

SEPARASI SPERMATOZOA X DAN Y MENGGUNAKAN LEVEL ALBUMIN YANG BERBEDA SEBAGAI MEDIA PEMISAH SPERMATOZOA BABI

(SEPARATION X AND Y BOAR'S SPERM USING DIFFERENT LEVELS OF ALBUMIN)

I Made A. Sudarma, W. Marlene Nalley, Henderiana L.L. Belli, Aloysius Marawali

Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana
Jl. Adisucipto, Penfui, Kupang. 8500, (0380) 881084
E-mail: adi_dharma17@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh penggunaan albumin dengan tingkat yang berbeda untuk memisahkan spermatozoa X dan Y sebagai media untuk memisahkan sperma babi jantan. Sperma dipisahkan menggunakan tingkat yang berbeda dari albumin dengan 4 perlakuan: rasio antara fraksi atas dan fraksi bawah: 10 dan 30%, 10 dan 40%, 10 dan 50%, 10 dan 60% selama 1 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proporsi terbaik sperma X oleh fraksi di semua perlakuan, dan juga proporsi terbaik dari sperma Y oleh fraksi bawah pada semua lokasi. Proporsi X:Y dari semen segar (51,68: 48,32 ± 2,66) berbeda ($P < 0,05$) dibandingkan dengan setiap perlakuan sampai fraksi atas (T₁ – 74,02: 25,98 ± 5,65); T₂ – 64,14: 35,86 ± 3,41); T₃ – 62,29: 37,71 ± 3,98), dan T₄ – 59,26: 40,74 ± 4,33)) dan juga fraksi bawah (T₁ – 38,13: 61,87 ± 7,69); T₂ – 35,48: 64,52 ± 6,11); T₃ – 30,37: 69,63 ± 4,93); dan T₄ – 26,41: 73,59 ± 4,54)). Viabilitas dan kelainan sperma setelah dipisahkan tidak berbeda dalam setiap perlakuan. Konsentrasi sperma setelah perpisahan di fraksi atas lebih dari fraksi bawah di semua perlakuan. Sperma babi tidak terpisah selama serangkaian perlakuan dari proses pencucian hingga proses pemisahan dalam media albumin yang mengakibatkan penurunan motilitas sperma dari 73 ± 3% menjadi 6,5 ± 0,58% pada fraksi atas pada perlakuan pertama sampai 3 ± 0,82% di fraksi bawah pada perlakuan keempat di akhir pemisahan. Disimpulkan bahwa perlakuan terbaik untuk mendapatkan sperma X oleh konsentrasi 10 dan 30% sedangkan sperma Y yang oleh konsentrasi 10 dan 60%, sperma setelah perpisahan baik fraksi atas maupun fraksi bawah memiliki motilitas yang sangat rendah.

Kata kunci: sperma babi jantan, pemisahan, albumin, motilitas

ABSTRACT

The aim of this research was to study the effect of using albumin with different level to separate spermatozoa X and Y as medium to separate boar's sperm. Sperm separated using different level of albumin with 4 treatments: ratio between up fraction and bottom fraction: 10 and 30% , 10 and 40%, 10 and 50%, 10 and 60% during 1 hour. The results showed that the best proportion of X sperm were by up fraction in all treatments, and also the best proportion of Y sperm were by bottom fraction in all treatments. The proportion of X : Y from fresh semen (51,68 : 48,32±2,66) were different ($P < 0,05$) compared to each treatment of up fraction (T₁ – 74,02: 25,98±5,65); T₂ – 64,14 : 35,86±3,41); T₃ – 62,29 : 37,71±3,98); and T₄ – 59,26 : 40,74±4,33)) and also bottom fraction (T₁ – 38,13 : 61,87±7,69); T₂ – 35,48 : 64,52±6,11); T₃ – 30,37 : 69,63±4,93); and T₄ – 26,41 : 73,59±4,54)). Viability and abnormality of sperm after separated had no different in each treatment. The sperm concentration after separation at up fraction was more than bottom fraction in all treatment. The boar sperm was not defend to a series of treatment from washing process until separation process within albumin medium that resulted in decreasing the sperm motility from 73±3% to 6,5±0,58% in up fraction at first treatment up to 3±0,82% in bottom fraction at fourth treatment in the end of separation. It can be concluded that the best treatment to get the X sperm were by concentrate 10 and 30% where as the Y sperm were by concentrate 10 and 60%, the sperm after separation in either up or bottom fraction had very low motility.

