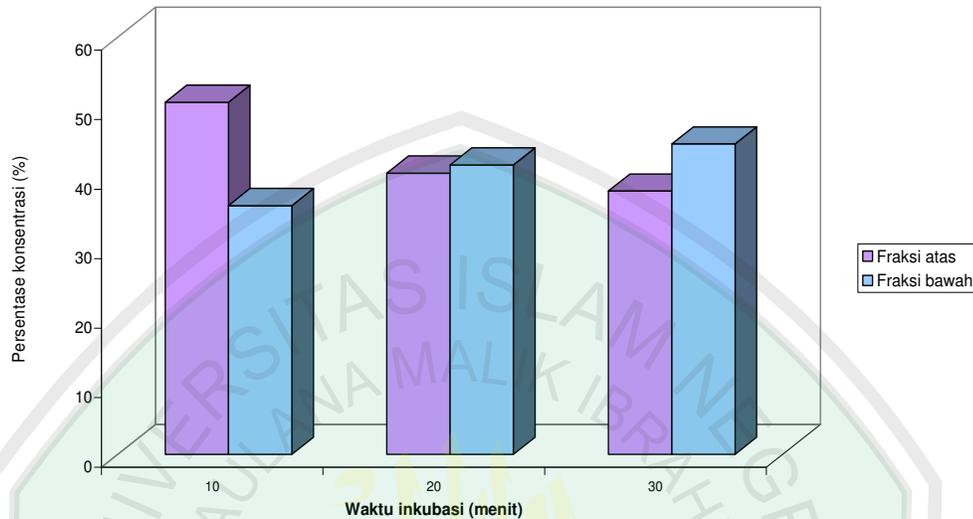
Gambar 3. Histogram perubahan viabilitas spermatozoa hasil sexing pada tiap fraksi.

Hasil analisis statistik dan histogram dapat dilihat bahwa viabilitas spermatozoa dari masing-masing lapisan mengalami penurunan sangat kecil dari semen segar. Lapisan bawah mempunyai tingkat persentase hidup yang lebih tinggi. Tingginya persentase hidup pada lapisan bawah disebabkan bahwa spermatozoa motil saja dapat bergerak dan menembus medium pemisah 30 % putih telur. Spermatozoa yang mempunyai motilitas rendah dan spermatozoa yang mati akan tersaring dan mengendap pada lapisan atas, sehingga persentase lapisan atas lebih rendah dari pada lapisan bawah. Baik pada fraksi atas atau fraksi bawah menunjukkan persentase hidup diatas 60 % dan masih dapat memenuhi syarat untuk dijadikan semen beku, karena menurut Toelihere (1985) semen yang baik adalah semen yang mempunyai persentase hidup diatas 50 %.

Tingginya viabilitas pada fraksi bawah mempunyai kandungan putih telur lebih tinggi dapat diduga adanya *lysozyme* dan *avidin* yang merupakan senyawa yang mengandung antibiotik yang dapat menghancurkan beberapa bakteri (Mc Williams, 1997 ; Hazel wood, 1983).

Penurunan viabilitas spermatozoa yang kecil dari semen segar juga dipengaruhi oleh kemampuan tris aminomethan kuning telur sebagai suplai energi, mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmosis dan keseimbangan elektrolit, dibanding cold shock dan mengandung antibiotik yang mencegah berkembangnya mikroba. Penurunan ini diduga disebabkan akibat perubahan suhu selama proses sexing berlangsung ataupun saat akan dilakukan sentrifugasi.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata terhadap persentase konsentarsi spermatozoa pada fraksi atas maupun fraksi bawah. Waktu inkubasi 10 menit pada fraksi atas memberikan persentase konsentrasi tertinggi setelah sexing dan pada fraksi bawah persentase konsentrasi tertinggi pada waktu inkubasi 30 menit yang besarnya masing-masing $50,64 \pm 2,45 \%$ dan $49,67 \pm 4,42 \%$. Perubahan persentase konsentrasi spermatozoa hasil sexing pada tiap fraksi ditunjukkan pada gambar 4.

