



Kualitas Spermatozoa Y Hasil Separasi Sperma dengan Medium Putih Telur dan Lama Inkubasi yang Berbeda pada Domba Sakub

Quality of Spermatozoa Y From Sperm Separation with Egg White Medium and Different Incubation Duration in Sakub Sheep

Qonita Rahma Adira, Isnaini Aulia Nur Khasanah, Mas Yedi Sumaryadi*, Agustinah Setyaningrum, Aras Prasetyo Nugroho

Study Program of Animal Science, Faculty of Animal Science, University of Jenderal Soedirman. Jl. Dr. Soeparno No.60, Karangwangkal, Purwokerto Utara, Banyumas 53122, Jawa Tengah, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: mas.sumaryadi@unsoed.ac.id

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 11 June 2025

Revised: 14 July 2025

Accepted: 19 July 2025

Published: 01 March 2026

KATA KUNCI:

Abnormalitas
Konsentrasi
Motilitas
Separasi Sperma
Viabilitas

KEYWORDS:

Abnormality
Concentration
Motility
Sperm Separation
Viability

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi spermatozoa Y hasil separasi sperma domba Sakub. Faktor terdiri dari gradien putih telur ($g_1=15:30\%$ dan $g_2=20:35\%$) dan waktu inkubasi ($t_1=30$, $t_2=45$, dan $t_3=60$ menit). Data dianalisis menggunakan ANOVA kemudian diuji lanjut dengan BNJ. Hasil penelitian menunjukkan interaksi kombinasi perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas, abnormalitas, dan viabilitas. Gradien berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap motilitas dan abnormalitas, serta berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap viabilitas. Lama inkubasi berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap motilitas dan viabilitas, serta berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap abnormalitas. Nilai motilitas tertinggi pada g_1 $70\pm 8,64\%$ dan t_1 $70,67\pm 6\%$, abnormalitas terendah g_2 $10,83\pm 2,48\%$ dan t_1 $10,67\pm 3\%$, serta viabilitas tertinggi g_1 $70,33\pm 15,05\%$ dan t_2 $72,00\pm 8,50\%$. Terdapat interaksi kombinasi perlakuan berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap konsentrasi spermatozoa Y dengan konsentrasi tertinggi pada g_1t_3 yaitu $1530,00\pm 149,89$ $10^6/ml$. Kesimpulannya yaitu motilitas dan viabilitas yang tinggi dapat diperoleh dengan pemisahan masing-masing pada g_1 dan t_1 sampai t_2 , abnormalitas yang rendah pada g_2 dan t_1 sampai t_2 . Konsentrasi spermatozoa hidup terbanyak pada g_1t_3 .

ABSTRACT

This study aims to determine the motility, viability, abnormality, and concentration of Y spermatozoa from sperm separation of Sakub sheep. Factors consisted of egg white gradient ($g_1=15:30\%$ and $g_2=20:35\%$) and incubation time ($t_1=30$, $t_2=45$, and $t_3=60$ minutes). Data were analyzed using ANOVA and then further tested with BNJ. The results showed that the interaction of treatment combinations had no significant effect ($P>0.05$) on motility, abnormality, and viability. Gradient had a very real effect ($P<0.01$) on motility and abnormality, and a real effect ($P<0.05$) on viability. Incubation duration had a very significant effect ($P<0.01$) on motility and viability, and a significant effect ($P<0.05$) on abnormality. The highest motility value in g_1 $70\pm 8.64\%$ and t_1 $70.67\pm 6\%$, the lowest abnormality g_2 $10.83\pm 2.48\%$ and t_1 $10.67\pm 3\%$, and the highest

© 2026 The Author(s). Published by Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung in collaboration with Indonesian Society of Animal Science (ISAS). This is an open access article under the CC BY 4.0 license: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

viability g_1 $70.33 \pm 15.05\%$ and t_2 $72.00 \pm 8.50\%$. There is an interaction of treatment combinations with a significant effect ($P < 0.05$) on the concentration of Y spermatozoa with the highest concentration in g_{1t_3} , namely $1530.00 \pm 149.89 \text{ } 10^6/\text{ml}$. The conclusion is that high motility and viability can be obtained by separation respectively in g_1 and t_1 to t_2 , the low abnormality in g_2 and t_1 to t_2 . The highest concentration of live spermatozoa in g_{1t_3} .