Key words : boar's sperm, separation, albumin, motility

PENDAHULUAN

Ternak babi merupakan jenis ternak yang cukup penting bagi para peternak kecil di Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT). Secara tradisional ternak babi memainkan peran penting dalam berbagai kegiatan sosial, budaya, keagamaan dan sebagai sumber protein dalam kehidupan masyarakat NTT khususnya di daratan Sumba. Pemanfaatan faktor-faktor produksi termasuk penerapan bioteknologi secara efisien dan efektif sangat diperlukan dalam usaha peternakan babi. Salah satu penerapan bioteknologi dalam bidang reproduksi yang sudah cukup banyak dimanfaatkan adalah teknologi separasi (pemisahan) spermatozoa.

Separasi spermatozoa X dan Y yang digunakan dalam menentukan jenis kelamin ternak sebelum dilahirkan didasarkan atas adanya keuntungan ekonomis dan efisiensi. Sekarang ini, penggunaan separasi spermatozoa yang mudah dan ekonomis sudah banyak digunakan, sudah lebih dari 50 kelinci dilahirkan dengan jenis kelamin yang sudah ditentukan dan diperkirakan sekitar 30.000 hewan telah dilahirkan menggunakan sperma hasil separasi (Hamano, 2007).

Separasi spermatozoa adalah suatu metoda yang digunakan untuk mengubah proporsi perolehan spermatozoa yang berkromosom sejenis (X atau Y) dengan metode tertentu, sehingga berubah dari proporsi normal (rasio alamiah), 50% banding 50% (Henri, 1992). Dengan adanya bioteknologi reproduksi ini, para peternak pada pembibitan ternak babi dapat menentukan jenis kelamin anak untuk memenuhi permintaan konsumen. Selain itu, peternak juga biasanya lebih berharap memperoleh jumlah ternak babi betina yang lebih banyak dibandingkan ternak jantan untuk

dapat diseleksi dan digunakan sebagai pengganti induk betina yang akan diafkir.

Separasi spermatozoa didasarkan pada perbedaan luas kepala sperma, panjang kepala dan kandungan DNA serta gerakan spermatozoa. Dimana spermatozoa Y memiliki luas kepala yang lebih kecil dan ringan dibanding spermatozoa X, ukuran panjang kepala spermatozoa Y lebih pendek dengan kandungan DNA yang lebih rendah dan gerakan yang lebih cepat dibanding spermatozoa X (Saili, 1999).

Metode separasi spermatozoa yang sudah banyak diteliti dan berhasil dilakukan adalah metode albumin column menggunakan larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*), namun karena harga BSA yang kurang ekonomis, maka dalam penelitian ini diganti dengan penggunaan albumin telur sebagai media pemisah spermatozoa. Hafez (2000) menyatakan bahwa pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menggunakan metode kolom yang mengandung larutan BSA didasarkan pada perbedaan motilitas (kecepatan pergerakan) antara spermatozoa X dan Y dalam menembus larutan yang mengandung albumin. Penggunaan putih telur secara umum tanpa membedakan bagiannya (albumin) sebagai medium pemisahan spermatozoa dianggap cukup layak (Saili *et al.*, 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbandingan albumin dengan level yang berbeda sebagai media pemisah dalam separasi spermatozoa X dan Y pada ternak babi serta untuk mengetahui motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa babi yang telah mengalami proses pemisahan dengan menggunakan medium albumin.

MATERI DAN METODA

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Reproduksi dan Kesehatan Hewan Fakultas Peternakan Undana.

