

PENGARUH PENGGUNAAN GRADIEN PERCOLL DAN LAMA INKUBASI TERHADAP KONSENTRASI DAN VIABILITAS SPERMATOZOA X HASIL SEPARASI SEKS PADA KAMBING SAANEN

THE EFFECT OF PERCOLL GRADIENT AND INCUBATION DURATION ON THE CONCENTRATION AND VIABILITY OF SEX-SEPARATED X SPERMATOZOA IN SAANEN GOATS

Choirina Melly Agustin, Mas Yedi Sumaryadi*, Chomsiatun Nurul Hidayah

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

*email Korespondensi : mas.sumaryadi@unsoed.ac.id

DOI : <https://doi.org/10.20884/1.angon.2025.7.3.p240-250>

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi dan viabilitas spermatozoa X hasil separasi seks pada kambing Saanen. Materi penelitian yang digunakan yaitu 1 ekor pejantan kambing Saanen berumur 2 tahun. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 2x3 yang terdiri dari 2 faktor yaitu faktor gradien (g_1 30:75, g_2 45:90) dan lama inkubasi ($t_1=30$, $t_2=45$, dan t_3 60). Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi dengan gradien 30:75 memiliki hasil yang optimal yaitu sebesar $1333,2 \pm 190,84$ dengan lama inkubasi 60 menit. Viabilitas dengan gradien 35:70 memiliki hasil yang optimal yaitu $67,77 \pm 12,96$ dengan lama inkubasi 45 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor gradien berpengaruh sangat nyata atau ($P < 0,01$) terhadap konsentrasi spermatozoa X dan berpengaruh sangat nyata atau ($P < 0,01$) terhadap viabilitas spermatozoa X dan lama inkubasi berpengaruh sangat nyata atau ($P < 0,01$) terhadap viabilitas spermatozoa X, tidak terdapat interaksi atau ($P > 0,01$) antara gradien dan lama inkubasi terhadap viabilitas dan konsentrasi spermatozoa X. Disimpulkan bahwa untuk memperoleh konsentrasi dan viabilitas spermatozoa X yang tinggi, sebaiknya dilakukan pemisahan dengan konsentrasi gradien percoll g_1 30:75 dengan lama inkubasi $t_2=45$ sampai $t_3=60$ menit.

Kata kunci : Konsentrasi; Viabilitas; Lama Inkubasi; Kambing Saanen; Medium Percoll

ABSTRACT

This study aims to determine the concentration and viability of spermatozoa X sex separation results in Saanen goats. The research material used was 1 male Saanen goat aged 2 years. The research design used is a 2x3 factorial pattern Randomized Group Design (RAK) consisting of 2 factors, namely the gradient factor (g_1 30: 75, g_2 45: 90) and the length of incubation ($t_1 = 30$, $t_2 = 45$, and t_3 60). The results showed that the concentration with a gradient of 30:75 had optimal results of 1333.2 ± 190.84 with an incubation time of 60 minutes. Viability with a gradient of 35:70 has optimal results of 67.77 ± 12.96 with an incubation time of 45 minutes. The results showed that the gradient factor had a very significant effect or ($P < 0.01$) on the concentration of X spermatozoa and a very significant effect or ($P < 0.01$) on the viability of X spermatozoa and the length of incubation had a very significant effect or ($P < 0.01$) on the viability of X spermatozoa, there was no interaction or ($P > 0.01$) between the gradient and the length of incubation on the viability and concentration of X spermatozoa. It is concluded that to obtain a high concentration and viability of X spermatozoa, separation should be done with a percoll gradient concentration of g_1 30:75 with an incubation time of $t_2=45$ to $t_3=60$ minutes.

Keywords : Concentration; Viability; Incubation Time; Saanen Goat; Percoll Medium

PENDAHULUAN

Ternak kambing merupakan salah satu jenis ternak yang sangat cocok dibudidayakan di Indonesia yang memiliki iklim tropis. Produksi susu dan konsumsi susu yang terus meningkat

setiap tahunnya, menyebabkan peternak kambing Saanen akan lebih berharap jika anak yang dilahirkan berjenis kelamin betina. Namun, mayoritas peternak di Indonesia masih mengalami kesulitan untuk menemukan pejantan yang memiliki mutu genetik yang unggul. Penelitian mengenai separasi seks pada kambing Saanen masih belum banyak dilakukan, sehingga membuka peluang untuk melakukan penelitian lebih lanjut agar dapat meningkatkan populasi, produktivitas, maupun mutu genetik yaitu melalui penerapan teknologi reproduksi ternak atau Teknik Inseminasi Buatan (Putri *et al.*, 2020). Kambing Saanen merupakan salah satu kambing perah terbesar di dunia yang berasal dari daerah sub tropis yaitu lembah Saanen di pegunungan Alpen, Swiss (Awalia *et al.*, 2019). Kambing Saanen betina mampu memproduksi susu hingga 3,8 liter per hari dengan masa laktasi mencapai 9-10 bulan per siklus. Hal tersebut yang menjadikan kambing Saanen produsen susu kambing terbanyak di dunia.

