

**UJI KUALITAS DAN PROPORSI SPERMATOZOA
X DAN Y SEMEN BEKU *SEXING* DENGAN
METODE SENTRIFUGASI GRADIEN
DENSITAS *PERCOLL* (SGDP)
PADA SAPI *FRIESIAN*
HOLSTEIN (FH)**

SKRIPSI

Oleh:

**Hesti Prajaningrum
NIM. 165050100111130**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2020



**UJI KUALITAS DAN PROPORSI SPERMATOZOA
X DAN Y SEMEN BEKU *SEXING* DENGAN
METODE SENTRIFUGASI GRADIEN
DENSITAS *PERCOLL* (SGDP)
PADA SAPI *FRIESIAN*
HOLSTEIN (FH)**

SKRIPSI

Oleh:

**Hesti Prajaningrum
NIM. 165050100111130**

Skrripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas
Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2020**

**UJI KUALITAS DAN PROPORSI SPERMATOZOA
X DANY SEMEN BEKU *SEXING* DENGAN
METODE SENTRIFUGASI GRADIEN
DENSITAS *PERCOLL* (SGDP)
PADA SAPI *FRIESIAN*
HOLSTEIN (FH)**

SKRIPSI

Oleh:

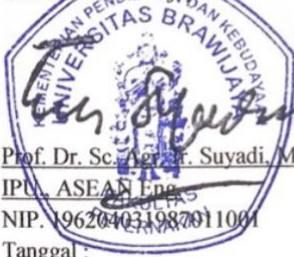
Hesti Prajaningrum

NIM. 165050100111130

Telah dinyatakan lulus dalam ujian sarjana

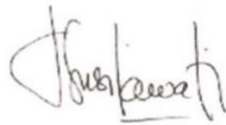
Pada Hari/Tanggal : Senin, 16 Maret 2020

Mengetahui
Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Sc. Agus R. Suyadi, MS.,
IPU, ASEAN Eng.
NIP. 196204031987011001
Tanggal :

Menyetujui
Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Ir. Trinil Susilawati,
MS., IPU, ASEAN Eng.
NIP. 196211121987012001
Tanggal : 9/4/2020



**QUALITY AND PROPORTION TEST SPERMATOZOA
X AND Y SEXING FROZEN SEMEN WITH *PERCOLL*
GRADIENT DENSITY CENTRIFUGATION (SGDP)
METHOD IN *FRIESIAN HOLSTEIN* COW (FH)**

Hesti Prajaningrum¹⁾ and Trinil Susilawati²⁾

¹⁾ Student at Faculty of Animal Husbandry Brawijaya
University

²⁾ Lecturer Faculty of Animal Husbandry Brawijaya University

Email :

Hestiprajaningrum1708@gmail.com

Tsusilawati@ub.ac.id

ABSTRACT

This research was conducted at the Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Animal Husbandry, Brawijaya University in October to December 2019. This study aimed to determine quality and proportions of spermatozoa X and Y of *sexing* and *non-sexing* frozen semen in Holstein *Friesian* (FH) bull. The results of the study can be used as a guideline for the production of frozen *sexing* semen at the Singosari Center for Artificial Insemination (BBIB) to comply with SNI. The semen samples used were FH *sexing* and *non-sexing* bull frozen semen of 20 *straw* each. The research method used was an observational method. Observations showed that the total motile spermatozoa of frozen semen both *sexing* and *non-sexing* were not in accordance with SNI, which was a minimum of 10 million motiles / *straw*. *Chi-Square* calculation

of the proportion spermatozoa X and Y of frozen semen of *non-sexing* spermatozoa of FH bull shows no significant deviation ($P > 0.05$), so it is accordance with the expected value 50: 50, while the *Chi-Square* proportion spermatozoa X and Y of frozen *sexing* semen showed very significant deviations ($P < 0.01$), so it is not accordance with the expected value 80: 20. The conclusion in this study is the total motile spermatozoa (TSM) of frozen *sexing* semen is 6,76 million/*straw* and frozen *non sexing* semen is 8,65 million/*straw*. Proportions spermatozoa X and Y frozen *sexing* semen is 51,05% : 48,95% and frozen *non sexing* semen is 49,95% : 50,05%, so it is advisable to conduct further research on improving the quality and proportion of spermatozoa X and Y *sexing* and *non-sexing* frozen semen, as well as setting the addition of diluents before being frozen to 100 million / ml to be suitable and not too thin, so that the concentration obtained after *thawing* can be in accordance with SNI 25 million / *straw*.

Key words : Spermatozoa Quality, Spermatozoa Proportion X and Y, *Sexing* Frozen Semen, *Non Sexing* Frozen Semen, *Friesian Holstein* bull (FH)

UJI KUALITAS DAN PROPORSI SPERMATOZOA X DAN Y SEMEN BEKU *SEXING* DENGAN METODE SENTRIFUGASI GRADIEN DENSITAS *PERCOLL* (SGDP) PADA SAPI *FRIESIAN HOLSTEIN* (FH)

Hesti Prajaningrum¹) dan Trinil Susilawati²)

¹) Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²) Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

Email :

Hestiprajaningrum1708@gmail.com

Tsusilawati@ub.ac.id

RINGKASAN

Kebutuhan susu sapi perah di Indonesia masih mengandalkan impor dari luar negeri, hal ini mengakibatkan timbulnya kerugian langsung pada peternakan sapi perah di Indonesia, sehingga dibutuhkan peran peternak untuk meningkatkan populasi dan produktivitas sapi perah dalam negeri serta mengurangi ketergantungan impor. Salah satu jenis sapi perah yang unggul yaitu sapi *Friesian Holstein* (FH), yang memiliki produksi susu 7609-8548 kg dalam satu kali laktasi. Upaya untuk mengurangi impor sapi perah, dibutuhkan ternak untuk *replacement stock* dan produksi susu, oleh sebab itu dibutuhkan semen beku *sexing* spermatozoa X untuk menghasilkan sapi perah berjenis kelamin betina. Melalui teknologi *sexing*, kita dapat mengontrol jenis kelamin anak ternak yang akan diproduksi. Salah satu metode yang sering dilakukan untuk *sexing* spermatozoa yaitu Metode Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* dengan dasar perbedaan berat jenis spermatozoa X dan Y yang dipisah dengan cara setrifugasi.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Oktober sampai Desember 2019. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* dan *non sexing* pada sapi *Friesian Holstein* (FH). Hasil penelitian dapat digunakan sebagai pedoman produksi semen *sexing* di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari agar sesuai dengan SNI.

Sampel semen yang digunakan pada penelitian ini adalah semen beku sapi *Friesian Holstein* (FH) *non sexing* dan *sexing* masing-masing 20 *straw*. Metode penelitian yang digunakan adalah metode observasional untuk mengamati kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* dan *non sexing* setelah *thawing* dengan menggunakan mikroskop binokuler. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa total spermatozoa motil semen beku baik *sexing* dan *non sexing* belum sesuai dengan SNI, yaitu minimum 10 juta spermatozoa motil/*straw*. Perhitungan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *non sexing* sapi *Friesian Holstein* (FH) hasil perhitungan uji *Chi-Square* menunjukkan pengaruh tidak nyata ($P > 0,05$), sehingga dapat dikatakan sesuai nilai harapan yaitu 50 : 50, sedangkan perhitungan uji *Chi-Square* perhitungan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* menunjukkan pengaruh sangat nyata ($P < 0,01$), sehingga dapat dikatakan tidak sesuai dengan nilai harapan yaitu 80 : 20.

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah Total Spermatozoa Motil (TSM) semen beku *sexing* 6,76 juta/*straw* dan semen beku *non sexing* 8,65 juta/*straw*. Proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) 51,05% : 48,95% dan semen beku *non sexing* 49,95% : 50,05%, sehingga disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut

mengenai peningkatan kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* dan *non sexing*, serta pengaturan penambahan pengencer sebelum dibekukan untuk menjadi 100 juta/ml agar sesuai dan tidak terlalu encer, sehingga konsentrasi yang didapatkan setelah *thawing* dapat sesuai dengan SNI 25 juta/*straw*.



DAFTAR ISI

Isi

Halaman

RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Kegunaan Penelitian	3
1.5. Kerangka Pikir	4
1.6. Hipotesis Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Reproduksi Sapi Perah <i>Friesian</i> <i>Holstein</i> (FH)	7
2.2. <i>Sexing</i> Spermatozoa	8

2.3. <i>Sexing</i> Spermatozoa Menggunakan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll (SGDP)	12
---	----

BAB III MATERI DAN METODE

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	20
3.2. Materi Penelitian	20
3.2.1. Sampel Semen	20
3.2.2. Alat dan Bahan	20
3.3. Metode Penelitian	22
3.3.1. Variabel Pengamatan	23
3.3.2. Analisis Data	26
3.4. Batasan Istilah	27
3.5. Tahapan Pelaksanaan Penelitian	28

BAB IV PEMBAHASAN

4.1. Kualitas Spermatozoa Semen Beku <i>Sexing</i> dan <i>Non Sexing</i> pada Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH)	29
4.1.1. Motilitas Spermatozoa Semen Beku <i>Non Sexing</i> dan <i>Sexing</i>	30
4.1.2. Viabilitas Spermatozoa Semen Beku <i>Non Sexing</i> dan <i>Sexing</i>	32
4.1.3. Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku <i>Non Sexing</i> dan <i>Sexing</i>	35



4.1.4. Kosentrasi Spermatozoa Semen Beku <i>Non Sexing</i> dan <i>Sexing</i>	39
4.1.5. Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku <i>Non Sexing</i> dan <i>Sexing</i>	41
4.2 Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen Beku <i>Sexing</i> dan <i>Non Sexing</i> pada Sapi <i>Friesian Holstein (FH)</i>	43

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran	49

DAFTAR PUSTAKA	51
----------------------	----

LAMPIRAN	61
----------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

- 1. Beberapa Perbedaan Spermatozoa X dan Y 11
- 2. Rata-Rata Perhitungan Kualitas dan Proporsi Spermatozoa X dan Y Hasil *Sexing* dengan Gradien Densitas *Percoll* Menggunakan Pengencer CEP-2+10% KT 16
- 3. Hasil Kualitas Spermatozoa Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing Post Thawing* 29



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir Penelitian.....	5
2. Tahapan Pelaksanaan Penelitian	28
3. Grafik Rata-Rata Motilitas Individu Semen Beku <i>Non sexing</i> dan Semen Beku <i>Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH) (%)	31
4. Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400x	33
5. Grafik Rata-Rata Viabilitas Semen Beku <i>Non Sexing</i> dan Semen Beku <i>Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH) (%)	35
6. Hasil Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400x	36
7. Grafik Rata-Rata Abnormalitas Semen Beku <i>NonSexing</i> dan Semen Beku <i>Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH) (%)	37
8. Perhitungan Konsentrasi Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400x	39
9. Grafik Rata-Rata Konsentrasi Semen Beku <i>NonSexing</i> dan Semen Beku <i>Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH) ($\times 10^6$ Sperm/Straw)	41



10. Grafik Rata-Rata Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku <i>NonSexing</i> dan Semen Beku <i>Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH) (Juta/ <i>straw</i>)	43
11. Kode <i>Straw</i> Semen Beku <i>Sexing</i>	44
12. Kode <i>Straw</i> Semen Beku <i>Non Sexing</i>	45
13. Pengukuran Panjang dan lebar Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400x	45
14. Grafik Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Spermatozoa Y Semen Beku <i>Non Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH) (%).....	46
15. Grafik Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Spermatozoa Y Semen Beku <i>Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH) (%).....	47



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

1. Perhitungan Ukuran Kepala Spermatozoa untuk Menentukan Spermatozoa X dan Y	61
2. Tabel Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen Beku <i>Non Sexing</i>	63
3. Tabel Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen Beku <i>Sexing</i>	64
4. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen.....	65
5. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Proporsi Spermatozoa Semen Beku <i>NonSexing</i> X dan Y	66
6. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Proporsi Spermatozoa Semen Beku <i>Sexing</i> X dan Y.....	67
7. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Motilitas Semen Beku <i>Sexing</i> X dan Y	68
8. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Motilitas Semen Beku <i>Non Sexing</i> X dan Y.....	70
9. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Abnormalitas Semen Beku <i>Sexing</i> X dan Y	72
10. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Abnormalitas Semen Beku <i>Non Sexing</i> X dan Y.....	74
11. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku <i>Non Sexing</i> X dan Y.....	76



12. Analisa Uji <i>Chi Square</i> Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku <i>Sexing</i> X dan Y	78
13. Uji T Tidak Berpasangan TSM Semen Beku <i>Sexing</i> dan <i>Non Sexing</i>	80
14. Gambar Tabel Uji Kualitas Semen Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH)	82
15. Tabel Uji Kualitas Semen <i>Non Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH)	83
16. Tabel Uji Kualitas Semen <i>Sexing</i> Sapi <i>Friesian Holstein</i> (FH)	89
17. Gambar Pelaksanaan penelitian di Laboratorium Reproduksi, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya	95



DAFTAR SINGKATAN

1. IB : Inseminasi Buatan
2. SGDP : Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll*
3. BBIB : Balai Besar Inseminasi Buatan
4. Mg : Miligram
5. ml : Milliliter
6. kg : Kilogram
7. cm : Centimeter
8. μ : Mikro
9. μm : Micrometer
10. dkk : dan kawan-kawan
11. *et al* : *et alii* (dan kawan-kawan)
12. SNI : Standar Nasional Indonesia
13. NaCl : Natrium Chloride
14. pH : Potential Hydrogen
15. $^{\circ}\text{C}$: Celcius
16. rpm : Rate per minute
17. PVP : Poly venilpyrolidone



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BABI PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kebutuhan susu sapi perah di Indonesia masih mengandalkan impor dari luar negeri. Hal ini sesuai pendapat Direktorat Jenderal Peternakan (2010) yang mengatakan bahwa permintaan susu nasional 80% masih di impor dari luar negeri. Ditambah dengan pendapat (Kementerian Pertanian, 2016) bahwa saat ini produksi susu dalam negeri baru bisa memasok tidak lebih dari 21% dari konsumsinasional, sisanya 79% berasal dari impor. Tingginya impor susu dari luar negeri mengakibatkan timbulnya kerugian langsung pada peternakan sapi perah di Indonesia, sehingga dibutuhkan peran peternak untuk meningkatkan populasi dan produktivitas sapi perah dalam negeri serta mengurangi ketergantungan impor. Salah satu jenis sapi perah yang unggul yaitu sapi *Friesian Holstein* (FH), yang memiliki produksi susu 7609-8548 kg dalam satu kali laktasi (Albarran, Portillo and Polloh, 2008). Sapi ini jugamemiliki kemampuan beradaptasi dengan baik dari iklim subtropis sampai tropis dan dari dataran tinggi sampai dataran rendah. Di Indonesia, sapi *Friesian Holstein* (FH) mampu berkembang cukup baik di daerah dengan ketinggian lebih dari 700 m di atas permukaan laut dan di daerah dataran rendah dari 0-300 m di atas permukaan laut seperti di Pasuruan (Jawa Timur), Sumedang (Jawa Barat), dan Kampar (Riau) (Matondang, Talib dan Herawati, 2012).

Upaya untuk mengurangi impor sapi perah membutuhkan ternak untuk *replacement stock* dan produksi susu, oleh sebab

itu dibutuhkan semen beku *sexing* spermatozoa X untuk menghasilkan sapi perah berjenis kelamin betina. Hal ini sesuai dengan pendapat Sunarti, Saili dan Naifu (2016) bahwa peternak sapi perah lebih menginginkan kelahiran anak betina (untuk produksi susu) dalam suatu kelahiran dibandingkan anak jantan, dengan menggunakan teknik *sexing* untuk pengaturan jenis kelamin (Susilawati, 2014). Macam-macam metode *sexing* yang telah dilakukan antara lain metode sedimentasi, *albumin column*, Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP), elektroforesis, *H-Y antigen*, *flow cytometri* dan filtrasi dengan *sephadex column* (Purwoistri, Susilawati dan Rahayu, 2013). Salah satu metode yang sering dilakukan untuk *sexing* spermatozoa yaitu Metode Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* dengan dasar perbedaan berat jenis spermatozoa X dan Y yang dipisah dengan cara setrifugasi (Fatahillah, Susilawati dan Isnaini, 2016).