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen babi VDL, albumin telur, eosin 2.0%, eosin-negrosin, aquabidest,

alkohol 70%, medium BO (*Bracket Oliphant*), botol penampung, corong gelas, saringan, gelas ukur, kertas lakmus, pipet, objek glass, cover glass, pipet haemocytometer dan kamar hitung Neubauer, pemanas, *counter*, *inferted* mikroskop, timbangan analitik, spatula,

magnetic stirrer, tabung erlenmeyer, cawan petri, pipet berskala, tabung reaksi, rak tabung, *centrifuge*, gelas *beaker*, mikro pipet dan spoit.

Prosedur penelitian

Persiapan alat dan bahan

Alat dan bahan yang diperlukan untuk evaluasi semen dan separasi spermatozoa disiapkan sehari sebelum pelaksanaan penelitian. Pembuatan medium BO dilakukan 12 jam sebelum digunakan dalam proses separasi. Pembuatan konsentrasi albumin dengan level yang berbeda dilakukan pada saat pencucian semen.

Penyiapan semen

Semen ditampung pada pagi hari kemudian dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi secara makroskopis (volume, konsistensi, warna, pH dan bau) dan mikroskopis (gerakan massa, persentase motilitas, konsentrasi, persentase viabilitas dan persentase abnormalitas).

Separasi spermatozoa

Metode pemisahan spermatozoa dilakukan menurut Sali (1999) dengan prosedur sebagai berikut: semen ejakulat dicuci dengan cara penambahan medium BO dan disentrifugasi dengan kecepatan 2.500 rpm selama 10 menit. Endapan spermatozoa yang diperoleh diencerkan dengan menambahkan medium BO hingga konsentrasi 100 juta sel motil/mL. Satu milliliter sampel spermatozoa dimasukkan kedalam masing-masing tabung yang telah berisi kolom albumin bertingkat sesuai perlakuan, kemudian dibiarkan pada suhu ruang selama satu jam. Sisa sperma yang tidak turun pada bagian atas dikeluarkan dan fraksi semen bagian atas dipisahkan dari fraksi semen bagian bawah dengan cara menyedot masing-masing fraksi menggunakan spoit dan ditampung dalam tabung *centrifuge*, kemudian dicuci menggunakan medium BO dengan sentrifugasi pada kecepatan 2.500 rpm selama 10 menit.

Evaluasi spermatozoa secara morfometrik

Preparat ulas sperma dibuat dari masing-masing fraksi semen dengan pewarnaan menggunakan eosin-negrosin. Pengukuran luas

kepala sperma dilakukan menggunakan inferted mikroskop pembesaran 40x. Pengukuran ini dilakukan menggunakan *tools* pengukuran luas (*outline*) dengan jalan melingkari luas pinggir kepala sperma yang sudah diperbesar menggunakan bantuan *tools navigator* dengan pembesaran 500%. Jumlah sperma yang dihitung dari masing-masing fraksi minimal 100 sel sperma dengan kontrol sebanyak minimal 200 sperma. Sel sperma dikategorikan sebagai sperma X jika luas ukuran kepala lebih besar dari kontrol sedangkan bila berukuran lebih kecil dari kontrol dikategorikan sebagai sperma Y (Sali, 1999).

Variabel yang diukur

Variabel utama: (1) persentase motilitas spermatozoa hasil separasi yang diamati pada setiap fraksi terhadap spermatozoa yang bergerak progresif yang ditentukan secara subjektif pada sepuluh lapang pandang berbeda. (2) viabilitas dan abnormalitas spermatozoa hasil separasi dilakukan menggunakan preparat ulas dengan pewarnaan eosin-negrosin. Viabilitas spermatozoa diketahui dengan jalan mengamati kepala spermatozoa dimana spermatozoa hidup tidak menyerap warna, sedangkan spermatozoa mati menyerap warna (kepala spermatozoa berwarna merah). Abnormalitas spermatozoa diamati terhadap bentuk morfologi spermatozoa yang tidak normal baik abnormalitas primer maupun sekunder. (3) Persentase spermatozoa X dan Y baik sebelum maupun sesudah separasi dilakukan dengan teknik pengukuran secara morfometrik terhadap luas kepala spermatozoa minimal 200 sperma untuk sperma kontrol dan minimal 100 sperma untuk sperma hasil separasi.

