TEKNOSAINS
MEDIA INFORMASI SAINS DAN TEKNOLOGI
Journal homepage: https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/teknosains

Analisis kualitas sperma dan proporsi kromosom X–Y Sapi Bali (*Bos indicus*) hasil *sexing* metode *swim-up* dengan variasi kadar albumin dan waktu inkubasi

Andi Dewi Reski Amalia[1], Artha Rezki Permatasari[1], Hajrah[1*], Cut Muthiadin[1], Hafsan[1], Dirhamzah[1]
[1]Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
Jl. H.M. Yasin Limpo No. 36, Gowa, Sulawesi Selatan, Indonesia. 92113
*E-mail: hajrah.sukri@uin-alauddin.ac.id

Abstrak: Seleksi hewan berdasarkan jenis kelamin merupakan strategi penting dalam program pemuliaan dan produksi ternak karena berpengaruh terhadap efisiensi produksi dan nilai ekonomi. Peningkatan kebutuhan daging sapi mendorong penerapan teknologi reproduksi yang efisien, salah satunya melalui sexing sperma. Metode *swim-up* merupakan teknik *sexing* sperma yang relatif sederhana dan ekonomis. Namun, pada sapi bali, efektivitas metode ini masih perlu dikaji lebih spesifik terutama terkait pengaruh durasi inkubasi dan kadar albumin terhadap pemisahan spermatozoa X dan Y serta kualitas spermatozoa yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi durasi inkubasi dan kadar albumin terhadap kualitas semen beku sapi bali hasil *sexing* menggunakan metode *swim-up*, serta mengevaluasi proporsi spermatozoa X dan Y dan kualitas kromosom sperma setelah proses sexing. Penelitian menggunakan pendekatan eksperimental kuantitatif dengan parameter pengamatan meliputi motilitas, viabilitas, abnormalitas, morfometrik sperma, proporsi spermatozoa X dan Y, serta kualitas kromosom sperma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi durasi inkubasi dan kadar albumin berpengaruh signifikan ($p<0,05$) terhadap kualitas sperma. Perlakuan inkubasi 15 menit dengan albumin 3% menghasilkan kualitas sperma terbaik dengan motilitas 14,00±6,02, viabilitas 26,67±7,57, dan abnormalitas terendah 5,67±5,50. Morfometrik sperma pasca *sexing* masih berada dalam kisaran normal. Proporsi spermatozoa X dan Y menunjukkan variasi antar perlakuan, dengan kecenderungan fraksi kromosom kelamin tertentu pada perlakuan optimal. Hasil skrining kromosom menunjukkan mayoritas spermatozoa memiliki kromosom yang utuh. Dengan demikian, metode *swim-up* diharapkan efektif digunakan untuk memisahkan spermatozoa berdasarkan kromosom kelamin tanpa menurunkan kualitas kromosom sperma sapi bali.

Kata Kunci: inseminasi buatan, sapi bali, *sexing*, sperma, *swim-up*

Abstract: Sex-based animal selection is an important strategy in livestock breeding and production programs because it directly affects production efficiency and economic value. The increasing demand for beef has encouraged the application of efficient reproductive technologies, one of which is sperm sexing. The swim-up method is a relatively simple and economical sperm sexing technique. However, in Bali cattle, the effectiveness of this method requires more specific study, particularly regarding the effect of incubation duration and albumin levels on the separation of X and Y spermatozoa and the quality of the resulting spermatozoa. This study aimed to analyze the effects of different incubation durations and albumin concentrations on the quality of frozen semen of Bali cattle subjected to sperm sexing using the swim-up method, as well as to evaluate the proportion of X- and Y-bearing spermatozoa and sperm chromosomal quality after the sexing process. The study employed a quantitative experimental approach, with parameters including sperm motility, viability, abnormality, sperm morphometrics, X- and Y-bearing sperm proportions, and chromosomal quality. The results showed that variations in incubation duration and albumin concentration significantly affected sperm quality ($p<0.05$). An incubation duration of 15 minutes with 3% albumin produced the best sperm quality, with motility of 14.00±6.02, viability of 26.67±7.57, and the lowest abnormality rate of 5.67±5.50. Post-sexing sperm morphometrics remained within the normal range. The proportions of X- and Y-bearing spermatozoa varied

Cara Sitasi:
Amalia, A. D. R., Permatasari, A. R., Hajrah, H., Muthiadin, C., Hafsan, H., Dirhamzah, D. (2026). Analisis kualitas sperma dan proporsi kromosom X–Y Sapi Bali (*Bos indicus*) hasil *sexing* metode *swim-up* dengan variasi kadar albumin dan waktu inkubasi. *Teknosains: Media Informasi Sains dan Teknologi*, 20(1), 53-65. https://doi.org/10.24252/teknosains.v20i1.64695

Diajukan 15 Januari 2026; Ditinjau 29 Januari 2026; Diterima 13 Februari 2026; Diterbitkan 13 Februari 2026
Copyright © 2026. The authors. This is an open access article under the CC BY-SA license

among treatments, with a tendency toward enrichment of specific sex chromosome fractions under optimal conditions. Chromosomal screening analysis indicated that most spermatozoa retained intact chromosomes. In conclusion, the swim-up method will be effective for separating spermatozoa based on sex chromosomes without compromising chromosomal quality in Bali cattle frozen semen.

Keywords: artificial insemination, bali cow, sexing, sperm, swim-up

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki sektor peternakan yang berperan penting dalam mendukung ketahanan pangan nasional, khususnya dalam penyediaan pangan hewani seperti daging, susu, dan telur. Di antara berbagai komoditas peternakan, daging ayam menempati posisi utama dalam konsumsi masyarakat, diikuti oleh daging sapi sebagai sumber protein hewani yang juga sangat penting (Danasari et al., 2020). Daging sapi tidak hanya memiliki nilai gizi yang tinggi, terutama dalam hal kandungan protein, tetapi juga memiliki nilai strategis dalam konteks ekonomi nasional (Oktaviani et al., 2014). Permintaan terhadap daging sapi di Indonesia mengalami peningkatan yang signifikan, seiring dengan pertumbuhan jumlah penduduk, peningkatan pendapatan, serta perubahan pola konsumsi masyarakat (Agustina et al., 2023). Kondisi ini menunjukkan bahwa daging sapi memiliki peran yang semakin besar dalam memenuhi kebutuhan pangan hewani masyarakat Indonesia, sekaligus menjadi komoditas yang strategis dalam sektor peternakan (Danasari et al., 2020).

Sapi Bali merupakan salah satu jenis sapi lokal yang saat ini banyak dibudidayakan di Indonesia, terutama untuk tujuan produksi daging dan susu. Sapi ini dikenal memiliki produktivitas yang baik, tidak hanya sebagai sumber daging, tetapi juga berpotensi sebagai indukan dalam sistem reproduksi ternak untuk menghasilkan susu (Elisia & Maiyontoni, 2022). Selain itu, Sapi Bali memiliki karakteristik genetik yang khas dan keunggulan fisiologis yang membuatnya kompetitif dibandingkan dengan ras sapi potong lainnya. Unggulan ini menjadikan Sapi Bali sebagai salah satu aset penting dalam pengembangan subsektor peternakan nasional, khususnya dalam upaya peningkatan swasembada protein hewani (Fachroerrozi, 2015). Selain itu, keunggulan dari sapi Bali ini yaitu sebagai sapi pekerja dan sapi pedaging sehingga keinginan masyarakat untuk memperoleh keturunan berjenis kelamin jantan pun semakin meningkat (Fania et al., 2020).