Teknik separasi seks pada kambing Saanen merupakan sebuah proses yang penting dalam pemisahan antara spermatozoa kromosom X dan Y, sehingga memungkinkan peternak untuk memilih jenis kelamin ternak yang diinginkan. Hal tersebut diharapkan dapat lebih banyak menghasilkan kambing Saanen betina yang sangat dibutuhkan untuk meningkatkan populasi indukan dan produksi susu (Permana *et al.*, 2023). Menurut Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan pada kambing peranakan Etawah dengan menggunakan medium percoll konsentrasi 40:55% dan 45:60%, bertujuan untuk menghasilkan proporsi spermatozoa X dan Y yang diinginkan, sehingga dapat meningkatkan produktivitas kambing peranakan Etawah sebagai salah satu ternak dwiguna (penghasil susu dan daging). Penelitian kali ini menggunakan obyek yang berbeda dengan konsentrasi gradien percoll yang berbeda pula, yaitu menggunakan Kambing Saanen sebagai obyek penelitian dan densitas gradien percoll dengan konsentrasi 30:75% dan 45:90%. Hal tersebut yang mendasari mengapa penelitian ini dilakukan, agar populasi kambing Saanen Sebagai penyedia susu dapat di lestarikan.

Konsentrasi spermatozoa berkaitan erat dengan warna yang dihasilkan spermatozoa, jika warna yang dihasilkan tidak pekat maka dapat dikatakan bahwa konsentrasi tersebut rendah dan konsistensinya juga encer (Barek *et al.*, 2020). Selain itu, konsentrasi berperan penting dalam menentukan jumlah semen yang akan diinseminasikan, jika jumlah spermatozoa terlalu banyak maka dapat menghambat pergerakan spermatozoa, sehingga dapat mengurangi efisiensi pemisahan. Jika konsentrasi yang dihasilkan terlalu rendah dapat menurunkan jumlah spermatozoa yang akan diinseminasikan, sehingga dapat mengurangi peluang terjadinya fertilisasi (Hendri *et al.*, 2017). Selain itu, viabilitas spermatozoa merupakan kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup setelah dilakukannya pengenceran. Viabilitas spermatozoa juga dipengaruhi oleh penurunan suhu dan kondisi lingkungan sekitar (Agustian *et al.*, 2014). Viabilitas spermatozoa yang tinggi menunjukkan bahwa spermatozoa masih hidup dengan membran plasma utuh, sehingga memiliki kemampuan fertilisasi yang baik setelah dilakukannya inseminasi buatan. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai separasi seks dengan menggunakan medium gradien percoll dan lama inkubasi terhadap kualitas spermatozoa khususnya konsentrasi dan viabilitas spermatozoa tersebut.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan yaitu 1 ekor pejantan kambing Saanen umur 2 tahun. Bahan yang digunakan semen dari pejantan yang telah dikoleksi, gradien percoll yang berbeda yaitu 30:75% dan 45:90% sebagai medium separasi seks, PBS (*phospat buffer saline*) sebagai pengencer medium percoll, aquabidest, *tris amino methan* sebagai pengencer semen, laktosa, antibiotik *penicillin* dan *streptomycin*, *raffinose pentatydrate*, asam sitrat, kuning telur dan eosin-negrosin.

Alat yang digunakan berupa vagina tiruan, *micropipet*, *microtip*, pipet, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, *waterbath*, *sentrifuge*, tabung *sentrifuge*, *Erlenmeyer*, thermometer, *microtube*, pemanas Bunsen, *stopwatch*, kertas label, *beaker glass*, kompor, panci, dan termos es.

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian *experimental* tersebut adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 2 x 3 dengan ulangan frekuensi penyadapan sebanyak 3 kali dan terdiri dari dua faktor yaitu:

a. Faktor gradien (g) yang terdiri dari :

g_1 : Medium percoll gradien 30:75%

g_2 : Medium percoll gradien 45:90%

b. Faktor lama inkubasi (t) dengan suhu 37°C (Anwar *et al.*, 2019), yang terdiri dari:

t_1 : Lama inkubasi pada 30 menit

t_2 : Lama inkubasi pada 45 menit

t_3 : Lama inkubasi pada 60 menit

Pembuatan Medium Separasi Seks

Pembuatan larutan medium percoll sebagai media pemisah dengan mencampurkan *phospat buffer saline* (pbs) sesuai takaran yang sudah ditentukan dengan konsentrasi yang dibutuhkan sebagai berikut :

Konsentrasi 30% = 1,8 ml medium percoll + 4,2 *phospat buffer saline*

Konsentrasi 75% = 4,5 ml medium percoll + 1,5 ml *phospat buffer saline*

Konsentrasi 45% = 2,7 ml medium percoll + 3,3 ml *phospat buffer saline*

Konsentrasi 90% = 5,4 ml medium percoll + 0,6 ml *phospat buffer saline*

Pembuatan media separasi seks yaitu dengan memasukkan medium percoll dengan berbagai konsentrasi yang digunakan ke dalam tabung *sentrifuge* sesuai dengan perlakuan yang digunakan.

g_1 : 2 ml gradien percoll dengan konsentrasi 30% (fraksi atas) + 2 ml gradien percoll dengan konsentrasi 75% (fraksi bawah).

g_2 : 2 ml gradien percoll dengan konsentrasi 45% (fraksi atas) + 2 ml gradien percoll dengan konsentrasi 90% (fraksi bawah).