Variabel pendukung: (1) pemeriksaan makroskopis (volume, warna, konsistensi, pH, dan bau semen) terhadap semen ejakulat; (2) pemeriksaan mikroskopis (gerakan massa, motilitas, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa) terhadap semen ejakulat; (3) konsentrasi spermatozoa hasil separasi; dan (4) motilitas spermatozoa setelah sentrifugasi.

Rancangan percobaan dan analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan

dan 4 ulangan. Data yang terkumpul dianalisis dengan menggunakan *Analisis Of Variance* (ANOVA), dan dilanjutkan dengan uji Fisher's LSD (Steel and Torrie, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Evaluasi terhadap semen baik secara makroskopis maupun mikroskopis dilakukan segera setelah proses penampungan semen. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa semen yang diperoleh dari 4 kali penampungan mempunyai kualitas yang cukup baik, sehingga layak untuk digunakan dalam proses pemisahan spermatozoa. Hasil rata-rata dari 4 kali penampungan semen babi VDL (Tabel 1).

Proses separasi

Semen yang layak untuk digunakan kemudian dicuci dengan menggunakan medium BO dan disentrifuse. Selama proses sentrifugasi dilakukan pembuatan konsentrasi albumin dengan level yang berbeda. Spermatozoa hasil pengenceran dengan medium BO di amati persentasenya motilitasnya dan jika motilitas >60% maka dapat dilanjutkan ketahap separasi, yakni spermatozoa dimasukkan kedalam masing-masing tabung konsentrasi albumin.

Pada 15 menit pertama separasi, spermatozoa pada setiap konsentrasi albumin mulai menembusi lapisan 10% yang terdapat dibawahnya. Pada menit ke-30, spermatozoa pada konsentrasi 10 dan 30% sudah banyak

menembusi lapisan 30% dan pada konsentrasi 10 dan 40% masih sedikit spermatozoa yang menembusi lapisan 40% sedangkan konsentrasi 10 dan 50% serta 10 dan 60% masih belum ditembusi spermatozoa pada lapisan bawah 50 dan 60%. Pengamatan separasi pada menit ke-45 memperlihatkan dimana sudah banyak spermatozoa yang menembusi lapisan bawah 30 dan 40% namun masih sedikit spermatozoa yang menembusi lapisan bawah 50 dan 60%. Pada akhir separasi, masing-masing konsentrasi membentuk 3 lapisan yakni lapisan encer bagian paling atas (spermatozoa sisa), lapisan padat spermatozoa bagian tengah (lapisan 10%) dan lapisan spermatozoa padat hingga encer pada bagian bawah (lapisan 30,40,50 dan 60%).

Hasil ini sesuai dengan pernyataan Ningsih (2007) bahwa banyak spermatozoa Y yang memiliki motilitas lebih tinggi akan lebih dahulu menembusi lapisan yang lebih kental pada awal separasi sedangkan dengan berjalannya waktu inkubasi, konsentrasi spermatozoa Y akan berkurang karena mulai masuknya spermatozoa X pada konsentrasi tersebut, namun semakin tinggi konsentrasi albumin akan semakin sukar bagi spermatozoa untuk menembusinya.

Tabel 1. Nilai karakteristik semen segar babi

| Karakteristik semen | Nilai rata-rata | Hasil penelitian lain | |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------------|-----------------------|
| | | Nilai | Peneliti |
| Volume (ml) | 108,75±15,48 | 100 - 500 | Rozeboom (2000) |
| pH | 6,88±0,15 | 7,4 ± 0,2 | Gadea (2003) |
| Motilitas (%) | 73±3 | 50-80% | Hafez (2000) |
| Konsentrasi (10 ⁶ sel/ml) | 527,5±23,63 | 200-600 | Cole dan Cupps (1997) |
| Viabilitas (%) | 87,87±1,07 | 87,70±6,34 | Sumardani (2007) |
| Abnormalitas (%) | 17,83±2,01 | < 20% | Toelihere (1993) |

Keterangan: SS: Semen segar (kontrol); S1: Semen setelah dicuci dengan cara sentrifugasi; A30: Semen fraksi atas 10:30%; B30: Semen fraksi bawah 10:30%; A40: Semen fraksi atas 10:40%; B40: Semen fraksi bawah 10:40%; A50: Semen fraksi atas 10:50%; B50: Semen fraksi bawah 10:50%; A60: Semen fraksi atas 10:60%; B60: Semen fraksi bawah 10:60%.