Upaya peningkatan produksi daging sapi dapat dilakukan melalui penambahan jumlah populasi sapi potong serta perbaikan mutu genetik ternak. Salah satu solusi yang dapat diterapkan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah melalui penerapan teknologi reproduksi modern, seperti inseminasi buatan (IB) yang bertujuan untuk memperbaiki kualitas genetik ternak secara lebih efisien dan terukur. Bioteknologi reproduksi merupakan teknologi yang berfokus pada peningkatan produktivitas, terutama melalui pemanfaatan rekayasa bioteknologi dalam proses reproduksi seperti IB (Fatahillah, 2016).

IB dirancang untuk mempercepat dan meningkatkan jumlah keturunan secara efisien dengan memanfaatkan jantan unggul. Penentuan jenis kelamin sebelum melahirkan memberikan keuntungan dan efisiensi, karena dapat mengurangi biaya pemeliharaan serta mendukung program pemuliaan (Heidari et al., 2018). Teknologi pemisahan jenis kelamin semen merupakan salah satu bioteknologi reproduksi yang

memungkinkan penentuan jenis kelamin keturunan dengan memisahkan spermatozoa yang membawa kromosom X dan Y (sperma X dan Y) (Mahfud et al., 2019).

Pemisahan spermatozoa berdasarkan kromosom seks, yaitu X dan Y, diyakini dapat meningkatkan efisiensi program inseminasi buatan dalam usaha peternakan sapi. Spermatozoa yang membawa kromosom X akan menghasilkan keturunan betina, yang memiliki peranan penting dalam produksi susu serta sebagai indukan pengganti (Kaiin, 2017). Sebaliknya, spermatozoa yang membawa kromosom Y akan menghasilkan keturunan jantan, yang biasanya dipelihara untuk tujuan penggemukan sapi potong (Mahendra & Jatnika, 2024). Dengan teknologi pemisahan jenis kelamin sperma ini, produksi keturunan dapat diatur sesuai kebutuhan peternak, sehingga mendukung peningkatan produktivitas dan efisiensi usaha peternakan (Quelhas et al., 2021).

Pemisahan spermatozoa berdasarkan krmosom seks (X dan Y) telah banyak dikembangkan denan menggunakan berbagai metode salah satunya adalah dengan menggunakan metode *swim-up* (Iqra et al., 2024). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, metode swim-up menghasilkan kualitas lebih baik dan mampu memisahkan spermatozoa X dan Y hingga 81% dibandingkan dengan metode lain. Selain itu, dapat dibuat dengan mudah dengan biaya yang rendah (Masrizal et al., 2024).

Jenis kelamin sperma ditentukan berdasarkan perbedaan kandungan DNA antara kromosom X dan Y, di mana spermatozoa X memiliki jumlah DNA lebih banyak dibandingkan spermatozoa Y (Afriani et al., 2022). Selain proporsi spermatozoa X dan Y penting untuk menganalisis lebih lanjut terkait kualitas DNA spermatozoa atau proses skrining kromosom setelah proses *sexing*. Metode swim-up dapat secara selektif memilih spermatozoa dengan kualitas kromatin yang lebih baik dan lebih sedikit kelainan morfologi, sehingga menghasilkan tingkat pembelahan yang lebih tinggi ketika digunakan dalam fertilisasi in vitro (IVF) (Masrizal et al., 2024). Akan tetapi proses sexing bisa saja mempengaruhi integitas DNA, dalam hal ini menjadi suatu tolak ukur dalam infertilitas klinis. Keruskan DNA sperma terjadi yang mungkin disebabkan oleh pelepasan zat-zat seperti *reactive oxygen* (ROS) atau kemungkinan disebabkan gangguan pematangan kromatin. Penelitian terkait kerusakan DNA spermatozoa perlu dilakukan memiliki kaitan erat dengan proses fertilisasi, apabila kerusakan DNA terlalu tinggi dapat menyebabkan penurunan pada angka kebuntingan hewan ternak (Gunawan et al., 2024).

Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini menganalisis pengaruh variasi durasi inkubasi dan kadar albumin terhadap kualitas semen beku sapi Bali hasil sexing menggunakan metode *swim-up*, serta mengevaluasi proporsi spermatozoa X dan Y dan kualitas kromosom sperma setelah proses sexing. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efektivitas metode swim-up dalam pemisahan spermatozoa serta dampaknya terhadap integritas DNA, sehingga dapat menjadi dasar dalam penerapan teknologi reproduksi pada sapi Bali secara optimal. Serta menawarkan metode yang relatif sederhana dan ekonomis dari segi biaya dan pada industri peternakan dalam penentuan jenis kelamin anak sapi yang diinginkan guna memenuhi kebutuhan spesifik, seperti meningkatkan populasi sapi betina untuk produksi susu atau sapi jantan untuk produksi daging.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Maret tahun 2025. Metode *swim-up* merupakan teknik *sexing* sperma yang relatif sederhana dan ekonomis, dengan keberhasilan yang dipengaruhi oleh durasi inkubasi dan kadar albumin. Jenis penelitian ini adalah pendekatan kualitatif dan kuantitatif. Kualitatif untuk mengukur dan

menganalisis kualitas sperma sapi bali (*Bos indicus*) setelah proses *sexing*. Kuantitatif dengan analisis laboratorium untuk mengukur morfometrik dan perbandingam spermatozoa X dan Y serta mengevaluasi kualitas DNA atau kromosom setelah perlakuan. Pengukuran proporsi spermatozoa X dan dilakukan dengan melihat panjang dan lebar morfologi kepala sperma menggunakan mikroskop trinokuler Nikon/Eclipse 801.

Sementara itu, analisis kualitas DNA atau kromsom spermatozoa dengan pewarnaaan *Toluidine Blue* (TB) untuk melihat apabila terjadi kerusakan DNA setelah proses *swim-up*. TB ini merupakan pewarna basa yang memiliki afinitas tinggi terhadap molekul basofilik seperti asam nukleat. Intensitas warna tergantung pada tingkat kondensasi DNA, DNA yang sangat terkondensasi hanya menyerap sedikit pewarna sehingga tampak biru pucat, sedangkan DNA yang kurang terkondensasi menyerap lebih banyak pewarna dan tampak lebih gelap. Jika kromatin rusak, warna biru dapat berubah menjadi biru tua atau ungu (Alfred et al., 2022).