1. Pendahuluan

Pemotongan domba pada tahun 2022 meningkat 1,86% yaitu 3,66 juta ekor dengan total produksi daging sebanyak 52,2 ribu ton atau meningkat 2,88% dari tahun 2021, impor kambing dan domba pada tahun 2022 meningkat hingga 3.525,09 ton (Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2023). Kondisi tersebut membuka peluang bagi peternak untuk mengoptimalkan potensi domba lokal demi memenuhi kebutuhan protein hewani. Salah satu domba lokal yang berpotensi dikembangkan yaitu domba Sakub dari Kabupaten Brebes, Jawa Tengah yang memiliki bobot badan rata-rata 59,18 kg pada umur 2–2,5 tahun dan 80,50 kg pada umur 2,5–3 tahun (Nurasih *et al.*, 2023).

Domba Sakub termasuk tipe pedaging sehingga untuk kontinuitas produksi daging tentunya peternak mengharapkan kelahiran cempes jantan. Namun, pada kenyataannya jenis kelamin anak yang dilahirkan melalui perkawinan alami yaitu 50% jantan dan 50% betina. Mahfud *et al.* (2019) menyatakan bahwa metode separasi sperma dapat digunakan untuk memperoleh kelahiran anak domba jantan lebih banyak melalui pemisahan spermatozoa kromosom X atau Y. Spermatozoa Y nantinya dapat digunakan untuk perkawinan melalui teknologi Inseminasi Buatan (IB).

Keberhasilan separasi sperma dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi medium, waktu yang digunakan spermatozoa untuk melewati medium, serta banyaknya sperma dalam pengencer (Anwar *et al.*, 2019). Penelitian ini menggunakan medium putih telur karena harganya murah dan mudah didapatkan (Ama *et al.*, 2017). Putih telur mengandung protein fungsional utama yaitu *lisozim* (3,5%) sebagai antibakteri, *ovomucin* (3,5%) sebagai sumber nutrisi, *ovomuroid* (11%), *ovotransferrin* (12%) sebagai antioksidan, dan *ovalbumin* (54%) (Khaeruddin, 2020). Prinsip separasi sperma dengan putih telur didasarkan pada perbedaan motilitas antara kedua spermatozoa serta perbedaan konsentrasi medium. Selain medium, faktor yang perlu diperhatikan yaitu lama inkubasi (Solihati *et al.*, 2017).

Keefisienan penerapan teknologi IB dipengaruhi oleh kualitas spermatozoa. Motilitas progresif diperlukan untuk mencapai tempat fertilisasi (Dasrul dan Thasmi,

2017). Struktur sel spermatozoa abnormal menyebabkan hambatan ketika fertilisasi, bahkan dapat menurunkan angka implantasi maupun kebuntingan (Afiati *et al.*, 2015). Konsentrasi spermatozoa yang semakin tinggi maka betina yang dapat di IB semakin banyak. Semakin tinggi viabilitas maka tingkat keberhasilan fertilitas juga semakin tinggi (Wiguna *et al.*, 2024). Penelitian tentang separasi sperma pada domba Sakub masih jarang dilakukan, sehingga perlu dikaji lebih lanjut agar potensinya dapat terus dioptimalkan.

2. Materi dan Metode

2.1. Materi Penelitian

Materi penelitian yaitu 1 ekor pejantan domba Sakub umur 2 tahun dengan bobot badan 45-50 kg yang dilakukan pengulangan penyadapan semen 3 kali untuk memastikan konsistensi dan reliabilitas data. Bahan penelitian yaitu semen domba Sakub, medium putih telur, PBS (*Phosphate Buffer Saline*) sebagai pengencer medium, *aquabidest*, *tris amino methane* sebagai pengencer semen, laktosa, antibiotik penisilin dan *streptomycin*, *raffinose pentahydrate*, asam sitrat, kuning telur, dan *eosin-negrosin*. Alat yang digunakan yaitu vagina tiruan, mikropipet, mikroskop, *microtip*, *object glass*, *cover glass*, sentrifugator, tabung *centrifuge*, tabung *ependorf*, pH meter, termometer, *waterbath*, erlenmeyer, *stopwatch*, bilik hitung *neubauer*, tabung reaksi, dan gelas *beaker*.

2.2. Metode Penelitian

2.2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada 22 Oktober – 10 Desember 2024 di *Teaching and Experimental Farm*, Laboratorium Bioteknologi Ternak *Integrated Academic Building*, dan Laboratorium Kesehatan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.