Sperma hasil separasi dipisahkan masing-masing menurut lapisan konsentrasi albuminnya, kemudian dicuci menggunakan medium BO dan disentrifugasi. Setelah sentrifugasi larutan supernatan dibuang dan ditambahkan lagi medium BO selanjutnya dilakukan pengujian kualitas dan perhitungan luas kepala sperma.

Motilitas spermatozoa hasil separasi

Motilitas adalah kemampuan spermatozoa untuk bergerak maju (progresif). Daya gerak progresif sangat menentukan kualitas spermatozoa dalam hubungannya dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa. Energi yang digunakan untuk pergerakan spermatozoa tersimpan dalam bentuk ATP. Senyawa ini akan dihidrolisis oleh suatu molekul protein besar, *dynein* yang terdapat pada mikrotubul bagian luar. Hidrolisis ATP oleh *dynein* akan menghasilkan energi bagi gerakan mekanik meluncur atau melilit mikrotubul. Mikrotubul bagian dalam atau pusat berfungsi sebagai alat pacu gerakan silia (Saili, 1999).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa setelah separasi mengalami penurunan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terlihat pada semua perlakuan. Fraksi atas pada semua perlakuan tidak berbeda nyata P_1 ($6,50 \pm 0,58$); P_2 ($6,25 \pm 0,96$); P_3 ($6,00 \pm 0,82$); P_4 ($5,75 \pm 0,50$), demikian juga terjadi pada P_1 ($4,75 \pm 0,50$) dan P_2 ($4,00 \pm 0,82$) pada fraksi bawah, namun berbeda sangat nyata dibanding P_3 ($3,25 \pm 0,50$) dan P_4 ($3,00 \pm 0,82$; Tabel 3).

Persentase motilitas spermatozoa pada semen segar setelah pencucian mengalami sedikit penurunan. Penurunan nilai persentase motilitas ini masih wajar walaupun spermatozoa telah mengalami perlakuan pencucian dengan cara disentrifugasi dan plasma semen diganti dengan medium BO. Proses pencucian yang berakibat pada pengurangan konsentrasi plasma semen dan menggantinya dengan medium BO merupakan faktor yang menyebabkan menurunnya nilai motilitas spermatozoa, bila dihubungkan dengan ketersediaan sumber energi bagi spermatozoa, walaupun di dalam medium BO itu sendiri terdapat glukosa (Saili *et al.*, 2000).

Harrison *et al.* (1978) melaporkan bahwa motilitas spermatozoa akan menurun, jika plasma semennya diganti dengan medium lain. Selain itu, kerusakan membran plasma akan berpengaruh langsung terhadap ketersediaan sumber energi bagi pergerakan spermatozoa yang pada akhirnya akan menurunkan persentase spermatozoa motil. Motilitas spermatozoa pada penelitian ini menurun dari $73 \pm 3\%$ menjadi $65 \pm 4,08\%$ setelah dibiarkan selama 2 jam dengan suhu yang sama pada proses pemisahan. Hal ini sejalan dengan penelitian Saili (1999) dimana penurunan motilitas spermatozoa dengan medium BO tanpa mengalami proses pemisahan menurun dari 75 % menjadi 65%.

Persentase motilitas spermatozoa setelah pemisahan mengalami penurunan drastis dimana kebanyakan spermatozoa bergerak ditempat (vibra). Hal ini diduga disebabkan oleh daya gerak dan jarak yang ditempuh spermatozoa untuk menembusi lapisan albumin yang berhubungan erat dengan jumlah penggunaan energi. Spermatozoa yang banyak menggunakan energi akan menurunkan motilitas sampai tidak bergerak walaupun spermatozoa tersebut belum mati (Saili, 1999).