Pengamatan kualitas semen beku *sexing* pasca *thawing* untuk sapi potong yang didapat dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari sudah pernah dilakukan, akan tetapi untuk pengamatan kualitas semen beku *sexing* sapi perah belum dilakukan. Berdasarkan penelitian terdahulu Mahfud, Isnaini, Yekti, Kuswati dan Susilawati (2019) mengatakan bahwa Kualitas post *thawing* sapi Limmousin semen beku *non sexing* lebih tinggi daripada semen beku *sexing* menggunakan metode SGDP yaitu nilai pH sebesar 6,67 dan 6,60, persentase motilitas sebesar 36,00 % dan 31,40 %, viabilitas sebesar 81,70 % dan 75,89 %, abnormalitas sebesar 6,93 % dan 6,78 %, konsentrasi spermatozoa sebesar 31,67 juta/ mini *straw* dan 12,125 juta/ mini *straw* dan total spermatozoa motil sebesar 11,39 juta/mini *straw* dan 5,10125 juta/mini *straw*.

Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan sebuah penelitian untuk mengetahui kualitas semen beku *sexing* dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* sapi perah, dengan metode Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP) pada sapi *Friesian Holstein* (FH) di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari apakah sudah sesuai dengan standar SNI atau tidak.

1.2. Rumusan Masalah

Selama ini belum diketahui kualitas semen beku *sexing* dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* pada sapi perah, sehingga diperlukan suatu penelitian mengenai kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y hasil *sexing* pada sapi perah di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari apakah sudah sesuai dengan standar SNI atau tidak.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah untuk

1. Mengetahui kualitas semen beku *sexing* dan *non sexing* pada sapi *Friesian Holstein* (FH), meliputi motilitas, viabilitas, konsentrasi, Total Spermatozoa Motil (TSM) dan abnormalitas apakah sesuai dengan SNI atau tidak.
2. Mengetahui proporsi spermatozoa X dan Y pada semen beku *sexing* dan *non sexing* pada sapi *Friesian Holstein* (FH) apakah sesuai dengan nilai harapan atau tidak.

1.4. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai pedoman produksi semen *sexing* di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari agar sesuai dengan SNI.

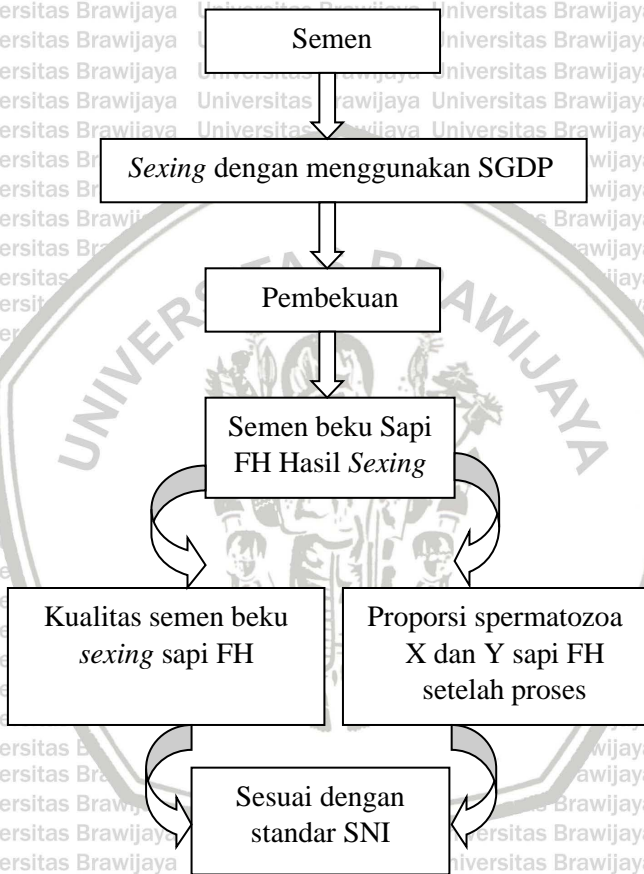
1.5. Kerangka Pikir

Kebutuhan susu sapi perah di Indonesia masih mengandalkan impor dari luar negeri. Hal ini membutuhkan peran peternak untuk meningkatkan populasi dan produktivitas sapi perah dalam negeri serta mengurangi ketergantungan impor. Salah satu jenis sapi perah unggul yaitu sapi *Friesian Holstein* (FH), yang memiliki produksi susu 7609-8548 kg dalam satu kali laktasi (Albarran dkk., 2008). Upaya untuk mengurangi impor sapi perah maka dibutuhkan ternak untuk *replacement stock* dan produksi susu, oleh sebab itu dibutuhkan semen beku *sexing* spermatozoa X untuk menghasilkan sapi perah berjenis kelamin betina. Melalui teknologi *sexing*, kitadapat mengontrol jenis kelamin anak ternak yang akan diproduksi (Sunarti dkk., 2016).

Sexing spermatozoa X dan Y telah dilakukan dengan berbagai metode, macam-macam metode *sexing* yang telah dilakukan antara lain metode sedimentasi, *albumin column*, Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP), elektroforesis, *H-Y antigen*, *flow cytometri* dan filtrasi dengan *sephadex column* (Purwoistri dkk., 2013). Salah satu metode yang sering dilakukan untuk *sexing* spermatozoa yaitu Metode Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* dengan dasar perbedaan berat jenis spermatozoa X dan Y yang dipisah dengan cara setrifugasi (Fatahillah dkk., 2016).

Pengamatan kualitas semen beku *sexing* pasca *thawing* untuk sapi potong yang didapat dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari sudah pernah dilakukan, akan tetapi untuk pengamatan kualitas semen beku *sexing* sapi perah belum dilakukan. Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan sebuah penelitian kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* sapi perah, yang nantinya diharapkan dapat

digunakan sebagai pedoman produksi semen *sexing* di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari agar sesuai dengan standar SNI.



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian



1.6. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. H₀ : Terdapat perbedaan antara kualitas semen beku *sexing* dan *non sexing*

H₁ : Tidak terdapat perbedaan antara kualitas semen beku *sexing* dan *non sexing*

2. H₀ : Terdapat perbedaan antara proporsi semen beku *sexing* dan *non sexing*

H₁ : Tidak terdapat perbedaan antara proporsi semen beku *sexing* dan *non sexing*



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Reproduksi Sapi *Friesian Holstein*(FH)

Sapi perah yang dipelihara di Indonesia sebagian besar adalah bangsa *Friesian Holstein* (FH). Sapi *Friesian Holstein* (FH) berasal dari Belanda dan mempunyai iklim sedang (*temperate*) dengan empat musim yaitu musim semi (*spring*), musim panas (*summer*), musim gugur (*autumn*) dan musim dingin (*winter*) (Atabany, Purwanto, Toharmat dan Anggraeni, 2013). Matondang dkk., (2012) Sapi *Friesian Holstein*(FH) adalah sapi perah yang mampu beradaptasi dengan baik pada berbagai tipe iklim mulai dari subtropis sampai tropis dan dari dataran tinggi sampai dataran rendah, sehingga susu sapi yang terbanyak beredar berasal dari sapi *Friesian Holstein* (FH). Sifat-sifat kualitatif yang menjadi ciri khas sapi *Friesian Holstein*(FH), yaitu tanda putih pada dahi, ujung ekor yang berwarna putih, serta bagian bawah carpus (femur sampai batas teracak) yang berwarna hitam/putih (Liesdiana, Hermawan dan Indrijani, 2016). Gertenbach (2005) menyatakan bahwa sapi *Friesian Holstein* (FH) berasal dari Nederland (Belanda), mempunyai bobot badan 550-650 kg pada betina dewasa dan jantan mencapai 1000 kg. Sapi *Friesian Holstein* (FH) di Inggris mempunyai produksi susu satu laktasi 7609-8548 kg (Albarran dkk., 2008).

Semen sebelum dilakukan proses perlakuan selanjutnya, harus dilakukan uji kualitas terlebih dahulu yang meliputi pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu (%), konsentrasi ($\times 10^6$), viabilitas (%) dan abnormalitas (%). Berdasarkan hasil

penelitian terdahulu Arif, Susilawati dan wahyuningsih (2015) rata-rata volume semen yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah $6,96 \pm 0,90$ ml dengan kisaran 6-8,2 ml, volume semen yang digunakan termasuk dalam kisaran normal. Garner and Hafez (2008) menyebutkan bahwa volume semen sapi perah per ejakulasi sebesar 5-8 ml. Warna semen yang digunakan dalam penelitian adalah putih susu, semen sapi umumnya mempunyai warna putih susu atau bervariasi sampai warna krem. Susilawati (2011) menyatakan bahwa warna krem pada semen disebabkan oleh *riboflavin* dari sekresi kelenjar vesikularis. Lopes (2002) mengatakan bahwa kualitas semen dinyatakan baik apabila memiliki warna kuning kekuningan sampai dengan putih susu. Rataan pH yang digunakan dalam penelitian ini adalah $6,44 \pm 0,17$, semen yang memiliki pH tersebut termasuk dalam kisaran normal. Konsistensi atau tingkat kekentalan semen berkisar mulai dari kental hingga encer, Susilawati (2011) menyatakan bahwa konsistensi semen berkolerasi positif dengan konsentrasi spermatozoa. Karakteristik semen sapi *Friesian Holstein* (FH) yaitu volume antara 5-8 ml. Konsentrasi 500-2000 juta/ml, pH sekitar 6,4-6,8, motilitas 40-47% dengan normalitas 65- 95 % (Garner and Hafez, 2008).

2.2. Sexing Spermatozoa

Penemuan teknologi di berbagai bidang reproduksi ternak dapat dimanfaatkan untuk mengatasi masalah subsektor peternakan terutama dalam upaya meningkatkan produktivitas ternak. Salah satu teknologi tersebut adalah *sexing* sperma. Melalui teknologi ini, kita dapat mengontrol jenis kelamin anak ternak yang akan diproduksi. Teknologi *sexing* sangat

bermanfaat bagi para peternak sapi perah yang lebih menginginkan kelahiran anak betina (untuk produksi susu) dalam suatu kelahiran dibandingkan anak jantan, dapat menggunakan teknik *sexing* untuk meningkatkan efisiensi usahanya (Sunarti dkk., 2016). Pemanfaatan *sexing* atau pemisahan spermatozoa X dan Y merupakan pilihan tepat untuk mendukung peran Inseminasi Buatan (IB) dalam rangka meningkatkan efisiensi usaha peternakan (Purwoistri dkk., 2013).

Inseminasi Buatan (IB) merupakan program yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas daging dan mutu genetik (Yimer, Noraisyah, Rosnina, Wahid, Saisaifi and Harizal, 2014), menurut Susilawati (2013) Inseminasi Buatan (IB) adalah memasukkan mani/semen ke dalam alat kelamin hewan betina sehat dengan menggunakan alat inseminasi agar hewan tersebut menjadi bunting. Salah satu bahan yang perlu dipersiapkan dalam pelaksanaan Inseminasi Buatan (IB) adalah semen yang digunakan. Bioteknologi bidang reproduksi mengalami perkembangan dalam program Inseminasi Buatan (IB) melalui penggunaan semen hasil proses pemisahan kromosom X dan Y atau semen *sexing* pada pelaksanaan Inseminasi Buatan (IB). Cooke, Bohnert, Cappelozza, Marques, Delcurto and Mueller (2014) menyatakan terjadi peningkatan angka kebuntingan dengan menggunakan semen hasil *sexing* pada krioperservasi. Hal ini mendukung untuk dilaksanakannya program IB menggunakan semen *sexing*. Pemanfaatan spermatozoa X dan Y di yakini meningkatkan efisiensi program Inseminasi Buatan (IB) dalam usaha peternakan (Fernanda, Susilawati dan Isnaini, 2015).

Pemanfaatan teknologi pemisahan spermatozoa X dan Y atau lebih sering disebut *sexing sperm* telah menjadi alternatif

yang tepat dalam aplikasi inseminasi buatan (IB), terkait upaya peningkatan efisiensi reproduksi dan peningkatan efisiensi usaha peternakan. *Sexing* merupakan upaya untuk mengubah proporsi aliamiah spermatozoa X dan Y (50% banding 50%) menjadi proporsi yang diinginkan dengan menggunakan metode tertentu. Teknologi ini diyakini mampu meningkatkan nilai aplikasi Inseminasi Buatan (IB), karena mampu menghasilkan bibit unggul sesuai jenis kelamin dan tujuan pemeliharaan (Takdir, Ismaya dan Bintara, 2017). Inseminasi dengan semen pembawa kromosom X akan didapatkan anak betina, sedangkan inseminasi dengan spermatozoa pembawa kromosom Y akan didapatkan anak jantan. Rasio spermatozoa X : Y yang mendekati 50% : 50% berarti ada proporsi seimbang antara jumlah kelahiran anak betina dan anak jantan, tetapi jika rasio spermatozoa X : Y tidak mendekati 50% : 50% maka akan terjadi proporsi yang tidak seimbang antara jumlah kelahiran anak betina dan anak jantan (Bintara, 2011).

Sexing spermatozoa X dan Y telah dilakukan dengan berbagai metode, macam-macam metode *sexing* yang telah dilakukan antara lain metode sedimentasi, *albumin column*, Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP), elektroforesis, *H-Y antigen*, *flow cytometri* dan filtrasi dengan *sephadex column* (Purwoistri dkk., 2013). Spermatozoa X dan Y hasil *sexing* mempunyai perbedaan dalam ukuran dan bentuk spermatozoa, berat, densitas, motilitas, muatan dan kandungan bikomia pada permukaannya (Susilawati, 2014), dapat dilihat pada Tabel 1.



Tabel 1. Beberapa Perbedaan Spermatozoa X dan Y

Parameter	Perbedaan	Evaluasi
DNA	Spermatozoa Y lebih sedikit	Terukur dan <i>accepted</i>
Ukuran	Spermatozoa X lebih besar	Spermatozoa Y dapat diukur atau harus representatif dalam random populasinya
Identifikasi	Spermatozoa X mengandung <i>fluoresen</i>	Spesies spesifik
Motilitas	Spermatozoa Y lebih cepat	Identifikasi yang akurat bila spermatozoa di <i>staining</i> <i>F</i> <i>bodynya</i>
Muatan permukaan	Spermatozoa X migrasi ke katoda	Tidak ada perbedaan muatan antara spermatozoa X dan Y

Sumber : Rricsson, R.J. and Glass, R.H¹ (1982). Fungsional Differences Between Sperm bearing the X or Y Chromosome. In Prospects for *Sexing* Mammalian Sperm, R.P. Amann and G.E Seidel, Jr (eds) Boulder, Colorado University Associated Press).



2.3. *Sexing* Spermatozoa Menggunakan Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP)

Salah satu metode yang sering dilakukan untuk *sexing* spermatozoa yaitu Metode Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP) dengan dasar perbedaan berat jenis spermatozoa X dan Y yang dipisah dengan cara setrifugasi (Fatahillah dkk., 2016). Hal ini sebanding dengan pendapat Dasrul, Yaman dan Zulfan (2013) bahwa Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP) merupakan metode pemisahan spermatozoa yang didasarkan atas perbedaan densitas spermatozoa sebagai indikasi dari perbedaan massa dan ukuran spermatozoa X dengan Y. Massa dan ukuran spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y, bila disentrifugasi lebih cepat turun kelapisan bawah dibandingkan dengan spermatozoa Y.

Percoll adalah medium yang terdiri dari partikel koloid diseliputi dengan *poly vinylpyrrolidone* (PVP) yang dapat meningkatkan motilitas spermatozoa. Penggunaan *percoll* dalam pemisahan spermatozoa dianggap memenuhi syarat, karena *percoll* mempunyai sifat yang diperlukan untuk pemisahan spermatozoa, antara lain : dapat dibuat dalam berbagai densitas, viskositas rendah, tidak toksik, tidak dapat menembus membran sel, dapat disterilkan, tidak mempunyai efek negatif pada pemisahan spermatozoa, mudah dilepaskan dari zat yang dipisahkan, mudah membentuk gradien sendiri meskipun dengan pemutaran rendah (Susilawati, 2014).

Prinsip dasar sentrifugasi adalah memisahkan dua zat atau lebih yang memiliki berat molekul berbeda, zat yang memiliki berat molekul lebih berat akan berada pada lapisan bawah. Spermatozoa yang mempunyai berat lebih besar akan mampu menembus lapisan *percoll* tersebut lebih cepat. Spermatozoa

berkromosom seks X memiliki kandungan DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) lebih banyak daripada spermatozoa berkromosom seks Y (Mahaputra, Mafruchati, Triakoso dan Aries, 2012), oleh sebab itu apabila dilakukan sentrifugasi, spermatozoa berkromosom X cenderung lebih cepat membentuk endapan dibandingkan spermatozoa berkromosom seks Y (Mahaputra dkk., 2012).