Pengukuran Konsentrasi Spermatozoa

Pengamatan konsentrasi spermatozoa dilakukan menggunakan bilik hitung *neubauer* dengan perbesaran 40 x 10. Perhitungan konsentrasi spermatozoa dilakukan secara acak dari 25 bilik hitung. Perhitungan jumlah spermatozoa hanya berdasarkan 5 bilik hitung yaitu kanan atas, kanan bawah, kiri atas, kiri bawah dan tengah. Rumus konsentrasi menurut (Prestiya *et al.*, 2020):
Konsentrasi = Total spermatozoa yang dihitung x 10×10^6

Pengukuran Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan membuat *preparate* ulas tipis menggunakan pewarnaan eosin-negrosin, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 x 10. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna, sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna dari eosin-negrosin. Pengamatan viabilitas dilakukan terhadap 200 sel spermatozoa. Rumus viabilitas menurut (Masyitoh *et al.*, 2018) :

Viabilitas = (Jumlah spermatozoa yang hidup (tidak berwarna)/Jumlah spermatozoa yang diamati) x 100%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Kambing Saanen

Pemeriksaan awal pada semen segar merupakan salah satu upaya yang dilakukan untuk mengetahui sekaligus mempertahankan kualitas semen setelah dilakukan penyadapan. Pemeriksaan awal yang dilakukan untuk mengetahui kualitas semen pada Kambing Saanen dengan melakukan dua metode, yaitu pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil pemeriksaan semen segar kambing Saanen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil Pemeriksaan Makroskopis dan Mikroskopis Semen Segar

NO.	Makroskopis dan Mikroskopis Semen Segar	Hasil
1.	Volume (ml)	1,7 ml
2.	Warna	Putih Kekuningan
3.	Konsistensi	Kental
4.	pH	7
5.	Aroma	Khas Sperma
6.	Viabilitas (%)	86 ± 1,63%
7.	Konsentrasi (10 ⁶)	5453,33 ± 298,25 sel/ml
8.	Abnormalitas (%)	8,5 ± 0,41%
9.	Motilitas Individu (%)	79,3 ± 0,94%
10.	Morfometrik (µm ²)	38,23 ± 0,39µm ²

Berdasarkan hasil penelitian, volume semen segar Kambing Saanen yang diperoleh dari tiga kali penyadapan tergolong normal yaitu, memiliki rata-rata sebanyak 1,7 ml. Menurut penelitian Annur (2018) yang menyatakan bahwa volume semen per ejakulasi rata-rata sebesar 0,5-1,2 ml. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Alviana *et al.* (2024) yang menyatakan bahwa volume semen akan mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya umur pada kambing saanen tersebut. Warna semen dari Kambing Saanen adalah putih kekuningan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Bebas *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa semen kambing segar memiliki warna putih susu hingga cream (putih kekuningan). Sejalan dengan pendapat Annur (2018) yang menyatakan bahwa warna dari semen yang dihasilkan sangat berkaitan erat dengan konsentrasi dan konsistensi spermatozoa. Hasil pemeriksaan awal juga menunjukkan bahwa pH semen sebesar 7 yang diukur menggunakan kertas pH. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Wurlina *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa pH normal pada semen berkisar antara 5,9-7,3.

Persentase Viabilitas Kambing Saanen pada hasil pemeriksaan awal semen secara mikroskopis pada Tabel 1 sebesar 86%. Hal tersebut menunjukkan kualitas semen dari Kambing Saanen tergolong cukup baik. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Kusumawati *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa untuk keperluan inseminasi buatan dalam bentuk straw harus mempunyai persentase hidup minimal 50%. Viabilitas merupakan salah satu indikator untuk mengetahui persentase sel spermatozoa yang masih hidup dengan tidak menyerap warna dan sel spermatozoa yang sudah mati akan menyerap warna dari pewarna eosin negrosin. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Mahfud *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa penyerapan warna tersebut dikarenakan terjadi kerusakan pada membrane sel yang diduga akibat pengolahan semen.

Menurut Hendri *et al.* (2017) Konsentrasi spermatozoa merupakan salah satu parameter utama dalam menentukan kualitas spermatozoa, yang berperan penting dalam menentukan

jumlah betina yang dapat diinseminasikan menggunakan semen dengan konsentrasi tertentu. Berdasarkan hasil pemeriksaan awal semen secara mikroskopis yang disajikan pada Tabel 1, konsentrasi spermatozoa pada kambing Saanen tercatat sebesar $5453,33 \times 10^6$ sel/ml. Nilai konsentrasi tersebut masih berada dalam kisaran normal, sehingga menunjukkan bahwa semen segar kambing Saanen memiliki kualitas yang baik berdasarkan parameter konsentrasi spermatozoa. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Syawal (2010) yang menyatakan bahwa nilai konsentrasi spermatozoa kambing yaitu berkisar antara $2000-6000 \times 10^6$ sel/ml.