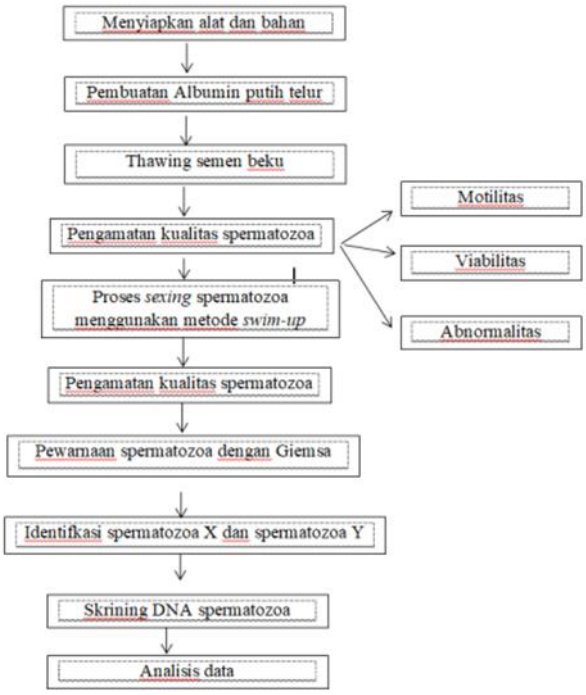
Penelitian ini menggunakan metode *swim-up* yaitu teknik pemisahan sperma berdasarkan motilitasnya, dimana spermatozoa yang paling aktif bergerak naik ke medium nutrien. Prosedurnya dimulai dengan menyiapkan medium albumin di tabung, kemudian sampel sperma ditambahkan di bawah medium. Setelah inkubasi selama wwaktu yang ditentukan, lapisan atas yang kaya akan spermatozoa motil diambil untuk analisis lebih lanjut. Metode ini telah terbukti efektif dalam praktik reproduksi ternak (Elisia & Maiyontoni, 2022).

Kegiatan penelitian analisis kualitas menggunakan beberapa alat sebagai pendukung penelitian, diantaranya seperti corong, neraca analitik, tabung ukur, plastik *gloves*, gelas ukur, *object glass*, *cover glass*, mikroskop trinokuler, mikropipet ukuran 10 ul, 100 ul , 1000 ul, *microtube*, inkubator, pipet tetes, pipet ukur, tissue, rak tabung, *counter*, pH meter dan tip (putih, kuning dan biru), tabung reaksi, *vortex*, label, termos, Pinset¸ Refrigator, Ph meter, Nikon/Eclipse 801, *magnetic stirer*, rak PCR *tube*, *blue tip*, botol aquades dan alat tulis.

Sedangkan bahan yang digunakan yaitu 50 semen beku yang berasal dari sapi bali yang dipelihara di UPTD Inseminasi Buatan di Kabupaten Maros, putih telur ayam ras, aquadest dan pewarna Eosin-Nigrosin, kertas saring, label, nitrogen cair, Giemsa, Methanol Absolut, alkohol 70%, *Etanol* 96%, aseton, HCL 0,1 N, Pewarna TB (*Toluidine Blue*), NaCl Fisiologis 0,9% , air suling, *t-butanol*, *xylol*, tissue, *handscoon* serta masker medis.

Prosedur penelitian analisis kualitas sperma, proporsi spermatozoa X dan Y, serta skrining kromosom pada sperma Sapi Bali (*Bos indicus*) hasil sexing menggunakan metode swim-up dengan variasi kadar albumin dan durasi inkubasi ditunjukkan pada Gambar 1. Secara detail, Gambar 1 menunjukkan tahapan penelitian sebagai berikut: (a) alat dan bahan disiapkan sesuai kebutuhan analisis laboratorium untuk memastikan seluruh prosedur berjalan terkontrol; (b) albumin putih telur dibuat dalam konsentrasi 1%, 2%, dan 3% sebagai media pemisahan pada proses *sexing*; (c) semen beku di-*thawing* dalam *water bath* suhu 37°C selama 30 detik untuk mengembalikan aktivitas spermatozoa; (d) dilakukan pengamatan kualitas spermatozoa secara mikroskopik yang meliputi motilitas (kemampuan bergerak), viabilitas (persentase hidup), dan abnormalitas (kelainan morfologi); (e) *sexing* spermatozoa dilakukan dengan metode *swim-up* menggunakan perlakuan P0 (kontrol), P1 (inkubasi 5 menit + albumin 1%), P2 (inkubasi 10 menit + albumin 2%), dan P3 (inkubasi 15 menit + albumin 3%), kemudian diambil fraksi atas untuk dianalisis; (f) spermatozoa diwarnai menggunakan Giemsa untuk

memperjelas struktur morfologi; (g) identifikasi spermatozoa X dan Y dilakukan berdasarkan perbedaan karakteristik morfometri; dan (h) skrining DNA spermatozoa menggunakan pewarna TB dilakukan untuk mengevaluasi integritas materi genetik sebagai pendukung hasil pemisahan. i) Analisis data, data hasil pengamatan dinyatakan dalam bentuk rerata ± standar deviasi. Uji normalitas dilakukan menggunakan Shapiro–Wilk, kemudian data dianalisis menggunakan One Way ANOVA untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan. Apabila terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey. Seluruh data dicatat dan diolah menggunakan Microsoft Excel dan perangkat lunak statistik.