2.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitiannya yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 2x3 dengan ulangan frekuensi penyadapan sebanyak 3 kali dan terdiri dari 2 faktor yaitu:

a. Faktor gradien (G) yang terdiri dari dua level, yaitu:

g₁ : Medium putih telur gradien 15:30%

g₂ : Medium putih telur gradien 20:35%

b. Faktor lama inkubasi (T) pada suhu 37°C yang terdiri dari tiga level, yaitu:

- t₁: Lama inkubasi pada 30 menit
- t₂: Lama inkubasi pada 45 menit
- t₃: Lama inkubasi pada 60 menit

2.2.3 Pembuatan Medium Separasi Sperma

Pembuatan larutan putih telur dengan mencampurkan *Phosphate Buffer Saline* dengan takaran yang telah disesuaikan seperti berikut:

- Konsentrasi 15% = 0,9 ml putih telur + 5,1 ml *Phosphate Buffer Saline*.
- Konsentrasi 20% = 1,2 ml putih telur + 4,8 ml *Phosphate Buffer Saline*.
- Konsentrasi 30% = 1,8 ml putih telur + 4,2 ml *Phosphate Buffer Saline*.
- Konsentrasi 35% = 2,1 ml putih telur + 3,9 ml *Phosphate Buffer Saline*.

Pembuatan media separasi sperma yaitu dengan memasukkan larutan putih telur ke dalam tabung *centrifuge* sesuai dengan perlakuan yang digunakan yaitu g_{1t₁}, g_{1t₂}, g_{1t₃}, g_{2t₁}, g_{2t₂}, g_{2t₃}. Pembuatan gradien media separasi sperma dilakukan seperti berikut:

g₁ : 2 ml larutan putih telur dengan konsentrasi 15% (fraksi atas) + 2 ml larutan putih telur dengan konsentrasi 30% (fraksi bawah).

g₂ : 2 ml larutan putih telur dengan konsentrasi 20% (fraksi atas) + 2 ml larutan putih telur dengan konsentrasi 35% (fraksi bawah).

2.2.4 Pengukuran Variabel

a) *Motilitas Spermatozoa*

Penilaian motilitas progresif dilakukan secara subyektif dan dinyatakan dalam bentuk persen (Hardyastuti *et al.*, 2023).

b) *Abnormalitas Spermatozoa*

Persentase abnormalitas dihitung dengan rumus (Wahyutea *et al.*, 2015):

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{\sum \text{Spermatozoa Abnormal}}{\sum \text{Spermatozoa yang diamati}} \times 100$$

c) *Viabilitas dan Konsentrasi Spermatozoa*

Konsentrasi dan viabilitas dihitung dengan rumus sebagai berikut (Faradis, 2010):

1. Konsentrasi spermatozoa = Total spermatozoa yang dihitung x 10^7
2. Viabilitas = $\frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kualitas Semen Segar Domba Sakub

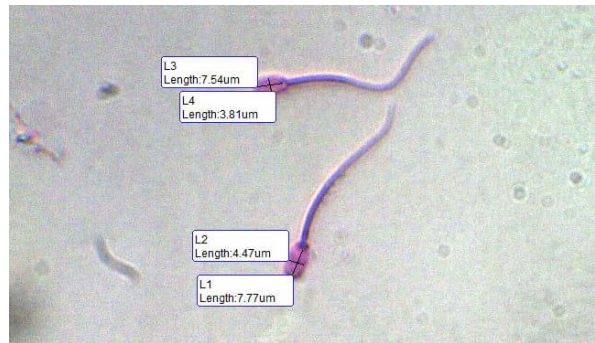
Pemeriksaan semen segar penting untuk memastikan kualitas spermatozoa layak diproses lebih lanjut dalam proses separasi dan digunakan untuk IB. Hasil pemeriksaan semen segar domba Sakub dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan semen segar domba Sakub

No.	Parameter	Hasil
Makroskopis		
1.	Volume (ml)	$1,17 \pm 0,24$
2.	pH	$6,87 \pm 0,09$
3.	Aroma	Khas semen
4.	Warna	Putih kekuningan
5.	Konsistensi	Kental
Mikroskopis		
1.	Motilitas Massa	+++ (sangat baik)
2.	Motilitas Individu (%)	$78,83 \pm 1,55$
3.	Abnormalitas (%)	$8,33 \pm 1,03$
4.	Viabilitas (%)	$83 \pm 1,08$
5.	Konsentrasi ($10^6/\text{ml}$)	$7350 \pm 235,51$
6.	Luas Kepala Spermatozoa (LKS) (μm^2)	$35,78 \pm 4,94$