Konsentrasi spermatozoa berkaitan erat dengan warna dan konsistensi (kekentalan) semen yang dihasilkan. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Masyitoh *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa warna semen sangat berhubungan dengan konsentrasi dan kekentalan spermatozoa, semakin kental semen maka konsentrasi spermatozoa semakin tinggi dan warna semen yang dihasilkan semakin baik. Berdasarkan data pada Tabel 1, warna semen yang dihasilkan yaitu putih kekuningan, hal tersebut sejalan dengan pernyataan Masyitoh *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa warna semen yang ideal yaitu putih kekuningan. Selain itu, konsistensi semen yang dihasilkan berdasarkan Tabel 1, adalah kental, hal tersebut juga sejalan dengan pernyataan Seuk, (2018) yang menyatakan bahwa semen yang baik memiliki derajat kekentalan hampir sama dengan susu atau sedikit lebih kental dari susu.

Pengukuran morfometrik pada spermatozoa X dilakukan berdasarkan luas kepala spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lailiyah *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa pengukuran dilakukan terhadap panjang dan lebar kepala spermatozoa menggunakan rumus $LKS = (0,8988 \times P \times L) - 1,63$, dimana LKS sendiri merupakan kepanjangan dari luas kepala spermatozoa, P adalah panjang kepala spermatozoa dan L adalah lebar kepala spermatozoa. Pengukuran ini bertujuan untuk menentukan proporsi spermatozoa X yang berhasil lolos melalui gradien yang digunakan dalam proses pemisahan. Berdasarkan analisis morfometrik pada semen segar, diperoleh rata-rata luas kepala spermatozoa sebesar $\geq 38,23 \pm 0,39 \mu m^2$. Berdasarkan analisis tersebut, spermatozoa dengan luas kepala diatas $38,62 \mu m^2 (38,23 + 0,39 \mu m^2)$ diklasifikasikan sebagai spermatozoa X, sedangkan yang memiliki luas kepala dibawah $37,84 \mu m^2 (38,23 - 0,39 \mu m^2)$ diklasifikasikan sebagai spermatozoa Y. Hal ini sejalan dengan pernyataan Goat (2019) yang menyatakan bahwa spermatozoa dengan ukuran kepala diatas rata-rata, maka dapat diasumsikan sebagai spermatozoa X dan sedangkan spermatozoa dengan ukuran kepala dibawah rata-rata diasumsikan sebagai spermatozoa Y. Rata-rata proporsi spermatozoa X pasca separasi seks menunjukkan angka $78,86 \pm 1,79 \mu m^2$. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa proses separasi seks pada kambing Saanen berhasil, karena proporsi spermatozoa X dari setiap perlakuan melebihi 50%.

Interaksi antara Gradien dan Lama Inkubasi

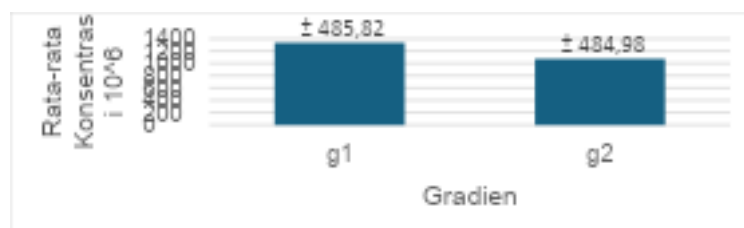
Secara umum, gradien dalam proses separasi seks merupakan lapisan-lapisan medium dengan konsentrasi yang berbeda, berdasarkan massa jenis ataupun daya gerak spermatozoa X dan Y. Gradien sendiri memiliki konsentrasi yang berbeda-beda sesuai dengan kebutuhannya, pada penelitian ini gradien densitas yang dipakai yaitu medium percoll. Penggunaan medium percoll berdasarkan prinsip massa jenis yang memungkinkan spermatozoa X berada di lapisan bawah dan spermatozoa Y berada pada lapisan atas. Konsentrasi gradien densitas percoll yang dipakai yaitu 30:75% dan 45:90%, dengan penggunaan konsentrasi ini diharapkan dapat mendapatkan proporsi spermatozoa X yang maksimal. Penggunaan konsentrasi gradien percoll didasarkan prinsip bahwa konsentrasi medium percoll yang lebih besar memiliki densitas yang lebih tinggi, sehingga ditempatkan pada lapisan bawah tabung.

Lama inkubasi merupakan waktu yang dibutuhkan spermatozoa untuk menempati medium seksing. Lama inkubasi juga mempengaruhi keberhasilan dalam proses separasi seks. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Amrullah (2020) yang menyatakan bahwa lama inkubasi juga mempengaruhi hasil dalam proses sperasi seks. Lama inkubasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 30, 45, dan 60 menit. Hal tersebut merupakan waktu yang optimal untuk spermatozoa menempati medium seksing. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Amrullah (2020) yang menyatakan bahwa waktu inkubasi yang cepat dapat menyebabkan proporsi spermatozoa X dan Y tidak maksimal, jika waktu inkubasi terlalu lama dapat mengakibatkan bercampurnya Kembali spermatozoa X dan Y.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antara gradien dan lama inkubasi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata stay tidal ada interaksi yang nyata ($P>0,05$), namun faktor gradien berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap konsentrasi dan viabilitas spermatozoa, lama inkubasi juga berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap konsentrasi dan viabilitas spermatozoa. Hal tersebut dikarenakan gradien percoll tidak dipengaruhi oleh lama inkubasi, dan lama inkubasi tidak mempengaruhi cara gradien percoll dalam memisahkan spermatozoa.