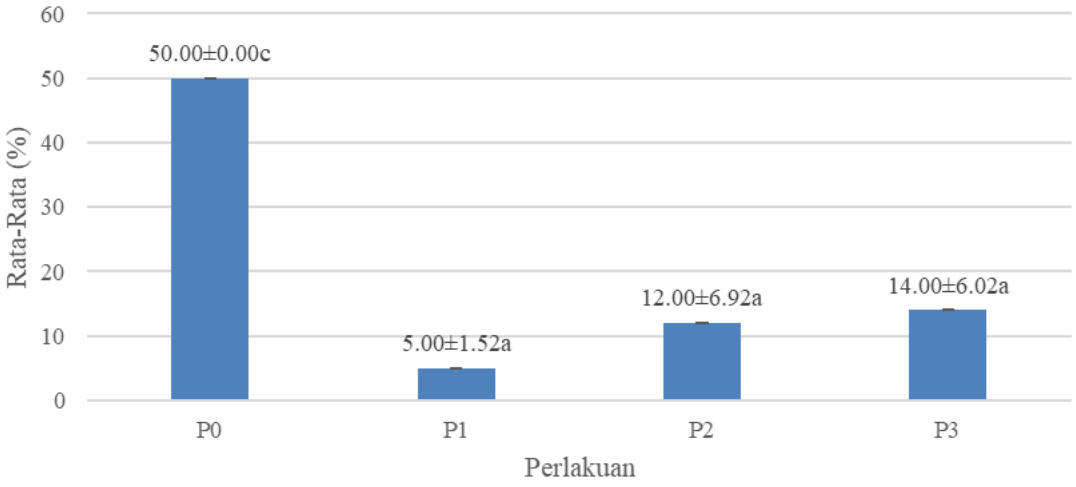


Gambar 1. Prosedur kerja

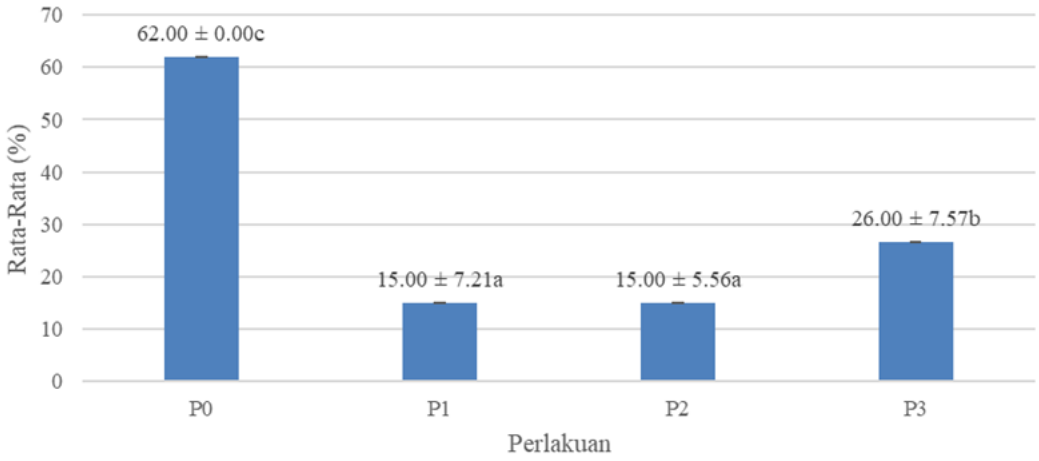
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisis kualitas sperma sapi bali hasil *sexing* menggunakan metode *swim-up* dengan kombinasi albumin dan variasi durasi

Penelitian *sexing* sperma beku menggunakan metode *swim-up* yang didapatkan dari UPTD Balai Besar Inseminasi Buatan Kabupaten Maros dan dilakukan analisis kualitas secara mikroskopik. Hasil evaluasi semen beku sapi bali (*Bos indicus*) secara mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 2.



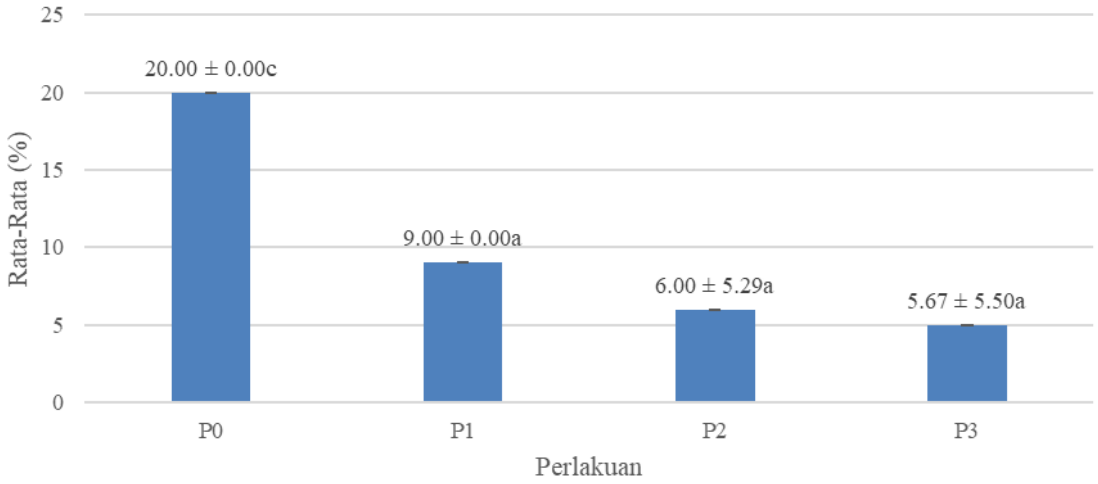
Gambar 2. Diagram motolitas sperma sapi Bali (*Bos indicus*) pra *sexing* (P0) dan pasca *sexing* pada setiap perlakuan, yaitu P1 (inkubasi 5 menit, albumin 1%), P2 (inkubasi 10 menit, albumin 2%), dan P3 (inkubasi 15 menit, albumin 3%)



Gambar 3. Diagram viabilitas sperma sapi Bali (*Bos indicus*) pra *sexing* (P0) dan pasca *sexing* pada setiap perlakuan, yaitu P1 (inkubasi 5 menit, albumin 1%), P2 (inkubasi 10 menit, albumin 2%), dan P3 (inkubasi 15 menit, albumin 3%)

Berdasarkan hasil evaluasi motilitas semen beku sapi bali (*Bos indicus*) yang diperoleh dilihat pada Gambar 2, diagram motilitas pra *sexing* dan pasca sexing sperma sapi Bali (*Bos indicus*) menunjukkan bahwa kontrol (P0) memiliki rata-rata motilitas sebesar 50.00 ± 0.00. Perlakuan dengan metode swim-up yang dikombinasikan dengan kadar albumin dan durasi inkubasi menunjukkan penurunan motilitas. Pada perlakuan P1 (inkubasi 5 menit; albumin 1%) rata-rata motilitas 5.00±1.52, P2 (inkubasi 10 menit; albumin 2%) 12.00±6.92, P3 (inkubasi 15 menit; albumin 3%) motilitas meningkat 14.00± 6.02. Hasil ini menunjukkan penambahan albumin dan waktu inkubasi yang lebih lama dapat meningkatkan motilitas dibandingkan perlakuan dengan inkubasi dan albumin yang sedikit.

Berdasarkan hasil evaluasi viabilitas semen beku sapi bali (*Bos indicus*) yang diperoleh dilihat pada Gambar 3. diagram viabilitas pra *Sexing* dan pasca *sexing* sperma sapi bali (*Bos indicus*) menunjukkan bahwa kontrol (P0) memiliki rata-rata viabilitas sebesar 62.00 ± 0.00. Sementara kelompok perlakuan menunjukkan penurunan viabilitas. P1 (inkubasi 5 menit; albumin 1%) memiliki nilai rata-rata yang hampir sama dengan P2 (inkubasi 10 menit; albumin 2%), P1 15.00±7.21 pada P2 15.00±5.56. Sementara pada P3 (inkubasi 15 menit; albumin 3%) menunjukkan viabilitas 26.00±7,57. Data ini menunjukkan pemberian albumin dengan inkubasi yang lebih lama dan konsentrasi tinggi (P3) mampu mempertahankan viabilitas sperma lebih baik dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

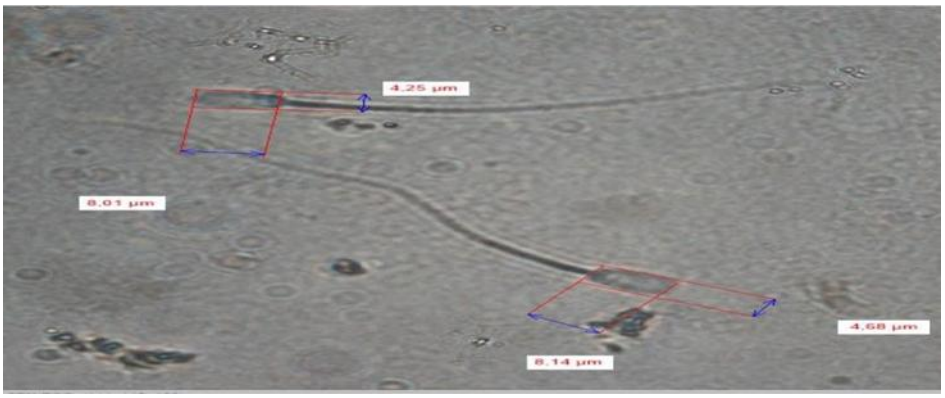


Gambar 4. Diagram abnormalitas sperma sapi Bali (*Bos indicus*) pra *sexing* (P0) dan pasca *sexing* pada setiap perlakuan, yaitu P1 (inkubasi 5 menit, albumin 1%), P2 (inkubasi 10 menit, albumin 2%), dan P3 (inkubasi 15 menit, albumin 3%)