Penurunan persentase motilitas spermatozoa setelah pemisahan juga diduga karena sperma babi tidak tahan terhadap medium albumin, waktu separasi yang panjang (satu jam) didalam lapisan albumin, kecepatan dan lama sentrifugasi yang mengakibatkan sperma kehilangan banyak energi sehingga menurunkan tingkat motilitas spermatozoa tersebut.

Viabilitas spermatozoa hasil separasi

Persentase viabilitas spermatozoa babi hasil separasi dapat dinilai dengan menggunakan zat pewarna eosin-negrosin. Permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein yang mana bila spermatozoa mati akan meningkatkan permeabilitas membrannya terutama di daerah pangkal kepala (Feradis, 2010). Hal ini merupakan dasar pewarnaan semen dimana spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap zat warna, sehingga tetap bening. Sedangkan, spermatozoa yang mati

akan menyerap warna, sehingga berwarna merah.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa setelah separasi baik fraksi atas maupun bawah mengalami penurunan dibanding spermatozoa sebelum separasi namun viabilitas spermatozoa sebelum separasi tidak berbeda nyata dengan fraksi atas dan bawah pada semua perlakuan kecuali fraksi bawah pada perlakuan kedua (Tabel 2). Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil yang dilaporkan Enok (2006) bahwa ada penurunan viabilitas spermatozoa ejakulat dengan spermatozoa hasil separasi baik fraksi atas maupun bawah berturut-turut 90,38; 84,31 dan 82,25%. Hal ini diduga disebabkan oleh sejumlah perlakuan pemisahan dan jarak yang harus ditempuh oleh spermatozoa sehingga banyak energi yang dikeluarkan dan membuat sperma kehilangan tenaga bahkan mati.

Abnormalitas spermatozoa hasil separasi

Dalam penelitian ini ditemukan abnormalitas spermatozoa berupa *macrocephalic*, kepala menyempit, kepala melebar, ekor melipat, kepala tanpa ekor, ekor tanpa kepala dan *sitoplasmic droplet*. Abnormalitas spermatozoa setelah separasi mengalami penurunan dibandingkan dengan abnormalitas sebelum separasi namun penurunan kualitas ini tidak menunjukkan

perbedaan nyata baik pada fraksi atas maupun bawah pada semua perlakuan (Tabel 2).

Hasil penelitian ini sedikit berbeda dengan hasil yang dilaporkan Afiati (2004) bahwa ada penurunan persentase abnormalitas sperma yang tidak dipisahkan (2,17%) lebih rendah dibanding persentase abnormalitas sperma X (6,32%) dan sperma Y (7,91%). Hal ini diduga dikarenakan medium albumin tidak berpengaruh terhadap morfologi sperma sedangkan penurunan kualitas ini dimungkinkan karena adanya perlakuan pada saat penampungan hingga evaluasi sperma hasil separasi.

Hasil evaluasi spermatozoa secara morfometrik

Untuk membedakan sperma yang diprediksi sebagai sperma X dan Y, maka nilai dari setiap luas kepala sperma pada setiap perlakuan dibandingkan dengan nilai rata-rata luas kepala sperma kontrol. Nilai yang lebih kecil dari rata-rata luas kepala sperma kontrol digolongkan sperma Y sedangkan yang lebih besar digolongkan sperma X (Saili, 1999).

Berdasarkan hasil perhitungan diketahui bahwa rata-rata spermatozoa dengan ukuran luas kepala $<34,445\mu\text{m}^2$ termasuk spermatozoa Y, sedangkan spermatozoa dengan ukuran luas kepala $>34,445\mu\text{m}^2$ termasuk spermatozoa X (Tabel 3).