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 1, rata-rata volume semen segar domba Sakub dari tiga kali penyadapan tergolong normal yaitu $1,17 \pm 0,24$ ml/ejakulasi, sesuai dengan hasil penelitian Solihati *et al.* (2018) yaitu 1,2 ml pada domba lokal. Semen memiliki pH normal yaitu sebesar $6,87 \pm 0,09$, sesuai dengan pernyataan Toelihere (1993) bahwa kisaran pH semen segar domba normal yaitu antara 5,9-7,3. Semen memiliki aroma khas sperma, sesuai dengan pernyataan Kusumawati *et al.* (2016) bahwa pada umumnya aroma dari semen normal ialah perpaduan antara bau amis khas dan bau alami dari hewan tersebut. Semen memiliki warna putih kekuningan dengan konsistensi kental, sesuai dengan pernyataan Wamur *et al.* (2022) bahwa ciri semen yang baik yaitu bersih dan tidak terkontaminasi, serta berwarna putih susu.

Hasil penelitian yang diperoleh yaitu rataan motilitas individu $78,83 \pm 1,55\%$ dan motilitas massa +++, lebih rendah dibandingkan hasil penelitian Solihati *et al.* (2018) yaitu $87,62\%$, Namun, motilitas yang diperoleh masih dapat diproses lebih lanjut, sesuai pernyataan Suteky *et al.* (2017) bahwa motilitas sperma segar $65-70\%$ cukup baik dan layak untuk diproses selanjutnya. Rataan abnormalitas termasuk normal yaitu $8,33 \pm 1,03\%$, sesuai pernyataan Susilawati (2013) bahwa nilai abnormalitas spermatozoa segar tidak boleh lebih dari 10% . Viabilitas spermatozoa mencapai $83 \pm 1,08\%$ termasuk normal menurut Garner dan Hafez (2000) bahwa viabilitas normal semen yang akan diencerkan yaitu $60-75\%$. Konsentrasi spermatozoa tergolong tinggi yaitu $7350 \pm 235,51$ ($10^6/\text{ml}$) dibandingkan dengan Susilawati (2013) yang mengatakan bahwa konsentrasi spermatozoa domba normal antara 3500 ($10^6/\text{ml}$) hingga 6000 ($10^6/\text{ml}$).



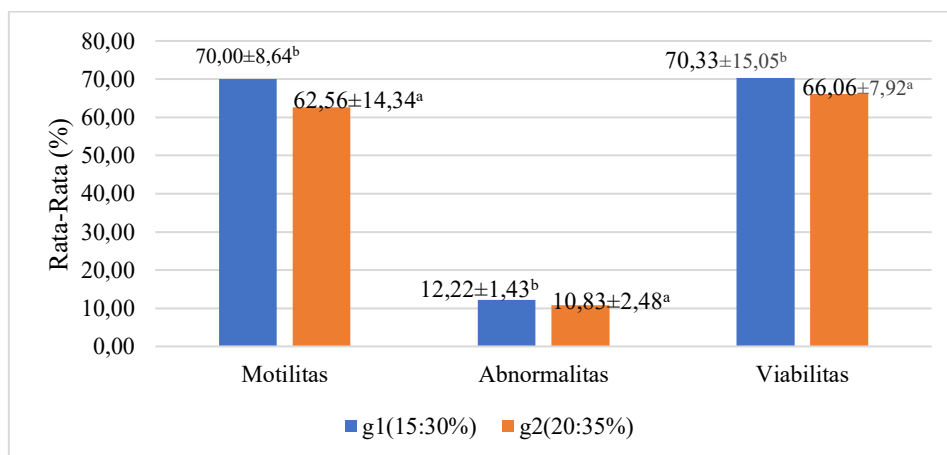
Gambar 1. Pengukuran luas kepala spermatozoa

Berdasarkan hasil pengukuran morfometrik spermatozoa, rataan luas kepala spermatozoa (LKS) segar $35,78 \pm 4,94 \mu\text{m}^2$ dan pasca separasi $30,14 \pm 4,81 \mu\text{m}^2$. Spermatozoa dikategorikan X jika ukuran kepalanya lebih besar atau sama dengan rataan LKS segar ditambah 1 standar deviasi, dan Y jika ukuran kepalanya lebih kecil atau sama dengan rataan LKS segar dikurangi 1 standar deviasi. Spermatozoa yang memiliki luas kepala $\leq 30,84 \mu\text{m}^2$ termasuk spermatozoa Y, $\geq 40,72 \mu\text{m}^2$ termasuk spermatozoa X. Keberhasilan pemisahan spermatozoa Y yang diperoleh yaitu $68,28 \pm 5,29\%$, lebih tinggi dibandingkan dengan Akhdiat (2012) yang memperoleh rataan proporsi spermatozoa Y sebesar $52,84\%$ pada domba lokal. Dengan demikian, proses separasi sperma dapat dikatakan berhasil karena telah mampu mengubah proporsi spermatozoa alami $50:50\%$. Spermatozoa X dan Y dapat terpisah karena spermatozoa Y memiliki ukuran kepala yang lebih kecil dan ringan sehingga cenderung lebih cepat dan lebih mudah menembus

