

PROPORSI SPERMATOZOA Y HASIL PEMISAHAN DENGAN MENGGUNAKAN SENTRIFUGASI GRADIEN DENSITAS PERCOLL DAN LAMA PENYIMPANAN YANG BERBEDA PADA DOMBA

Susilo Rahardjo ¹⁾

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi antara densitas dan lama penyimpanan terhadap proporsi spermatozoa Y, (i) mengetahui pengaruh gradien densitas percoll terhadap proporsi spermatozoa Y (ii), mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap proporsi spermatozoa Y (iii). Metode yang digunakan adalah eksperimen dengan pola faktorial dan rancangan dasar acak kelompok. Faktor I adalah densitas (d) terdiri dari tiga densitas yaitu d_1 (1,13; 1,11; 1,12), d_2 (1,10; 1,09; 1,08) dan d_3 (1,07; 1,06; 1,05). Faktor II adalah lama penyimpanan (l) terdiri dari tiga tingkatan yaitu l_0 (0 jam), l_2 (2 jam) dan l_4 (4 jam) dengan ulangan sebanyak 3 kali. Sedangkan untuk menganalisis data digunakan analisis variansi dan uji BNT. Diperoleh hasil bahwa densitas berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap proporsi spermatozoa jantan (Y) sedangkan lama penyimpanan tidak berpengaruh terhadap proporsi spermatozoa Y ($P > 0,05$) serta tidak ada interaksi antara kedua faktor. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Semakin tinggi densitas percoll yang digunakan akan semakin meningkatkan proporsi

Kata Kunci : Proporsi, Densitas percoll, Lama penyimpanan, spermatozoa Y

ABSTRACT

The research was conducted to study the influence of percoll gradient density to proportion of Y Spermatozoa. Experimental method based on factorial with randomized completed block design used in the research. The first factor is density (d) divided in three density, d_1 (1,13; 1,11; 1,12), d_2 (1,10; 1,09; 1,08) and d_3 (1,07; 1,06; 1,05). The second factor is storage period (l) divided in three levels, l_0 (0 hours), l_2 (2 hours) dan l_4 (4 hours). Data analysed were used analyses of variance and LSD. The result indicated that density very significant influence ($P < 0,01$) to the proportion of Y spermatozoa, while the periods of storage not significant influence to proportion of Y spermatozoa and then there were not interaction of density and storage periods to proportion. From this research were concluded that proportion of Y spermatozoa were increased by increasing of densitas

Key Words : Proportion, percoll density, storage periods, Y spermatozoa

PENDAHULUAN

Pengaturan jenis kelamin sesuai dengan yang diinginkan mempunyai nilai efisiensi yang tinggi dalam usaha peternakan, sehingga usaha peternakan dapat dipertahankan bahkan ditingkatkan

produktivitasnya. Kenyataan dilapangan bahwa peternak sapi perah menginginkan kelahiran pedet betina sebagai penghasil susu daripada kelahiran pedet jantan, sebaliknya peternak sapi potong lebih menginginkan kelahiran pedet jantan daripada pedet betina, karena pedet jantan

¹⁾ Fakultas Peternakan Universitas Wijayakusuma Purwokerto

mempunyai tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan pedet betina sehingga lebih efisien dalam menghasilkan daging.

Demikian pula, ternak domba di Indonesia pada umumnya dipelihara untuk diambil dagingnya, sedangkan tingkat pertumbuhan cembe jantan lebih tinggi daripada cembe betina, sehingga untuk efisiensi produksi daging maka kelahiran cembe jantan sangat diinginkan peternak untuk penggemukkan (pembesaran).

Pengendalian jenis kelamin anak sebelum dilahirkan dapat dilakukan dengan pemisahan spermatozoa X (penentu jenis kelamin betina) dan Y (penentu jenis kelamin jantan).

