

## PENGARUH PEMISAHAN SPERMATOZOA X DAN Y DENGAN MENGGUNAKAN METODE *SWIM UP* TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA KAMBING PERANAKAN ETTAWA (PE)

*The Effect of the Separation of Spermatozoa X and Y Using Swim up Method on the Quality of Etawah Crossbreed Goats Spermatozoa*

Eskayanti Pasaribu<sup>1</sup>, Dasrul<sup>2</sup>, dan Ginta Riady<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: eskayantip@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menggunakan metode *swim up* terhadap kualitas spermatozoa kambing peranakan Ettawa (PE). Dalam penelitian ini digunakan 6 ekor kambing PE jantan berumur 18-24 bulan, yang ditampung semennya masing-masing 1 kali dalam seminggu dengan menggunakan elektroejakulator. Segera setelah semen didapat, dilakukan pemeriksaan kualitas dan selanjutnya dibagi dalam 3 kelompok perlakuan. Kelompok 1 sebagai kontrol (P0) yaitu semen yang tidak dipisahkan dengan metode *swim up*. Kelompok 2 sebagai perlakuan 1 (P1) yaitu semen yang dipisahkan dengan metode *swim up* selama 5 menit. Kelompok 3 sebagai perlakuan 2 (P2) yaitu semen yang dipisahkan dengan metode *swim up* selama 10 menit. Masing-masing kelompok perlakuan diulang sebanyak 6 kali. Parameter kualitas spermatozoa yang diukur adalah persentase motilitas, spermatozoa hidup dan abnormalitas spermatozoa. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian pola satu arah yang dilanjutkan dengan uji berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata  $\pm$ SD persentase motilitas spermatozoa pada P0; P1; dan P2 masing-masing adalah  $81,33 \pm 3,44$ ;  $89,67 \pm 3,21$ ; dan  $90,00 \pm 3,10\%$ . Persentase spermatozoa hidup pada P0; P1; dan P2 masing-masing adalah  $86,50 \pm 2,07$ ;  $92,33 \pm 2,08$ ; dan  $91,83 \pm 1,72\%$ . Persentase abnormalitas spermatozoa pada P0; P1; dan P2 masing-masing adalah  $13,00 \pm 2,53$ ;  $7,33 \pm 2,52$ ; dan  $7,67 \pm 2,16\%$ . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase motilitas, spermatozoa hidup dan spermatozoa abnormal setelah pemisahan dengan metode *swim up* berbeda secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan tanpa pemisahan. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemisahan spermatozoa dengan menggunakan metode *swim up* dapat meningkatkan persentase motilitas dan spermatozoa hidup serta penurunan persentase abnormalitas spermatozoa kambing PE.

Kata kunci: kambing PE, kualitas spermatozoa, metode *swim up*

### ABSTRACT

This research aimed to determine the effect of spermatozoa X and Y separation using swim-up method on the quality of etawah crossbreed goat's spermatozoa. This research used 6 male etawah crossbreed goats aged between 18-24 months, which were collected the semen once a week using electroejaculator. Immediately after semen collection, the quality of semen was examined, and then grouped into three treatment groups. Group 1 was control group (P<sub>0</sub>; P<sub>1</sub>; P<sub>2</sub>) was 81.33 $\pm$ 3.44, 89.67 $\pm$ 3.21, and 90.00 $\pm$ 3.10 %, respectively. The percentage of live spermatozoa on each group was 86.50  $\pm$  2.07, 92.33  $\pm$  2.08, and 91.83  $\pm$  1.72%, respectively. The percentage of abnormal spermatozoa on each group was 13.00 $\pm$ 2.53, 7.33 $\pm$ 2.52, and 7.67 $\pm$ 2.16%, respectively. Results of this research showed that the percentages of motility, live spermatozoa, and abnormal spermatozoa after separation by swim-up method were significantly different ( $P < 0.05$ ) compared to without separation. It can be concluded that the separation of spermatozoa using swim-up method can improve significantly ( $P < 0.05$ ) the percentage of live and motility of spermatozoa and decrease the percentage of abnormal spermatozoa of etawah crossbreed goats.