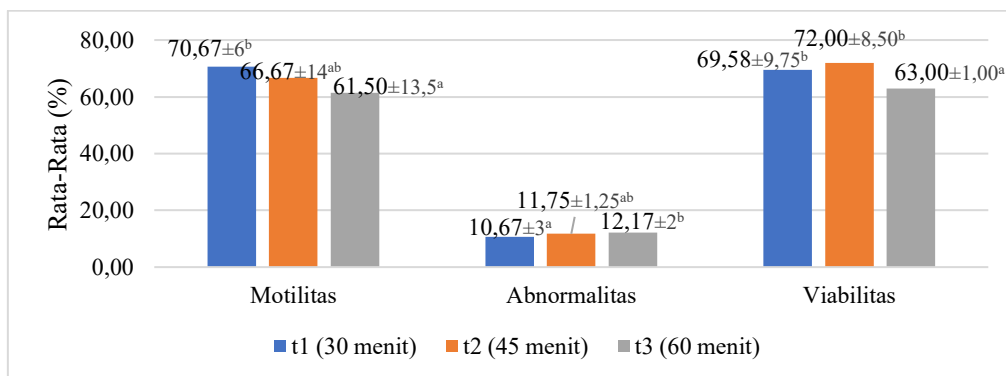
medium dengan konsentrasi yang lebih pekat. Berdasarkan hasil pemeriksaan (**Tabel 1**), semen segar domba Sakub layak diproses lebih lanjut dalam proses separasi sperma.

3.2. Kualitas Spermatozoa Y Domba Sakub Hasil Separasi Sperma

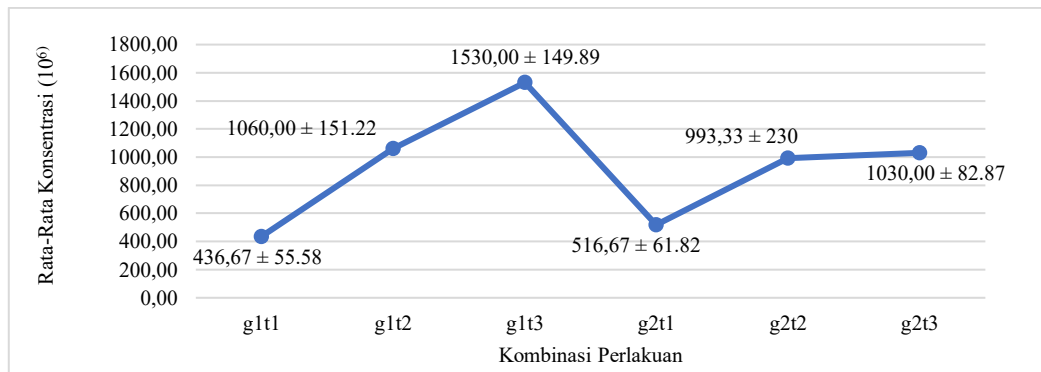
Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi kombinasi perlakuan tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas, abnormalitas, dan viabilitas. Gradien berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap motilitas dan abnormalitas, serta berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap viabilitas. Lama inkubasi berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap motilitas dan viabilitas, serta berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap abnormalitas. Interaksi antara gradien dan lama inkubasi berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap konsentrasi spermatozoa Y. Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4.



