



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL

HASIL PENELITIAN PRANATA LABORATORIUM PENDIDIKAN INDONESIA



- Agrokompleks dan Biologi ■
- Kesehatan ■
- Sain (MIPA) ■
- Teknik ■

**Persatuan Pranata Laboratorium Pendidikan
Universitas Gadjah Mada**

Tahun 2016

Sekretanat: Departemen TPHP, Fakultas Teknologi Pertanian UGM

Jl. Flora No. 1, Bulaksumur Yogyakarta 55281

HP: 0818 0266 8223, 0856 4345 5886

Website: pplp-ugm.wg.ugm.ac.id, e-mail: semnasplp.wg@ugm.ac.id

PROSIDING
SEMINAR NASIONAL HASIL PENELITIAN
PRANATA LABORATORIUM PENDIDIKAN INDONESIA

- Agrokompleks Dan Biologi
- Kesehatan
- Sain (MIPA)
- Teknik

ISSN : 2548 – 1924

DEWAN REDAKSI

Penanggung Jawab

Dr. Ratminto, M.Pol.Admin., Direktur Sumber Daya Manusia Universitas Gadjah Mada

Redaktur

Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt. (Ketua Prodi S3 Fakultas Farmasi UGM)

Mukhammad Irfan (Ketua PPLP UGM)

Penyusun

Padya Sumarwanto

Raden Budisantoso

Basuki Rachmat

Reviewer

Dr. Trijoko Raharjo, M.Si. (Sains /MIPA)

Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt. (Kesehatan)

Dr. Ria Millati, ST. (Teknik)

Dr. Retno Indrati, M.Sc. (Agrokompleks dan Biologi)

Diterbitkan:

Departemen TPHP FTP Universitas Gadjah Mada

Jl. Flora, No. 1 Bulaksumur

Yogyakarta

081802668223 – 085643455886

Cetakan pertama, 2016 Hak cipta dilindungi undang undang, dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit.

Isi makalah yang terdapat di dalam prosiding ini merupakan tanggungjawab penulis sepenuhnya

**PROSIDING
SEMINAR NASIONAL HASIL PENELITIAN
PRANATA LABORATORIUM PENDIDIKAN INDONESIA**

- Argokompleks Dan Biologi
- Kesehatan
- Sain (MIPA)
- Teknik

ISSN : 2548 – 1924

DEWAN REDAKSI

Penanggung Jawab

Dr. Ratminto, M.Pol.Admin., Direktur Sumber Daya Manusia Universitas Gadjah Mada

Redaktur

Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt. (Ketua Prodi S3 Fakultas Farmasi UGM)
Mukhamad Irfan (Ketua PPLP UGM)

Penyusun

Padya Sumarwanto
Raden Budisantoso
Basuki Rachmat

Reviewer

Dr. Trijoko Raharjo, M.Si. (Sains /MIPA)
Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt. (Kesehatan)
Dr. Ria Millati, ST. (Teknik)
Dr. Retno Indrati, M.Sc. (Agrokompleks dan Biologi)

Diterbitkan:

Departemen TPHP FTP Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora, No. 1 Bulaksumur
Yogyakarta
081802668223 – 085643455886

Cetakan pertama, 2016 Hak cipta dilindungi undang undang, dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit

TEKNIK PEMISAHAN SPERMATOZOA KAMBING PERANAKAN ETAWAH DENGAN METODE SWIM UP

Yufika Dewi Muksin¹, Enny Yuliani², I Wayan Lanus Sumadiasa³

¹Laboratorium Imunobiologi Universitas Mataram, email : yufika.dewi@yahoo.com.

²Fakultas Peternakan Universitas Mataram, email : ennyyuliani@hotmail.com.

³Fakultas Peternakan Universitas Mataram, email : wlanuss@gmail.com.