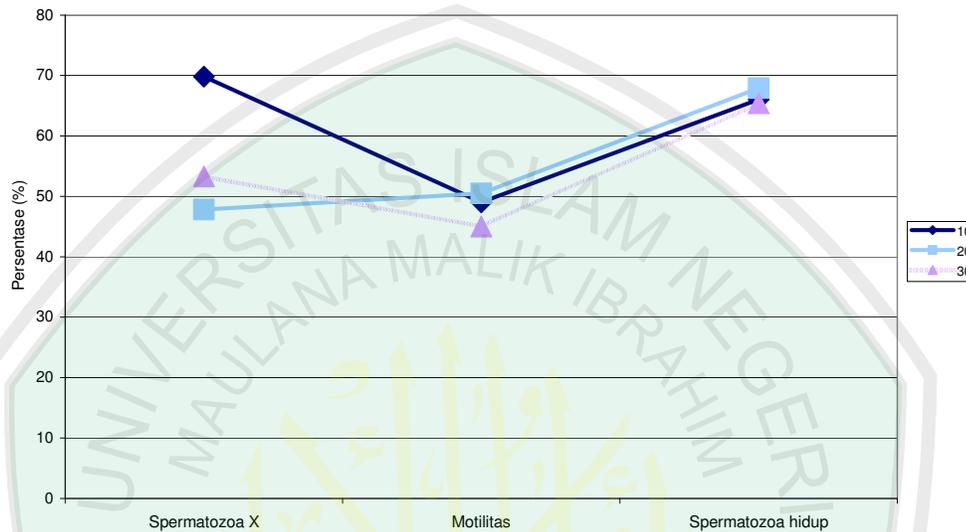


Gambar 4. Histogram persentase konsentrasi spermatozoa hasil sexing pada tiap fraksi

Hasil analisis statistik dan histogram dapat dilihat bahwa persentase konsentrasi spermatozoa pada fraksi atas semakin lama waktu inkubasi maka konsentrasi semakin menurun dan sebaliknya pada fraksi bawah semakin lama waktu inkubasi maka semakin besar pula konsentrasi. Menurunnya konsentrasi spermatozoa dengan bertambahnya waktu pada fraksi atas disebabkan spermatozoa segar mempunyai tingkat motilitas tinggi (minimal 70%), sehingga spermatozoa akan turun kefraksi bawah. Selain itu juga disebabkan gaya gravitasi bumi, spermatozoa yang memiliki massa akan mengalami daya tarik bumi dan bergerak kebawah, sehingga dengan bertambahnya waktu inkubasi maka konsentrasi spermatozoa pada fraksi bawah semakin meningkat.

Keberhasilan sexing dengan menggunakan gradien konsentrasi putih telur pada fraksi atas dengan variabel proporsi spermatozoa X, motilitas

spermatozoa dan persentase hidup spermatozoa ditunjukkan pada gambar 5 dan gambar 6.



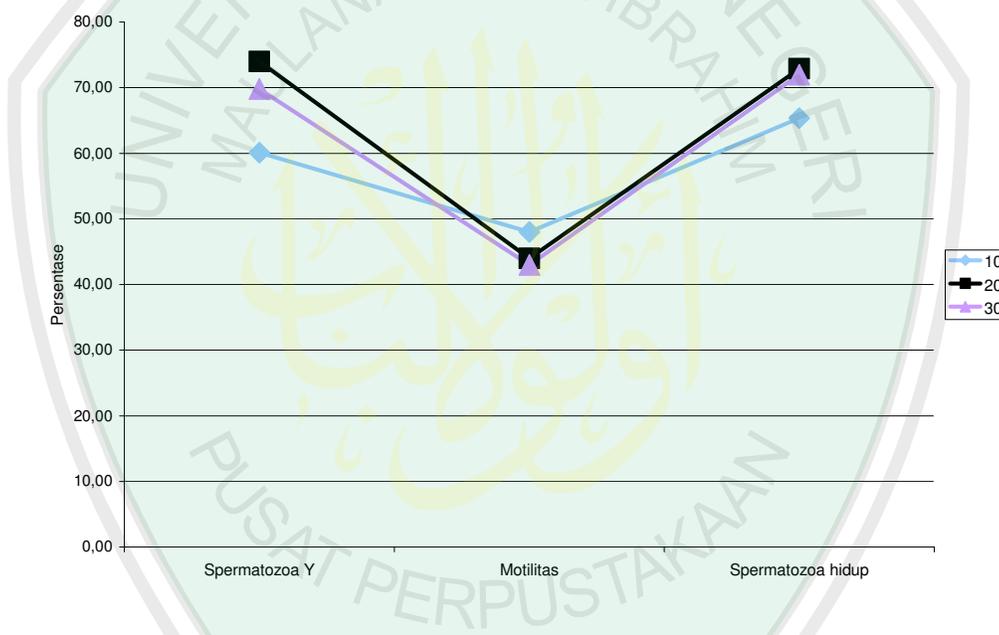
Gambar 5. Grafik kualitas spermatozoa setelah sexing pada fraksi atas.