Berdasarkan hasil evaluasi abnormalitas semen beku sapi bali (*Bos indicus*) yang diperoleh dilihat pada Gambar 4, diagram abnormalitas pra *sexing* dan pasca *sexing* sperma sapi bali (*Bos indicus*) menunjukkan bahwa tingkat abnormalitas sebelum *sexing* memiliki rata-rata sebesar 20.00 ± 0.00, yang menunjukkan adanya proporsi tertentu dari sperma yang mengalami kelainan morfologi. Setelah *sexing*, pada perlakuan P1 (inkubasi 5 menit; albumin 1%) menghasilkan abnormalitas sperma dengan nilai rata-rata P1 9.00± 0.00, pada P2 (inkubasi 10 menit; albumin 2%) Tingkat abnormalitas menurun sebesar 6.00 ± 5.29, dan pada P3 (inkubasi 15 menit; albumin 3%) Tingkat abnormalitas lebih rendah dengan nilai rata-rata 5.67 ± 5.50. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian albumin dengan konsentrasi dan waktu inkubasi yang lebih tinggi dapat menurunkan persentase abnormalitas dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan lainnya.

2. Morfometrik sperma Sapi Bali

Morfometrik sperma berperan sebagai salah satu penanda dalam menilai kualitas morfologi sperma. Pengukuran morfometrikk sperma dilakukan menggunakan mikroskop trinokuler. Morfometrik merupakan parameter penting dalam menilai kualitas sperma karena bentuk dan ukuran kepala sperma berhubungan erat dengan kemampuan fertilisasi. Adapun hasil penelitian mengenai morfometrikk spermatozoa ini meliputi pengukuran parameter morofologi panjang kepala dan lebar kepala spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Morfologi spermatozoa sapi Bali yang diamati menggunakan mikroskop trinokuler pada perbesaran 1000× (lensa objektif 100× dengan minyak imersi 1,25 dan lensa okuler 10×). Parameter morfometri yang diukur meliputi (a) lebar kepala spermatozoa dan (b) panjang kepala spermatozoa. Skala bar pada gambar menunjukkan 10 µm

Sperma pada kelompok *Down Layer* (P1, P2, dan P3) cenderung memiliki panjang dan lebar kepala yang lebih besar dibandingkan kelompok *up layer* dan kontrol. Kelompok P2 *down layer* menunjukkan ukuran kepala sperma terbesar secara keseluruhan. Hal ini mengindikasikan bahwa proses pemisahan lapisan dapat memengaruhi distribusi morfometrik sperma, bahwasanya sperma dengan ukuran kepala lebih besar terkonsentrasi pada *down-Layer* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data hasil pengukuran rata-rata panjang dan lebar kepala sperma sapi Bali

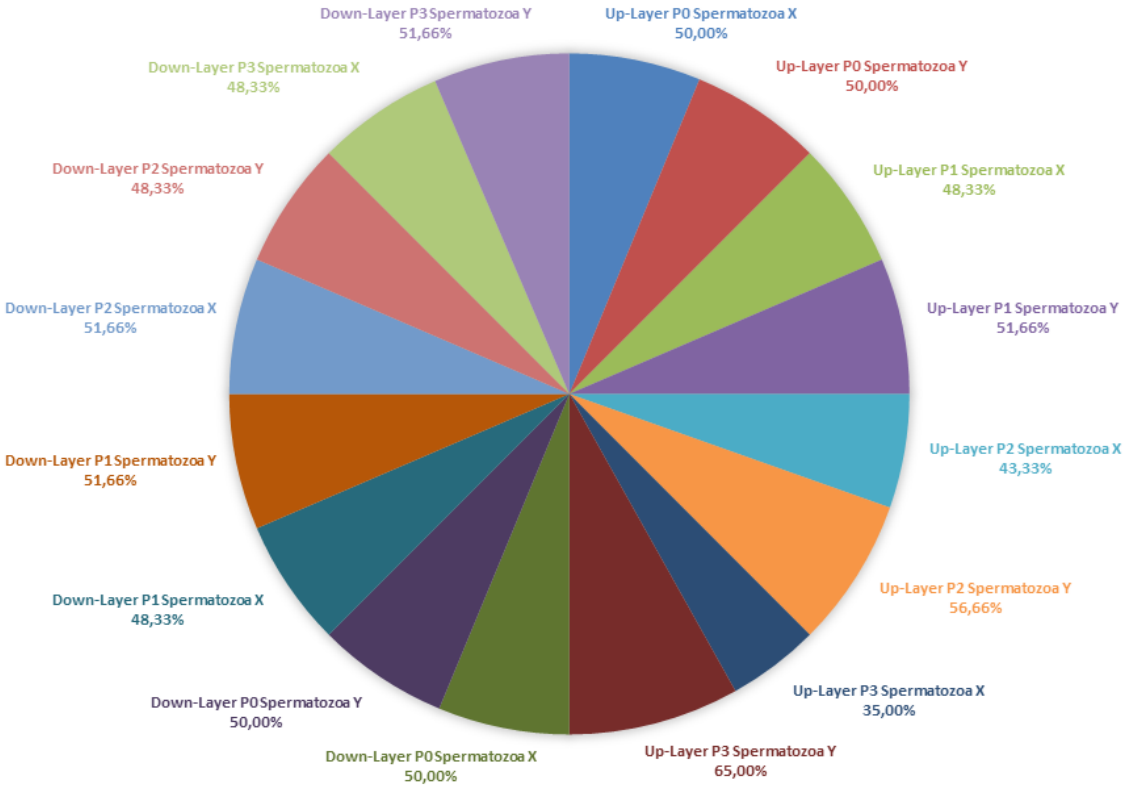
Kelompok Perlakuan	Panjang Kepala (µm) (Mean ± SD)	Lebar Kepala (µm) (Mean ± SD)
Kontrol	8,46 ± 0,00	4,36 ± 0,00
P1 (*up Layer*)	8,52 ± 0,10	4,27 ± 0,14
P1 (*Down Layer*)	8,58 ± 0,25	4,42 ± 0,06
P2 (*up Layer*)	8,31 ± 0,11	4,13 ± 0,13
P2 (*Down Layer*)	8,74 ± 0,17	4,63 ± 0,19
P3 (*Up Layer*)	8,67 ± 0,15	4,21 ± 0,11
P3 (*Down Layer*)	8,47 ± 0,02	4,45 ± 0,13