ABSTRAK

Metode *swim up* merupakan teknik pemisahan spermatozoa yang pelaksanaannya mudah, efisien, dapat meminimalkan kerusakan mekanik, mengurangi traumatik spermatozoa dan meningkatkan persentase spermatozoa motil dan morfologi yang normal. Tujuan penelitian ini adalah memisahkan spermatozoa berkromosom Y dengan rasio tertinggi dibandingkan dengan spermatozoa berkromosom X. Materi yang digunakan adalah sperma kambing peranakan etawah yang ditampung menggunakan elektro ejakulator. Sperma dicuci dengan 3 ml EBSS, kemudian disentrifugasi 2500 rpm selama 10 menit. Sebanyak 100 µl pelet pada dasar tabung ditambahkan media EBSS sebanyak 3 ml secara perlahan pada bagian atas spermatozoa. Tabung diletakkan tegak lurus pada rak dan diinkubasi selama 15 dan 30 menit pada suhu kamar di dalam *laminar airflow*. Sebanyak 10 µl lapisan bawah dan 10 µl lapisan atas diambil dengan mikropipet, diletakkan di atas obyek glass dan selanjutnya dibuat preparat hapusan. Penentuan spermatozoa X dan Y dilakukan dengan pengukuran panjang kepala (PK), panjang ekor (PE) dan lebar kepala (LK) dalam satuan mikrometer (µm) menggunakan mikroskop inverted. Persentase spermatozoa X atau Y dihitung dari jumlah spermatozoa X atau Y dibagi jumlah seluruh spermatozoa yang diamati dikali 100%. Hasil pemisahan menunjukkan, bahwa ukuran spermatozoa rata-rata pada inkubasi 15 menit untuk lapisan atas PE 49.92±0.83, PK 8.83±2.93, LK 3.72±0.15 berbeda dengan inkubasi 30 menit. Pada inkubasi 30 menit untuk lapisan atas didapatkan hasil PE 49.40±0.84, PK 7.66±0.24, LK 3.90±0.21. Pada lapisan bawah inkubasi 15 menit diperoleh hasil PE 49.51±1.74, PK 7.35±0.23, LK 3.72±0.19 berbeda dengan inkubasi 30 menit yaitu PE 49.65±0.63, PK 7.70±0.52, LK 3.87±0.23. Persentase spermatozoa yang berkromosom X dan Y hasil pemisahan dengan metode *swim up* setelah inkubasi 15 dan 30 menit berturut-turut adalah 28 % X, 72 % Y, 48 % X, 54 % Y untuk lapisan atas dan 78 % X, 22% Y, 64% X, 36% Y untuk lapisan bawah. Kesimpulan, teknik pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* sangat efektif dalam memisahkan spermatozoa berkromosom Y ke lapisan atas pada inkubasi 15 menit.

Kata Kunci : *swim up*, lapisan atas dan lapisan bawah, spermatozoa, ukuran.

1. PENDAHULUAN

Pemisahan (*sexing*) spermatozoa X dan Y merupakan salah satu teknologi yang dikembangkan terutama untuk menunjang inseminasi buatan. Tujuan pengembangan metode pemisahan ini adalah agar peternak dapat menentukan jenis kelamin sesuai keinginan sebelum spermatozoa diinseminasikan (Johnson 1995) disitasi Ningsih (2007). Selain itu, keunggulan spermatozoa hasil pemisahan mampu menunjang efisiensi usaha peternakan, karena dapat menghasilkan anak dengan jenis kelamin tertentu secara masal sesuai dengan tujuan peternakannya. Penggunaan spermatozoa X dan Y pada inseminasi buatan perlu didukung dengan proses penyimpanan setelah pemisahan.

Ericsson dan Glass (1982) yang dikutip oleh Hafez (1993) menyatakan, bahwa spermatozoa berkromosom X dan Y dapat dipisahkan karena memiliki beberapa sifat fisik yang berbeda. Perbedaan ini didasarkan atas ukuran spermatozoa Y yang lebih kecil dan pergerakannya yang lebih cepat dibanding spermatozoa X. Sebaliknya, spermatozoa X lebih gemuk dan bentuk lebih bulat, sehingga bergerak lebih lambat tetapi tahan hidup lebih lama dibanding Y. Spermatozoa X dan Y dapat pula dibedakan berdasarkan bentuk dan ukuran, kemampuan gerak, umur sel spermatozoa, sifat fisik dan kimiawinya. Meskipun jumlah gen dan kromosom kedua jenis spermatozoa tersebut sama, namun ukurannya tidak hanya ditentukan oleh kandungan kromosom (DNA), tapi juga berkaitan dengan kandungan dan struktur sitoplasmanya. Yuliani (2002) menyatakan, bahwa panjang, lebar, luas permukaan kepala, panjang leher dan ekor sperma X lebih besar dibanding spermatozoa Y.