Pada mamalia pemisahan ini didasarkan pada karakteristik yang dimiliki oleh spermatozoa X dan Y, bahwa ukuran kromosom Y lebih kecil dari ukuran kromosom X. Demikian pula, kromosom X memiliki panjang relatif 2,35 kali lebih panjang dari pada kromosom Y dan kandungan DNA spermatozoa X lebih besar daripada spermatozoa Y. Kandungan DNA kepala berhubungan dengan berat masa kepala spermatozoa, perbedaan tersebut menyebabkan spermatozoa Y lebih ringan daripada spermatozoa X. Hal ini dapat dijadikan dasar pemisahan kedua tipe spermatozoa untuk seleksi jenis kelamin. Berdasarkan karakteristik tersebut pemisahan spermatozoa X dan Y telah dikembangkan dengan berbagai metode antara lain kecepatan sedimentasi, pemisahan dengan kolom albumin, pemisahan dengan percoll gradien, penyaringan dengan sephadex, dan pemisahan dengan elektroforesis. Semen segar yang tidak diencerkan tidak boleh dibiarkan lebih dari dua jam dan harus disimpan selama beberapa waktu

setelah penampungan agar tetap dapat digunakan secara optimal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penurunan temperatur untuk menekan proses metabolisme

Sejalan dengan perkembangan ilmu dan teknologi, ternyata pengaturan jenis kelamin dapat dilakukan melalui teknik pemisahan spermatozoa X dan Y dengan harapan memiliki nilai efisiensi yang tinggi dalam usaha peternakan. Pengaturan jenis kelamin ini dapat dilakukan dengan cara memisahkan spermatozoa pembawa kromosom Y (jantan) dan spermatozoa pembawa kromosom X (betina), sebelum diinseminasikan pada ternak betina. Beberapa medium seperti *bovine serum albumin* (BSA), gradien putih telur, dan percoll dapat digunakan sebagai pemisah spermatozoa.

Hasil penelitian sebelumnya percoll telah digunakan untuk memisahkan spermatozoa pada manusia dan sapi Friesch Holland dengan hasil yang cukup tinggi, tetapi pada domba belum dilakukan sehingga timbul permasalahan bagaimana efektivitas percoll untuk memisahkan spermatozoa X dan Y pada domba, masih perlu dilakukan penelitian.

TUJUAN, MANFAAT PENELITIAN

Tujuan

1. Mengetahui proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan dengan menggunakan sentrifugasi densitas gradien percoll dan lama penyimpanan yang berbeda pada domba
2. Mengetahui interaksi antara densitas percoll dan lama penyimpanan terhadap proporsi spermatozoa Y

Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai alternatif teknologi pemisahan spermatozoa Y pada semen domba dengan media percoll dan lama penyimpanannya, serta sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian berikutnya dalam pelaksanaan Inseminasi Buatan menggunakan semen hasil pemisahan

MATERI, METODE PENELITIAN

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah semen domba yang berasal dari 3 ekor domba jantan yang dipelihara di Experimental Farm.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan pola faktorial dengan rancangan dasar Rancangan Acak Kelompok. Sebagai perlakuan terdiri dari Faktor I adalah densitas (d) yang terdiri dari 3 level yaitu :

d_1 : densitas 1,13; 1,12; 1,11

d_2 : densitas 1,10; 1,09; 1,08

d_3 : densitas 1,07; 1,06; 1,05

Faktor II adalah lama penyimpanan (l) yang terdiri dari 3 level yaitu :

l_0 : Lama penyimpanan 0 jam

l_2 : Lama penyimpanan 2 jam

l_4 : Lama penyimpanan 4 jam

Kombinasi perlakuan

d_{1l_0} : Densitas 1 dengan lama penyimpanan 0 jam

d_{1l_2} : Densitas 1 dengan lama penyimpanan 2 jam

d_{1l_4} : Densitas 1 dengan lama penyimpanan 4 jam

d_{2l_0} : Densitas 2 dengan lama penyimpanan 0 jam

d_{2l_2} : Densitas 2 dengan lama penyimpanan 2 jam

d_{2l_4} : Densitas 2 dengan lama penyimpanan 4 jam

d_{3l_0} : Densitas 3 dengan lama penyimpanan 0 jam

d_{3l_2} : Densitas 3 dengan lama penyimpanan 2 jam

d_{3l_4} : Densitas 3 dengan lama penyimpanan 4 jam

Masing – masing kombinasi perlakuan diulang 3 kali dan kelompok (blok) sebagai ulangan adalah banyaknya domba jantan.