Key words: Etawah crossbreed, spermatozoa quality, swim-up method

### PENDAHULUAN

Pengembangan peternakan di Indonesia khususnya dalam rangka meningkatkan populasi ternak, untuk mencukupi kebutuhan konsumsi dalam negeri, perlu didukung oleh berbagai faktor. Hal itu tidak terlepas dari pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi (Iptek). Dengan adanya kemajuan Iptek juga berpengaruh terhadap kemajuan teknologi di bidang reproduksi misalnya dalam meningkatkan produktivitas ternak. Beberapa teknologi reproduksi telah diaplikasikan untuk meningkatkan produktivitas ternak, salah satu teknologi tersebut adalah aplikasi teknologi inseminasi buatan (IB). Aplikasi teknologi IB di samping mampu meningkatkan produktivitas dan mempercepat penyebaran populasi dengan mutu

genetika yang lebih baik, juga diharapkan akan dapat mengoptimalkan fungsi seekor pejantan (Toelihere, 1985; Garner dan Hafez, 2004).

Di lapangan aplikasi teknologi IB ini akan lebih berdaya guna, bila anak yang akan dilahirkan dapat ditentukan jenis kelaminnya sesuai dengan tujuan peternakan, misalnya pada peternakan potong akan lebih mengharapkan kelahiran anak jantan dari suatu perkawinan dibanding anak betina, tetapi sebaliknya bagi peternak susu tentunya akan lebih mengharapkan kelahiran anak betina dibanding anak jantan. Dari segi ekonomi, penentuan jenis kelamin anak sebelum dilahirkan lebih menguntungkan, selain dapat menekan biaya pemeliharaan juga dapat menunjang program *breeding* dalam pemilihan bibit unggul. Untuk mencapai tujuan tersebut dapat dilakukan dengan cara

menginseminasikan seekor betina berahi dengan spermatozoa yang sudah dipisahkan (spermatozoa berkromosom X dan spermatozoa berkromosom Y). Pada mamalia, spermatozoa yang berkromosom X bila berhasil membuahi sel telur akan menghasilkan anak berjenis kelamin betina (XX), sebaliknya bila spermatozoa yang berkromosom Y bila membuahi sel telur akan menghasilkan anak berjenis kelamin jantan (XY) (Hafez, 2004).

Sebagai ternak potong, kambing peranakan Ettawa (PE) merupakan plasma nutfah potensial yang mempunyai kualitas tinggi, sehingga perlu dilestarikan kemurniannya dan dikembangkan untuk meningkatkan produktivitasnya. Kambing PE jantan mempunyai persentase karkas yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan persentase karkas kambing PE betina, sehingga dapat menjanjikan devisa dan nilai komersial yang menguntungkan (Reksodihardiprodjo, 1984). Meningkatnya jumlah anak jantan dapat berarti memperbaiki penampilan pertumbuhan dan meningkatkan berat potong, serta dapat meningkatkan penjualan daging sebesar 20% (Gordon, 1997).

Salah satu upaya pemisahan spermatozoa berkromosom X dengan spermatozoa berkromosom Y dapat dilakukan dengan cara metode *swim up* dalam medium isotonis. Metode *swim up* adalah tata cara siapan yang memungkinkan spermatozoa motil dapat bermigrasi atau berenang dari lapisan bawah semen ke lapisan atas (Harris *et al.*, 1991; WHO, 1999). Pemisahan spermatozoa dengan *swim up* didasarkan atas perbedaan motil atau kecepatan berenang spermatozoa berkromosom Y dengan spermatozoa berkromosom X keluar dari pelet menuju ke permukaan media (Parrish *et al.*, 1995; de Jonge *et al.*, 1997; Cleassens *et al.*, 1998; Yuliani, 2000). Spermatozoa berkromosom Y mempunyai kecepatan berenang yang lebih cepat daripada spermatozoa berkromosom X, bila dilakukan *swim up* akan lebih cepat berenang menuju lapisan atas (permukaan) dibandingkan dengan spermatozoa berkromosom X. Telah terbukti bahwa spermatozoa yang dipisahkan dengan metode *swim up* diperoleh populasi spermatozoa berkromosom Y lebih banyak secara sangat nyata pada lapisan atas, dibandingkan dengan populasi spermatozoa berkromosom X. Sebaliknya, populasi spermatozoa berkromosom Y yang diperoleh pada lapisan bawah lebih sedikit secara sangat nyata dibandingkan dengan populasi spermatozoa berkromosom X (Correa *et al.*, 1997; Check *et al.*, 1998; Yuliani, 2000). Tingkat keberhasilan pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada metode *swim up* sangat dipengaruhi oleh lama waktu *swim up* (de Jonge *et al.*, 1997; Cleassens *et al.*, 1998).