Keberhasilan pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y tergantung dari beberapa perbedaan dasar antara kedua tipe sel tersebut di antaranya adalah arus permukaan membran plasma, perbedaan densitas, perbedaan morfologi nukleus dan kepala, karakter pergerakan/motilitas, sensitivitas pH, dan H-Y antigen pada spermatozoa pembawa kromosom Y (Winsdor *et al.*, 1993). Pemisahan spermatozoa dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu sedimentasi, *albumin column*, sentrifugasi gradien densitas, elektroforesis, *flow cytometry* dan filtrasi dengan *sephadex column*. Pegoraro dkk. (1998) menyatakan, bahwa dengan metode *swim up* dihasilkan rasio spermatozoa berkromosom Y sekitar 63% sedangkan tanpa *swim up* rasio spermatozoa X dan Y adalah 50% : 50%.

Swim up bertujuan memisahkan spermatozoa motil dan non motil, seluler debris dan komponen seminal plasma yang mempengaruhi kualitas spermatozoa (Mc Clure *et al.*, 1989). Pengembangan metode *swim up* dengan berbagai modifikasi berpengaruh terhadap jenis kelamin anak yang dilahirkan (Aitken, 1987; Han *et al.*, 1993; Check *et al.*, 1994; dan De Jonge *et al.*, 1997). Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian tentang pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* ini perlu dilakukan.

2. MATERI DAN METODE PENELITIAN

2.1. Materi penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah sperma kambing peranakan etawah yang berumur 2,5 tahun, ditampung dengan elektroejakulator 2 kali seminggu. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental. Rancangan yang digunakan adalah acak lengkap pola faktorial yaitu spermatozoa lapisan atas dan bawah dengan waktu panen 15 dan 30 menit dengan ulangan 5 kali.

2.2. Bahan Aiat Penelitian

Bahan terdiri dari media pemisah (EBSS), pewarna eosin nigrosin, aquabidest, alkohol 70%, tissue, aluminium foil, yellow tips, blue tips.

Alat terdiri dari elektro ejakulator, mikroskop inverted, centrifuge, pH meter, neraca analitik, magnetic stirer, mikropipet, cover glass, obyek glass, tabung reaksi steril, beaker glass.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Pemisahan spermatozoa

Proses pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* adalah mencuci sperma dengan 3 ml media EBSS kemudian disentrifugasi 2500 rpm selama 10 menit. Sebanyak 100 µl pelet pada dasar tabung ditambahkan media EBSS sebanyak 3 ml secara perlahan pada bagian atas sperma. Tabung diletakkan tegak lurus pada rak dan diinkubasi selama 30 menit dan 15 menit di dalam *laminar air flow*.

2.3.2. Pengukuran spermatozoa

Sebanyak 10 µl lapisan bawah dan 10 µl lapisan atas masing - masing diambil dengan mikropipet, diletakkan di atas obyek glass dan selanjutnya dibuat preparat hapusan. Penentuan spermatozoa X dan Y dilakukan dengan pengukuran panjang kepala (PK), panjang ekor (PE) dan lebar kepala (LK) dalam satuan mikrometer (µm) menggunakan mikroskop inverted. Persentase spermatozoa X atau Y dihitung dari jumlah Spermatozoa X atau Y dibagi jumlah seluruh spermatozoa yang diamati dikali 100%.

$$\text{Spermatozoa X} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa X}}{\text{Jumlah Spermatozoa X} + \text{Jumlah Spermatozoa Y}} \times 100\% \dots (1)$$

$$\text{Spermatozoa Y} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Y}}{\text{Jumlah Spermatozoa X} + \text{Jumlah Spermatozoa Y}} \times 100\% \dots (2)$$

3. HASIL PENELITIAN

3.1. Kualitas sperma segar

Sebelum dilakukan pemisahan spermatozoa, dilakukan evaluasi terhadap sperma segar kambing peranakan etawah. Standar kualitas sperma yang dapat diproses adalah volume sperma 0,8 - 2,5 ml/ejakulasi, gerak massa minimal ++, derajat keasaman sperma (pH) 6,5 -7, gerakan individu 80 %.