Konsentrasi Spermatozoa X Kambing Saanen Hasil Separasi Seks

Berdasarkan hasil analisis variansi didapatkan hasil, bahwa faktor gradien berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap konsentrasi spermatozoa X hasil separasi seks. Adapun hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ), ternyata g_1 ($1332,2 \pm 485,82 \times 10^6$ sel/ml) nyata lebih tinggi ($P<0,05$) dibandingkan dengan g_2 ($1072,4 \pm 484,98 \times 10^6$ sel/ml). Artinya, gradien dengan konsentrasi 30:75% memiliki konsentrasi sangat nyata ($P<0,01$) lebih tinggi jika dibandingkan dengan gradien 45:90%. Hal tersebut dikarenakan spermatozoa akan lebih mudah menembus gradien dengan konsentrasi yang lebih rendah dan oleh karena itu, hasil konsentrasi yang didapat juga lebih tinggi.

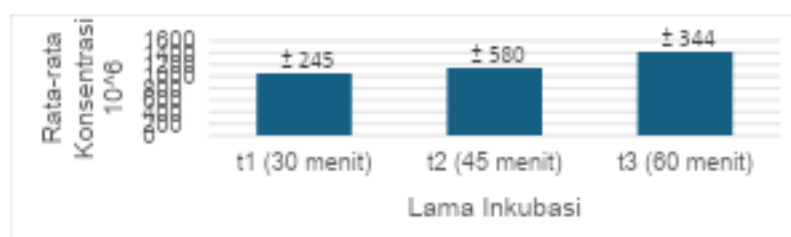


Gambar 1. Konsentrasi Spermatozoa Pasca Sexing Berdasarkan Faktor Gradien

Berdasarkan analisis data pada Gambar 1, gradien dengan konsentrasi 30:75% memiliki konsentrasi sebesar $1332,2 \pm 485,82 \times 10^6$ sel/ml dan gradien 45:90% memiliki konsentrasi sebesar $1072,4 \pm 484,98 \times 10^6$ sel/ml. Berdasarkan nilai konsentrasi tersebut dapat dikatakan cukup baik jika digunakan lebih lanjut untuk Inseminasi Buatan (IB). Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) (2014) menyatakan bahwa semen yang memenuhi syarat digunakan dalam program IB harus memiliki konsentrasi spermatozoa minimum 50 juta sel/dosis. Konsentrasi tersebut dianggap optimal untuk mendukung keberhasilan inseminasi buatan, karena jumlah spermatozoa cukup memungkinkan untuk proses fertilisasi yang efektif.

Menurut Fatahilah *et al.* (2017) spermatozoa yang ringan akan berada pada lapisan atas, sedangkan spermatozoa yang memiliki ukuran yang lebih besar cenderung akan berada pada lapisan bawah. Hal tersebut juga dipengaruhi oleh gaya sentrifugasi pada proses pemisahan spermatozoa X dan Y yang menyebabkan spermatozoa tertarik ke bawah sehingga membentuk

endapan. Berdasarkan Gambar 2 dan analisis lebih lanjut (Uji BNJ) dapat disimpulkan bahwa Densitas gradien percoll dengan konsentrasi 30:75% memiliki konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan densitas gradien percoll dengan konsentrasi 45:90%. Hal tersebut dapat dilihat dari proporsi spermatozoa pada g_1 (gradien 30:75%) lebih banyak dibandingkan dengan proporsi spermatozoa pada g_2 (gradien 45:90%). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fatahilah *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa faktor gradien juga berpengaruh terhadap proporsi spermatozoa yang didapat, sehingga dapat diasumsikan bahwa spermatozoa dapat lebih mudah menembus gradien yang lebih rendah daripada yang lebih tinggi.