Hasil penelitian Mirajuddin (1997) membuktikan bahwa pemisahan spermatozoa kambing PE dengan metode *swim up* selama 10 menit, dapat menghasilkan kualitas spermatozoa dan setelah inseminasi pada induk betina didapatkan anak berjenis kelamin jantan sebanyak 100% dan berjenis kelamin betina sebanyak 0%. Yuliani (2000) melakukan pemisahan spermatozoa sapi bali

dengan metode *swim up* selama 30-45 menit dalam medium EBSS, diperoleh populasi spermatozoa berkromosom Y sebanyak  $82,40 \pm 4,52\%$  dan populasi spermatozoa berkromosom X sebanyak  $17,60 \pm 3,15\%$  pada lapisan atas, setelah fertilisasi *in vitro* (FIV) diperoleh  $82,45 \pm 6,67\%$  embrio berjenis kelamin jantan dan  $17,55 \pm 3,83\%$  embrio berjenis kelamin betina. Hasil yang hampir sama juga dilaporkan oleh Dasrul *et al.* (2009) pada spermatozoa kambing Boer yang dipisahkan dengan metode *swim up* selama 5 menit, dengan pengukuran diameter kepala diperoleh pada lapisan atas populasi spermatozoa berkromosom Y sebanyak 76,20% dan populasi spermatozoa berkromosom X sebanyak 23,80%. Setelah inseminasi pada induk betina didapatkan anak berjenis kelamin jantan sebanyak 80% dan berjenis kelamin betina sebanyak 20%.

Berdasarkan hal di atas terlihat bahwa tingkat keberhasilan pemisahan spermatozoa dipengaruhi oleh spesies, kualitas spermatozoa, media dan lama waktu metode *swim up* yang digunakan. Oleh karena itu suatu penelitian yang mengkaji tentang efektivitas metode pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menggunakan metode *swim up* dalam medium isotonis pada individu tertentu merupakan hal yang penting. Metode pemisahan spermatozoa X dan Y harus ditetapkan secara tepat pada tiap individu berdasarkan prinsip pemisahan agar tujuan pemisahan dapat tercapai tanpa menyebabkan penurunan kualitas fungsional spermatozoa. Sampai saat ini kajian tentang pengaruh pemisahan spermatozoa X dan Y dengan metode *swim up* terhadap kualitas spermatozoa kambing PE belum pernah dilakukan.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan sejumlah sampel semen segar kambing PE. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola satu arah dengan 3 kelompok perlakuan. Kelompok 1 sebagai kontrol (P0) yaitu semen yang tidak dipisahkan/tanpa perlakuan metode *swim up*. Kelompok 2 sebagai perlakuan 1 (P1) yaitu semen yang dipisahkan dengan metode *swim up* selama 5 menit. Kelompok 3 sebagai perlakuan 2 (P2) yaitu semen yang dipisahkan dengan metode *swim up* selama 10 menit. Masing-masing kelompok perlakuan di ulangi sebanyak 6 kali. Sampel dalam penelitian ini adalah hasil random dari sejumlah semen segar kambing PE berkualitas baik. Pemilihan sampel semen yang berkualitas baik didasarkan kriteria yang ditetapkan oleh Balai Inseminasi Buatan Singosari yaitu persentase motilitas awal minimal 70%. Konsentrasi lebih dari 600 juta/ml, persentase spermatozoa hidup >80% dan spermatozoa abnormal <20%.