Peubah yang Diamati

Peubah yang akan diamati dalam penelitian ini yaitu proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan

Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis variansi. Bila perlakuan hasilnya nyata maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Densitas dan Lama Penyimpanan Terhadap proporsi

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak ada interaksi ($P > 0,05$) antara densitas dan lama penyimpanan terhadap Proporsi spermatozoa. Hal ini menunjukkan bahwa densitas dan lama penyimpanan merupakan faktor yang berdiri sendiri atau tidak mempunyai pengaruh bersama terhadap proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan.

Pengaruh Densitas Terhadap Proporsi Spermatozoa Y

Angka rata-rata pengaruh densitas terhadap proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rataan proporsi, pada densitas yang berbeda

Densitas	Proporsi (%)
d ₁	82,33 ± 1,03 ^a
d ₂	71,78 ± 0,72 ^b
d ₃	61,78 ± 1,03 ^c

Keterangan :

Huruf superscript yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perberbedaan sangat nyata (P<0,01)

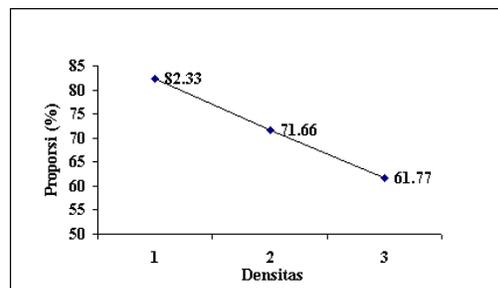
d₁, d₂, d₃ = Taraf densitas percoll

Hasil dari Tabel 1 ternyata densitas percoll satu (d₁) menunjukkan proporsi spermatozoa hasil pemisahan yang cukup tinggi kearah jantan, yaitu 82,33 ± 1,03%. Penelitian pemisahan spermatozoa sapi FH menggunakan gradien densitas percoll yang telah dilakukan oleh Isnaini (1994) memberikan hasil spermatozoa Y pada lapisan atas sebesar 82,1%. Perbedaan hasil ini diduga disebabkan oleh jenis semen serta densitas pada lapisan atas yang digunakan dalam penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh Isnaini (1994), dengan densitas lapisan atas 1,10; sedangkan yang digunakan dalam penelitian ini densitas lapisan atas 1,11. Perbedaan proporsi spermatozoa jantan pada tiap densitas diduga karena spermatozoa yang benar-benar mempunyai berat tinggi saja yang dapat menembus lapisan densitas satu, sehingga yang tertinggal pada lapisan atas lebih

banyak spermatozoa dengan berat yang ringan atau spermatozoa jantan, sedangkan pada densitas dua dan tiga ada sebagian kecil spermatozoa Y yang dapat menembus lapisan bawah sehingga spermatozoa yang tertinggal pada lapisan atas akan mempunyai proporsi yang lebih kecil.

Mahaputra dkk. (1987) telah memisahkan spermatozoa domba dengan sephadex column G-200 dengan hasil 87% spermatozoa X didapatkan pada lapisan bawah, perbedaan ini dimungkinkan karena media yang digunakan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa densitas berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap proporsi spermatozoa. Hasil uji lanjut dengan uji BNT (Lampiran 1) menunjukkan bahwa densitas satu (d₁) dengan densitas dua (d₂) dan densitas tiga (d₃) berbeda sangat nyata (P<0,01). Demikian pula densitas dua (d₂) dengan densitas tiga (d₃) juga menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01). Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi densitas percoll yang digunakan maka akan semakin tinggi proporsi spermatozoa Y yang diperoleh. Demikian pula, dengan semakin rendah tingkat densitas percoll yang digunakan maka akan semakin rendah pula proporsi spermatozoa Y yang diperoleh. Kurva hubungan antara densitas dan proporsi spermatozoa terdapat pada Gambar 1



Gambar 1. Hubungan antara densitas dan proporsi spermatozoa Y

Hal ini dapat dimengerti bahwa pada densitas yang berbeda akan memiliki tegangan permukaan yang berbeda pula, sehingga hanya spermatozoa dengan berat tertentu saja yang dapat menembus lapisan tersebut. Hal ini seperti yang dinyatakan oleh Isnaini (1994) melalui hasil penelitiannya dengan menggunakan densitas percoll pada spermatozoa sapi FH, Syaferi (1988) pada spermatozoa manusia bahwa pada densitas yang berbeda diperoleh proporsi spermatozoa Y yang berbeda pula. Dinyatakan pula oleh Susilawati (2003) bahwa pemisahan spermatozoa Y dan X dengan sentrifugasi gradien densitas percoll adalah berdasarkan pada ukuran kepala atau berat spermatozoa X dan Y. Berat dan ukuran yang lebih besar spermatozoa X ini disebabkan oleh adanya kandungan DNA pada kepala spermatozoa X yang ternyata 3 - 4% lebih besar daripada DNA yang terkandung dalam kepala spermatozoa Y.