Pemisahan spermatozoa X dan Y dapat dilaksanakan dengan menggunakan metode Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP). Keuntungan penggunaan metode ini mudah dilaksanakan, dapat membentuk gradien yang jelas, dapat diaplikasikan untuk keperluan pengembangan teknologi inseminasi buatan dan merupakan metode yang valid. Walaupun metode Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP) banyak digunakan untuk *sexing* spermatozoa, namun hasil-hasil penelitian terkini menunjukkan bahwa metode ini menyebabkan kerusakan membran spermatozoa yang berdampak pada penurunan kualitas spermatozoa. Kerusakan membran spermatozoa setelah proses sentrifugasi, disebabkan oleh tiga faktor, yakni: 1) hilangnya seminal plasma, 2) faktor kimia yang ditandai dengan peningkatan radikal bebas, dan 3) faktor fisik yang terjadi karena adanya gesekan/benturan sesama spermatozoa (Rumende, Kalim, Widodo, dan Djati, 2007).

Proses pemisahan spermatozoa dengan sentrifugasi serta adanya pencucian menyebabkan adanya gesekan mekanis yang dapat mengakibatkan kerusakan membran. Upaya yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas semen agar tetap baik dan untuk mencegah kerusakan membran spermatozoa maka diperlukan pengencer. Prinsip dasar pengenceran adalah menyediakan lingkungan bagi spermatozoa yang secara fisik

maupun kimiawi menyerupai plasma semen, tidak mengandung zat beracun, dan tidak menurunkan fertilitas (Muhammad, Susilawati dan Wahjuningsih, 2016). Bahan pengencer yang ditambahkan dalam semen bertujuan untuk menyediakan nutrisi, bersifat sebagai *buffer* untuk mempertahankan pH, tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit dalam melindungi spermatozoa (Diliyana, Susilawati dan Rahayu, 2014). Andromed merupakan salah satu pengencer terbaik dibandingkan pengencer lainnya, dilihat dari persentase motilitas dan persentase hidup spermatozoa. Susilawati (2011) mengatakan bahwa andromed merupakan suatu medium tanpa kuning telur untuk semen beku dan cair mempunyai angka fertilitas tinggi walaupun tanpa kandungan dari hewan aslinya. Selain itu juga tidak mempunyai resiko kontaminasi mikroorganisme serta mudah dalam penanganan dan waktu penyimpanan. Andromed tersusun atas *aquabidest*, *fruktosa*, *gliserol*, asam sitrat, *buffer*, *phosfolipid*. (Munazaroh, Wahyuningsih dan Ciptadi, 2013), perbandingan yang dipakai yaitu 1 : 4 (20% andromed : 80% aquadest).

Spermatozoa yang ringan akan berada pada lapisan atas, sedangkan spermatozoa pada lapisan bawah memiliki ukuran yang lebih besar dan apabila dilakukan sentrifugasi cenderung lebih cepat membentuk endapan (Hafez, 2008). Adanya daya sentrifugal saat terjadinya sentrifugasi menyebabkan spermatozoa tertarik ke bawah dan membentuk endapan yang lebih banyak dibandingkan lapisan atas. Spermatozoa yang tertarik ke bawah akan berusaha menembus medium pemisah, spermatozoa akan menempati posisi sesuai dengan densitas masing-masing dan sesuai dengan berat spermatozoa tersebut. Semakin lama waktu sentrifugasi maka akan semakin banyak

endapan yang terbentuk pada lapisan bawah. Susilawati (2011) berpendapat, bahwa kecepatan dan lama sentrifugasi yang sesuai mempunyai kemampuan yang baik untuk memisahkan spermatozoa berdasarkan besarnya, yaitu spermatozoa yang kecil ke atas, sedangkan yang besar akan ke bawah.



Tabel 2. Rata-Rata Perhitungan Kualitas dan Proporsi Spermatozoa X dan Y Hasil *Sexing* dengan Gradien Densitas *Percoll* Menggunakan Pengencer CEP-2+10% KT

Parameter Pengamatan	Sentrifugasi 5 Menit		Sentrifugasi 7 Menit	
	Lapisan Atas	Lapisan Bawah	Lapisan Atas	Lapisan Bawah
Konsentrasi (Juta/ml)	727 ± 224,85	616,50 ± 232,33	553,70 ± 245,06	675 ± 207,59
Motilitas Individu(%)	57 ± 6,75	55 ± 5,77	52,50 ± 6,24	61,25 ± 4,29
Viabilitas (%)	89,39 ± 4,20	88,16 ± 4,39	88,75 ± 3,34	87,63 ± 3,05
Abnormalitas (%)	10,73 ± 4,05	10,33 ± 3,22	12,01 ± 3,82	8,60 ± 3,99
Total Spermatozoa Motil (TSM) (Juta/ml)	210 ± 75,10	170 ± 64,1	151 ± 84,50	210 ± 74,2
Proporsi (%)	20,90 ± 5,63	78,60 ± 6,02	19,60 ± 8,04	76,50 ± 4,28

Sumber : Fatahillah dkk., (2016)

Berdasarkan hasil penelitian *sexing* Fatahillah dkk., (2016) rata-rata konsentrasi hasil *sexing* dapat dilihat pada

Tabel 2. yaitu pada sentrifugasi selama 5 menit konsentrasi



spermatozoa $727 \pm 224,85$ juta/ml pada lapisan atas dan pada lapisan bawah $616,50 \pm 232,33$ juta/ml, sedangkan konsentrasi spermatozoa sentrifugasi 7 menit yaitu pada lapisan atas $553,70 \pm 245,06$ juta/ml dan pada lapisan bawah $675 \pm 207,59$ juta/ml. Hasil pengamatan pada perlakuan 5 menit memperlihatkan bahwa rata-rata konsentrasi dilapisan atas memiliki jumlah lebih banyak dibandingkan lapisan bawah, sedangkan pada perlakuan 7 menit rata-rata konsentrasi spermatozoa lapisan bawah lebih tinggi dibandingkan lapisan atas. Hal ini dimungkinkan karena pada saat proses sentrifugasi 5 menit pemisahan antara lapisan atas dan lapisan bawah kurang berjalan dengan sempurna, sehingga pada lapisan atas masih banyak tersisa populasi spermatozoa yang seharusnya turun ke lapisan bawah, sedangkan pada perlakuan 7 menit dimungkinkan mendapat waktu sentrifugasi yang cukup untuk pemisahan lapisan atas dan bawah sehingga populasi spermatozoa yang berada pada lapisan atas sudah turun ke lapisan bawah sesuai dengan ukuran spermatozoa.

Rata-rata motilitas spermatozoa hasil *sexing* dapat dilihat pada Tabel 2. pada lapisan atas dan bawah yaitu pada sentrifugasi selama 5 menit motilitas spermatozoa $57 \pm 6,75\%$ pada lapisan atas dan pada lapisan bawah $55 \pm 5,77\%$, sedangkan motilitas spermatozoa sentrifugasi 7 menit yaitu pada lapisan atas $52,50 \pm 6,24\%$ dan pada lapisan bawah $61,25 \pm 4,29\%$. Hasil *sexing* dengan lama sentrifugasi 7 menit terlihat bahwa motilitas lapisan bawah yang lebih tinggi dibandingkan motilitas lapisan atas, hal ini berbanding terbalik dengan motilitas dari spermatozoa hasil *sexing* dengan sentrifugasi 5 menit. Salah satu faktor yang menyebabkan hal tersebut adalah waktu sentrifugasi yang terlalu lama. Waktu

sentrifugasi yang lama dapat memungkinkan spermatozoa Y kehabisan energi sehingga motilitas lapisan atas lebih kecil dibanding lapisan bawah.

Rata-rata viabilitas spermatozoa hasil *sexing* dapat dilihat pada Tabel 2. pada lapisan atas dan bawah yaitu pada sentrifugasi selama 5 menit viabilitas spermatozoa $89,39 \pm 4,20\%$ pada lapisan atas dan pada lapisan bawah $88,16 \pm 4,39\%$, sedangkan viabilitas spermatozoa sentrifugasi 7 menit yaitu pada lapisan atas $88,75 \pm 3,34\%$ dan pada lapisan bawah $87,63 \pm 3,05\%$. Hasil pengamatan viabilitas dengan lama sentrifugasi 5 dan 7 menit pada lapisan atas memiliki persentasi lebih tinggi dibandingkan lapisan bawah. Data tersebut juga menjelaskan bahwa secara keseluruhan diketahui perlakuan dengan sentrifugasi 5 menit memiliki persentasi viabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan sentrifugasi 7 menit. Semakin lama waktu sentrifugasi maka persentasi viabilitas akan semakin menurun.

Rata-rata abnormalitas spermatozoa hasil *sexing* dapat dilihat pada Tabel 2. pada lapisan atas dan bawah yaitu pada sentrifugasi selama 5 menit abnormalitas spermatozoa $10,73 \pm 4,05\%$ pada lapisan atas dan pada lapisan bawah $10,33 \pm 3,22\%$, sedangkan abnormalitas spermatozoa sentrifugasi 7 menit yaitu pada lapisan atas $12,01 \pm 3,82\%$ dan pada lapisan bawah $8,60 \pm 3,99\%$. Secara keseluruhan rata-rata persentasi abnormalitas lebih tinggi pada perlakuan sentrifugasi 5 menit dibandingkan sentrifugasi 7 menit dan bisa dikatakan perlakuan sentrifugasi 7 menit lebih baik dalam meminimalisir peningkatan abnormalitas meski perbedaannya dengan perlakuan sentrifugasi 5 menit tidak nyata. Seharusnya semakin lama sentrifugasi akan membuat persentasi abnormalitas meningkat karena adanya gesekan saat

sentrifugasi yang berjalan lebih lama dan menyebabkan abnormalitas pada spermatozoa.

Rata-rata Total Spermatozoa Motil (TSM) hasil *sexing* dapat dilihat pada Tabel 2. pada lapisan bawah dengan perlakuan sentrifugasi 5 menit mencapai $170 \pm 64,1$ juta/ml dan perlakuan sentrifugasi 7 menit mencapai $210 \pm 74,2$ juta/ml, sedangkan pada lapisan atas dengan perlakuan sentrifugasi 5 menit mencapai $210 \pm 75,10$ juta/ml dan perlakuan sentrifugasi 7 menit mencapai $151 \pm 84,50$ juta/ml. Semakin lama waktu sentrifugasi seharusnya mengakibatkan total spermatozoa motil mengalami penurunan dan populasi spermatozoa juga semakin banyak turun ke lapisan bawah.

Rata-rata proporsi spermatozoa X dan Y hasil *sexing* dapat dilihat pada Tabel 2. pada lapisan atas dan bawah yaitu pada sentrifugasi selama 5 menit proporsi spermatozoa Y $20,90 \pm 5,63\%$ pada lapisan atas dan proporsi spermatozoa X pada lapisan bawah $78,60 \pm 6,02\%$, sedangkan proporsi spermatozoa Y sentrifugasi 7 menit yaitu pada lapisan atas $19,60 \pm 8,04\%$ dan proporsi spermatozoa X pada lapisan bawah $76,50 \pm 4,28\%$, proporsi spermatozoa X pada lapisan bawah pada perlakuan sentrifugasi 5 menit mencapai $78,6 \pm 6,02\%$, sedangkan proporsi spermatozoa X pada lapisan bawah perlakuan sentrifugasi 7 menit mencapai $76,5 \pm 4,28\%$. Proporsi spermatozoa X antara perlakuan sentrifugasi 5 dan 7 menit perbedaannya tidak begitu signifikan.

BAB III MATERI DAN METODE

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian mengenai uji kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya pada bulan Oktober sampai Desember 2019.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Sampel Semen

Sampel semen yang digunakan pada penelitian ini adalah semen yang berasal dari sapi *Friesian Holstein* (FH) yang dipelihara di BBIB Singosari, berupa semen beku sapi *Friesian Holstein* (FH) *sexing* dan *non sexing* masing-masing 20 *straw*.

3.2.2. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Pemeriksaan kualitas semen, semen beku *non sexing* dan semen beku *sexing* sapi *Friesian Holstein* (FH) secara mikroskopis dan makroskopis.

Alat :

- 1) Mikroskop cahaya binokuler perbesaran 100 kali dan 400 kali
- 2) Tabung reaksi ukuran 10ml
- 3) *Obejct glass* dan *cover glass*
- 4) *Hand tally counter*
- 5) *Haemocytometer*
- 6) Rak tabung reaksi
- 7) Kertas lakmus

- 8) *Blue tip*
- 9) Ose
- 10) *Timer*
- 11) *Container*
- 12) *Goblet*
- 13) *Kanister*
- 14) *Pinset*
- 15) *Tissue*
- 16) *Baskom*
- 17) *Kompore Pemanas*
- 18) *Thermometer*
- 19) *Gunting*
- 20) *Mini Tube*
- 21) *Indikator pH*

Bahan :

1. Semen sapi *Friesian Holstein* (FH) yang berasal dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Malang
2. Pewarna *eosin-negrosin*. Larutan pewarna *eosin nigrosin* terdiri dari *nigrosin* 20,0 g dan *sodium sitrat* 1,5 gram dalam 300 ml air yang sudah disuling, *distirrer* dan dihangatkan sampai larut, ditambahkan *eosin Yellow* 3,3 gram ke dalam larutan *nigrosin*, pH disesuaikan sampai 6,8-7,0. Preparat ulas dibuat dengan cara mencampur semen dengan *eosin nigrosin* satu berbanding empat selanjutnya dibuat preparat ulas tipis (Arifiantini, Wresdiyanti dan Retnani, 2006).
3. *Aquabides*
4. *Nacl* 3%

2. Pengukuran panjang dan lebar kepala spermatozoa X dan Y semen, semen beku *sexing* sapi dan semen beku tanpa *sexing* sapi *Friesian Holstein* (FH).

Alat :

1. Mikroskop cahaya binokular perbesaran 100 kali dan 400 kali
2. Mikrometer obyektif dan mikrometer okuler
3. *Object glass*

Bahan :

1. Semen sapi, semen beku *sexing* dan semen beku tanpa *sexing* sapi *Friesian Holstein*(FH)
2. Pewarna *eosin-negrosin*. Larutan berwarna *eosin nigrosin* terdiri dari *nigrosin* 20,0 g dan sodium sitrat 1,5 gram dalam 300 ml air yang sudah disuling, *distirrer* dan dihangatkan sampai larut, ditambahkan *eosin Yellow* 3,3 gram ke dalam larutan *nigrosin*, pH disesuaikan sampai 6,8-7,0. Preparat ulas dibuat dengan cara mencampur semen dengan *eosin nigrosin* satu berbanding empat selanjutnya dibuat preparat ulas tipis (Arifiantini dkk., 2006).

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode observasional untuk mengamati kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* dan *non sexing* setelah *thawing* dengan menggunakan mikroskop binokuler. Pengamatan yang dilakukan untuk proporsi spermatozoa X dan Y yaitu 2000 spermatozoa masing-masing dari hasil semen beku *sexing* dan *non sexing*.

3.3.1. Variabel Pengamatan

Semen beku *non sexing* dan *sexing* didapatkan dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, Malang, dalam bentuk mini *straw* lalu dibawa ke Laboratorium Reproduksi, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya dengan dimasukan kedalam nitrogen cair, untuk dilakukan pengujian kualitas dan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *post thawing*. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1) Motilitas massa spermatozoa (%)

Motilitas massa diamati dengan menggunakan mikroskop tanpa *cover glass* dengan pebesaran 100× pada suhu ruang 37°C.

Kriteria penilaian gerak massa spermatozoa antara lain :

- Sangat baik (+++) terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap, tebal, dan aktif seperti gumpalan awan hitam dekat waktu hujan yang bergerak cepat berpindah-pindah tempat.
- Baik (++) bila terdapat gelombang-gelombang kecil tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
- Kurang baik (+), jika tidak terlihat gelombang melainkan gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- Buruk (0), bila hanya sedikit ada gerakan-gerakan individual. (Susilawati, 2011).

2) Motilitas Individu Spermatozoa (%)

Gerak individu spermatozoa dapat diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x pada suhu ruang 37°C dengan menggunakan *object glass* yang ditutup dengan *cover glass*, kemudian dihitung spermatozoa yang bergerak progresif (Susilawati, 2011).