Grafik pada gambar 5 menunjukkan waktu inkubasi 20 menit pada fraksi atas didapatkan proporsi spermatozoa X tertinggi jika dibandingkan dengan waktu inkubasi 10 dan 30 menit sebesar $69,80 \pm 3,94 \%$ dengan motilitas $50,50 \pm 5,51 \%$ dan persentase hidup $67,92 \pm 11,17 \%$. Perbedaan kualitas spermatozoa hasil sexing yaitu motilitas dan viabilitas spermatozoa setelah dibagi dengan persentase konsentrasi spermatozoa tiap fraksi adalah motilitas spermatozoa dengan inkubasi 10 menit $0,97 \%$ dan viabilitas $1,30 \%$, inkubasi 20 menit 74% dan viabilitas $1,68 \%$ sedangkan inkubasi 30 menit $1,25 \%$ dan viabilitas $1,73 \%$.

Hal ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada waktu inkubasi 20 menit sedangkan viabilitas spermatozoa tertinggi ditunjukkan

oleh waktu inkubasi 30 menit, tetapi tidak jauh beda dengan waktu inkubasi 20 menit. Berdasarkan gambar 5 dapat diambil kesimpulan bahwa fraksi atas pada inkubasi 20 menit efektif mengisolasi spermatozoa X dengan kualitas spermatozoa hasil sexing dalam kategori baik.

Keberhasilan sexing pada fraksi bawah dengan variabel proporsi spermatozoa Y, motilitas spermatozoa dan viabilitas spermatozoa ditunjukkan pada gambar 6.



Gambar 6. Grafik kualitas spermatozoa setelah sexing pada fraksi bawah

Grafik pada gambar 6 menunjukkan bahwa waktu inkubasi 20 menit pada fraksi bawah dihasilkan proporsi spermatozoa Y tertinggi jika dibandingkan dengan waktu inkubasi 10 dan 30 menit yaitu sebesar spermatozoa Y sebesar $74,00 \pm 9,52 \%$ dengan motilitas $43,00 \pm 4,83 \%$ dan viabilitas $72,00 \pm 6,28 \%$. Perbedaan kualitas spermatozoa hasil sexing yaitu motilitas dan viabilitas spermatozoa setelah dibagi dengan persentase konsentrasi tiap fraksi adalah

motilitas spermatozoa dengan inkubasi 10 menit sebesar 1.04 % dan viabilitas 1.68 %, inkubasi 20 menit motilitas spermatozoa sebesar 1.03 % dan viabilitas 1.78 % sedangkan inkubasi 30 menit motilitas spermatozoa sebesar 0.89 % dan viabilitas 1.41 %.