Salisbury dan Van Demark (1961) menyatakan bahwa berat satu sel spermatozoa sapi adalah $2,5 \times 10^8 \mu\text{g}$ sehingga dengan sentrifugasi maka spermatozoa X lebih cepat membentuk endapan dibandingkan dengan spermatozoa Y (Mohri *et al.*, 1987). Dalam kenyataannya bahwa ukuran panjang dan lebar kepala antarspermatozoa Y sendiri dan antar spermatozoa X sendiri juga bervariasi sehingga hal ini akan mempunyai berat yang bervariasi pula. Dengan kata lain, bahwa masing-masing spermatozoa akan mempunyai berat yang spesifik, sehingga akan mempunyai kemampuan yang berlainan dalam menembus setiap lapisan,

dengan demikian akan diperoleh proporsi spermatozoa yang berbeda dalam masing-masing densitas.

Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Proporsi Spermatozoa Y

Pengaruh lama penyimpanan terhadap proporsi spermatozoa Y dapat dilihat pada Tabel 2. dibawah ini

Tabel 2. Rataan proporsi pada lama penyimpanan yang berbeda

Densitas	Proporsi (%)
l_0	$71,77 \pm 10,00^a$
l_2	$71,89 \pm 11,00^a$
l_4	$72,22 \pm 9,85^a$

Keterangan :

Superscript yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidakberbeda nyata ($P>0,05$)

l_0, l_2, l_4 = taraf lama penyimpanan

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan berpengaruh tidak nyata ($P>0,05$) terhadap proporsi artinya peningkatan waktu lama penyimpanan tidak akan merubah proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan. Proporsi spermatozoa hasil pemisahan berkaitan dengan jumlah spermatozoa setelah perlakuan pemisahan Setelah proses pemisahan akan diperoleh proporsi yang tertentu, dengan demikian proporsi ini akan relatif sama meskipun disimpan dalam waktu berapapun juga.

KESIMPULAN

1. Densitas dan lama penyimpanan tidak mempunyai interaksi terhadap proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan

2. Densitas dan lama penyimpanan tidak mempunyai interaksi terhadap proporsi spermatozoa Y hasil pemisahan. Peningkatan densitas akan meningkatkan proporsi spermatozoa hasil pemisahan, dengan proporsi tertinggi pada d_1 yaitu sebesar $82,33 \pm 1,03\%$

Kongres Persatuan Teknologi Reproduksi Indonesia 2-4 Oktober 2003

Syafei, S. 1988. Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan memakai Percoll. *Tesis* EPS Universitas Indonesia

PUSTAKA

- Isnaini, N. 1994. *Pemisahan Spermatozoa X dan Y pada Sapi Friesch Holland dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang
- Mahaputra., I. Wurlina., T.D.Sulistiyati., S. Mulyati., 1989. Pemisahan Sel Spermatozoa Domba dengan Sephadex Column G-200. *Media Kedokteran Hewan*, Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga
- Mohri ., H. Oshio., S. Kaneko., S. Kobayashi., and R. Lizuka, 1987. Separation and Characterization of Mamalian X and Y Bearing Sperm New Horison in *Sperm Cell Research* 469 –481, Japan Sci. Soc. Press Tokyo/Gordon and Breach Sci Publ, New York
- Salisbury , G.W., and N.L. Van Demark 1961. *Fisiologi dan Reproduksi pada Sapi* Alih Bahasa Oleh Djanuar, 1985. Penerbit Gadjah Mada University Press.
- Susilawati, T. 2003. *Inseminasi Buatan Dengan Spermatozoa Beku Hasil Sexing Pada Sapi*. Makalah