Tabel 2. Rataan konsentrasi dan persentase motilitas spermatozoa berbagai fraksi dari beberapa kombinasi konsentrasi medium pemisahan.

| Perlakuan | Fraksi Semen | Konsentrasi (juta/ml) | Motilitas (%) | Viabilitas (%) | Abnormalitas (%) |
|---------------------------|--------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Kontrol (P ₀) | SS | 527,50±23,63 | 73,00±3,00 | 87,87±01,07 ^x | 17,83±02,01 ^z |
| | S1 | 132,50±5,00 | 65,00±4,08 ^a | | |
| P ₁ | A30 | 62,50±5,00 | 6,50±0,58 ^b | 87,13±04,67 ^x | 22,27±08,52 ^z |
| | B30 | 52,50±5,00 | 4,75±0,50 ^{bcd} | 82,29±04,48 ^{xy} | 21,91±12,03 ^z |
| P ₂ | A40 | 75,00±5,77 | 6,25±0,96 ^b | 78,77±04,29 ^{xy} | 24,61±10,06 ^z |
| | B40 | 45,00±5,77 | 4,00±0,82 ^{bcd} | 77,61±04,74 ^y | 22,63±07,25 ^z |
| P ₃ | A50 | 85,00±5,77 | 6,00±0,82 ^b | 79,87±03,89 ^{xy} | 22,93±05,02 ^z |
| | B50 | 35,00±5,77 | 3,25±0,50 ^{cde} | 79,38±04,32 ^{xy} | 21,99±09,46 ^z |
| P ₄ | A60 | 82,50±15,00 | 5,75±0,50 ^{bc} | 82,97±06,02 ^{xy} | 23,65±09,72 ^z |
| | B60 | 25,00±5,77 | 3,00±0,82 ^{de} | 81,84±11,60 ^{xy} | 20,54±10,52 ^z |

Tabel 3. Persentase spermatozoa didalam berbagai fraksi semen yang diprediksi membawa kromosom X dan Y sesuai luas kepalanya.

| Perlakuan | Fraksi semen | Luas kepala spermatozoa (rata-rata ± sd, µm) | Persentase jenis spermatozoa | |
|----------------|--------------|--|------------------------------|--------------------------|
| | | | X | Y |
| P ₀ | S1 | 34,445±0,274 | 51,68±2,66 ^a | 48,32±2,66 ^a |
| P ₁ | A30 | 36,163±0,502 | 74,02±5,65 ^b | 25,98±5,65 ^c |
| | B30 | 33,607±0,350 | 38,13±7,69 ^c | 61,87±7,69 ^d |
| P ₂ | A40 | 35,429±0,347 | 64,14±3,41 ^d | 35,86±3,41 ^b |
| | B40 | 33,508±0,386 | 35,48±6,11 ^c | 64,52±6,11 ^d |
| P ₃ | A50 | 35,034±0,111 | 62,29±3,98 ^d | 37,71±3,98 ^b |
| | B50 | 33,399±0,408 | 30,37±4,93 ^{ce} | 69,63±4,93 ^{df} |
| P ₄ | A60 | 35,342±0,380 | 59,26±4,33 ^d | 40,74±4,33 ^b |
| | B60 | 33,035±0,132 | 26,41±4,54 ^e | 73,59±4,54 ^f |

Keterangan: ^{a,b,c,d,e,f} superskrip berbeda dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P < 0,05).

Hasil analisis menunjukkan bahwa baik medium dengan konsentrasi albumin 30, 40, 50 maupun 60% mampu mengubah proporsi perolehan spermatozoa dari kondisi normal (kontrol). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata (P<0,05) proporsi spermatozoa X : Y pada kontrol P₀ (51,68 : 48,32±2,66) dengan semua perlakuan baik pada fraksi atas P₁ (74,02 : 25,98±5,65); P₂ (64,14: 35,86±3,41); P₃ (62,29: 37,71±3,98); dan P₄ (59,26: 40,74±4,33) dan fraksi bawah P₁ (38,13: 61,87±7,69); P₂ (35,48 : 64,52±6,11); P₃(30,37: 69,63±4,93); dan P₄ (26,41: 73,59±4,54). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa fraksi semen dengan konsentrasi spermatozoa Y yang tertinggi terdapat pada B60 dengan nilai 73,59% sedangkan fraksi semen dengan konsentrasi spermatozoa X yang tertinggi terdapat pada A30 dengan nilai 74,02%.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Afiati (2004) yang melaporkan adanya perbedaan nyata proporsi spermatozoa X:Y pada sperma kontrol (43:57) dengan fraksi atas kolom albumin 30% (80,88:19,21) dan fraksi bawah (41,80:58,82). Saili (1999)

melaporkan bahwa penggunaan albumin sebagai media pemisah spermatozoa mampu mengubah proporsi perolehan spermatozoa X : Y dari (50,50:49,50) menjadi (71:29) pada fraksi atas dan (26,50:73,50) pada fraksi bawah kolom albumin 50%.