### Koleksi Semen

Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan alat elektroejakulator. Setelah peralatan penampung semen dipersiapkan dengan baik, bulu-bulu yang ada di sekitar daerah preputium dicukur dan

dicuci bersih, kemudian rektum dikosongkan dari feces dan dimasukkan rektal *probe* yang telah dioles pelicin steril dibagian ujungnya sejauh 20-25 cm, sehingga ujungnya berada di dasar pelvis. Petugas lain siap mengatur rangsangan yang dimulai dengan voltase terendah (5, 10, 15 dan 30 volt). Setiap rangsangan 3-5 detik yang diselingi, istirahat diantara setiap rangsangan 3-5 detik pula. Setiap menaikkan voltase dilakukan 3-4 kali rangsangan. Sementara kita perhatikan respon pejantan, bila nampak penis ereksi, ditambahkan voltase rangsangan hingga ereksi lebih sempurna dan ejakulasi terjadi. Bila pejantan gagal berereksi, rektal *probe* diarahkan ke arah *flexura sigmoidea* di atas skrotum. Segera setelah penampungan semen dievaluasi kualitasnya.

### Evaluasi Kualitas Semen Segar

Segera setelah penampungan semen, dilakukan pemeriksaan kualitas secara makroskopis (volume, warna, konsistensi, dan pH) dan mikroskopis (konsentrasi, gerak massa, motilitas, hidup mati spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa). Semen yang mempunyai konsentrasi spermatozoa  $>600 \times 10^6/\text{ml}$  dan motilitas progresif  $>70\%$ , abnormalitas  $<20\%$  digunakan sebagai sampel. Setelah penilaian sampel semen yang diperoleh diencerkan dengan natrium klorida (NaCl) fisiologis dengan perbandingan 1:1. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril untuk perlakuan selanjutnya.

### Pemisahan Spermatozoa dengan Metode *Swim Up*

Medium yang digunakan untuk pemisahan spermatozoa dengan *swim up* adalah larutan NaCl fisiologis. Sebanyak 0,5 ml suspensi semen segar dimasukkan dalam tabung reaksi steril masing-masing kelompok perlakuan. Kemudian tambahkan sebanyak 3 ml larutan NaCl fisiologis dalam tabung reaksi yang telah berisi 0,5 ml suspensi semen kambing segar secara hati-hati melalui dinding tabung. Selanjutnya tabung yang sudah berisi tersebut ditempatkan pada rak pada posisi tegak lurus sesuai perlakuan waktu *swim up* (selama 5 dan 10 menit) pada suhu ruang ( $27,0-28,5^\circ\text{C}$ ). Selanjutnya secara hati-hati ambil lapisan paling atas sebanyak 0,5 ml untuk pengamatan parameter kualitas spermatozoa (motilitas, spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa) menggunakan mikroskop biokuler.

### Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa Hasil Pemisahan dengan *Swim up* Motilitas spermatozoa

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan menggunakan gelas obyek yang ditetesi 10-15  $\mu\text{l}$  semen dan tutup dengan gelas penutup (*cover glass*). Selanjutnya dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop biokuler dengan pembesaran 400x. Spermatozoa yang motil akan nampak bergerak maju ke depan. Spermatozoa yang diamati minimal sebanyak 100-200 sel dalam 5 lapang pandang menggunakan mikroskop biokuler. Selanjutnya jumlah spermatozoa

yang motil dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa yang tampak dan dinyatakan dalam persen (%).

### Spermatozoa hidup

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 biokuler. Selanjutnya spermatozoa yang hidup dihitung dan dibagi jumlah seluruh spermatozoa (spermatozoa hidup + spermatozoa mati) yang tampak dan dinyatakan dalam persen (%).

### Abnormalitas spermatozoa

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

### Analisis Data

Data hasil penelitian kualitas spermatozoa (persentase motilitas, spermatozoa hidup dan spermatozoa abnormal) yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis varian satu arah dan selanjutnya dilakukan uji berganda Duncan untuk membedakan antar kelompok perlakuan (Steel dan Torrie, 1999).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama penelitian berlangsung kondisi kambing PE percobaan tidak memperlihatkan adanya penurunan kesehatan fisik. Hal ini ditandai dengan tidak terdapatnya penurunan berat badan maupun gejala-gejala klinis lainnya. Dalam pengambilan sampel semen terjadi sedikit kesulitan karena ukuran probe elektroejakulator kurang sesuai, namun sampel semen segar dari tiap-tiap hewan percobaan masih memperlihatkan batas-batas normal untuk ejakulasi kambing dewasa.