Gambar 2. Konsentrasi Spermatozoa Pasca Sexing Berdasarkan Lama Inkubasi

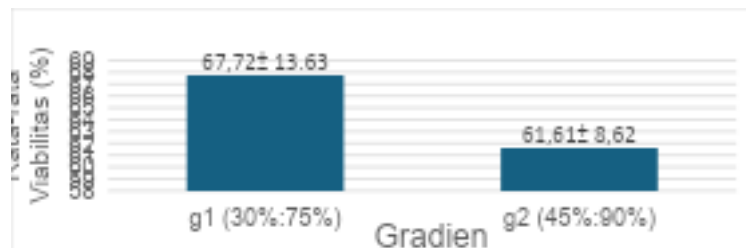
Berdasarkan Gambar 2, lama inkubasi 30 menit memiliki rata-rata konsentrasi $1051,6 \pm 245 \times 10^6$ sel/ml, lama inkubasi 45 menit memiliki rata-rata konsentrasi $1140 \pm 580 \times 10^6$ sel/ml, dan lama inkubasi 60 menit memiliki rata-rata konsentrasi $1415,3 \pm 344 \times 10^6$ sel/ml. Hasil rata-rata konsentrasi berdasarkan lama inkubasi masih tergolong cukup baik untuk dilakukan Inseminasi Buatan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Anwar *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa lama inkubasi berpengaruh terhadap proporsi spermatozoa yang didapat. Jika waktu inkubasi sebentar diasumsikan spermatozoa belum terpisah secara sempurna, sedangkan jika waktu inkubasi terlalu lama diasumsikan spermatozoa akan tercampur kembali. Hal tersebut diakibatkan karena terjadi kerusakan pada membran plasma spermatozoa akibat stress oksidatif dan penggunaan energi yang berlebihan, sehingga dapat mengurangi motilitas dan viabilitas spermatozoa dan akhirnya akan memicu bercampurnya Kembali spermatozoa X dan Y.

Berdasarkan hasil analisis variansi didapatkan hasil, bahwa faktor lama inkubasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap konsentrasi spermatozoa hasil sparasi seks. Adapun hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ), ternyata t_3 (60 menit) memiliki proporsi lebih tinggi dibandingkan dengan t_1 (30 menit) dan t_2 (45 menit). Artinya, konsentrasi dengan lama inkubasi t_3 (60 menit) merupakan waktu yang optimal untuk menentukan konsentrasi spermatozoa pasca sexing dengan gradien percoll. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Anwar *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa lama inkubasi berpengaruh terhadap motilitas dan abnormalitas, dimana semakin lama waktu inkubasi dapat menurunkan motilitas dan meningkatkan abnormalitas spermatozoa.

Viabilitas Spermatozoa X Kambing Saanen Hasil Separasi Seks

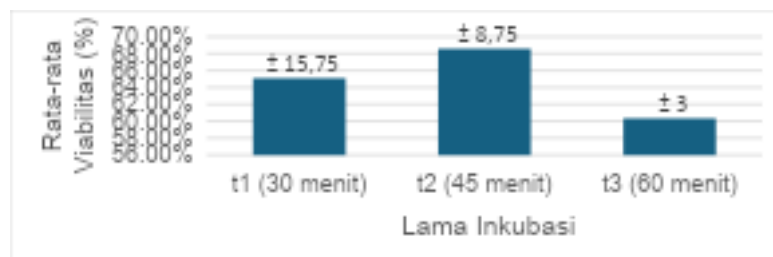
Berdasarkan hasil analisis variansi didapatkan hasil bahwa faktor gradien dan lama inkubasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap viabilitas spermatozoa, namun kedua faktor tersebut tidak menunjukkan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$). Adapun hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ), ternyata g_1 (67,72%) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan g_2 (61,61%). Artinya, gradien dengan konsentrasi 30:75% memiliki viabilitas sangat nyata ($P < 0,01$) lebih tinggi jika dibandingkan dengan gradien 45:90%. Persentase spermatozoa yang hidup tergolong cukup baik, karena sesuai dengan pendapat Cahyadi (2016) yang menyatakan bahwa semen

kambing yang normal memiliki viabilitas antara 60-88%. Hal tersebut diperkuat oleh pendapat Lestari *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa persentase spermatozoa hidup yang baik biasanya memiliki persentase minimal 50%.



Gambar 3. Viabilitas Spermatozoa Pasca *Sexing* Berdasarkan Faktor Gradien

Berdasarkan Gambar 3. Gradien dengan konsentrasi 30:75% memiliki viabilitas sebesar 67,72±13,63% dan gradien dengan konsentrasi 45:90% memiliki viabilitas sebesar 61,61±8,62%. Berdasarkan persentase viabilitas menurut konsentrasi gradien menunjukkan bahwa terjadi penurunan antara persentase viabilitas pada gradien 30:75% dengan gradien 45:90%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Dasrul *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa persentase viabilitas juga dipengaruhi oleh konsentrasi gradien yang digunakan, semakin pekat atau semakin tinggi gradien tersebut maka spermatozoa akan lebih sulit menembus lapisan tersebut. Hal tersebut yang menyebabkan jumlah spermatozoa yang berada pada gradien dengan konsentrasi 30:75% memiliki persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan gradien dengan konsentrasi 45:90%.



Gambar 4. Viabilitas Spermatozoa Pasca *Sexing* Berdasarkan Lama Inkubasi

Berdasarkan Gambar 4. Lama inkubasi 30 menit memiliki persentase viabilitas sebesar 65,08±15,75%, lama inkubasi 45 menit memiliki persentase viabilitas sebesar 68,58±8,75%, lama inkubasi 60 menit memiliki persentase viabilitas sebesar 60,33±3%. Berdasarkan persentase viabilitas menurut lama inkubasi menunjukkan bahwa terjadi peningkatan dan juga penurunan, peningkatan pada t₂ (45 menit) dan penurunan pada t₃ (60 menit). Hal tersebut dapat disebabkan karena semakin lama waktu inkubasi, maka persentase hidup spermatozoa akan menurun, dan apabila waktu inkubasi terlalu sebentar maka spermatozoa belum memisah secara sempurna. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Lopulalan *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa penurunan persentase viabilitas spermatozoa sejalan dengan lama waktu inkubasi.