Berdasarkan keterangan di atas menunjukkan viabilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada waktu inkubasi 20 menit, sedangkan motilitas spermatozoa pada waktu inkubasi 20 menit lebih rendah dibandingkan dengan waktu inkubasi 10 menit. Berdasarkan gambar 6 dapat diambil kesimpulan bahwa waktu inkubasi 20 menit pada fraksi bawah cukup efektif mengisolasi spermatozoa Y dengan kualitas spermatozoa hasil sexing cukup baik.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Gradien konsentrasi putih telur dapat digunakan sebagai medium pemisah spermatozoa X dan Y pada kambing PE. Waktu inkubasi 20 menit pada fraksi atas dihasilkan proporsi spermatozoa X sebesar $69,80 \pm 3,94$ % dengan motilitas $50,50 \pm 5,51$ %. Persentase hidup $67,92 \pm 11,17$ %, sedangkan pada fraksi bawah dihasilkan proporsi spermatozoa Y sebesar $74,00 \pm 9,52$ % dengan motilitas $43,00 \pm 4,83$ % dan persentase hidup $72,00 \pm 6,28$ %.

5.2 Saran

Perlu dilakukan uji aplikasi inseminasi buatan menggunakan spermatozoa hasil sexing dengan gradien konsentrasi putih telur serta penelitian lebih lanjut untuk mempertahankan motilitas spermatozoa saat sexing agar dapat dilakukan pembekuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous, 1998. *Petunjuk penampungan, produksi, distribusi dan evaluasi semen beku*. Balai Inseminasi Buatan. Singosari. Malang.
- Bearden Hj and Fuquay Jw, 1984. *Applied animal Reproduction 2 Edition Reston Publishing Company, Inc. A Prentice-Hall compony*. Reston. Virginia.
- Board RG and Transfer HS, 1995. *The microbiologi of eggs. In egg Science and technology, Fourth Edition. Stadelman Wj and cotterill Oj (Editors) the Haworth press. Inc New York*.
- Devandra C dan Burns M, 1994. *Produksi kambing di daerah Tropis*. Institut Teknologi Bogor. Bandung.
- Evans G and Maxwell WMC, 1987. *Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths. Sydney.
- Foote RH, 1980. *Artificial Insemination In Reproduction In Farm Animal 4th Edition*. Hafez,E.S.E (ed). Lea and Febiger. Philadelphia.
- Freshney RI, 1987. *Culture of Animal Cells. Amanual of Basic the Tecnique.2nd Edition*. Willey . liss. *New York*.
- Froning G W, 1994. *New Product Innovation From Eggs In news and Developing Sources of Food Proteins*. Hudson, B.J.F (ed). Chapman and Hall. London.
- Fugger EF, Black SH, Keyvanfar K and Sculman JD, 1998. *Brith of Normal Doughthers After microsort sperm Separation and Intrauterine Insemination, In Vitro Fertilization, or Intracytoplasmic sperm Injection. Manuscript Published September 1998 In Journal Human Reproduction. [http:// w.w.w microsort. Net / Hum Reproduction](http://w.w.wmicrosort.Net/HumReproduction). Hum.*
- Garner DL and Hafez ESE, 1993. *Spermatozoa and Seminal Plasma In reproduction In Farm Animal 6th Edition*. Hafez, ESE (Ed), Lea and Febiger. Philadelphia.
- Graves JAM, 1994. *Mammalia Sex-Determining Genes In the Difference Between the sexes, short, RV and Balaban E* (Ed) Camride University press. London.
- Hafez E.S.E, 1993. *Reproduction In Farm Animal.6th Edition*. *Lea and Fibiger. Philadelphia*.