Morfologi spermatozoa semen sapi Bali pada Tabel 2 menunjukkan struktur normal yang lengkap, terdiri atas kepala, leher, dan ekor. Kepala spermatozoa mengandung akrosom yang berperan dalam proses penetrasi oosit serta nukleus yang nilai tertinggi terdapat pada kelompok P2 *down layer* (8,74 µm; 4,63 µm). Ukuran ini masih berada dalam rentang normal menurut Susilawati (2011) serta lebih kecil dibandingkan hasil sedimentasi putih telur yang dilaporkan Rahmat (2020). Variasi ukuran juga terlihat antar ras sapi, seperti Pasundan dan Simental (Achmad et al., 2024; Jalius et al., 2023), yang dipengaruhi faktor genetik dan usia pejantan (Babu Surisetti *et al*., 2024). Perbedaan morfometrik antara *up layer* dan *down layer* menunjukkan bahwa spermatozoa dengan ukuran kepala lebih besar cenderung berada pada lapisan bawah dan diduga merepresentasikan spermatozoa X, sedangkan ukuran lebih kecil pada lapisan atas mengarah pada spermatozoa Y, sejalan dengan perbedaan bobot kromosom X dan Y pada sapi (Saini et al., 2020; Elisia, 2022). Hal ini mendukung bahwa pengukuran morfometri kepala dapat digunakan sebagai indikator keberhasilan proses sexing spermatozoa.

3. Proporsi sperma X dan Y

a. Nilai rata-rata proporsi spermatozoa berdasarkan panjang kepala

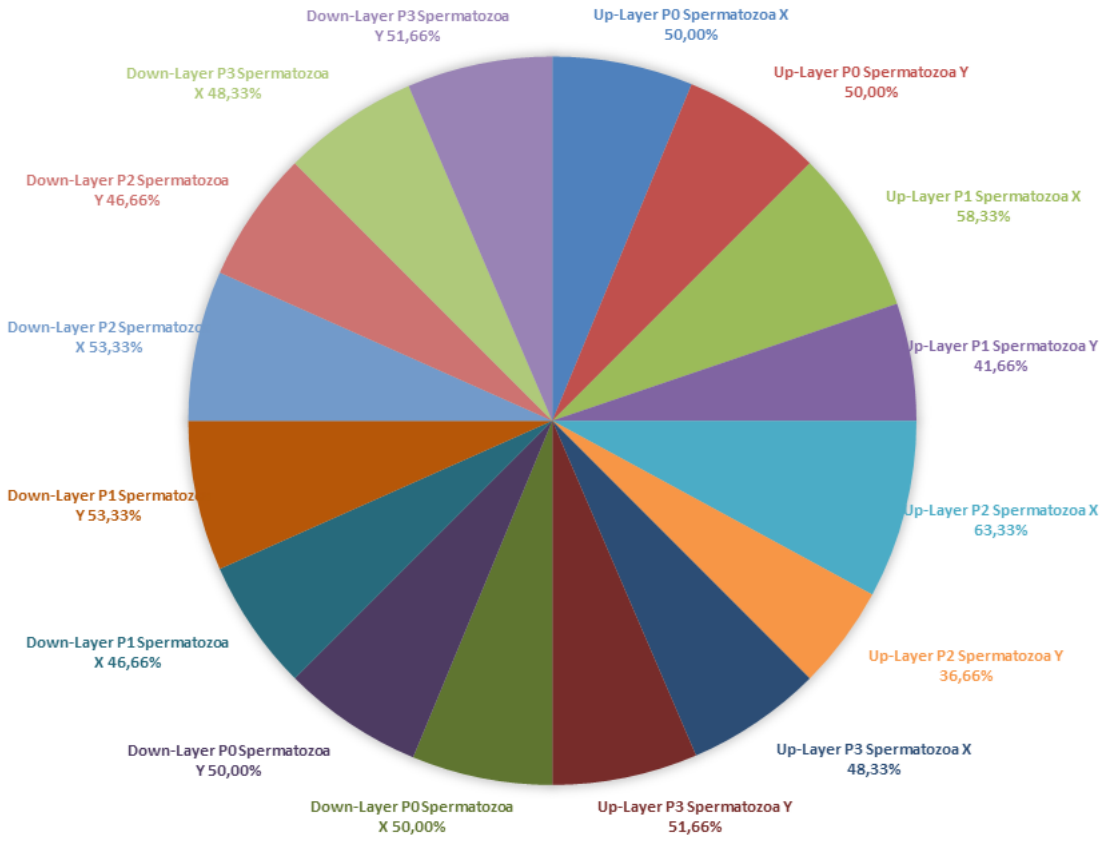
Analisis proporsi spermatozoa dilakukan untuk menilai presentase spermatozoa X dan Y hasil *sexing* menggunakan metode *Swim-up*. Proporsi spermatozoa dinilai berdasarkan morfologi panjang dan lebar kepala sperma menggunakan metode pengamatan mikroskopis. Data rata-rata proporsi spermatozoa hasil *sexing* yang diperoleh menggunakan metode *swim-up* dengan lama waktu serta penambahan albumin berdasarkan panjang kepala dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Rata-rata proporsi spermatozoa hasil *sexing* berdasarkan panjang kepala setiap perlakuan meliputi P0 (kontrol/tanpa swim-up), P1 *up layer*/bagian atas (inkubasi 5 menit + albumin 1%), P2 *up layer*/bagian atas (inkubasi 10 menit + albumin 2%), P3 *up layer*/bagian atas (inkubasi 15 menit + albumin 3%), P1 *down layer*/bagian bawah (inkubasi 5 menit + albumin 1%, P2 *down layer*/bagian bawah (inkubasi 10 menit + albumin 2%, dan P3 *down layer*/bagian bawah (inkubasi 15 menit + Albumin 3%), akibat variasi durasi waktu *swim-up* dan konsentrasi albumin yang digunakan

4. Nilai rata-rata proporsi hasil sexing berdasarkan lebar kepala spermatozoa

Data rata-rata proporsi spermatozoa hasil *sexing* yang diperoleh menggunakan metode *swim-up* dengan lama waktu serta penambahan albumin berdasarkan lebar kepala dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Rata-rata proporsi spermatozoa hasil *sexing* berdasarkan lebar kepala setiap perlakuan meliputi P0 (kontrol/tanpa swim-up), P1 up layer/bagian atas (inkubasi 5 menit + albumin 1%), P2 up layer/bagian atas (inkubasi 10 menit + albumin 2%), P3 up layer/bagian atas (inkubasi 15 menit + albumin 3%), P1 down layer/bagian bawah (inkubasi 5 menit + albumin 1%, P2 down layer/bagian bawah (inkubasi 10 menit + albumin 2%, dan P3 down layer/bagian bawah (inkubasi 15 menit + Albumin 3%), akibat variasi durasi waktu *swim-up* dan konsentrasi albumin yang digunakan