Berdasarkan hasil analisis variansi didapatkan hasil, bahwa faktor lama inkubasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap viabilitas spermatozoa hasil separasi seks. Adapun hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ), ternyata lama inkubasi t₂ (45 menit) memiliki persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan t₁ (30 menit) dan t₃ (60 menit). Artinya, waktu optimum

untuk mendapatkan persentase spermatozoa yang paling tinggi yaitu dengan lama inkubasi 45 menit. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Anwar *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa waktu inkubasi yang terlalu singkat menyebabkan persentase spermatozoa kurang optimal, sedangkan waktu inkubasi yang terlalu lama dapat meningkatkan radikal bebas, sehingga spermatozoa akan mengalami oksidasi lipid dan dapat merusak membran plasma. Hal tersebut dibuktikan dengan lama inkubasi t_1 (30 menit) menghasilkan proporsi spermatozoa X yang sedikit, karena diasumsikan pada waktu tersebut spermatozoa masih mencoba menyesuaikan atau beradaptasi dengan lingkungan sehingga belum cukup waktu untuk memproduksi energi yang berfungsi untuk mempertahankan viabilitas dan motilitas spermatozoa itu sendiri. Jika t_2 (45 menit) diasumsikan sebagai waktu optimal, karena pada waktu ini spermatozoa telah memproduksi energi untuk mempersiapkan diri pada proses selanjutnya, sedangkan t_3 (60 menit) diasumsikan spermatozoa telah kehilangan energi untuk bertahan hidup, sehingga dapat merusak membran plasma spermatozoa.

KESIMPULAN

Konsentrasi spermatozoa berkromosom X yang tinggi pada kambing Saanen dapat diperoleh dengan melakukan pemisahan masing-masing menggunakan medium percoll g_1 (30:75%) dan lama waktu inkubasi 60 menit dengan tingkat konsentrasi masing-masing $1332,2 \pm 485,82 \times 10^6$ sel/ml dan $1415,3 \pm 344 \times 10^6$ sel/ml. Viabilitas yang tinggi dapat diperoleh dengan pemisahan masing-masing menggunakan g_1 (30:75%) dan lama waktu inkubasi 45 menit dengan tingkat viabilitas masing-masing $67,72 \pm 13,63\%$ dan $68,58 \pm 8,75\%$. Namun, tidak dapat interaksi ($P > 0,05$) antara gradien dan lama inkubasi terhadap konsentrasi dan viabilitas spermatozoa X pada kambing Saanen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada yang terhormat ketua proyek penelitian Dana Padanan yang telah memberikan kesempatan pada peneliti mahasiswa atas pelaksanaan dan penyediaan biaya penelitian melalui kontrak pelaksanaan Program Dana Padanan Kedaireka Tahun 2024 Nomor: T/231/UN23/PT01.04/2024. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada ketua *Experimental Farm* Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman dan Laboratorium Bioteknologi *Integrated Academic Building* yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian, M. F., M. N. Ihsan, dan N. Isnaini. 2014. Pengaruh Lama Simpan Semen dengan Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production* 15(2) : 1-6.
- Alviana, S. L., H. Latuconsina., dan F. Faisal. 2024. Perbandingan Produksi Spermatozoa Cair Pada Kambing Peranakan Ettawa Dengan Kambing Saanen (*Capra aegagrus hircus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Sains Unisma Malang* 2(2) : 24-29.
- Amrullah, M. F. 2020. Pengaruh Lama Inkubasi *Sexing* Spermatozoa dengan Metode Sedimentasi Putih Telur Terhadap Kualitas Semen Sapi Bali (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin).
- Annur, Z. A. 2018. Karakteristik Semen Segar dan *Recovery Rate* Kambing Saanen pada Musim yang Berbeda. Skripsi, Universitas Brawijaya, Malang.
- Anwar, A., N. Solihati., dan S.D. Rasad. 2019. Pengaruh Medium dan Lama Inkubasi Dalam Proses *Sexing* Sperma Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran* 19(1):53-61.