3) Persentase spermatozoa hidup/ Viabilitas Spermatozoa (%)

Pengamatan viabilitas dilakukan untuk mengetahui spermatozoa yang hidup dengan menggunakan pewarna *eosin-negrosin*. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna *eosin-negrosin* sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna *eosin-negrosin*, hal ini dikarenakan spermatozoa yang mati membrannya akan mudah ditembus sehingga dapat menyerap warna, sedangkan membran spermatozoa yang hidup masih normal sehingga susah dilintasi oleh *eosin-negrosin* (Tambing, Utama dan Arifiantini, 2003).

Perhitungan persentase hidup spermatozoa dilakukan melalui teknik pewarnaan dengan cara mencampurkan semen dengan larutan *eosin nigrosin* pada gelas obyek, kemudian dibuat preperat ulas dan dikeringkan. Spermatozoa yang mati akan menyerap warna merah muda, sedangkan spermatozoa yang hidup berwarna transparan. Jumlah spermatozoa yang diamati minimal sebanyak 100-200 sel dalam 5 lapang pandang menggunakan mikroskop binokuler.

Selanjutnya spermatozoa yang hidup dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa (spermatozoa

hidup + spermatozoa mati) yang tampak dan dinyatakan dalam persen (%) (Pasaribu, Dasrul dan Riady, 2014).

4) Abnormalitas spermatozoa (%)

Morfologi abnormalitas spermatozoa dievaluasi menggunakan pewarna *eosin nigrosin*. Morfologi spermatozoa diamati dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x. Jumlah spermatozoa yang diamati minimal sebanyak 100-200 sel dalam 5 lapang pandang menggunakan mikroskop binokuler. Selanjutnya spermatozoa yang abnormal yang didapat dibagi jumlah seluruh spermatozoa (spermatozoa normal + spermatozoa abnormal) yang tampak dan dinyatakan dalam persen (%) (Pasaribu dkk., 2014).

5) Konsentrasi spermatozoa

Teknik penghitungan spermatozoa adalah konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan haemositometer dengan cara kerja sebagai berikut: Semen dihisap dengan pipet eritrosit sampai angka 0,5 kemudian NaCl 3% dihisap sampai angka 1,01. Pipet eritrosit digoyang-goyang selama 2-3 menit, semen dibuang 2-3 tetes. Kemudian digoyang-goyang lagi selama 1-2 menit dibuang 1-2 tetes, yang kemudian baru dituang pada kamar hitung yang di atasnya sudah ditutupi dengan *cover glass* sebanyak satu tetes. Spermatozoa dihitung pada 5 kotak (kamar hitung) yaitu pada sudut kanan dan kiri atas, sudut kanan dan kiri bawah, dan tengah (Susilawati, 2011).

6) Proporsi spermatozoa

Perhitungan proporsi spermatozoa X dan Y dilakukan dengan mengidentifikasi spermatozoa menggunakan cara pengukuran luas kepala. Spermatozoa yang memiliki ukuran luas kepala lebih besar dari rata-rata maka dihitung sebagai spermatozoa X dan apabila memiliki ukuran luas kepala lebih kecil dari rata-rata maka dihitung sebagai spermatozoa Y (Susilawati, 2014). Rumus untuk menghitung persentase spermatozoa menurut Akhdiat (2012) adalah :

$$\text{Persentase Spermatozoa (\%)} = \frac{\text{jumlah spermatozoa Y}}{\text{jumlah spermatozoa X dan Y}} \times 100\%$$

7) Total Spermatozoa Motil

Susilawati (2011) menjelaskan bahwa Total Spermatozoa Motil merupakan hasil perkalian antara volume dikalikan konsentrasi kemudian dikalikan lagi dengan persentase motilitas (vol x konsentrasi x motilitas).

3.3.2. Analisis data

Data yang diperoleh selanjutnya ditabulasi dan dioalah secara statistik dengan *chi square* menggunakan *Microsoft Excel* serta dianalisis secara deskriptif untuk membandingkan dengan SNI. Sudarwati, Natsir dan Nurgartiningasih (2019) menyatakan bahwa rumus *chi square* yaitu :

$$\text{Chi square } (X^2) = \frac{(\text{hasil observasi} - \text{hasil yang diharapkan})^2}{\text{hasil yang diharapkan}} \times 100\%$$

3.4. Batasan Istilah

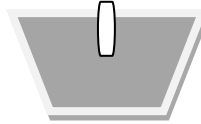
- **Inseminasi Buatan (IB)** : Memasukkan mani/semén ke dalam alat kelamin hewan betina sehat dengan menggunakan alat inseminasi agar hewan tersebut menjadi bunting.
- **Semen** : Mani yang berasal dari pejantan unggul, digunakan untuk inseminasi buatan.
- **Semen beku** : Semen yang berasal dari pejantan sapi terpilih yang diencerkan sesuai prosedur dan dibekukan pada suhu minus 196° Celcius.
- **Sexing** : Upaya yang digunakan untuk mengubah proporsi alamiah spermatozoa menjadi proporsi yang diinginkan dengan metode tertentu.
- **Cold Shock** : Kejutan dingin pada spermatozoa yang mampu menurunkan kualitas spermatozoa.

3.5. Tahapan Pelaksanaan Penelitian

1. Diambil *straw* yang akan diamati dari dalam nitrogen cair (N₂)



2. Dimasukkan *straw* ke dalam *waterbath* suhu 37°c selama 15 detik.

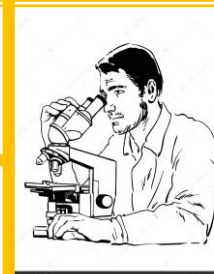


3. Diambil *straw* menggunakan pinset dan dilab dengan tissue.

4. Digunting sumbat lab, diletakan *straw* diatas tabung *ependorf* 1,5 ml dan digunting sumbat prabik.



5. Dilakukan uji kualitas semen beku *sexing* dan tanpa *sexing* sapi FH secara mikroskopis dan makroskopis (sebanyak 20 *straw*).



6. Dilakukan uji proporsi semen beku *sexing* dan tanpa *sexing* sapi FH secaramikroskopis dan makroskopis (sebanyak 20 *straw*).

Gambar 2. Tahapan Pelaksanaan Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Kualitas Spermatozoa Semen Beku *Sexing* dan *Non Sexing* pada Sapi *Friesian Holstein* (FH)

Keberhasilan IB ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kualitas semen yang digunakan. Faktor yang mempunyai pengaruh terhadap kualitas semen adalah bangsa dari pejantan yang ditampung, kondisi kesehatan ternak, umur ternak, kondisi lingkungan, manajemen peternakan, jenis pakan yang diberikan dan bangsa sapi yang digunakan (Rahmawati, Susilawati dan Ihsan, 2015). Hasil uji kualitas Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing Post Thawing* dapat dilihat pada Tabel 3. Di bawah ini.

Tabel 3. Kualitas Spermatozoa Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing Post Thawing*

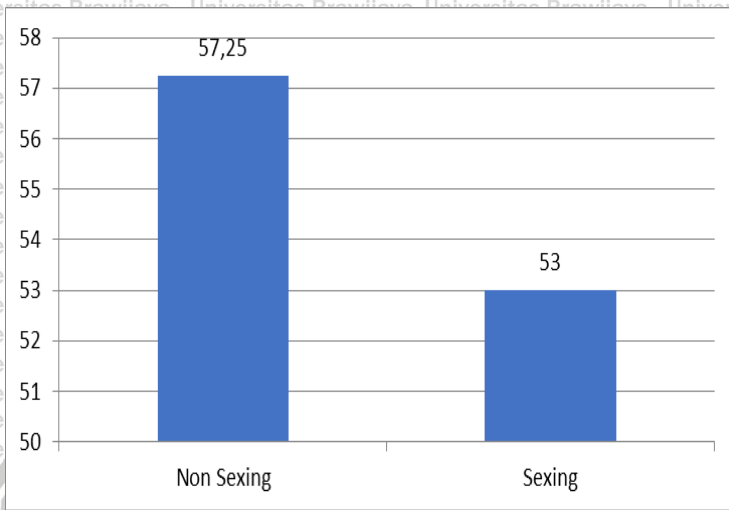
Parameter Pengamatan	Uji Kualitas Semen Beku		
	<i>Nonsexing</i> (Rata-rata ± SD)	<i>Sexing</i> (Rata-rata ± SD)	SNI 4869-1: 2017
Total <i>straw</i> (n)	20	20	-
Volume (ml)/ mini <i>straw</i>	0,25	0,25	0,25
Motilitas individu (%)	57,25 ± 7,52	53 ± 8,18	40
Konsentrasi (x10 ² / <i>straw</i>)	14,98 ± 6,12	12,68 ± 3,96	25
Viabilitas (%)	73,14 ± 7,16	69,41 ± 5,21	70
Abnormalitas (%)	4,43 ± 1,96	5,64 ± 2,26	15
Total Spermatozoa Motil (Juta/ <i>straw</i>)	8,65 ± 3,91	6,76 ± 2,47	10



4.1.1. Motilitas Spermatozoa Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing*

Motilitas merupakan kemampuan daya gerak spermatozoa. Pergerakan ini digunakan sebagai tolok ukur fertilitas sel spermatozoa karena pergerakan yang progresif tersebut diharapkan mampu mempercepat pertemuan dengan sel telur (ovum) untuk proses fertilisasi dalam saluran reproduksi betina. Motilitas spermatozoa setelah *thawing* atau *Post Thawing Motility* (PTM) adalah daya gerak spermatozoa setelah di *thawing*.

Berdasarkan Tabel 3. Bahwa rata-rata motilitas spermatozoa semen beku *non sexing* dan *sexing* setelah *thawing* yaitu sebesar $57,25 \pm 7,52\%$ dan $53 \pm 8,18\%$, menunjukkan angka yang lebih tinggi dibandingkan penelitian terdahulu Mahfud dkk., (2019) bahwa motilitas spermatozoa semen beku *non sexing* dan *sexing* setelah *thawing* yaitu sebesar $36,00 \pm 1,00\%$ dan $31,40 \pm 1,84\%$. Hasil perhitungan uji *Chi-Square* motilitas semen beku *non sexing* dan *sexing* menunjukkan penyimpangan sangat nyata ($P < 0,01$). Motilitas semen beku *non sexing* 57,25% dan *sexing* 53% sudah sesuai SNI, karena hasilnya menunjukkan angka lebih tinggi dibandingkan dengan SNI yaitu 40%. Hal ini sesuai dengan pendapat Putri, Gunawan, Kaiin (2015) bahwa Menurut Standar Nasional Indonesia yang dikeluarkan oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN), Pemeriksaan semen beku segera sesudah dicairkan kembali (*post thawing*) pada suhu 37°C selama 30 detik harus menunjukkan spermatozoa hidup dan bergerak maju (*motil spermatozoa*) minimal 40 (empat puluh) persen. Grafik rata-rata motilitas individu semen beku *non sexing* dan semen beku *sexing* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Rata-Rata Motilitas Individu Semen Beku *Non Sexing* dan Semen Beku *Sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) (%)

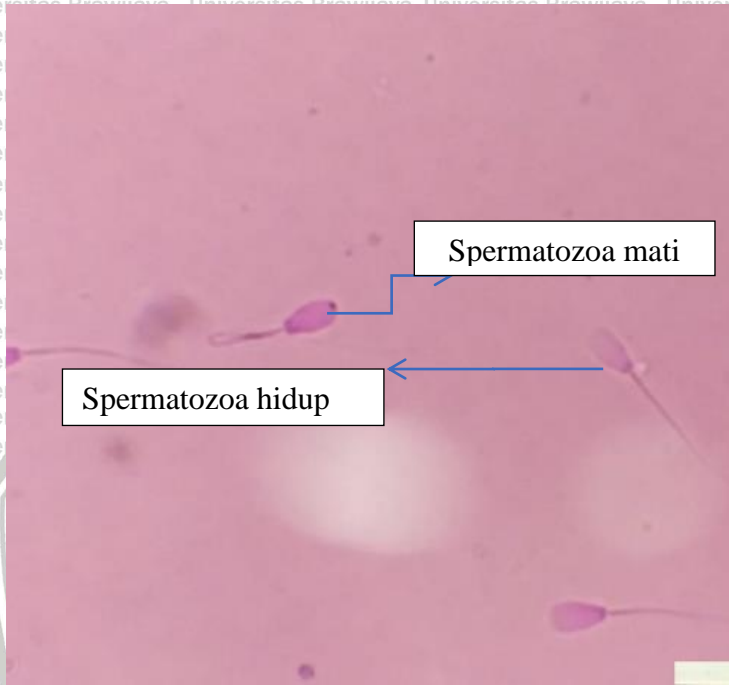
Hasil pengamatan persentase motilitas spermatozoa hasil *sexing* lebih rendah dibanding *non sexing*. Perbedaan daya gerak semen beku *sexing* antar perlakuan menurun saat pemisahan akibat sentrifugasi, karena sentrifugasi menyebabkan gesekan antara spermatozoa dengan medium dan antara spermatozoa lainnya yang akan menyebabkan merusak struktur membran sel spermatozoa. Menurut Susilawati, Rahayu, Udrayana, Sudarwati and Nugroho (2014) bahwa proses sentrifugasi akan mempengaruhi struktur dan fungsi membran spermatozoa dan akan memutuskan antara kepala dan ekor spermatozoa. Selama penyimpanan dan *thawing* terjadi penurunan motilitas dan viabilitas sekitar 50%. Menurut Frazer, Strzezek and Kordan (2014) mengatakan bahwa penyimpanan dalam waktu yang lama memiliki efek

pada motilitas, fungsi mitokondria dan integritas membran spermatozoa.

Proses pemisahan dan pembekuan serta pencairan kembali (*thawing*) pada semen beku spermatozoa X dan Y hasil *sexing* adalah penyebab utama rendahnya kualitas spermatozoa setelah *thawing*. Penurunan kualitas spermatozoa setelah *thawing* akan mengurangi kemampuan fertilisasi dan berefek terhadap perkembangan embrio (Khalil, Harairy, Zeidan, Hassan and Elsaeed, 2018). Hal ini sesuai dengan pendapat Rumende dkk., (2007) bahwa rusaknya kadar kalsium intraseluler pada spermatozoa meningkat yang akan menurunkan motilitas, penurunan viabilitas, penurunan integritas membran dan mengalami kapasitas.

4.1.2. Viabilitas Spermatozoa Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing*

Pengamatan viabilitas dilakukan untuk mengetahui spermatozoa yang hidup dengan menggunakan pewarna *eosin-negrosin*. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna *eosin-negrosin* sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap warna *eosin-negrosin*, hal ini dikarenakan spermatozoa yang mati membrannya akan mudah ditembus sehingga dapat menyerap warna, sedangkan membran spermatozoa yang hidup masih normal sehingga susah dilintasi oleh *eosin-negrosin* (Tambing dkk., 2003). Gambar spermatozoa hasil pewarnaan dengan *eosin-negrosin* terdapat pada Gambar 4.

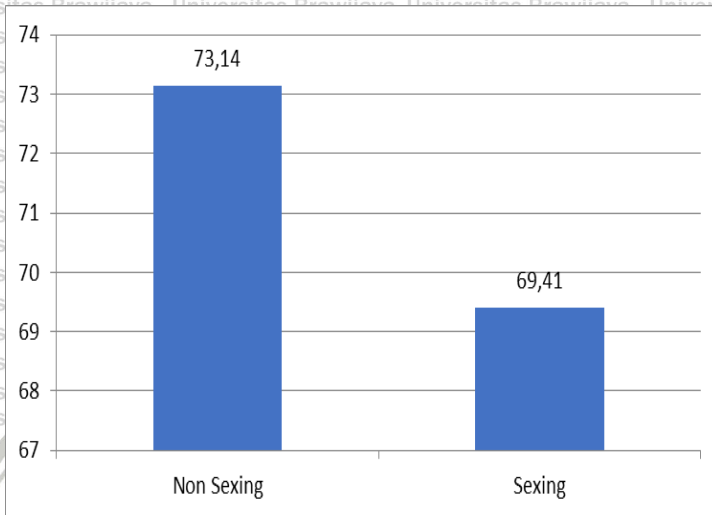


Gambar 4. Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400x

Berdasarkan Tabel 3. Menunjukkan bahwa rata-rata daya hidup spermatozoa semen beku *non sexing* dan *sexing* adalah $73,14 \pm 7,16\%$ dan $69,41 \pm 5,21\%$, menunjukkan hasil yang lebih rendah dibandingkan penelitian terdahulu Mahfud dkk., (2019) bahwa daya hidup spermatozoa semen beku *non sexing* dan *sexing* adalah $81,70 \pm 1,15\%$ dan $75,89 \pm 4,49\%$. Viabilitas semen beku *sexing* 69,41% dan *non sexing* 73,14% sudah sesuai dengan SNI, karena hasilnya menunjukkan angka lebih tinggi dibandingkan dengan SNI yaitu 70%. Nugroho, Susilawati dan Wahjuningsih (2014) mengatakan bahwa viabilitas semen termasuk kategori sangat baik, karena

persentase viabilitas di atas 70% atau persentase viabilitas harus di atas persentase motilitas.