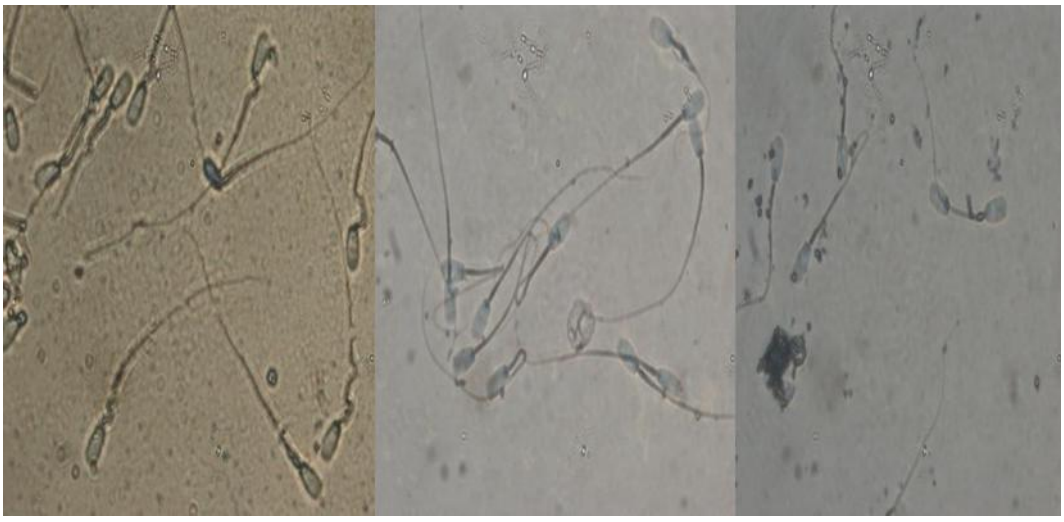
Proporsi spermatozoa X dan Y pada semen sapi dapat dimodifikasi melalui teknologi *sexing*, yang merupakan satu-satunya metode yang mampu membedakan sperma pembawa kromosom X dan Y (Ngcobo et al., 2024). Pada Gambar 6. kelompok kontrol (P0) menunjukkan distribusi seimbang 50%:50% pada *up layer* dan *down layer*, sesuai proporsi alamiah sebelum perlakuan (Achmad et al., 2024). Setelah perlakuan *swim-up* dengan variasi konsentrasi albumin, terjadi peningkatan proporsi spermatozoa Y pada *up layer*, terutama pada P3 dengan rasio 35%:65%, menunjukkan bahwa spermatozoa Y lebih dominan di lapisan atas. Hal ini disebabkan ukuran kepala spermatozoa Y yang lebih kecil dan motilitas yang lebih tinggi, sehingga lebih cepat bermigrasi ke fraksi atas. Sebaliknya, spermatozoa X yang memiliki ukuran kepala lebih besar dan massa lebih berat cenderung berada di lapisan bawah, sebagaimana didukung oleh Rahmat (2020) dan Saini et al. (2020). Temuan ini sejalan dengan penelitian Budi et al. (2021) dan Lu *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa metode *swim-up* mengisolasi spermatozoa paling motil pada fraksi atas.

Berdasarkan lebar kepala spermatozoa Gambar 7 yaitu pada kontrol tetap menunjukkan proporsi 50%:50%, sedangkan perlakuan terbaik terdapat pada P3 dengan rasio 48,33%:51,66% pada up layer, menunjukkan peningkatan spermatozoa Y akibat

konsentrasi albumin yang lebih tinggi sehingga hanya sperma bermotilitas progresif kuat yang mampu menembus medium (Solihati et al., 2023). Pada *down layer*, proporsi tertinggi spermatozoa X ditemukan pada P2 (53,33%:46,66%), meskipun tidak berbeda jauh dengan kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa proses sexing menggunakan albumin mampu mengubah proporsi X dan Y, sejalan dengan Rahmat (2020), Prajaningrum (2023), dan Afriani et al. (2022) yang melaporkan peningkatan proporsi kromosom tertentu setelah perlakuan. Perbedaan morfometrik kepala menjadi dasar identifikasi, di mana spermatozoa dengan ukuran kepala lebih besar diasumsikan membawa kromosom X karena kandungan kromatin yang lebih banyak, sedangkan ukuran lebih kecil mengindikasikan kromosom Y (Jalius et al., 2023). Temuan ini memperkuat bahwa metode *swim-up* efektif dalam memodifikasi proporsi spermatozoa berdasarkan karakteristik morfometri dan motilitasnya.

5. Skrining kromosom Sapi Bali setelah *sexing*

Skrining kromosom spermatozoa dilakukan untuk mengevaluasi tingkat integritas dan fragmentasi DNA pasca proses pemisahan sperma (*sexing*). Salah satu metode yang umum digunakan dalam penilaian kualitas DNA adalah pewarnaan *Toluidine Blue*, yang memungkinkan visualisasi ikatan kromatin dalam inti sperma (Priyanto et al., 2015). Spermatozoa dengan DNA berkualitas baik akan menunjukkan warna biru muda karena ikatan kromatinnya padat dan stabil, sedangkan spermatozoa dengan DNA terfragmentasi akan menyerap lebih banyak pewarna dan tampak berwarna biru tua hingga ungu. Gambar berikut ini menunjukkan hasil pewarnaan *Toluidine Blue* pada spermatozoa sapi Bali setelah dilakukan *sexing*, yaitu pada kontrol dan kelompok perlakuan pada lapisan atas (*up layer*) dan bawah (*down layer*).



Gambar 8. Hasil pewarnaan *toluidine blue* terhadap spermatozoa sapi bali pada kelompok kontrol (A), *up layer* (B), dan *down layer* (C). Pewarnaan menunjukkan intensitas warna biru yang lebih pekat pada kepala spermatozoa di kelompok kontrol (A), mengindikasikan adanya fragmentasi DNA. Sementara itu, pada *up layer* (B) dan *down layer* (C), kepala spermatozoa tampak biru cerah, menandakan DNA yang lebih utuh dan tidak terfragmentasi. Panah menunjukkan contoh spermatozoa yang diamati pada masing-masing kelompok

Skrining kromosom menggunakan pewarnaan *Toluidine Blue* (TB) pada Gambar 8. menunjukkan bahwa kelompok kontrol (A) didominasi warna biru tua yang mengindikasikan adanya kerusakan atau fragmentasi DNA sebelum proses *sexing*.

Sebaliknya, kelompok *up layer* (B) dan *down layer* (C) menunjukkan dominasi warna biru muda yang menandakan DNA atau kromosom masih utuh. Hal ini sejalan dengan (Alfred et al., 2022) yang menyatakan bahwa pada pewarnaan TB, DNA normal ditunjukkan dengan warna biru pucat, sedangkan sperma abnormal berwarna biru tua atau ungu berdasarkan sifat metakromatik kepala sperma. Kerusakan DNA pada kelompok kontrol diduga berkaitan dengan proses kriopreservasi, di mana pembekuan dan pencairan dapat meningkatkan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan peroksidasi lipid, kerusakan protein, dan fragmentasi DNA spermatozoa (Catal et al., 2024).