- Awalia, R. S., S. A. Sentosa, dan P. Yuwono. 2019. Pendugaan Nilai Repitabilitas dan MPPA (Most Probable Producing Ability) Bobot Lahir Kambing Saanen di BBPTU-HPT Baturraden. *ANGON: Journal of Animal Science and Technology* 1(1) : 48-56.
- Barek, M. E., T. M. Hine., W. M. Nalley, dan H. L. Belli. 2020. Pengaruh Penambahan Sari Wortel dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Bligon (The effect of carrot juice supplementation in citrate-egg yolk extender on spermatozoa quality of bligon goat). *Jurnal Nukleus Peternakan* 7(2): 109-117.
- Bebas, W., W. Gorda., I. G. N. B. Trilaksana., D. N. D. I. Laksmi., and T. G. O. Pemayun.. 2018. Lactose-Astaxanthin Increased The Frozen Semen Quality Of Gembrong Goat In Conservation Efforts. *Jurnal veteriner* 19(3) : 390-396.
- Cahyadi, T. R. T. 2016. Persentase Hidup dan Abnormalitas Sel Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawah (PE) dengan Pakan yang Disuplementasi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis*). *Animal Agriculture Journal* 5(4):23-32.
- Dasrul, D., Yaman, M. A., & Zulfan, Z. 2013. Pemisahan spermatozoa berkromosom X dan Y kambing boer dan aplikasinya melalui inseminasi buatan untuk mendapatkan jenis kelamin anak sesuai harapan. *Jurnal Agripet* 13(1):6-15.
- Fatahilah, F., T. Susilawati, dan N. Isnaini. 2017. Pengaruh Lama Sentrifugasi terhadap Kualitas dan Proporsi Spermatozoa XY Sapi Limousin Hasil *Sexing* dengan Gradien Densitas Percoll Menggunakan Pengencer cep-2+ 10% kt. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production* 17(1):86-97.
- Goat, Y. O. E. C. 2019. Derajat Pemulihan dan Persentase Spermatozoa X dan Y Kambing Peranakan Etawah Setelah Separasi dengan Gradien Percoll. *Jurnal Veteriner* Maret 20(1) : 14-19.
- Hendri, M., G. Riady, dan R. Daud. 2017. Hubungan Lingkar Skrotum dan Konsentrasi Spermatozoa pada Kambing Peranakan Ettawa (PE) Jantan (The Relationships of Scrotal Circumference and Sperm Concentration in Male Ettawa Cross Breed). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner* 2(1):41-50.
- Kusumawati E. D., K. N. Utomo., A. T. N. Krisnaningsih., dan S. Rahadi. 2017. Kualitas Semen Kambing Kacang dengan Lama Simpan yang Berbeda pada Suhu Ruang Menggunakan Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur. *JITRO* 4(3): 42-51.
- Lailiyah, F., P. Srianto., A. L. Saputro., S. P. Madyawati., B. Agustono., dan R. A. Prastiya. 2018. Efektifitas Daya Pisah *Electric Separating Sperm* (ESS) Terhadap Spermatozoa Kromosom X dan Y pada Kambing Saper. *Jurnal Medik Veteriner* 1(3):93-98.
- Lestari, T. P. S., M. N. Ihsan., dan N. Isnaini, N. 2014. Pengaruh Waktu Simpan Semen Segar dengan Pengencer Andromed pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika* 15(1):43-50.
- Lopulalan, F., T. Saili., dan L. O. Ba'a. 2018. Kualitas Dan Fertilitas Spermatozoa Sapi Bali Hasil *Sexing* dengan Menggunakan Metode *Swim-Down*. *Jurnal. Ilmu dan Teknologi Peternak Tropika* 5(1):19- 24.
- Mahfud, A., N. Isnaini., A. P. A. Yekti., K. Kuswati, dan T. Susilawati. 2019. Kualitas Spermatozoa *Post Thawing* Semen Beku Sperma Y Hasil *Sexing* pada Sapi Limousin. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production* 20(1) : 1-7.
- Masyitoh, H., T. W. Suprayogi., R. N. Praja., P. Srianto., S. P. Madyawati., dan A. L. Saputro. 2018. persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa kambing Saper. dalam pengencer tris kuning telur dan susu skim kuning telur before freezing. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3), 105-112.
- Permana, F. A., D. M. Saleh., H. S. Widodo., dan C. N. Hidayah. 2023. Abnormalitas dan Morfometri

- Spermatozoa Kambing Saanen Hasil Sexing Menggunakan Bovine Serum Albumin dengan Perbandingan Konsentrasi yang Berbeda. *ANGON: Journal of Animal Science and Technology* 5(3):340-346.
- Prestiya, A., T. N. Siregar., H. Husnurrizal., S. Wahyuni., E. M. Sari., H. Hafizuddin, dan B. Panjaitan. 2020. Peningkatan Motilitas Spermatozoa Kambing Nubian Setelah Pemberian PGF2 α dalam Pengencer Andromed. *Jurnal Agripet* 20(1) : 32-37.
- Putri, T. D., T. N. Siregar., C. N. Thasmi., J. Melia, dan M. Adam. 2020. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Keberhasilan Inseminasi Buatan pada Sapi di Kabupaten Asahan, Sumatera Utara. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 8(3) : 111-119.
- Seuk, M. O. 2018. Pengaruh Frekuensi Penampungan terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *JAS* 3(4) : 51-53.
- Syawal, M. 2010. Karakteristik Morfologi Produksi Kambing Boer, Kacang dan Persilangan Pada Umur 0-3 Bulan (Prasapih). *Seminar Nasional Teknologi dan Veteriner*. 617-619.
- Wurlina, W., E. Safitri., S. Susilowati., and D. K. Meles. 2020. The Effect of Crude Guava Leaf Tannins on Motility, Viability, and Intact Plasma Membrane Of Stored Spermatozoa of Etawa Crossbred Goats. *Veterinary world* 13(3) : 530.