Hasil pengamatan persentase viabilitas spermatozoa hasil *sexing* lebih rendah daripada *non sexing*. Perbedaan viabilitas spermatozoa hasil *sexing* Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP) dipengaruhi oleh waktu pelaksanaan, temperatur lingkungan dan komponen-komponen yang terdapat pada medium. Pemisahan spermatozoa dengan metode sentrifugasi mengakibatkan kerusakan struktur membran spermatozoa. Kerusakan membran spermatozoa akan mengakibatkan terganggunya proses metabolisme sehingga spermatozoa melemah (Susilawati, 2003). Kerusakan pada membran spermatozoa menyebabkan spermatozoa dapat menyerap warna pada saat uji warna *eosin negrosin*. Kerusakan membran akan berdampak pada spermatozoa yang awalnya mempunyai sifat *permeabel*, tidak mampu lagi menyeleksi keluar masuknya zat, sehingga pada saat dilakukan pewarnaan dengan *eosin negrosin* zat tersebut dapat masuk. Grafik rata-rata viabilitas semen beku *non sexing* dan semen beku *sexing* dapat dilihat pada Gambar 5.



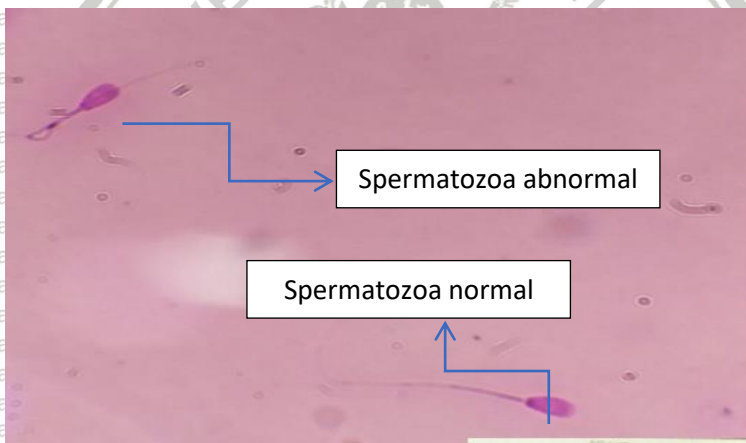
Gambar 5. Grafik Rata-Rata Viabilitas Semen Beku *Non Sexing* dan Semen Beku *Sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) (%)

4.1.3. Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing*

Abnormalitas merupakan kelainan spermatozoa akibat sebelum dan sesudah pengolahan semen. Abnormalitas morfologi spermatozoa dibedakan menjadi tiga yaitu primer, sekunder dan tersier. Abnormalitas primer adalah abnormalitas karena kegagalan spermatogenesis, abnormalitas sekunder terjadi selama spermatozoa melalui epididimis dan abnormalitas tersier terjadi karena kerusakan spermatozoa setelah ejakulasi atau penanganan yang salah pada saat inseminasi buatan (Hafez, 2008).

Bentuk-bentuk abnormalitas spermatozoa primer, antara lain kepala yang terlampau kecil (*microcephalic*) atau terlalu besar (*macrocephalic*), kepala yang lebar, memanjang,

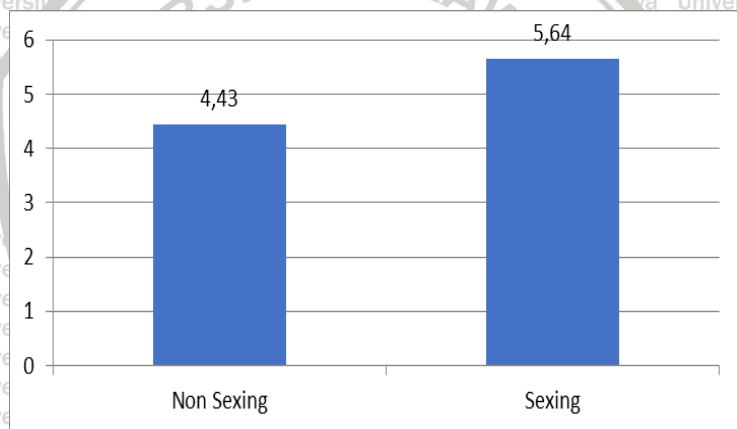
berganda dan berbentuk seperti buah per (*pyriformis*), badan atau ekor berganda; pembesaran bagian tengah; ekor atau bagian tengah yang melingkar (*tail coiled*), dan pertautan abaksial. Bentuk-bentuk abnormalitas sekunder antara lain : *bent tail*, *proximal droplet* dan *simple bent tail*, sedangkan bentuk-bentuk abnormalitas tersier adalah ekor dan kepala yang terputus (Utami dan Tophianong, 2014). Abnormalitas yang banyak ditemukan pada penelitian ini termasuk abnormalitas tersier, yaitu kepala terpisah dengan ekor. Gambar spermatozoa yang normal dan abnormal dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400x

Berdasarkan pada Tabel 3. Menunjukkan bahwa rata-rata abnormalitas semen beku *non sexing* dan *sexing* adalah $4,43 \pm 1,96\%$ dan $5,64 \pm 2,26\%$, menunjukkan angka yang lebih rendah dibandingkan penelitian terdahulu Mahfud dkk., (2019) bahwa abnormalitas pada semen beku *non sexing* sebesar 6,93

$\pm 1,37$ % dan semen beku *sexing* $6,78 \pm 1,63$ %. Hasil perhitungan uji *Chi-Square* abnormalitas semen beku *non sexing* dan *sexing* menunjukkan penyimpangan sangat nyata ($P < 0,01$). Abnormalitas semen beku *non sexing* 4,43% dan *sexing* 5,64% sudah sesuai SNI, karena hasilnya menunjukkan angka lebih rendah dibandingkan dengan SNI yaitu 15%. Menurut Nugroho dkk., (2014) semen yang berkualitas baik memiliki 5-15% spermatozoa abnormal. Grafik rata-rata abnormalitas semen beku *non sexing* dan semen beku *sexing* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Rata-Rata Abnormalitas Semen Beku *Non Sexing* dan Semen Beku *Sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) (%)

Abnormalitas spermatozoa hasil *sexing* lebih tinggi dibandingkan dengan *non sexing*. Abnormalitas terjadi diduga karena membran sel spermatozoa mengalami kerusakan yang menyebabkan membran sel tidak stabil akibat pengolahan semen mulai dari proses penampungan, pengenceran, penyimpanan dan penanganan setelah penyimpanan. Menurut

Sholihati, Idi, Rasad, Rizal dan Fitriati (2008) mengatakan bahwa peningkatan persentase abnormalitas spermatozoa selama proses pendinginan dan pembekuan disebabkan oleh cekaman dingin/*cold shock*, ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolisme yang terus berlangsung selama penyimpanan. Yulnawati dan Setiadi (2005) mengatakan bahwa keberadaan zat yang bersifat racun baik yang berasal dari spermatozoa yang telah mati maupun yang berasal dari zat yang terkandung dalam pengencer yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat menyebabkan tingginya kadar radikal bebas yang dapat merusak keutuhan membran plasma spermatozoa. Menurut Rumende dkk., (2007) mengatakan bahwa perubahan ini dapat mempengaruhi seluler air dan konsentrasi ion yang akan merusak akrosom dan ekor spermatozoa yang mudah rusak saat pengulasan.

Berdasarkan data diatas pada semen beku hasil *sexing*, penyebab abnormalitas juga diduga akibat sentrifugasi setelah proses *sexing*. Putaran yang dihasilkan saat sentrifugasi mengakibatkan spermatozoa yang berada didalam mengalami benturan dan gesekan dengan dinding tabung maupun medium sehingga dapat merusak membran spermatozoa yang menyebabkan abnormalitas pada spermatozoa. Pernyataan tersebut diperjelas oleh Sujoko, Setiadi dan Boediono (2009) yang menjelaskan bahwa sentrifugasi mengakibatkan gesekan antar spermatozoa dengan medium maupun dinding tabung, sehingga menyebabkan kerusakan membran spermatozoa dan persentase abnormal meningkat.



4.1.4. Konsentrasi Spermatozoa Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing*

Konsentrasi spermatozoa adalah jumlah spermatozoa pada volume semen (Mahfud dkk., 2019). Konsentrasi dapat dihitung manual menggunakan *haemocytometer*. Preparat konsentrasi dibuat dengan mencampurkan semen dengan NaCl 3%. Soi (2016) mengatakan bahwa fungsi NaCl pada bidang reproduksi yaitu menghentikan pergerakan spermatozoa atau mematikan spermatozoa saat menghitung konsentrasi pada kamar hitung. Gambar perhitungan konsentrasi spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 8.

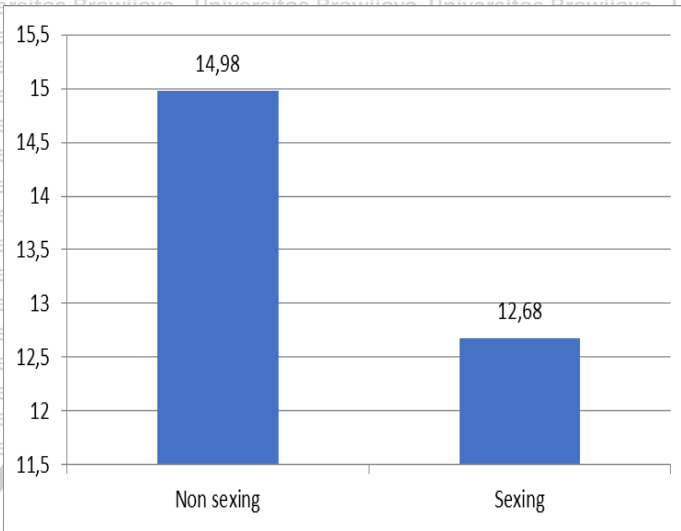


Gambar 8. Perhitungan Konsentrasi Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400 x

Berdasarkan Tabel 3. Menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa semen beku *non sexing* dan *sexing* adalah $14,98 \pm 6,12 \times 10^6/\text{straw}$ dan $12,68 \pm 3,96 \times 10^5/\text{straw}$, menunjukkan hasil yang lebih rendah dibandingkan penelitian terdahulu Mahfud dkk., (2019) bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa semen beku *non sexing*

sebanyak $31,67 \pm 3,82$ juta/*straw* dan semen beku *sexing* $12,125 \pm 4,19$ juta/*straw*. Konsentrasi semen beku *sexing* $12,68$ juta/*straw* dan *non sexing* $14,98$ juta/*straw* tidak sesuai dengan SNI, karena hasilnya menunjukkan angka lebih rendah dibandingkan dengan SNI yaitu 25 juta/*straw*. Rosita, Susilawati dan Wahyuningsih (2013) (Standar Nasional Indonesia (SNI) menyebutkan bahwa konsentrasi spermatozoa sebanyak 25 juta/*straw*.

Rata-rata konsentrasi semen beku *non sexing* lebih tinggi dibandingkan *sexing*, menurut Mahfud dkk., (2019) Perbedaan ini diduga akibat tidak sempurnanya proses *filling* dan *sealing* saat pengemasan, karena pada saat pengujian terdapat *straw* yang terdapat rongga udara. Selain itu juga bisa disebabkan oleh faktor pengenceran sebelum dibekukan yang tidak sesuai karena terlalu encer atau tidak sesuai dengan 100 juta/ml. Sudarmanto, Susilawati dan Isnaini (2015) mengatakan bahwa faktor yang dapat mempengaruhi jumlah semen beku yang dihasilkan oleh seekor sapi adalah kuantitas semen segar yang dihasilkan, jumlah spermatozoa motil, proses pengenceran dan proses pembekuan. Pada beberapa kondisi, umur adalah faktor internal yang mempengaruhi tinggi rendahnya produksi semen beku yang dihasilkan, semakin tua umur sapi maka kualitas semen segar yang dihasilkan semakin rendah sehingga semen yang dapat dibekukan semakin rendah pula. Grafik rata-rata konsentrasi semen beku *non sexing* dan semen beku *sexing* dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik Rata-Rata Konsentrasi Semen Beku *Non Sexing* dan Semen Beku *Sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) ($\times 10^6$ Sperm/Straw)

4.1.5. Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku *Non Sexing* dan *Sexing*

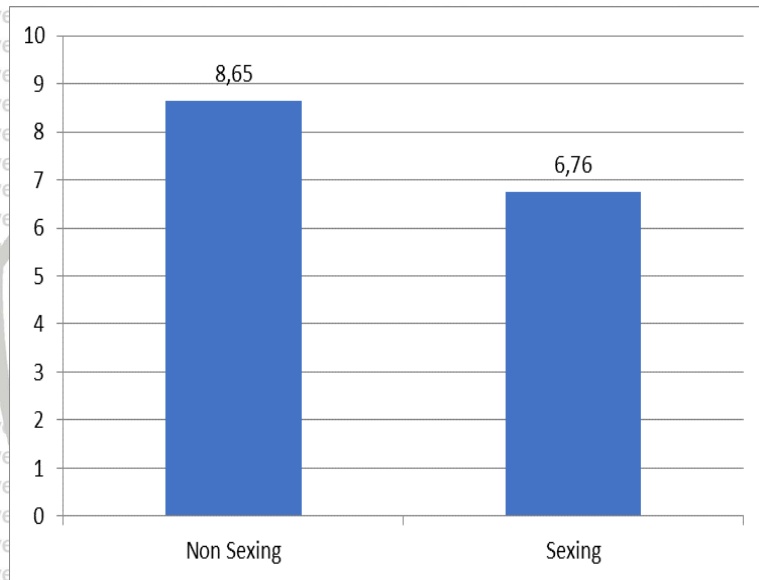
Total spermatozoa motil merupakan jumlah spermatozoa yang diduga fertil berdasarkan jumlah konsentrasi spermatozoa yang memiliki motilitas progresif (Mahfud dkk., 2019). Jumlah total spermatozoa motil dapat digunakan untuk menilai apakah semen yang diproduksi tersebut telah memenuhi syarat untuk digunakan dalam inseminasi buatan. Sugiarto, Susilawati dan Wahyuningsih (2014) mengatakan bahwa jumlah spermatozoa motil sangat menentukan peluang terjadinya fertilisasi. Suatu ejakulat atau semen cair dan semen beku yang digunakan untuk inseminasi buatan harus memiliki total spermatozoa motil yang optimal untuk terjadinya fertilisasi.

Berdasarkan Tabel 3. Bahwa rata-rata total spermatozoa motil semen beku *non sexing* dan *sexing* setelah *thawing* yaitu sebesar $8,65 \pm 3,91$ juta/*straw* dan $6,76 \pm 2,47$ juta/*straw*, menunjukkan angka yang lebih rendah dibandingkan penelitian terdahulu Mahfud dkk., (2019) bahwa total spermatozoa motil pada semen *non sexing* dan *sexing* yaitu sebanyak $11,39 \pm 1,30$ juta/*mini straw* dan $5,10125 \pm 1,44$ juta/*mini straw*. Hasil perhitungan uji *Chi-Square* total spermatozoa motil semen beku *non sexing* dan *sexing* menunjukkan penyimpangan nyata ($P < 0,05$). Total spermatozoa motil semen beku *non sexing* $8,65$ juta/*straw* dan *sexing* $6,76$ juta/*straw* tidak sesuai SNI, karena hasilnya menunjukkan angka lebih rendah dibandingkan dengan SNI yaitu 10 juta/*straw*.

Hasil perhitungan uji T tidak berpasangan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara TSM semen beku *non sexing* dan *sexing*, dengan rata-rata TSM semen beku *non sexing* lebih tinggi dibandingkan TSM semen beku *sexing*. Sianturi, Situmorang, Triwulaningsih dan Kusumaningrum (2004) mengatakan bahwa akibat proses sentrifugasi selama proses pemisahan akan menurunkan kualitas mencapai 20%. Penurunan kualitas spermatozoa setelah pemisahan terjadi akibat dari banyaknya energi yang dibutuhkan untuk menjaga kondisinya normalnya, apabila tidak terpenuhi maka motilitas akan turun dan mati (Aji, Panjono, Agus, Widyobroto, Hartatik, Budisatria dan Bintara, 2017).