3.2. Ukuran spermatozoa hasil pemisahan

Tabel 1. Rata-rata Hasil Pengukuran Spermatozoa Pada Setiap Perlakuan

Fraksi Sperma	Ukuran Spermatozoa (µm)		
	Panjang Ekor	Panjang Kepala	Lebar Kepala
Lapisan atas 15 menit	49.92±0.83	8.83±2.93	3.72±0.15
Lapisan bawah 15 menit	49.51±1.74	7.35±0.23	3.72±0.19
Lapisan atas 30 menit	49.40±0.84	7.66±0.24	3.90±0.21
Lapisan bawah 30 menit	49.65±0.63	7.70±0.52	3.87±0.23



Gambar1. Hasil Pengukuran Spermatozoa

Tabel 2. Proporsi spermatozoa yang berkromosom X dan Y pada lapisan atas dan lapisan bawah.

Fraksi	Proporsi Spermatozoa	
	X (%)	Y (%)
Lapisan atas 15 menit	28	72
Lapisan atas 30 menit	46	54
Lapisan bawah 15 menit	78	22
Lapisan bawah 30 menit	64	36

4. PEMBAHASAN

Salah satu cara untuk memprediksi spermatozoa X dan Y adalah melalui evaluasi secara morfometrik, yaitu mengukur bagian panjang ekor, panjang kepala dan lebar kepala. Hasil pengukuran morfometrik spermatozoa setelah di lakukan pemisahan dengan metode *swim up* (renang atas) menunjukkan kualitas yang bagus seperti pada tabel 1.

Metode penilaian terhadap ukuran spermatozoa pada lapisan atas dan lapisan bawah selama inkubasi 15 dan 30 menit sesuai dengan penelitian Sali (1999), yaitu nilai yang lebih besar dari rata-rata digolongkan spermatozoa X, sedangkan yang lebih kecil dinyatakan spermatozoa Y. Untuk lapisan atas 30 menit diperoleh rata-rata 49.40 ± 0.84 untuk panjang ekor, 7.66 ± 0.24 panjang kepala dan 3.90 ± 0.21 lebar kepala lebih kecil dibandingkan lapisan bawah 30 menit yaitu rata-rata hasil pengukuran diperoleh 49.65 ± 0.63 panjang ekor, 7.70 ± 0.52 panjang kepala, 3.87 ± 0.23 lebar kepala.

Hasil penelitian ini diduga menunjukkan bahwa proporsi spermatozoa kambing peranakan etawah lapisan atas 15 menit sebesar 72% untuk spermatozoa Y dan 28% spermatozoa X sedangkan pada lapisan bawah 15 menit yaitu 78% spermatozoa berkromosom X dan 22% spermatozoa yang berkromosom Y. Proporsi spermatozoa Y pada lapisan atas 30 menit 54% dan spermatozoa X 46%. Sedangkan lapisan bawah pada 30 menit 36% berkromosom Y dan 64% berkromosom X.

Perbedaan proporsi ini disebabkan oleh kemampuan pergerakan spermatozoa Y lebih cepat dibandingkan spermatozoa X sehingga pada saat pemisahan dengan metode *swim up* spermatozoa Y cenderung bergerak ke atas. Menurut Yuliani (2002) pemisahan jenis kelamin dengan *swim up* didasarkan atas pada perbedaan karakter pergerakan spermatozoa. Spermatozoa berkromosom Y bergerak lebih cepat ke permukaan media dibandingkan

spermatozoa berkromosom X. Spermatozoa yang berada pada LA setelah inkubasi mengandung populasi spermatozoa berkromosom Y. Kondisi tersebut ditegaskan pula oleh Schilling dan Thormahlen (1976) disitasi oleh Yuliani (2002), bahwa spermatozoa berkromosom Y mempunyai kemampuan bermigrasi lebih cepat dibandingkan spermatozoa berkromosom X, sehingga apabila dilakukan sentrifugasi spermatozoa berkromosom X cenderung lebih cepat mengendap.