Gambar 2. Rata-rata motilitas, abnormalitas, dan viabilitas spermatozoa Y berdasarkan faktor gradien



Gambar 3. Rata-rata motilitas, abnormalitas, dan viabilitas spermatozoa Y berdasarkan faktor lama inkubasi



Gambar 4. Rata-rata konsentrasi spermatozoa Y

3.3. Motilitas Spermatozoa Y

Berdasarkan Gambar 2, motilitas spermatozoa Y pada g_1 ($70 \pm 8,64\%$) sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) dibandingkan g_2 ($62,56 \pm 14,34\%$). Rendahnya motilitas pada g_2 yang lebih kental diduga karena spermatozoa Y harus menggunakan energi lebih besar agar dapat menembus fraksi bawah, sehingga mendorong metabolisme dan konsumsi oksigen (Anwar *et al.*, 2019). Peningkatan metabolisme berbanding lurus dengan peningkatan intensitas peroksidasi lipid yang merusak membran plasma dan mengganggu fungsi mitokondria untuk inisiasi motilitas sperma. Berdasarkan Gambar 3, motilitas terbaik diperoleh pada t_1 ($70,67 \pm 6\%$) dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan t_2 ($66,67 \pm 14\%$). Rendahnya motilitas pada t_3 ($61,50 \pm 13,5\%$), diduga akibat berkurangnya persediaan energi. Menurut Ulum *et al.* (2022) peningkatan metabolisme selama inkubasi menghasilkan asam laktat yang mengubah pH medium menjadi asam, sehingga merusak organel sel dan mengganggu produksi energi. Motilitas dari semua perlakuan masih memenuhi syarat untuk IB, sesuai dengan standar Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) bahwa motilitas minimal semen cair yaitu 55% (To'aloh *et al.*, 2023).

Abnormalitas Spermatozoa Y

Berdasarkan Gambar 2, abnormalitas spermatozoa Y pada g_2 ($10,83 \pm 2,48\%$) sangat nyata lebih rendah ($P < 0,01$) dibandingkan g_1 ($12,22 \pm 1,43\%$), diduga karena kekentalan g_2 menyebabkan spermatozoa Y abnormal tertinggal di fraksi atas, sesuai pernyataan Anwar *et al.* (2019) bahwa rendahnya abnormalitas spermatozoa Y pada lapisan bawah karena spermatozoa abnormal tidak mampu berenang menuju lapisan yang lebih kental. Berdasarkan Gambar 3, abnormalitas terendah diperoleh pada t_1 ($10,67 \pm 3\%$) dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan t_2 ($11,75 \pm 1,25\%$). Tingginya abnormalitas pada t_3 ($12,17 \pm 2\%$) diduga akibat kebutuhan energi yang besar untuk terus bergerak sehingga

terjadi stres metabolik seiring lamanya waktu inkubasi. Abnormalitas yang diperoleh kurang dari 20%, sehingga masih layak digunakan untuk inseminasi (Agustian *et al.*, 2014). Abnormalitas yang ditemukan yaitu ekor patah, kepala putus, ekor bergulung dan kusut.

3.4. Viabilitas Spermatozoa Y

Berdasarkan Gambar 2, viabilitas pada g_1 ($70,33 \pm 15,05\%$) berbeda nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan g_2 ($66,06 \pm 7,92\%$). Viskositas g_2 yang lebih kental diduga meningkatkan gesekan ketika *swim down* dan merusak permeabilitas membran yang menyebabkan kematian sel. Berdasarkan Gambar 3, viabilitas terbaik diperoleh pada t_2 ($72,00 \pm 8,50\%$) dan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan t_1 ($69,58 \pm 9,75\%$), sehingga viabilitas yang baik dapat diperoleh pada inkubasi 30-45 menit. Rendahnya viabilitas pada t_3 ($63,00 \pm 1,00\%$) terjadi karena spermatozoa menggunakan lebih banyak energi untuk bertahan melalui metabolisme. Metabolisme membuat spermatozoa mengonsumsi lebih banyak oksigen sehingga *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan radikal bebas menjadi lebih tinggi. Produksi ROS berlebih dapat menyebabkan kerusakan pada protein, lipid, dan karbohidrat sehingga membran spermatozoa rapuh dan kehilangan sifat semipermeabelnya (Frau *et al.*, 2020), kemudian kerusakan membran akan menghambat sintesa ATP (Khasyarif *et al.*, 2019). Penurunan ATP yang berkepanjangan menyebabkan kematian pada spermatozoa. Viabilitas dari setiap perlakuan dapat digunakan untuk IB, sesuai pernyataan Setiono *et al.* (2022) bahwa viabilitas $>50\%$ dikatakan normal.