### Kualitas Spermatozoa Kambing PE setelah Pemisahan dengan *Swim up*

Kualitas spermatozoa kambing PE yang diukur pada penelitian ini meliputi persentase motilitas, spermatozoa hidup, dan spermatozoa abnormal.

### Persentase Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa sebelum atau setelah pemisahan selalu digunakan sebagai pegangan yang

**Tabel 1.** Rata-rata ( $\pm$ SD) persentase motilitas spermatozoa kambing PE setelah pemisahan dengan *swim up*

Perlakuan	Ulangan	Motilitas spermatozoa	Spermatozoa hidup (%)	Abnormalitas spermatozoa (%)
Tanpa pemisahan (P0)	6	81,33 $\pm$ 3,44 <sup>a</sup>	86,50 $\pm$ 2,07 <sup>a</sup>	13,00 $\pm$ 2,53 <sup>a</sup>
<i>Swim up</i> 5 menit (P1)	6	89,67 $\pm$ 3,21 <sup>b</sup>	92,33 $\pm$ 2,08 <sup>b</sup>	7,33 $\pm$ 2,52 <sup>b</sup>
<i>Swim up</i> 10 menit (P2)	6	90,00 $\pm$ 3,10 <sup>b</sup>	91,83 $\pm$ 1,72 <sup>b</sup>	7,67 $\pm$ 2,16 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

termudah dalam menilai semen untuk inseminasi buatan. Daya gerak progresif ini mempunyai peranan yang penting untuk keberhasilan fertilisasi. Kecepatan pergerakan spermatozoa untuk masing-masing spesies berbeda-beda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungannya (Toelihere, 1985). Rata-rata persentase motilitas spermatozoa kambing PE tanpa dan setelah pemisahan dengan *swim up* disajikan pada Tabel 1.

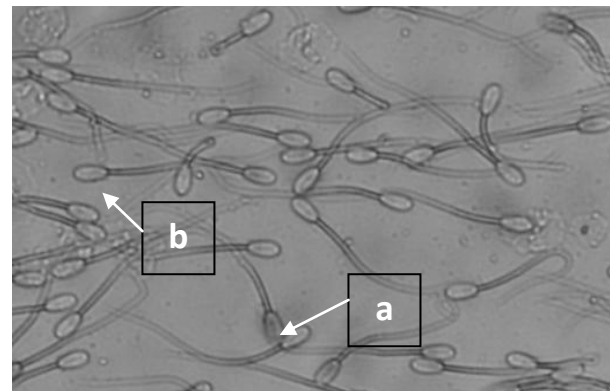
Pada Tabel 1 tersebut terlihat bahwa rata-rata persentase motilitas spermatozoa kambing PE setelah pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa pemisahan. Pada rekaman video yang diambil di bawah mikroskop cahaya dengan menggunakan kamera Olympus vg 140 terlihat jelas kelompok pemisahan dengan metode *swim up* lebih tinggi motilitasnya dibandingkan dengan tanpa pemisahan dengan metode *swim up* terlihat dengan pergerakan spermatozoa yang bergerak maju ke depan.