- Hazelwood RL, 1983. Adaptation of Metabolism to Varius Conditions : Egg Production In Fowl. In Dynamic Biochemistry of Animal Production. Word Animal Science A3. Riis, PM (Editors). *Elsevier science Publishers BV, Amsterdam.*
- Hendri, 1992. Usaha mengubah Rasio Sperm X & Y dengan metode kolom menggunakan larutan Bovine Serum Albumin (BSA) dan penilaian angka kebuntingan serta perbandingan jenis kelamin anak pada kambing. *Tesis.* Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Krzyzaniak LT and Hafez ESE, 1987. X & Y Chormosome – Bearing Spermatozoa. In Reproduction In Farm Animal. 6th Edition. Hafez, ESE (Ed). *Lea and Fibeger. Philadelpia.*
- Jaswandi, 1992. Penggunaan Lapisan Suspensi Bovine Serum Albumin 6 & 10 persen dalam kromosom X & Y guna mengatur Rasio Seks pada Pedet *Tesis.* Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Johnson LA, 1995. New Method Offers Improved Sex Sorting for Livestock. [http :// W.W.W. Genome. Lastate. Edu / recources / other / sexing. html.](http://W.W.W.Genome.Lastate.Edu/reources/other/sexing.html)
- Li – Chan Ecy, Powrie WD and Nakai S, 1995. the Chemistry of Eggs and Egg Products. In science and tecnology. Fourth Edition stadelman Wj and cotteril OJ (Editors) the Haworth Press, *Inc. New York.*
- Lindsay KW, Enwistle dan Winantea A, 1982. *Reproduksi Ternak di Indonsia. Fakultas Peternakan dan Perikanan.* Universitas Brawijaya Malang.
- Mc Donald LE and Pineda MH, 1989, Veterinary Endocrinology and Reproduction. Fourth Edition. *Lea and Fibeger. Philadelpia.*
- Mc Williams M, 1997. Foods Experimental Perspectives. *Third Edition. Prentice Hall. Inc. New Jersey.*
- Partodihardjo S. 1992. *Ilmu Reproduksi Ternak.* Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Pineda MH, 1989. The Biologi of Sex. In Veterinary Endocrinology and Reproduction. Fourth Edition. Mc Donald, LE and Pineda, MH (Editors) *Lea and Febiger. Phiadelpia.*
- Sarli T, 1999. Efektifitas Penggunaan Albumen Sebagai Medium Separasi dalam upaya mengubah rasio Alamiah Spermatozoa Pembawa Kromosom X & Y pada sapi. *Tesis.* Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor.

- Steel RGD dan Torrie JH, 1989. *Prinsip dan Prosedur Statistika*. Edit ke- 2. Penerjemah Bambang Sumantri, PT. Gramedia. Jakarta.
- Belihere MR, 1985. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Belihere MR, 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Ueda and Fujiwara, 1987. Comparison of The F. Body Scoring and The Chromosome Analysis in Evaluating Human X and Y Sperm Separation. In *New Horizons in Sperm Cell Reseach*. Hideo monri (Editors). Japan Scienties Press. *Tokyo*.
- Wildeus S, 1995. Reproductive Management of The Meat Goat. *Http: //Goat. Clemson. Edu / NC % 20 Handbook / reproduction. htm*
- Wootton M, 1978. Eggs and Egg Products. In *Food Science*. Bukle, K . A., Edwards RA, Flet GH and Woottn M (Editors). Australian – Asian Universities Coperation Scheme (AAUCS). *Sydney*.
- Yatim W, 1986. *Genetika*. Penerbit Tarsito. Bandung
- Yitnosumarto S, 1993. *Percobaan, Perencanaan, Analisis dan Interpretasinya*. Gramedia, Pustaka Utama. Jakarta.

DEPARTEMEN AGAMA REPUBLIK INDONESIA

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana 50 Malang Telp (0341) 551354. fax (0341) 572533

BUKTI KONSULTASI

Nama Mahasiswa : Zuliati Ningsih
Nim : 01110078p
Fak / Jurusan : Sains dan teknologi / Biologi
Pembimbing : drh. Bayyinatul Mukhtaromah
Judul skripsi : **Proporsi Spermatozoa X dan Y Kambing PE dengan Konsentrasi Putih Telur dan Lama Inkubasi yang Berbeda**

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Paraf
1	5 april 2005	Pengajuan judul skripsi	1.
2	20 april 2005	Persetujuan judul skripsi	2.
3	8 agustus 2005	Pengajuan Bab I,II,III	3.
4	12 april 2006	Pengajuan Bab IV	4.
5	29 april 2006	Pengajuan Bab IV	5.
6	24 Mei 2007	Persetujuan Bab I, II	6.
7	26 Mei 2007	Persetujuan Bab III	7.
8	2 Juni 2007	Persetujuan Bab IV	8.
9	4 Juni 2007	Persetujuan Bab V	9.

Malang, 5 Juni 2007

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi

drh.Bayyinatul Muchtaromah M.Si

NIP.150.229.505