Semakin lama waktu sentrifugasi seharusnya mengakibatkan total spermatozoa motil mengalami penurunan dan populasi spermatozoa juga semakin banyak turun ke lapisan bawah. Kualitas spermatozoa sangat ditentukan oleh jumlah total spermatozoa yang hidup dan mampu bergerak aktif ke depan (Hafez and Hafez, 2008). Rata-rata motilitas

yang semakin tinggi akan lebih baik kualitasnya mengingat perjalanan jauh spermatozoa yang nantinya akan diaruhi untuk membuahi ovum. Grafik rata-rata total spermatozoa motil semen beku *non sexing* dan semen beku *sexing* dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik Rata-Rata Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku *Non Sexing* dan Semen Beku *Sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) (Juta/straw)

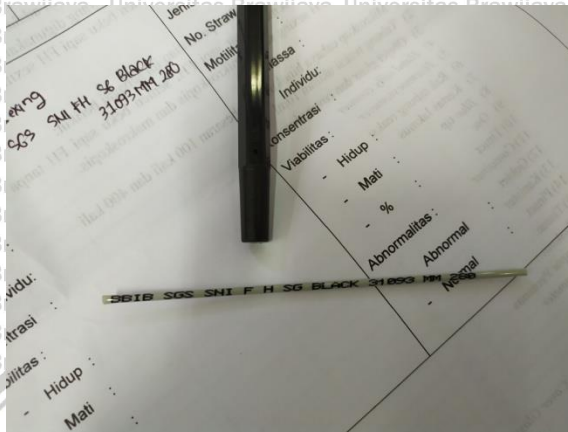
4.2. Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen Beku *Sexing* dan *Non Sexing* pada Sapi *Friesian Holstein* (FH)

Salah satu cara dalam memprediksi spermatozoa X dan spermatozoa Y adalah dengan evaluasi secara morfometrik, yaitu mengukur bagian terlebar dan panjang kepala spermatozoa (Afiati, 2004). Jumlah sampel sebanyak 20

preparat semen beku *sexing*, kode *straw* BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320 dan 20 preparat semen beku *non sexing*, kode *straw* BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280, kode *straw* semen beku *sexing* dan *non sexing* dapat dilihat pada Gambar 11 dan Gambar 12. Pengukuran panjang dan lebar spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 11. Kode *Straw* Semen Beku *Sexing*

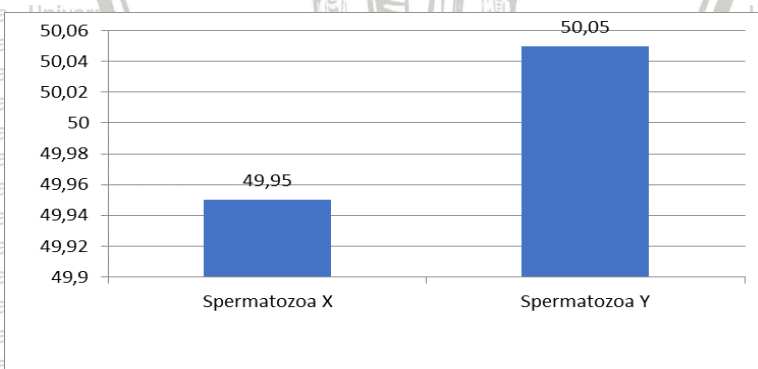


Gambar 12. Kode *Straw Semen Beku Non Sexing*.



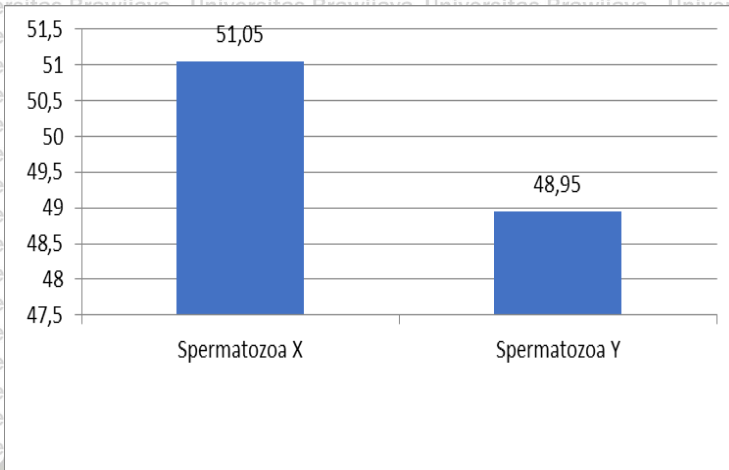
Gambar 13. Pengukuran Panjang dan Lebar Spermatozoa Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400x.

Rata-rata proporsi spermatozoa semen beku *non sexing* spermatozoa X sebesar $49,95 \pm 10,75$ juta/*straw* dan spermatozoa Y sebesar $50,05 \pm 10,75$ juta/*straw*, sedangkan rata-rata proporsi spermatozoa semen beku *sexing* spermatozoa X sebesar $51,05 \pm 9,14$ juta/*straw* dan spermatozoa Y sebesar $48,95 \pm 9,14$ juta/*straw*. Hasil perhitungan uji *Chi-Square* diketahui bahwa perhitungan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *non sexing* menunjukkan pengaruh tidak nyata ($P>0,05$), sehingga dapat disimpulkan sesuai dengan nilai harapan yaitu 50 : 50 (Bintara, 2011). Grafik rata-rata proporsi spermatozoa X dan spermatozoa Y semen beku *non sexing* dapat dilihat pada Gambar 14. Sedangkan Hasil perhitungan uji *Chi-Square* perhitungan proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* menunjukkan pengaruh sangat nyata ($P<0,01$), sehingga dapat disimpulkan tidak sesuai dengan nilai harapan yaitu 80 : 20 (Susilawati, 2005). Grafik rata-rata proporsi spermatozoa X dan spermatozoa Y semen beku *sexing* dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 14. Grafik Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Spermatozoa Y Semen Beku *Non Sexing* Sapi Friesian Holstein (FH) (%)





Gambar 15. Grafik Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Spermatozoa Y Semen Beku *Sexing Sapi Friesian Holstein* (FH) (%)

Proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* menunjukan hasil yang tidak sesuai harapan, karena kesalahan saat proses pipetting yang tidak sesuai. Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2014) bahwa didalam proses *sexing* menggunakan metode sentrifugasi gradien densitas *percoll* ini membutuhkan ketrampilan yang tinggi dalam menggunakan mikropipet. Selain itu, juga disebabkan proses sentrifugasi yang tidak sesuai, sehingga pemisahan antara lapisan atas dan lapisan bawah kurang berjalan dengan sempurna, karena pada lapisan atas masih banyak tersisa populasi spermatozoa yang seharusnya turun ke lapisan bawah (Fatahillah dkk., 2016), serta bisa disebabkan pada saat proses membuat ulasan, banyak spermatozoa yang abnormal sehingga yang seharusnya tergolong spermatozoa X memiliki ukuran panjang dan lebar yang besar, karena abnormal maka ukuran kepala spermatozoa

menjadi mengecil atau rusak, sehingga dihitung menjadi spermatozoa Y.

Proporsi spermatozoa X *sexing* lebih tinggi dibanding spermatozoa Y, hal ini disebabkan prinsip dasar *sexing* Sentrifugasi Gradien Densitas *Percoll* (SGDP) adalah pemisahan spermatozoa berdasarkan berat jenis, zat yang memiliki berat molekul lebih berat akan berada pada lapisan bawah, sedangkan yang memiliki berat molekul lebih ringan berada pada lapisan atas. Hal ini dikarenakan spermatozoa yang mempunyai berat lebih besar akan mampu menembus lapisan *percoll* tersebut lebih cepat. Spermatozoa berkromosom seks X memiliki kandungan DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) lebih banyak daripada spermatozoa berkromosom seks Y (Mahaputra dkk., 2012), oleh sebab itu apabila dilakukan sentrifugasi, spermatozoa X cenderung lebih cepat membentuk endapan dibandingkan spermatozoa berkromosom seks Y (Mahaputra dkk., 2012).



BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Total Spermatozoa Motil (TSM) semen beku *sexing* 6,76 juta/*straw* dan semen beku *non sexing* 8,65 juta/*straw*
2. Proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) 51,05% : 48,95%
3. Proporsi spermatozoa X dan Y semen beku *non sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH) 49,95% : 50,05%

5.2. Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peningkatan kualitas dan proporsi semen beku *sexing* dan *non sexing*, serta pengaturan penambahan pengencer sebelum dibekukan untuk menjadi 100 juta/ml agar sesuai dan tidak terlalu encer, sehingga konsentrasi yang didapatkan setelah *thawing* sesuai dengan SNI 25 juta/*straw*, yang nantinya dapat digunakan sebagai pedoman produksi semen *sexing* di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari agar sesuai SNI.

DAFTAR PUSTAKA

Afiati. 2004. Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y Hasil Separasi Kolom Albumin. Media Peternakan. 27(1): 16-20.

Aji, R., Panjono, A. Agus, B. P. Widyobroto, T. Hartatik, I. G. S. Budisatria dan Bintara. 2017. Kinerja Reproduksi Sapi Betina Sumba Ongole yang di Inseminasi dengan Semen Beku Semen Jantan Belgian Blue. Buletin Peternakan. 41(4) : 379-384.

Akhdiat, T. 2012. Proporsi Spermatozoa Y Hasil Pemisahan dengan Fraksi Albumen Telur dan Lama Penyimpanan Semen Domba Lokal. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan. 15(2) : 59-70.

Albarran, B., Portillo and G. E. Polloh. 2008. Genetic Parameter Derived From Using a Biological Model of Lactation on Records of Commercial Dairy Cows. J. Dairy Sci. 91 : 3639-3648.

Arif, A. A., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2015. Kualitas Semen Sapi Friesian Holstein Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer CEP 2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Kuning Telur. Jurnal Nasional. 1-9.



Arifiantini, R. I., T. Wresdiyati dan E. F. Retnani. 2006. Kaji Banding Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (Bos sondaicus) Menggunakan Perwarnaan Williams, Eosin, Eosin Nigrosin dan Formol-Saline. *J. Sain Vet.* 24(1) : 65-70.

Atabany, A., B. P. Purwanto, T. Toharmat dan A. Anggraeni. 2013. Performa Reproduksi Sapi Perah Friesian Holstein (FH) pada Generasi Induk dan Generasi Keturunannya. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan.* 1(1) : 31-36.

Bintara, S. 2011. Rasio Spermatozoa X:Y dan Kualitas Sperma pada Kambing Kacang dan Peranakan etawa. *Sains Peternakan.* 9(2) : 65-71.

Cooke, R. F., D. W. Bohnert., B. I. Cappelozza., R. S. Marques., T. Delcurto and C. J. Mueller. 2014. Incorporation of Sexed Semen Into Reproductive Management of Cow-Calf Operations. *Livestock Science.* 163 : 165-171.

Diliyana, Y. F., T. Susilawati dan S. Rahayu. 2014. Keutuhan Membran Spermatozoa Disekuensing Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll Berpengencer Andromed dan CEP-2 yang Ditambahkan Kuning Telur. *Jurnal Veteriner.* 15(1) : 23-30.

Ditjen Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2010. Blue Print Persusuan Nasional. Jakarta : Ditjen peternakan dan Kesehatan Hewan.

Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am dan S. Wahjuningsih.

2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa sapi limousin selama penyimpanan pada refrigerator dalam pengencer CEP-2 dengan suplementasi kuning telur.

Jurnal Kedokteran Hewan. 7(1) : 5-8.

Fatahillah, T. Susilawati dan N. Isnaini. 2016. Pengaruh Lama

Sentrifugasi Terhadap Kualitas dan Proporsi Spermatozoa X-Y Sapi Limousin Hasil Sexing dengan Gradien Densitas Percoll Menggunakan Pengencer CEP-2+10% KT. J.Ternak Tropika. 17(1) : 86-97.

Fernanda, M. T., T. Susilawati dan N. Isnaini. 2015.

Keberhasilan IB Menggunakan Semen Beku Hasil Sexing dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll (SGDP) pada Sapi Peranakan Ongole (PO). Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. 24(3) : 1-8.

Frazer, L., J. Strzezek and W. Kordan. 2014. Post-Thaw Sperm

Characteristics Following Long-Term Storage of Boar Semen in Liquid Nitrogen. J.anireprosci.147:119-127.

Garner, D. L. And E. S. E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma In Reproduction In Farm Animals.

Edited by E. S. E. Hafez 7th Edition. Blackwell Publishing. USA : 96-109.

Gertenbach, W. D. 2005. Breed of Dairy Cattle. Cedarn Agricultural Development Institute. Copyright by DAEA. <http://www.daea.gov.za/portal/agricpublications>. (14-10-2019).

Hafez, E. S. E and B. Hafez. 2008. X and Y Chromosome Bearing Spermatozoa In Reproduction In Farm Animals. Edited by E. S. E. Hafez. 7th Edition. Blackwell Publishing. South California. USA : 376-389 ISBN : 978-068-330-577-7.

Kementerian Pertanian. 2016. Outlook Susu Komoditas Pertanian Subsektor Peternakan. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretarit jenderal.

Khalil, W. A., E. Harairy, M. A. Zeidan, A. E. Hassan and M. Elsaeed. 2018. Evaluation of Bull Spermatozoa During and After Cryopreservation: Structural and Ultrastructural Insights. International Journal Of Veterinary Science and Medicine. 6 : 49-56.

Liesdiana, F., Hermawan, H. Indrijani. 2016. Evaluasi Karakteristik Sapi Perah Fries Holland. Studi Kasus pada Peternakan Rakyat di Wilayah Kerja KPSBU Lembang. Universitas Padjadjaran. Bandung. 1-11.

Mahaputra, L. M. Mafrychati, N, Triakoso dan R. D. Aries. 2012. Pemisahan Spermatozoa Sapi Limpusin yang Memiliki Kromosom X dan Y dengan Percoll dan Putih Telur Ayam. JBP. 14(3) : 1-4.

Mahfud, A., N. Isnaini, A. P. A. Yekti, Kuswati dan T. Susilawati. 2019. Kualitas Spermatozoa Post Thawing Semen Beku Sperma Y Hasil Sexing pada Sapi Limousin. *Journal of Tropical Animal Production*. 20(1): 1-7.

Matondang, R. H., C. Talib dan T. Herawati. 2012. Prospek Pengembangan Sapi Perah di Luar Pulau Jawa Mendukung Swasembada Susu di Indonesia. *WARTAZOA*. 22(4) : 161-169.

Muhammad, D., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh Penggunaan CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi FH (Friesian Holstein) Kualitas Rendah Selama Penyimpanan suhu 4-5°C. *J. Ternak Tropika*. 17(1) : 66-76.

Munazaroh, A. M., S. Wahjuningsih dan G. Ciptadi. 2013. Uji Kualitas Spermatozoa Kambing Boer Hasil Pembekuan Menggunakan MR. Frosty pada Tingkat Pengenceran Andromed Berbeda. *J. Ternak Tropika*. 14(2) : 63-71.

Nugroho, Y., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer CEP-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Kuning Telur dan Sari Buah Jambu Biji (Psidium guajava). *J. Ternak Tropika*. 15(1) : 31-42.

Pasaribu, E., Dasrul dan G. Riady. 2014. Pengaruh Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Menggunakan Metode Swim Up Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawa (PE). *Jurnal Medika Veterinaria*. 8(2) : 1-6.

Pratiwi, W. C., D. Pamungkas, L. Affandhy, P. Situmorang. 2007. Observasi Kualitas Semen Cair Sapi Peranakan Ongole Terhadap Perbedaan Waktu Inkubasi pada Proses Pemisahan Spermatozoa. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 2007 : 195-200.

Purwoistri, R. F., T. Susilawati dan S. Rahayu. 2013. Membran Spermatozoa Hasil Seksing Gradien Albumin Berpengencer Andromed dan Cauda Epididimal Plasma-2 Ditambahkan Kuning Telur. *Jurnal Veteriner*. 14(3) : 371-378.

Putri, R. D. A., M. Gunawan dan E. M. Kain. 2015. Uji Kualitas Sperma Sexing Sapi Friesian Holstein (FH) Pasca Thawing. *Prom Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1(8) : 2057-2061.

Rahmawati, M. A., T. Susilawati dan M. N. Ihsan. 2015. Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku pada Bangsa Sapi dan Bulan Penampungan yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 25(3) : 25-36.

Rosita, E. A., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2013. Keberhasilan IB Menggunakan Semen Beku Hasil Sexing dengan Metode Sedimentasi Putih Telur pada Sapi PO Cross. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 24(1) : 72-76.