Penambahan albumin putih telur dalam medium *swim-up* diduga membantu mempertahankan kualitas DNA, ditunjukkan oleh dominasi warna biru muda pada kepala spermatozoa. Menurut Ambarsari & Ducha (2021), albumin mengandung fosfolipid serta 18 jenis asam amino yang berperan melindungi membran sel spermatozoa. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa semen beku masih mampu mempertahankan integritas DNA, sejalan dengan Priyatno et al. (2015), yang melaporkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara semen segar dan beku dalam integritas DNA. Integritas DNA merupakan parameter penting dalam menilai kualitas sperma karena DNA pada kepala spermatozoa membawa informasi genetik untuk proses fertilisasi (Fitriana et al., 2025). Selain itu, tingkat kerusakan kromatin pada sperma hasil *sexing* relatif rendah dan tidak memengaruhi kesuburan selama masih dalam batas aman, sehingga metode *swim-up* dinilai efektif dalam mempertahankan integritas DNA spermatozoa.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *sexing* sperma dengan metode *swim-up* menggunakan kombinasi albumin dan durasi inkubasi berpengaruh signifikan terhadap kualitas spermatozoa ($p<0,05$). Perlakuan P3 (15 menit; albumin 3%) menghasilkan motilitas tertinggi (14,00±6,02), viabilitas tertinggi (26,67±7,57), dan abnormalitas terendah (5,67±5,50), sehingga dianggap paling optimal. Morfometrik sperma sapi Bali tetap normal (panjang kepala 8,31–8,74 µm; lebar 4,13–4,63 µm), dengan proporsi X:Y pada up-layer P3 sebesar 35:65 (panjang) dan 48,33:51,66 (lebar). Analisis kromosom menunjukkan mayoritas spermatozoa utuh, menegaskan metode *swim-u*p efektif memisahkan kromosom kelamin tanpa menurunkan kualitas DNA

UCAPAAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Inseminasi Buatan (BIB) Maros atas penyediaan sampel semen beku yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Alfred, Y., Simon, A., Bruno, A., Patrice, D., Boula, S. S., Jean-Paul, D., Gangbo, F., & Anatole, L. (2022). Assessment of spermatic chromatin decondensation by the toluidine blue assay in infertile patients in Cotonou. *Advances in Reproductive Sciences*, 37–48. https://doi.org/10.4236/arsci.2022.102005.

Ambarsari, E. V., & Ducha, N. (2021). Pengaruh albumin telur dari berbagai jenis unggas sebagai pengganti BSA dalam pengencer CEP terhadap kualitas spermatozoa kambing Peranakan Etawa (PE) pada suhu penyimpanan 4–5°C. *Lentera*, 10(2), 207–212. https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n2.p207-212.

Catal, J., Torres-Garrido, M., & Ribas-Maynou, J. (2024). Impact of seminal plasma antioxidants on DNA fragmentation and lipid peroxidation of frozen–thawed horse sperm. *Antioxidants*, 13(3), 303-322. https://doi.org/10.3390/antiox13030322.

Danasari, I. F., Falatehan, A. F., & Harianto. (2020). Dampak kebijakan impor ternak dan daging sapi terhadap populasi sapi potong lokal di Indonesia. *Jurnal Ekonomi Pertanian dan Agribisnis (JEPA)*, 4(2), 310–332. https://doi.org/10.21776.ub.jepa.2020.004.02.9.

Ekowati, I. A., Setiawan, A., Abrar, A., Gunawan, M., & Putranti, O. D. (2023). Perbedaan kualitas spermatozoa sexing sapi Simental metode bovine serum albumin (BSA). *Cannarium*, 21(1), 1–7. https://doi.org/10.33387/cannarium.v21i1.5788.

Elisia, R., & Maiyontoni. (2022). Pengaruh media swim-up terhadap karakteristik spermatozoa epididimis kerbau. Jurnal Peternakan Mahaputra, 2(2), 146–152.

Fachroerrozi, H. (2015). Pengaruh keberhasilan inseminasi buatan (IB) antara sapi Bali dara dengan sapi Bali yang pernah beranak di Kecamatan Pemayung Kabupaten Batanghari. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 15(4), 20–27. https://doi.org/10.33087/jiubj.v15i4.119.

Fania, B., Trilaksana, I. G. N. B., & Puja, I. K. (2020). Keberhasilan inseminasi buatan (IB) pada sapi Bali di Kecamatan Mengwi, Badung, Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(3), 177–186. https://doi.org/10.19087/imv.2020.9.2.177.

Fatahillah, T. S., & N. I. (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. *Jurnal Ternak Tropika*, 17, 86–97. https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2016.017.01.10.

Fitriana, S. B., Fico, D., Diatmono, F., Prihantoko, K. D., & Bintara, S. (2025). Effect of different thawing methods on frozen semen characteristics and DNA damage of Indonesian Simmental bull. Pakistan *Journal of Agricultural Research*, 38(1), 8–18. https://doi.org/10.17582/journal.pjar/2025/38.1.8.18.

Heidari, M., Lakpour, N., Darbandi, M., Darbani, S., Shani, S., Goharbakhsh, L., Cheshmi, G., Akhondi, M. M., & Sadeghi, M. R. (2018). Upstream or swim-up processing technique: Which one is more effective to select human sperm with high chromatin integrity. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 16(7), 463–468. https://doi.org/10.29252/ijrm.16.7.463.

Iqra, K. N., Amelia, R. A. C., Tarigan, S. N. Z. B. R., Akbar, I. Q., Ahda, Y., & Atifah, Y. (2024). Pengaruh pemberian ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. rubrum) dalam meningkatkan motilitas dan morfologi spermatozoa mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 10(12), 3417–3425. https://doi.org/10.33024/jikk.v10i12.11344.

Kaiin, E. M. (2017). Verifikasi molekuler metode sexing sperma sapi dengan kolom BSA (bovine serum albumin). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 3, 241–245. https://doi.org/10.13057/psnmbi/m030214.

Mahendra, S., & Jatnika, A. R. (2024). Kualitas semen segar sapi Bali sebelum dibekukan di UPTD Balai Inseminasi Buatan Daerah Provinsi Nusa Tenggara Barat. *Jurnal Ternak Tropis*, 1(1), 23–30.

Mahfud, A., Isnaini, N., Yekti, A. P. A., Kuswati, K., & Susilawati, T. (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. https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2019.020.01.1

Masrizal, M., Afriani, T., Wahyudi, D., Saharani, S., & Ananda, A. (2024). The quality of frozen buffalo sperm following sexing using bovine serum albumin (BSA) column and swim-up (SU) methods. *Buletin Peternakan*, 48(1), 55. https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v48i1.89394.

Oktaviani, R., Syaukat, Y., Said, A., & Kusriatmi. (2014). Peranan teknologi inseminasi buatan (IB) pada produksi sapi potong di Indonesia. *Jurnal Agro Ekonomi*, 32(1), 57–74. https://doi.org/10.21082/jae.v32n1.2014.57-74.

Priyatno, L., Arifiantini, I. R., & Yusuf, L. T. (2015). Deteksi kerusakan DNA spermatozoa semen segar dan semen beku sapi menggunakan pewarnaan toluidine blue. *Jurnal Veteriner*, 16(1), 48–55.

Quelhas, J., Santiago, J., Matos, B., Rocha, A., Lopes, G., & Fardilha, M. (2021). Bovine semen sexing: Sperm membrane proteomics as candidates for immunological selection of X- and Y-chromosome-bearing sperm. *Veterinary Medicine and Science*, 7(5), 1633–1641. https://doi.org/10.1002/vms3.540.