Konsentrasi Spermatozoa Y

Berdasarkan Gambar 4, konsentrasi tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan gradien 15:30% dalam waktu 60 menit yaitu $1530,00 \pm 149,89 \times 10^6/\text{ml}$, diduga pada waktu 60 menit telah terjadi pencampuran konsentrasi medium putih telur yang memudahkan spermatozoa menembus medium berkonsentrasi lebih tinggi sehingga spermatozoa di fraksi bawah semakin banyak. Ukuran kepala spermatozoa Y lebih kecil dan ringan (Fatahilah *et al.* (2017), lebih cepat memisahkan diri ke fraksi bawah (Sianturi *et al.*, 2004). Konsentrasi yang diperoleh pada masing-masing perlakuan sudah melebihi SNI 4869-1:2017 untuk IB yaitu setiap *straw* minimal berisi 50 juta sel spermatozoa domba (Badan Standarisasi Indonesia, 2017). Kombinasi perlakuan terendah pada g_1t_1 yaitu $436,67 \pm 55,56 \times 10^6/\text{ml}$ dapat menghasilkan 8 *straw* dan kombinasi perlakuan tertinggi

g1t3 yaitu $1530,00 \pm 149,89 \cdot 10^6/\text{ml}$ dapat digunakan untuk setidaknya 30 *straw*.

4. Kesimpulan

Motilitas dan viabilitas spermatozoa Y yang tinggi pada domba Sakub dicapai dengan gradien putih telur 15:30% dan inkubasi 30 sampai 45 menit. Abnormalitas yang rendah diperoleh pada gradien 20:35% dan inkubasi 30 sampai 45 menit. Meski gradien 15:30% memiliki abnormalitas $12,22 \pm 1,43\%$, tetap layak digunakan untuk inseminasi buatan. Konsentrasi spermatozoa Y yang tinggi dan jumlah spermatozoa hidup terbanyak diperoleh dengan kombinasi gradien 15:30% yang diinkubasi selama 60 menit.

Ucapan Terima Kasih

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

Daftar Pustaka

- Afiati, F., Yulnawati, M. Riyadi, dan R. I. Arifiantini. 2015. Abnormalitas Spermatozoa Domba dengan Frekuensi Penampungan Berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia* 1(4): 930-934.
- Agustian, M. F., M. N. Ihsan, dan N. Isnaini. 2014. Pengaruh Lama Simpan Semen dengan Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production* 15(2):1-6.
- 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): 59-69.
- Ama, K. T., E. D. Kusumawati, dan A. T. N. Krisnaningsih. 2017. Kualitas Spermatozoa Semen Sexing Kambing Peranakan Etawa (PE) dengan Metode Sedimentasi Putih Telur Menggunakan Pengencer yang Berbeda. *Jurnal Sains Peternakan* 5(1):39-49.
- Anwar, A., N. Solihati, dan S. D. Rasad. 2019. Pengaruh Medium dan Lama Inkubasi dalam Proses Sexing Sperma Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran* 19(1):53-61.

- Badan Standarisasi Nasional. 2017. Semen Beku Bagian 1 : Sapi. BSN, Jakarta.
- Dasrul, M. H., dan C. N. Thasmi. 2017. Pengaruh Frekuensi Penampungan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa pada Ayam Bangkok. *Jimvet* 1(1):46-53.
- Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2023. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2023. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian RI, Jakarta.
- Faradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta, Bandung.
- Fatahilah, F., T. Susilawati, dan N. Isnaini. 2017. Pengaruh Lama Sentrifugasi terhadap Kualitas dan Proporsi Spermatozoa X Y Sapi Limousin Hasil Sexing dengan Gradien Densitas Percoll Menggunakan Pengencer Cep-2+ 10% kt. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production* 17(1): 86-97.
- Frau, P. P., A. J. Soler, M. I. Cuerda, A. M. Maestro, I. S. Ajofrin, D. A. M. Chavez, M. R. F. Santos, O. G. Alvarez, A. M. Morales, V. Montoro, and J. J. Garde. 2020. Sperm Cryodamage in Ruminants: Understanding the Molecular Changes Induced by the Cryopreservation Process to Optimize Sperm Quality. *International Journal of Molecular Sciences* 21(8): 2781.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction in Farm Animals*. Hafez, E.S.E. and B. Hafez (ed). 7th. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Hardyastuti, D. M., M. Y. Sumaryadi, D. M. Saleh, A. Setyaningrum, dan A. Susanto. 2023. Kualitas Semen Cair dan Semen Beku Kambing Peranakan Etawa (PE) pada Berbagai Jenis Pengencer. In: *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian*. p 388-396.
- Khaeruddin, K. 2020. Pembekuan Spermatozoa Ayam Kampung dengan Suplementasi Bovine Serum Albumin dan Putih Telur dalam Pengencer Ringer Laktat Kuning Telur. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production* 21(2):111-222.
- Khasyarif, Z., D. Dasrul, G. Riady, C. N. Thasmi, dan A. Azhar. 2019. Quality of Simeulue Buffalo Spermatozoa After Freezing With Andromed Diluent. *Jurnal Medika Veterinaria* 13(2): 211-218.
- Kusumawati, E. D., H. Leondro, A. T. N. Krisnaningsih, T. Susilawati, N. Isnaini, dan R. Widhad. 2016. Pengaruh Suhu dan Lama Simpan Semen Segar terhadap Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (PE). In *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian*. 4(1):199- 208.
- Mahfud, A., N. Isnaini, A. P. A. Yekti, K. Kuswati, dan T. Susilawati. 2019. Kualitas Spermatozoa Post Thawing Semen Beku Sperma Y Hasil Sexing pada Sapi Limousin. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production* 20(1):1-7.
- Nurasih, A. D., M. Y. Sumaryadi, C. N. Hidayah, A. P. Nugroho, A. Setyaningrum, I. Haryoko, P. Yuwono and A. Sodiq. 2023. Phenotypic Characteristics of Sakub Sheep as Local Livestock Genetic Resources. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 24(10): 5671-5675.
- Setiono, L. A., R. R. H. Rumende, dan L. Wahyudi. 2022. Kajian Viabilitas Spermatozoa Sebelum dan Sesudah Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll dengan Pemberian Fosfolipid. *Jurnal Bios Logos* 12(2): 122-130.