Hasil analisis varian satu arah terhadap persentase motilitas spermatozoa memperlihatkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antara P0 dengan P1 dan P2. Hal ini membuktikan bahwa perlakuan pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* berpengaruh terhadap peningkatan persentase motilitas spermatozoa kambing PE. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Mirajuddin (1997) pada kambing PE, Yuliani (2000) pada sapi bali, dan Dasrul *et al.* (2009) pada kambing Boer yang menemukan adanya peningkatan persentase motilitas spermatozoa yang bermakna setelah pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* selama 5 menit. Persentase motilitas spermatozoa P2 lebih tinggi secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0 dan lebih tinggi secara tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan P1. Persentase motilitas spermatozoa pada kelompok perlakuan P1 lebih tinggi secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan P0. Hasil ini membuktikan bahwa perlakuan pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* selama 5 dan 10 menit menghasilkan peningkatan persentase motilitas spermatozoa kambing PE. Peningkatan persentase motilitas spermatozoa setelah pemisahan dengan metode *swim up* selama 10 menit tidak berbeda secara nyata dibandingkan dengan pemisahan dengan metode *swim up* selama 5 menit. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilaporkan Yuliani (2000) pada sapi bali, yang menemukan persentase motilitas spermatozoa setelah pemisahan dengan metode *swim up* selama 30 menit lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan *swim up* selama 45 menit dan 60 menit. Hal ini karena pada penelitian ini waktu *swim up* yang digunakan lebih singkat, sehingga perubahan lingkungan media belum memengaruhi motilitas spermatozoa.

Peningkatnya nilai persentase motilitas spermatozoa setelah proses pemisahan dengan metode *swim up* sangat wajar terjadi karena spermatozoa yang dihitung merupakan spermatozoa yang mampu berenang ke bagian atas. Spermatozoa ini sudah terpisah dari spermatozoa immotil dan abnormal atau spermatozoa yang teraglutinasi, sehingga yang spermatozoa motil akan lebih banyak diperoleh. Faktor lain yang ikut mendukung peningkatan persentase motilitas spermatozoa setelah pemisahan dengan metode *swim up*, kemungkinan diakibatkan spermatozoa tersebut sudah mengalami kapasitas. Spermatozoa yang mengalami kapasitas ditandai dengan terjadinya peningkatan hiperaktivasi atau bergerak spermatozoa menjadi lebih progresif (Parrish *et al.*, 1995; Cross, 2000; Cole *et al.*, 2002).

#### Persentase Spermatozoa Hidup

Untuk mengetahui spermatozoa dalam kondisi hidup atau mati, dalam penelitian ini digunakan pewarna eosin nigrosin. Dengan pewarnaan eosin maka spermatozoa yang hidup akan memiliki kepala yang transparan, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah muda. Gambaran spermatozoa hidup dan mati dapat disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Gambaran spermatozoa hidup kambing PE kontrol yang diamati dengan mikroskop biokuler pada pembesaran 400x. (a. Spermatozoa yang mati ditandai dengan pancaran warna merah muda b. Spermatozoa yang masih hidup ditandai dengan adanya pancaran warna transparan)

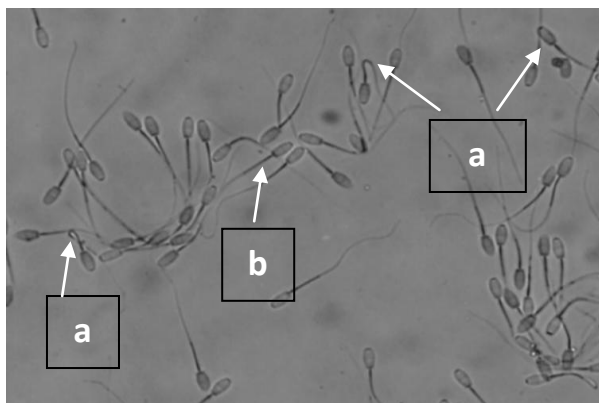
Rata-rata persentase spermatozoa hidup kambing PE tanpa dan setelah pemisahan dengan *swim up* selama 5 menit dan 10 menit lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hasil analisis varian satu arah terhadap persentase spermatozoa hidup memperlihatkan ada perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antara tanpa pemisahan P0 dengan P1 dan P2. Hal ini membuktikan bahwa perlakuan pemisahan spermatozoa dengan *swim up* berpengaruh secara nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap persentase spermatozoa hidup kambing PE. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilaporkan Dasrul *et*