Rumende, R. R. H., H. Kalim, M. A. Widodo dan M. S. Djati. 2007. Peningkatan Kualitas Spermatozoa pada Proses Pemisahan Spermatozoa dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll Melalui Pemberian Fosfolipid. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 23(2) : 71-84.

Setiyani, D. S., A. P. A. Yekti, Kuswati dan T. Susilawati. 2019. Keberhasilan Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Sexing Beku pada Sapi Persilangan Ongole. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 28(3) : 259-264.

Sholihati, N., R. Idi, S. D. Rasad, M. Rizal dan M. Fitriati. 2008. Kualitas Spermatozoa Cauda Epididimis Sapi Peranakan Ongole (PO) dalam Pengencer Susu, Tris dan Sitrat Kuning Telur pada Penyimpanan 4-5°C. *Animal Production*. 10(1) : 22-29.

Sianturi, R., G. Situmorang, P. E. Triwulaningsih dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Pengaruh Isobutil Metilixantina (IMX) dan Waktu Pemisahan Terhadap Kualitas dan Efektifitas Pemisahan Spermatozoa dengan Metode Kolom Albumin Putih Telur. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 9 : 246-251.

Sudarmanto, T. Susilawati dan N. Isnaini. 2015. Pengaruh Lama Gliserolisasi Terhadap Keberhasilan Produksi Semen Beku Sapi Simmental. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 25(2) : 43-48.

Sudarwati, H., M. H. Natsir dan V. M. A. Nurgartiningih. 2019. *Statistik dan Rancangan Percobaan Penerapan dalam Bidang Peternakan*. Malang : UB Press. ISBN : 978-602-423-642-5.

Sugiarto, N., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2014. Kualitas Semen cair Sapi Limmousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer CEP-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Sari Kedelai. *J. Ternak Tropika*. 15(1) : 51-57.

Sujoko, H., M. A. Setiadi dan A. Boediono. 2009. Selesi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Jurnal Veteriner*. 10(3) : 125-132.

Sunarti, T. Saili dan L. O. Nafiu. 2016. Karakteristik Spermatozoa Sapi Limousin Setelah Sexing Menggunakan Metode Kolom Albumin dengan Lama Waktu Sexing yang Berbeda. *JITRO*. 3(1) : 65-77.

Susilawati, T. 2003. Perubahan Fungsi Membran Spermatozoa Sapi pada Proses Seleksi Jenis Kelamin Menggunakan Sentifugasi Gradien Densitas Percoll. *Widya Agrika*. 11(1) : 27-33.

_____. 2005. Tingkat Keberhasilan Kebuntingan dan Ketepatan Jenis Kelamin Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku Sexing pada Sapi Peranakan Ongole. *Animal Production*. 7(3) : 161-167.

_____. 2011. *Spermatology*. Malang : UB Press.

_____. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Malang : UB Press.

_____. 2014. *Sexing Spermatozoa*. Malang : UB Press.

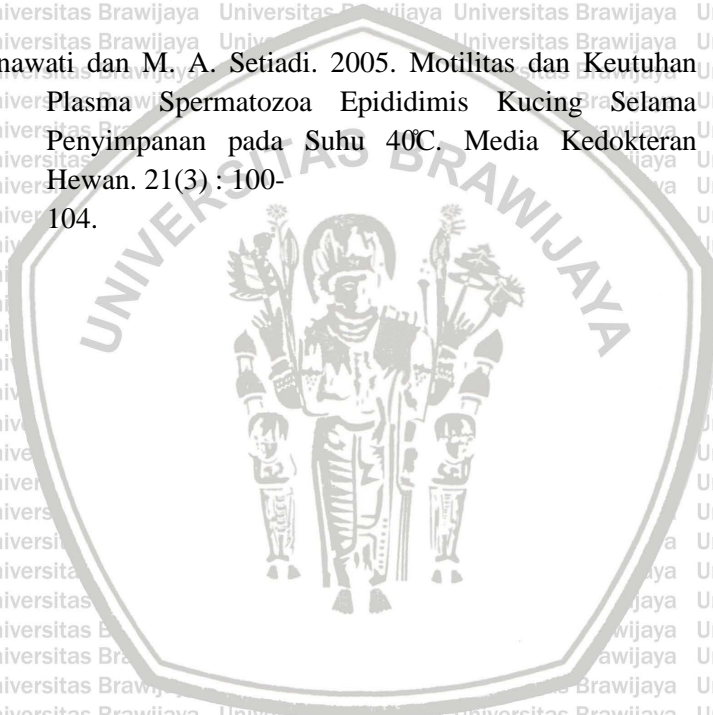
Susilawati, T. S. Rahayu, S. Udrayana, H. Sudarwati and E. Nugroho. 2014. Effect Of Different Centrifugation Duration on Simmental Bull Sperm Quality and Membrane Status After Sexing, Cooling and Freezing Processes. *Journal Of Sustainable Agriculture*. 8(7) : 28-34.

Takdir, M., Ismaya dan S. Bintara. 2017. Proporsi X dan Y, Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Domba Sesudah Pemisahan dengan Putih telur. *Buletin Peternakan*. 41(1) : 1-7.

Tambing, S. N., Utama, I. K. dan Arifiantini, R. I. 2003. Efektivitas Berbagai Konsentrasi Laktosa dalam Pengencer Tris Terhadap Viabilitas Semen Cair Kambing Saanen. *JITV*. 8(2) : 84-90.

Yimer, N., A. H. Noraisyah., Y. Rosnina., H. Wahid., K. Saisaifi and A. M. Harizal, 2014. Comparison of Cryopreservative Effect Of Different Levels Of Omega-3 Egg-Yolk in Citrate Extender On The Quality Of Goat Spermatozoa. *Pakitas Veterinary Jornal*. 34(3) : 347-350.

Yulnawati dan M. A. Setiadi. 2005. Motilitas dan Keutuhan Plasma Spermatozoa Epididimis Kucing Selama Penyimpanan pada Suhu 40C. *Media Kedokteran Hewan*. 21(3) : 100-104.

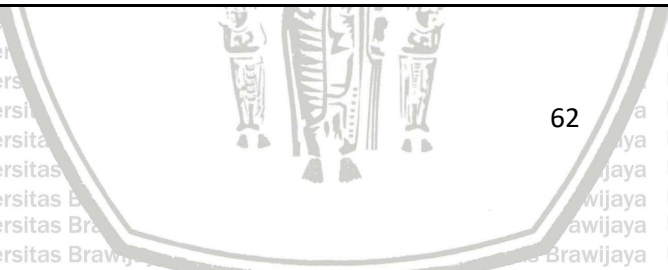


LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Ukuran Kepala Spermatozoa untuk Menentukan Spermatozoa X dan Y

No	Ukuran Kepala Spermatozoa Semen			Kalibrasi (X 2,5)			X	Y
	Panjang (P)	Lebar (L)	Luas (P x L)	Panjang (P)	Lebar (L)	Luas (P x L)		
1	3,5	2	7	8,75	5	43,75		1
2	4,5	2	9	11,25	5	56,25	1	
3	3,5	2,5	8,75	8,75	6,25	54,6875	1	
4	4,5	2,5	11,25	11,25	6,25	70,3125	1	
5	4	2	8	10	5	50	1	
-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-		
-	-	-	-	-	-	-		

No	Ukuran Kepala Spermatozoa Semen			Kalibrasi (X 2,5)			X	Y
	Panjang (P)	Lebar (L)	Luas (P x L)	Panjang (P)	Lebar (L)	Luas (P x L)		
-	-	-	-	-	-	-		
995	3,5	1,5	5,25	8,75	3,75	32,185		1
996	4	2	8	10	5	50	1	
997	4	2	8	10	5	50	1	
998	3,5	1,5	5,25	8,75	3,75	32,8125		1
999	4,5	1,5	6,75	11,25	3,75	42,1875		1
1000	3,5	2	7	8,75	5	43,75		1
Total	3629,5	2146,5	778,25	9073,75	5366,25	48676,5625	508	492
Rata-rata	3,6295	2,1465	7,78825	9,07375	5,36625	48,6765625	0,508	0,492
SD	0,39323579	0,354843	1,54020182	0,983089468	0,887107	9,6262614	0	0
Persentase							50,8	49,2



Lampiran 2. Tabel Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen Beku Non Sexing

<i>Straw ke-</i>	%X	%Y
1	44	56
2	36	64
3	48	52
4	30	70
5	54	46
6	36	64
7	56	44
8	64	36
9	67	33
10	60	40
11	42	58
12	34	66
13	46	54
14	43	57
15	61	39
16	49	51
17	55	45
18	58	42
19	57	43
20	59	41
Total	999	1001
Rata-Rata	49,95	50,05
SD	10,75	10,75



Lampiran 3. Tabel Rata-Rata Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen Beku *Sexing*

<i>Straw ke-</i>	<i>%X</i>	<i>%Y</i>
1	34	66
2	61	39
3	43	57
4	63	37
5	44	56
6	55	45
7	42	58
8	56	44
9	47	53
10	58	42
11	56	44
12	51	49
13	43	57
14	56	44
15	68	32
16	54	46
17	57	43
18	38	62
19	40	60
20	55	45
Total	1021	979
Rata-Rata	51,05	48,95
SD	9,14	9,14



Lampiran 4. Analisa Uji Chi Square Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen

$$\text{Chi square} = \frac{(\text{hasil observasi} - \text{hasil yang diharapkan})^2}{\text{hasil yang diharapkan}} \times 100\%$$

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

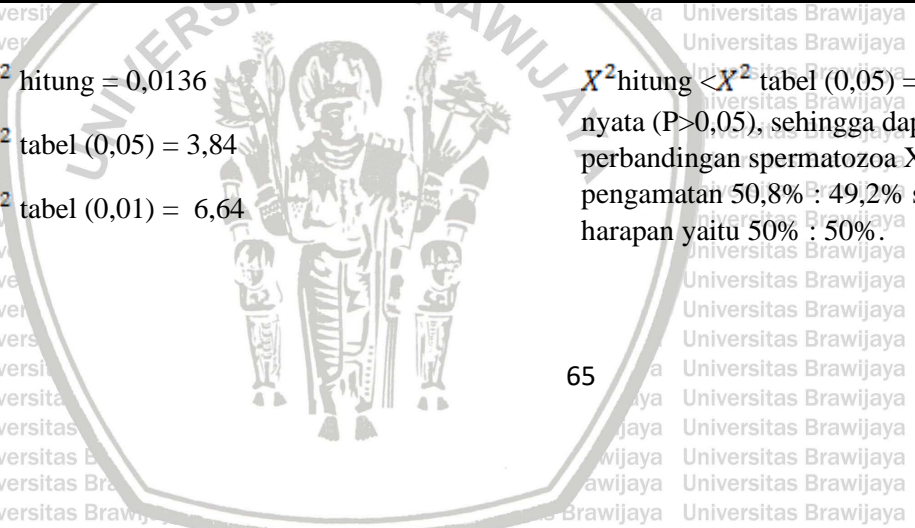
Kelas	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O - E) ²	(O - E) ² / E
Spermatozoa X	50,8	50	0,2	0,04	0,0008
Spermatozoa Y	49,2	50	-0,8	0,64	0,0128

X² hitung = 0,0136

X² tabel (0,05) = 3,84

X² tabel (0,01) = 6,64

X² hitung < X² tabel (0,05) = Jadi pengaruh tidak nyata (P>0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa perbandingan spermatozoa X dan Y hasil pengamatan 50,8% : 49,2% sesuai dengan nilai harapan yaitu 50% : 50%.



Lampiran 5. Analisa Uji Chi Square Proporsi Spermatozoa Semen Beku Non Sexin X dan Y

$$\text{Chi square} = \frac{(\text{hasil observasi} - \text{hasil yang diharapkan})^2}{\text{hasil yang diharapkan}} \times 100\%$$

$$X^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Kelas	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	$(O - E^2)$	$(O - E^2) / E$
Spermatozoa X	49,95	50	-0,05	0,0025	0,00005
Spermatozoa Y	50,05	50	0,05	0,0025	0,00005

X^2 hitung = 0,0001

X^2 tabel (0,05) = 3,84

X^2 tabel (0,01) = 6,64

X^2 hitung < X^2 tabel (0,05) = Jadi pengaruh tidak nyata (P>0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa perbandingan spermatozoa semen beku *non sexing* X dan Y hasil pengamatan 49,95% : 50,05% sesuai dengan nilai harapan yaitu 50% : 50%.

Lampiran 6. Analisa Uji *Chi Square* Proporsi Spermatozoa Semen Beku *Sexing* X dan Y

$$\text{Chi square} = \frac{(\text{hasil observasi} - \text{hasil yang diharapkan})^2}{\text{hasil yang diharapkan}} \times 100\%$$

$$X^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Kelas	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	$(O - E^2)$	$(O - E^2) / E$
Spermatozoa X	51,05	80	28,95	838,1025	10,45
Spermatozoa Y	48,95	20	28,95	838,1025	41,91

X^2 hitung = 52,38

X^2 tabel (0,05) = 3,84

X^2 tabel (0,01) = 6,64

X^2 hitung $> X^2$ tabel (0,01) = Jadi pengaruh sangat nyata B ($P < 0,01$), sehingga dapat disimpulkan bahwa perbandingan spermatozoa X dan Y semen beku *sexing* hasil pengamatan 51,05% : 48,95% tidak sesuai dengan nilai harapan yaitu 80% : 20%.

Lampiran 7. Analisa Uji Chi Square Motilitas Semen Beku Sexing X dan Y

$$\text{Chi square} = \frac{(\text{hasil observasi} - \text{hasil yang diharapkan})^2}{\text{hasil yang diharapkan}} \times 100\%$$

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Motilitas straw ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E) ²	(O-E) ² /E
1.	55	40	15	225	5,63
2.	55	40	15	225	5,63
3.	55	40	15	225	5,63
4.	45	40	5	25	0,63
5.	40	40	0	0	0
6.	60	40	20	400	10
7.	40	40	0	0	0
8.	60	40	20	400	10
9.	65	40	25	625	15,63
10.	40	40	0	0	0
11.	45	40	5	25	0,63
12.	60	40	20	400	10



	Motilitas <i>straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	(O-E)	Deviasi (O-E ²)	(O-E ²)/E
13.		45	40	5	25	0,63
14.		50	40	10	100	2,5
15.		60	40	20	400	10
16.		50	40	10	100	2,5
17.		55	40	15	225	5,63
18.		65	40	25	625	15,63
19.		60	40	20	400	10
20.		55	40	15	225	5,63

X^2 hitung = 116,25

X^2 tabel (0,05) = 30,14

X^2 tabel (0,01) = 36,19

X^2 hitung > X^2 tabel (0,01) = Hasil perhitungan uji *Chi-Square* menunjukkan penyimpangan sangat nyata (P<0,01). Motilitas semen beku *sexing* 53% sudah sesuai SNI, karena menunjukkan angka lebih tinggi dibandingkan dengan SNI yaitu 40%.



Lampiran 8. Analisa Uji Chi Square Motilitas Semen Beku Non Sexing X dan Y

$$Chi\ square = \frac{(hasil\ observasi - hasil\ yang\ diharapkan)^2}{hasil\ yang\ diharapkan} \times 100\%$$

$$X^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Motilitas straw ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E ²)	(O-E ²) / E
1.	55	40	15	225	5,63
2.	60	40	20	400	10
3.	65	40	25	225	5,63
4.	50	40	10	100	2,5
5.	65	40	25	625	15,63
6.	50	40	10	100	2,5
7.	60	40	20	400	10
8.	60	40	20	400	10
9.	65	40	25	625	15,63
10.	55	40	15	225	5,63
11.	55	40	15	225	5,63



Motilitas <i>straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	(O-E)	Deviasi (O-E ²)	(O-E ²)/E
12.	40	40	0	0	0
13.	65	40	25	625	15,63
14.	55	40	15	225	5,63
15.	65	40	25	625	15,63
16.	50	40	10	100	2,5
17.	65	40	25	625	15,63
18.	45	40	5	25	0,63
19.	55	40	15	225	5,63
20.	65	40	25	625	15,63

X^2 hitung = 165,625

X^2 tabel (0,05) = 30,14

X^2 tabel (0,01) = 36,19

X^2 hitung > X^2 tabel (0,01) = Hasil perhitungan uji *Chi-Square* menunjukkan penyimpangan sangat nyata (P,0,01). Motilitas semen beku *non sexing* 57,25% sudah sesuai SNI, karena menunjukkan angka lebih tinggi dibandingkan dengan SNI yaitu 40%.