5. KESIMPULAN

- 5.1. Teknik pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* menggunakan media EBSS sangat efektif dalam memisahkan spermatozoa berkromosom Y ke lapisan atas.
- 5.2. Persentase spermatozoa yang berkromosom Y pada inkubasi 15 menit lebih besar dibandingkan dengan 30 menit.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Hafez, E.S.E. 1993. *Techniques for Improving Reproduction Efficiency: semen evaluation*. In.: *Reproduction in Farm Animal*. Hafez, E.S.E. (ed) sixth Ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Johnson LA, 1995. New Method Offers Improved Sex Sorting for Livestock. <http://W.W.W.Genome.Lastate.Edu/recources/other/sexing.html>.
- Mc. Clure; R.D.L Nunes and R. Tom.1989. *Semen manipulation: improved sperm recovery and function with two layer percoll gradient*. Fertil. Steril 51:5.
- Pegoraro, I.M.C.,J.M.Trudad B.Geerin, 1998, *comparison of sex ratio and cell number of IVM-IVF bovin blastocyst co-cultured with bovin oviduct ephelial cell or with vero cell*. Theriogenology 49:1579-1590.
- Windsor, D. P., G. Evans; I. G. White, 1993. *Sex predetermination by separation of X and Y chromosome bearing sperm : A Review*. Reproduction, Fertility and Development 5: 155-171.
- Saili T., 1999.*Efektifitas Penggunaan Albumen Sebagai Medium Separasi Dalam Upaya Mengubah Rasio Alamiiah Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y pada Sapi*. Laporan Penelitian Tesis. Biologi Reproduksi. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yuliani, E., 2006. *Daya Fertilitas Sperma Seksing Kambing Peranakan Etawah Setelah Simpan Dingin dan Simpan Beku*. Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan. No. Akreditasi : 34/DIKTI/Kep/2003. Tanggal, 10-06-2003

- Nurjanah A. 2016. Pemanfaatan IPTK di bidang reproduksi ternak untuk meningkatkan produktivitas ternak PS. Produksi Ternak, Jurusan Higienda Pertanian Fakultas Pertanian Unhan, Banjarbaru.
- Olson NE, Suckel CE. 2003. Culture of in vitro produce bovine embryos with vitamin e improves development in vitro and after transfer to recipient. Biol. Reprod. 67:248-252.
- Suryadibyo P. 2000. Ilmu Kekeksteran Molekuler, Cetakan Pertama, Jakarta. CV Sagung Seto, pp. 31-47.
- Ujarensingora, Mohammad. 2002. Pemisahan sperma X dan Y dengan albumin gradient untuk Inseminasi Buatan. Medika 28:105-110.
- Winarto. 2010. Pemanfaatan Vitamin E dan C sebagai Antioksidan untuk Memperbaiki Kualitas dan Kuantitas Spermatozoa (Online). <http://lapel-umpwr.blogspot.com/2010/03/>. Diakses 5 Mei 2010).
- Yadav B, Suryakar, Huddedar AN, Shukla AD. 2006. Effect of Antioksidan and Antibiotics on Level of Seminaloxidative Stress in Leukocytospermic Infertil Men Indian J Clinie Biochem. 21(1):152-156.
- Yuliani E. 2009. Daya Fertilitas Sperma Sexing Kambing Peranakan Ettawah Setelah Simpan Dingin dan Simpan Beku. J. Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan. No Akreditasi: 34/DIKTI/Kep/2003. Tanggal, 10-06-2003.

DISKUSI

Pertanyaan:

1. Kondisi ekonomi seperti apa, agar bisa diterapkan, kalau dalam penelitian pemberian pakan pengawat konsentrat pasti lebih bagus dibandingkan dengan tanpa konsentrat.
2. Berapa lama pemberian konsentrat? Tujuan pemberian konsentrat untuk meningkatkan asupan energi atau protein? Di Gunung Kidul pada musim kemarau dan penghujan berbeda ketersediaan pakannya. Limbah yang banyak tersedia adalah gaplek, kulit singkong kering dan batangnya. Sumber protein bisa digunakan kacang-kacangan. Saran: gunakan pakan lokal tersebut.

Jawaban:

1. Hasil pengkajian perbaikan pakan menunjukkan bahwa pedet yang dihasilkan mempunyai bobot yang lebih besar. Untuk mengatasi masalah harga konsentrat yang mahal, maka konsentrat bisa diganti dengan leguminosa. Disarankan kepada masyarakat untuk menanam leguminosa.
2. Lama perbaikan pakan 2 bulan. Pemberian konsentrat dengan komposisi yang cukup, artinya proporsi energi dan protein seimbang.