- Sianturi, R. G., P. Situmorang, E. Triwulanningsih, T. Sugiarti, dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Pengaruh Isobutil Metilxantina (IMX) dan Waktu Pemisahan terhadap Kualitas dan Efektifitas Pemisahan Spermatozoa dengan Metode Kolom Albumin Telur. *JITV* 9(4): 246-251.
- Solihati, N., S. D. Rasad, A. Yusrina, dan D. I. Dimiyati. 2017. Identifikasi Morfometrik Sperma Domba Lokal Sebagai Dasar Aplikasi Sexing Sperma. *Jurnal Ilmu Ternak* 17(2):112-116.
- Solihati, N., S. D. Rasad, R. Setiawan, dan S. Nurjanah. 2018. Pengaruh Kadar Gliserol Terhadap Kualitas Semen Domba Lokal. *Jurnal Biodjati* 3(1):63-71.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak*. Universitas Brawijaya Press, Malang.
- Suteky, T., S. Sutriyono, D. Dwatmadji, dan M. I. Sholihin. 2017. Kualitas Semen Produksi UPTD Bengkulu dan Tingkat Keberhasilan Inseminasi pada Sapi Bali dan Peranakan Simental di Bengkulu. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 12(2):221-229.
- To'alloh, N., N. J. Mubarakati, dan G. E. Jayanti. 2023. Analisis Motilitas Spermatozoa Sebelum dan Sesudah Pembekuan pada Sapi Peranakan Ongole (*Bos Indicus*) di BBIB Singosari Malang. *Journal Of Comprehensive Science (JCS)* 2(5):1031-1038.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak* Cetakan keenam. Angkasa, Bandung.
- Ulum, M. F., E. M. Kaiin, dan N. W. K. Karja. 2022. Karakteristik Spermatozoa Domba yang Diinkubasi dalam Medium Fertilisasi dengan Waktu dan Konsentrasi Berbeda. *Acta Veterinaria Indonesiana* 10(3):201-210.
- Wahyutea, H. R., S. Sutopo, dan Y. S. Ondho. 2015. Pengaruh Jarak dan Waktu Tempuh Terhadap Post Thawing Motility, Abnormalitas dan Spermatozoa Hidup Semen Beku (The Effect of Travel Distance and Travel TIME Toward Post Thawing Motility, Abnormality and Life Sperm of Frozen Semen). *Animal Agriculture Journal* 4(1):149-154.
- Wamur, M. F., A. A. Dethan, dan C. V. Lisnahan. 2022. Kualitas Makro Semen Ayam Kampung yang Disuplementasi L-Arginine dan L-Lysine HCl Dalam Pakan. *JAS* 7(2):27-31.
- Wiguna, A., M. Janah, C. D. Atma, dan M. Munawaroh. 2024. Pengaruh Pengencer Skim Milk pada Semen Sapi Bali dengan Waktu Penyimpanan Berbeda terhadap Kualitas Spermatozoa di Balai Inseminasi Buatan Banyuwulek Provinsi Nusa Tenggara Barat. *Mandalika Veterinary Journal* 4(2): 7-16.