al. (2009) dan Dasrul *et al.* (2013) yang menemukan adanya peningkatan persentase spermatozoa hidup kambing Boer yang bermakna setelah pemisahan spermatozoa dengan *swim up* 5 menit. Persentase spermatozoa hidup pada kelompok P1 lebih tinggi secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibanding dengan perlakuan P0, akan tetapi lebih tinggi secara tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok P2. Persentase spermatozoa hidup pada kelompok perlakuan P2 lebih tinggi secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok P0. Hasil ini membuktikan bahwa perlakuan pemisahan spermatozoa dengan *swim up* selama 5 dan 10 menit dapat meningkatkan persentase spermatozoa hidup kambing PE. *swim up* selama 5 menit menghasilkan persentase spermatozoa hidup yang tidak berbeda dibandingkan dengan *swim up* selama 10 menit. Hasil ini sama dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Yuliani (2000) pada sapi bali dan Dasrul *et al.* (2013) pada kambing Boer, yang menemukan adanya peningkatan persentase spermatozoa hidup setelah pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up*.

Peningkatan persentase spermatozoa hidup setelah proses pemisahan dengan *swim up* diakibatkan oleh terpisahnya spermatozoa yang mati dengan yang hidup. Spermatozoa yang hidup dapat bermigrasi keluar dari pelet menuju ke permukaan medium, sedangkan spermatozoa yang mati tetap berada pada lapisan bawah. Pada penelitian ini spermatozoa yang diperiksa adalah spermatozoa yang berada pada suspensi bagian permukaan saja, dengan demikian persentase spermatozoa motil akan lebih banyak dibandingkan dengan immotil. Walaupun secara umum terjadi peningkatan persentase spermatozoa hidup setelah proses pemisahan dengan *swim up* 5 menit dan 10 menit tidak berbeda secara nyata, namun ada suatu kecenderungan bahwa makin lama waktu *swim up* makin menurun persentase spermatozoa hidup.

### Persentase Abnormalitas Spermatozoa

Hasil pengamatan terhadap persentase abnormalitas spermatozoa dengan menggunakan metode pewarnaan eosin nigrosin yang diamati dengan mikroskop biokuler dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Spermatozoa Kambing (PE) kelompok perlakuan *swim up* yang diamati dengan mikroskop biokuler pembesaran 400x (a. Spermatozoa dengan morfologi abnormal b. Spermatozoa dengan morfologi normal)

Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa kambing PE yang diamati dengan metode pewarnaan eosin nigrosin pada kelompok kontrol dan setelah perlakuan pemisahan dengan *swim up*. Persentase abnormalitas spermatozoa kambing PE pada kedua kelompok perlakuan pemisahan spermatozoa dengan *swim up* lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa pemisahan. Hasil analisis statistik menggunakan analisis varian satu arah terhadap persentase abnormalitas spermatozoa menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) antara kelompok tanpa pemisahan (P0) dengan kelompok perlakuan pemisahan spermatozoa dengan *swim up* selama 5 menit (P1) dan 10 menit (P2). Hal ini membuktikan bahwa perlakuan pemisahan spermatozoa dengan *swim up* dapat memisahkan spermatozoa normal dengan abnormal kambing PE. Hasil penelitian ini sejalan dengan pernyataan yang diungkapkan oleh (Daniel *et al.*, 1996) bahwa preparasi spermatozoa manusia dengan *swim up* dalam medium isotonis menghasilkan morfologi normal spermatozoa yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan sebelum preparasi (pencucian). Persentase abnormalitas spermatozoa pada kelompok P0 lebih tinggi secara nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1 dan P2. Persentase abnormalitas spermatozoa pada kelompok P2 lebih tinggi secara tidak nyata ( $P > 0,05$ ) dibandingkan dengan P1. Hasil ini membuktikan bahwa pemisahan spermatozoa dengan *swim up* selain dapat memisahkan spermatozoa normal dengan abnormal juga dapat meminimalkan kerusakan mekanis dan traumatis pada spermatozoa. Lama waktu *swim up* tidak memberi pengaruh terhadap tingkat kerusakan morfologi spermatozoa kambing PE.

### KESIMPULAN

Berdasarkan pada hasil penelitian dan analisis data, maka dapat disimpulkan bahwa pemisahan spermatozoa X dan Y dengan menggunakan metode *swim up* dapat meningkatkan secara nyata persentase motilitas dan spermatozoa hidup serta menurunkan abnormalitas spermatozoa kambing PE. Lama waktu *swim up* tidak berpengaruh terhadap persentase motilitas, spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa kambing PE. *Swim up* selama 5 menit tidak berbeda dibandingkan dengan *swim up* 10 menit.