Hal ini terjadi karena dengan tingginya konsentrasi albumin pada B60 menyebabkan hanya spermatozoa dengan motilitas tinggi dan luas kepala yang lebih kecil yang mampu menembusnya. Sebaliknya, dengan rendahnya perbandingan konsentrasi albumin pada A30 menyebabkan banyak spermatozoa motil yang dapat menembusnya sehingga hanya sedikit spermatozoa dengan motilitas tinggi dan luas kepala lebih kecil yang tertahan di lapisan tersebut. Goodal dan Roberts (1976) menyatakan bahwa spermatozoa Y lebih motil dibanding spermatozoa X. Selain itu, hasil penelitian Ke-Hui dan Matthew (1993) menunjukkan bahwa ukuran luas kepala spermatozoa X 6 % lebih besar dibanding spermatozoa Y. Dengan adanya perbedaan ini, maka dapat diperkirakan bahwa berat dan kecepatan gerakanya juga akan berbeda.

SIMPULAN

Motilitas spermatozoa hasil separasi tidak berada pada kisaran kualitas spermatozoa untuk tujuan inseminasi secara invivo. Viabilitas dan abnormalitas spermatozoa babi tidak mengalami penurunan kualitas yang nyata setelah separasi dengan media albumin. Penggunaan albumin sebagai media pemisah spermatozoa babi cukup efektif untuk

mengubah rasio perolehan sperma normal X : Y (51,68:48,32) pada semua perlakuan dengan konsentrasi albumin bertingkat 10:30; 40; 50; dan 60% dimana sperma X tertinggi terdapat pada fraksi atas kolom albumin 30% (74,02%) dan sperma Y tertinggi terdapat pada fraksi bawah kolom albumin 60% (73,59%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan ke DP2M Dikti yang telah

membayai penelitian ini melalui Hibah Strategi Nasional Bacth II tahun 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati F. 2004. Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y Hasil Separasi Kolom Albumin. *Media Peternakan* 27 (1): 16-20.
- Enok M. 2006. Pemisahan sperma pembawa kromosom X dan Y Sapi dengan Kolom Media Pemisah Albumin. Prosiding temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian. pp: 225-231.
- Feradis. 2010. Reproduksi Ternak. Edisi Pertama. Alfabeta, Bandung.
- Goodall H. and Roberts AM. 1976. Difference in motility of human X and Y bearing spermatozoa. *J Rep Fert* 48:433-436.
- Hafez ESE. 2000. *Reproduction in farm animals*. 7th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hamano K.I. 2007. Sex preselection in bovine by separation of X- and Y- chromosome bearing spermatozoa. *J Rep Dev* 53 (1): 27-38.
- Henri. 1992. Usaha mengubah rasio sperma X & Y dengan metode kolom menggunakan larutan BSA dan penilaian angka kebuntingan serta perbandingan jenis kelamin anak pada kambing. *Thesis*. Fakultas Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ke-hui C. 1997. Size differences between human X and Y spermatozoa and prefertilization diagnosis. *Molecular Human Reproduction* 3(1): 61-67.
- Ningsih Z. 2007. Proporsi spermatozoa X dan Y kambing Peranakan Etawa (PE) dengan konsentrasi putih telur dan lama inkubasi. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Malang, Malang.
- Saili T. 1999. Efektivitas penggunaan albumin sebagai medium separasi dalam upaya mengubah rasio alamiah spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada sapi. *Thesis*. Fakultas Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Saili T, Toelihere MR, Boediono A, Tappa B. 2000. Effectivity of albumin as separation media for X and Y chromosome-bearing bovine spermatozoa. *Journal Hayati* 7(4):106-109.
- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa, Bandung.