Lampiran 9. Analisa Uji Chi Square Abnormalitas Semen Beku Sexing X dan Y

$$\text{Chi square} = \frac{(\text{hasil observasi} - \text{hasil yang diharapkan})^2}{\text{hasil yang diharapkan}} \times 100\%$$

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Motilitas straw ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E ²)	(O-E ²)/E
1.	9	15	-6	36	2,4
2.	5,28	15	-9,72	94,48	6,29
3.	4,67	15	10,33	106,71	7,11
4.	5,16	15	-9,84	96,83	6,45
5.	5,17	15	-9,83	96,63	6,44
6.	1,65	15	13,35	178,22	11,88
7.	3	15	-12	144	9,6
8.	2	15	-13	169	11,26
9.	8	15	-7	49	3,26
10.	4,5	15	-10,5	110,25	7,35
11.	9,5	15	-5,5	30,25	2,02



Motilitas <i>straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E ²)	(O-E ²)/E
12.	4,5	15	-10,5	110,25	7,35
13.	6,5	15	-8,5	72,25	4,82
14.	3,5	15	-11,5	132,25	8,82
15.	6	15	-9	81	5,4
16.	9,5	15	-5,5	30,25	2,02
17.	6	15	-9	81	5,4
18.	7,44	15	-7,56	57,15	3,81
19.	4,95	15	-10,05	101	6,73
20.	6,5	15	-8,5	72,25	4,82

X^2 hitung = 123,25

X^2 tabel (0,05) = 30,14

X^2 tabel (0,01) = 36,19

X^2 hitung > X^2 tabel (0,01) = Hasil perhitungan uji *Chi-Square* menunjukkan penyimpangan sangat nyata (P<0,01).

Abnormalitas semen beku *sexing* 5,64% sudah sesuai SNI, karena menunjukkan angka lebih rendah dibandingkan dengan SNI yaitu 15%.



Lampiran 10. Analisa Uji Chi Square Abnormalitas Semen Beku NonSexing X dan Y

$$Chi\ square = \frac{(hasil\ observasi - hasil\ yang\ diharapkan)^2}{hasil\ yang\ diharapkan} \times 100\%$$

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Motilitas <i>straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E ²)	(O-E ²)/E
1.	3,72	15	-11,28	127,24	8,48
2.	3,59	15	-11,41	130,18	8,68
3.	1,43	15	-13,57	184,14	12,28
4.	5,91	15	-9,09	82,63	5,51
5.	6	15	-9	81	5,4
6.	3,19	15	-11,81	139,48	9,29
7.	9,5	15	-5,5	30,25	2,02
8.	2,96	15	-12,04	144,96	9,66
9.	6,86	15	-8,14	66,26	4,42
10.	5,18	15	-9,82	96,43	6,43
11.	2,42	15	-12,58	158,26	10,55
12.	4,48	15	-10,52	110,67	7,38
13.	5,96	15	-9,04	81,72	5,45



Motilitas <i>Straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E ²)	(O-E ²)/E
14.	4,71	15	-10,29	105,88	7,06
15.	5,37	15	-9,63	92,74	6,18
16.	1,15	15	-13,85	191,82	12,79
17.	5,45	15	-9,55	91,2	6,08
18.	4,5	15	-10,5	110,25	7,35
19.	2,86	15	-12,14	147,38	9,83
20.	3,45	15	-11,55	133,4	8,89

X^2 hitung = 153,73

X^2 tabel (0,05) = 30,14

X^2 tabel (0,01) = 36,19

X^2 hitung > X^2 tabel (0,01) = Hasil perhitungan uji *Chi-Square* menunjukkan penyimpangan sangat nyata (P<0,01).

Abnormalitas semen beku *non sexing* 4,43% sudah sesuai SNI, karena menunjukkan angka lebih rendah dibandingkan dengan SNI yaitu 15%.



Lampiran 11. Analisa Uji *Chi Square* Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku *Non Sexing* X dan Y

$$Chi\ square = \frac{(hasil\ observasi - hasil\ yang\ diharapkan)^2}{hasil\ yang\ diharapkan} \times 100\%$$

$$X^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Motilitas straw ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E) ²	(O-E ²)/E
1.	4,95	10	-5,05	25,5	2,55
2.	15,6	10	5,6	31,36	3,14
3.	10,4	10	0,4	0,16	0,02
4.	10,25	10	0,25	0,06	0,006
5.	17,23	10	7,23	52,27	5,23
6.	11	10	1	1	0,1
7.	5,1	10	-4,9	24,01	2,4
8.	14,1	10	4,1	16,81	1,68
9.	5,2	10	-4,8	23,04	2,3
10.	3,85	10	-6,15	37,82	3,78
11.	6,6	10	-3,4	11,56	1,16
12.	5	10	-5	25	2,5
13.	10,08	10	0,08	0,006	0,0006



	Motilitas <i>straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
				(O-E)	(O-E) ²	(O-E ²)/E
14.		10,18	10	0,18	0,03	0,003
15.		8,13	10	-1,87	3,49	0,35
16.		6,5	10	-3,5	12,25	1,23
17.		9,1	10	-0,9	0,81	0,08
18.		3,83	10	-6,17	38,07	3,81
19.		5,23	10	-4,77	22,75	2,28
20.		10,73	10	0,73	0,53	0,05

X^2 hitung = 32,66

X^2 tabel (0,05) = 30,14

X^2 tabel (0,01) = 36,19

X^2 hitung > X^2 tabel (0,05) = Hasil perhitungan uji *Chi-Square* menunjukkan penyimpangan nyata ($P < 0,05$). Total spermatozoa motil semen beku *non sexing* 8,65 juta/*straw* tidak sesuai SNI, karena menunjukkan angka lebih rendah dibandingkan dengan SNI yaitu 10 juta/*straw*.



Lampiran 12. Analisa Uji *Chi Square* Total Spermatozoa Motil (TSM) Semen Beku *sexing* X dan Y

$$Chi\ square = \frac{(hasil\ observasi - hasil\ yang\ diharapkan)^2}{hasil\ yang\ diharapkan} \times 100\%$$

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Motilitas <i>straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	(O-E) ²	(O-E ²)/E
1.	9,08	10	-0,92	0,85	0,08
2.	4,68	10	-5,32	28,3	2,83
3.	10,73	10	0,73	0,54	0,05
4.	4,95	10	-5,05	25,5	2,55
5.	5,6	10	-4,4	19,36	1,94
6.	8,1	10	-1,9	3,61	0,36
7.	4,8	10	-5,2	27,04	2,7
8.	5,1	10	-4,9	24,01	2,4
9.	5,53	10	-4,47	19,98	1,99
10.	3,4	10	-6,6	43,56	4,36



Motilitas <i>straw</i> ke-	Hasil observasi (O)	Hasil yang diharapkan (E)	Deviasi		
			(O-E)	$\sqrt{(O-E^2)}$	$(O-E^2)/E$
11.	3,83	10	-6,17	38,07	
12.	9,6	10	-0,4	0,16	0,02
13.	3,83	10	-6,17	38,07	3,81
14.	6,75	10	-3,25	10,56	1,06
15.	8,4	10	-1,6	2,56	0,26
16.	5,75	10	-4,25	18,06	1,81
17.	9,63	10	-0,37	0,14	0,01
18.	5,53	10	-4,47	19,98	1,99
19.	8,4	10	-1,6	2,56	0,26
20.	11,55	10	1,55	2,4	0,24

X^2 hitung = 32,53

X^2 tabel (0,05) = 30,14

X^2 tabel (0,01) = 36,19

X^2 hitung > X^2 tabel (0,05) = Hasil perhitungan uji *Chi-Square* menunjukkan penyimpangan nyata ($P < 0,05$). Total spermatozoa motil semen beku *sexing* 6,76 juta/*straw* tidak sesuai SNI, karena menunjukkan angka lebih rendah dibandingkan dengan SNI yaitu 10 juta/*straw*



Lampiran 13. Uji T Tidak Berpasangan TSM Semen Beku Sexing dan Non Sexing

TSM Non Sexing	TSM Sexing
4,95	9,075
15,6	4,675
10,4	10,725
10,25	4,95
17,225	5,6
11	8,1
5,1	4,8
14,1	5,1
5,2	5,525
3,85	3,4
6,6	3,825
5	9,6
10,075	3,825
10,175	6,75
8,125	8,4
6,5	5,75

TSM Non Sexing	TSM Sexing
9,1	9,625
3,825	5,525
5,225	8,4
10,725	11,55

Rumus :

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

$$T = \frac{(8,239286 - 6,76)}{3,365018 \sqrt{0,05 + 0,05}}$$

$$= \frac{(1,479286)}{1,064112}$$

T hitung = 1,390159

T tabel 0,5 = 2,024394

T hitung < T tabel = Ho diterima

Kesimpulan :

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara TSM semen beku *non sexing* dan *sexing*, dengan rata-rata TSM semen beku *non sexing* lebih tinggi dibandingkan TSM semen beku *sexing*

Lampiran 14. Gambar Tabel Uji Kualitas Semen Sapi *Friesian Holstein* (FH)

no	nama	Kode e bull	ban gsa	Uji makroskopis					Uji mikroskopis				
				warna	p H	Volu me	Konsi stensi	Bau	Mot. massa	Mot. Indivi du	konse ntrasi	viabilit as	abnorm alitas
1.	Sg. Shoty	314 108	FH	Putih susu	7	2	encer	sem en	2+	55%	507 x [10]^ 6	53,42 %	15,90%



Lampiran 15. Tabel Uji Kualitas Semen *Non Sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH)

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
1.	FH <i>non sexing</i>	BBIB SGS FH SG BLACK 31093 MM 260	55	9	75	3,72	4,95
2.	FH <i>non sexing</i>	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	60	26	80,98	3,59	15,6
3.	FH <i>non sexing</i>	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	65	16	79,7	1,43	10,4

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
4.	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	50	20,5	70,39	5,91	10,25
5.	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 30193 MM 280	65	26,5	75,61	6	17,225
6.	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	50	22	81,65	3,19	11
7.	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	60	8,5	58	9,5	5,1

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
8.	FH non sexing	BBIB SGS FH SG BLACK 31093 MM 280	60	23,5	62	2,96	14,1
9.	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	65	8	73,39	6,86	5,2
10	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	55	7	80,19	5,18	3,85
11	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	55	12	76,55	2,42	6,6

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

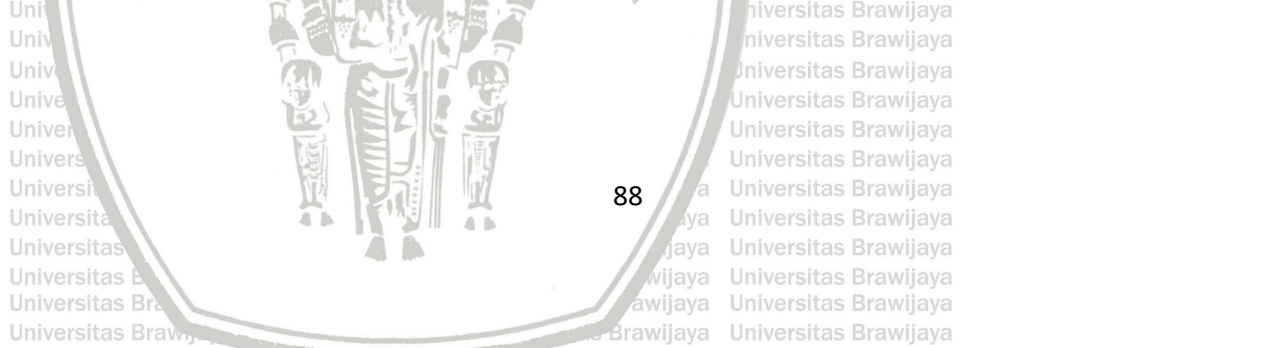
No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
12	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	40	12,5	83,66	4,48	5
13	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	65	15,5	71,67	5,96	10,075
14	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	55	18,5	63,35	4,71	10,175
15	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	65	12,5	68	5,37	8,125

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
16	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	50	13	73,5	1,15	6,5
17	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	65	14	64,08	5,45	9,1
18	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	45	8,5	79,31	4,5	3,825
19	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	55	9,5	70,59	2,86	5,225

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
20	FH non sexing	BBIB SGS SNI FH SG BLACK 31093 MM 280	65	16,5	75,21	3,45	10,725
		Total	1145	299,5	1462,83	88,69	173,025
		Rata-Rata	57,25	14,975	73,1415	4,4345	8,65125
		SD	7,51752	6,11614558	7,16320	1,96428499	0,432562
			3388	7	6629	1	



Lampiran 16. Tabel Uji Kualitas Semen *Sexing* Sapi *Friesian Holstein* (FH)

No	Jenis semen	No straw	Motilitas individu (%) (x 10 ⁶)	Konsentrasi (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
1.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	55	16,5	63,63	9	9,075
2.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	55	8,5	62,43	5,28	4,675
3.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	55	19,5	60,44	4,67	10,725

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
4.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	45	11	69,81	5,16	4,95
5.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	40	14	66,52	5,17	5,6
6.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	60	13,5	66,39	1,65	8,1
7.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	40	12	69	3	4,8

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
8.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	60	8,5	71	2	5,1
9.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	65	8,5	72,5	8	5,525
10.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	40	8,5	70	4,5	3,4
11.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	45	8,5	65,17	9,5	3,825

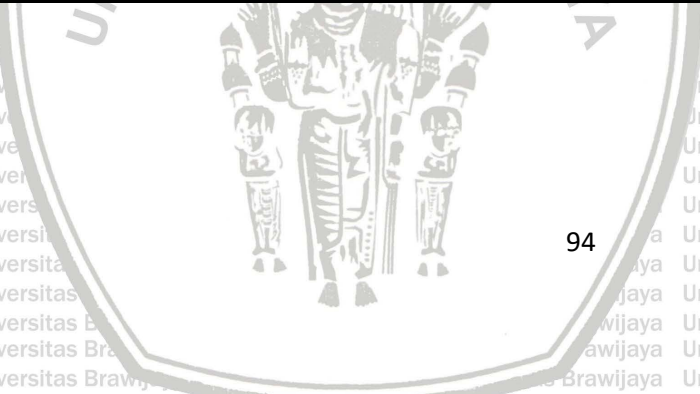
Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
12.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	60	16	79	4,5	9,6
13.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	45	8,5	75,94	6,5	3,825
14.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	50	13,5	79,5	3,5	6,74
15.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	60	14	66	6	8,4

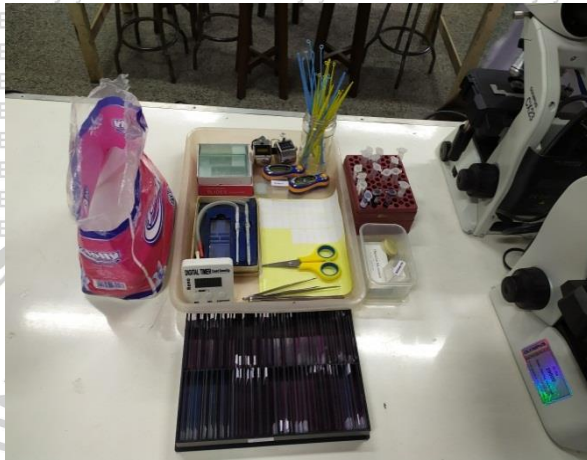
Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10)^6)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
16.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	50	11,5	68	9,5	5,75
17.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	55	17,5	73,77	6	9,625
18.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	65	8,5	68,08	7,44	5,525
19.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	60	14	67	4,95	8,4

No	Jenis Semen	No straw	Motilitas Individu (%)	Konsentrasi (x (10) ⁶)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)	TSM (Juta/straw)
20.	FH <i>sexing</i>	BBIB Singosari FH SG CASIR X 31084 QQ 0320	55	21	72	6,5	11,55
	Total		1060	253,5	1388,18	112,82	2687,1
	Rata-Rata		53	12,675	69,409	5,641	6,71775
	SD		8,17570 2127	3,96124315 9	5,20910 2256	2,25893291 1	0,323859



Lampiran 17. Gambar Pelaksanaan Penelitian di
Laboratorium Reproduksi, Fakultas
Pernakan, Universitas Brawijaya



Gambar 16. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 17. Perhitungan Viabilitas Spermatozoa



Gambar 18. Nitrogen Cair



Gambar 19. Perhitungan Abnormalitas



Gambar 20. Pencatatan Perhitungan Proporsi Spermatozoa



Gambar 21. Menyedot Pipet Eritrosit