### DAFTAR PUSTAKA

- Check, J. H., B.S. Shanis, S.O. Cooper, and A. Bollendorf. 1996. Male sex preselection: swim-up technique and insemination of women after ovulation induction. *Arch. Androl.* 23(2):165-176..
- Cleassens, O.E., F.S. Stander, and T.F. Kruger. 1998. Does the wash-up and swim-up method of semen preparation play a role in sex selection. *Arch. Androl.* 67:23-26.
- Cole, S. 2002. **Reproduction in Domestic Animal.** 3<sup>rd</sup> ed. University of California, California.
- Correa, G. and B. Panayotan. 1997. Quantitative and qualitative characteristics of frozen thawed bovine spermatozoa recovered a conventional and standardized swim-up technique. *Tohoku J. Exp. Med.* 18(2):124-129.
- Daniel, C., L. Denise, and G. Jean. 1996. Nuclear maturity of human spermatozoa selected by swim-up or by percol gradient centrifugation procedures. *J. Fertil. Steril.* 65(1):160-164.

- Dasrul, A.M. Yaman, dan Zulfan. 2009. Pemisahan spermatozoa berkromosom x dan y kambing Boer dan aplikasinya melalui inseminasi buatan untuk mendapatkan jenis kelamin anak sesuai harapan. **Laporan**. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Dasrul, A.M. Yaman, dan Zulfan. 2013. Pemisahan spermatozoa berkromosom x dan y kambing Boer dan aplikasinya melalui inseminasi buatan untuk mendapatkan jenis kelamin anak sesuai harapan. **Agripet**. 13(1):15-23.
- de Jonge, C.J., S.P. Flaherty, A.M. Barnes, N.J. Swann, and C.D. Matthews. 1997. Failure of multitube sperm swim up for sex preselection. **J. Fertil. Steril**. 67:1109-1114.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2004. Spermatozoa and Seminal Plasma. In **Reproduction in Farm Animal**. E.S.E. Hafez (Ed.). 3<sup>rd</sup> ed. Kiawah Island, South California, USA.
- Gordon, I. 1997. **Laboratory Production of Cattle Embryos Biotechnology in Agriculture Series**. University Press, Cambridge.
- Hafez, E.S.E. 2004. X and Y Chromosome Bearing Spermatozoa. In **Reproduction in Farm Animal**. Lea & Febiger, Philadelphia, USA.
- Harris, S.J., M P. Milligen, and K.J. Dennis. 1991. Improved separation of motile sperm in asthenospermia and its application to artificial insemination homologous. **J. Fertil. Steril**. 36:219-221.
- Mirajuddin. 1997. Pengaruh Preparasi Sperma dengan Metode Sentrifugasi Gradient Densitas Percoll dan Swim-up Terhadap Kualitas Spermatozoa dan Angka Konsepsi pada Kambing PE. **Tesis**. Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Parrish, J.J., J.L. Susko-Parrish, M.L. Liebfried-Rutledge, N.S. Crister, W.H. Eyestone, and N.L. First. 1995. Bovine in vitro fertilization with frozen thawed semen. **Theriogenology**. 25:591-600.
- Reksodihardiprodjo, S. 1984. **Pengantar Ilmu Peternakan Tropik**. Penerbit BPFE, Yogyakarta.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1999. **Prinsip Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik**. Edisi ke-2. PT. Gramedia, Jakarta.
- Toelihere, M.R. 1985. **Inseminasi Buatan pada Ternak**. Angkasa. Bandung.
- WHO. 1999. **WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm Cervical Mucus Interaction**. Cambridge.
- Yuliani, E. 2000. Pemisahan Spermatozoa dengan Metode *Swim up* dengan *Aside Migration* pengaruhnya terhadap Rasio Kromosom Seks. **Disertasi**. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Yuliani, E. 2000. Produksi Masal Anak Sapi Bali Jenis Kelamin Tertentu Melalui IB dengan Sperma Sexing. **Webmaster: webadmin@, Qustaka-deptan.go.id**.