

**FRAGMENTASI DNA, STATUS AKROSOM, DAN MEMBRAN
PLASMA UTUH SEMEN BEKU SAPI BALI BERDASARKAN
PEJANTAN YANG BERBEDA DI UNIT PELAKSANA TEKNIS
PELAYANAN INSEMINASI BUATAN DAN PRODUKSI
SEMEN PUCAK MAROS**

SKRIPSI

**AINUL AMALIA
1011 17 1369**



Optimization Software:
www.balesio.com

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**FRAGMENTASI DNA, STATUS AKROSOM, DAN MEMBRAN
PLASMA UTUH SEMEN BEKU SAPI BALI BERDASARKAN
PEJANTAN YANG BERBEDA DI UNIT PELAKSANA TEKNIS
PELAYANAN INSEMINASI BUATAN DAN PRODUKSI
SEMEN PUCAK MAROS**

SKRIPSI

**AINUL AMALIA
I011 17 1369**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ainul Amalia

NIM : 111171369

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: **Fragmentasi DNA, Status Akrosom dan Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi Bali Berdasarkan Pejantan yang Berbeda di Unit Pelaksana Teknis Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen Pucak Maros** adalah asli.

Apabila sebagian atau seluruhnya dari karya skripsi ini tidak asli atau plagiasi maka saya bersedia dikenakan sanksi akademik sesuai peraturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 1 Juni 2024

Peneliti



Ainul Amalia



Optimization Software:
www.balesio.com

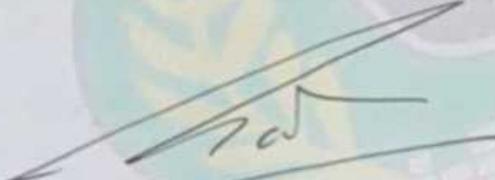
HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Fragmentasi DNA, Status Akrosom, dan Membran Plasma Utuh Semen Beku Sapi Bali Berdasarkan Pejantan yang Berbeda di Unit Pelaksana Teknisi Pelayanan Inseminasi Buatan Pucak Maros

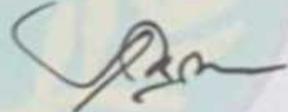
Nama : Ainul Amalia

NIM : 1011 17 1369

Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui oleh :

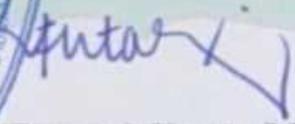

Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si

Pembimbing Utama


Prof. Dr. Ir. Sudirman Baco, M.Sc

Pembimbing Pendamping




Dr. Agri Renny Fatmiah Utamy, S.Pt., M.Agr., IPM.

Ketua Program Studi



Optimization Software:
www.balesio.com

Tanggal Lulus : 1 Juli 2024

RINGKASAN

AINUL AMALIA. I011171369. Fragmentasi DNA Membran Plasma Utuh dan Status Akrosom Semen Beku Sapi Bali Berdasarkan Pejantan yang Berbeda di Unit Pelaksana Teknis Pelayanan Inseminasi Buatan Pucak Maros. Pembimbing Utama: **Hasbi** dan Pembimbing Anggota: **Sudirman Baco**.

Perbedaan bangsa sapi sangat berpengaruh terhadap kualitas semen yang dihasilkan. Peningkatan produktivitas sapi bali dapat di lakukan melalui program inseminasi buatan dan salah satu yang menjadi penentu dalam keberhasilan program yaitu kualitas semen yang di gunakan. Namun, di dalam proses tersebut Dominan menggunakan Semen beku. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas semen beku sapi bali fragmentasi DNA, status akrosom, dan membrane plasma utuh pejantan sapi bali yang di pelihara di unit pelaksana teknis pelayanan inseminasi buatan dan produksi semen Pucak Maros. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret-April 2023 di Laboratorium Produksi Embrio In Vitro, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Kampus Universitas Hasanuddin, Tamalanrea, Jalan Perintis Kemerdekaan 10 Tamalanrea, Makassar 90245. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku pejantan sapi Bali sebanyak sepuluh ekor berumur 7-11 tahun. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah semen beku dalam kemesan straw 0,25 ml , air hangat, *aquadest*, tissue, *aluminium foil*, spiritus, larutan *acridine orange* (AO), HCl, etanol 96%, larutan *Hypoosmotic Swelling Test* (HOSTest), larutan *formasaline*, NaCl fisiologis 0,9%, pewarna *Sperm Stein Ready to USE MICROPTIC S.L*, *Andromed*[®] dan larutan *carney*. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Fragmentasi DNA, pada spermatozoa sapi Bali , di UPT-PIBPS Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Sulawesi Selatan tidak berbd. Sedangkan TAU dan MPU lebih rendah pada pejantang Hercules dibanding pejantan lainnya.

Kata kunci: Semen Beku, Fragmentasi DNA, Membran Plasma Utuh, Status Akrosom.



SUMMARY

AINUL AMALIA. I011171369. Intact Plasma Membrane DNA Fragmentation and Acrosome Status of Frozen Semen in Bali Cows Based on Different Bulls at the Pucak Maros Artificial Insemination Service Technical Implementation Unit. Main Advisor: **Hasbi** and Member Advisor: **Sudirman Baco**.

Differences in cattle breeds greatly influence the quality of the semen produced. Increasing the productivity of Bali cattle can be done through an artificial insemination program and one of the determinants of the success of the program is the quality of the semen used. However, in this process Dominant uses frozen cement. The aim of this research was to determine the quality of frozen Bali cattle semen, DNA fragmentation, acrosome status and intact plasma membrane of Bali cattle bulls kept in the technical implementation unit for artificial insemination services and Pucak Maros semen production. This research was carried out in March-April 2023 at the In Vitro Embryo Production Laboratory, Institute for Research and Community Service, Hasanuddin University Campus, Tamalanrea, Jalan Perintis Independen 10 Tamalanrea, Makassar 90245. The material used in this research was the frozen semen of Balinese bulls. ten individuals aged 7-11 years. The materials used in this research were frozen cement in 0.25 ml straw packaging, warm water, distilled water, tissue, aluminum foil, spirit, acridine orange (AO) solution, HCl, 96% ethanol, Hypoosmotic Swelling Test (HOSTest) solution.), formasaline solution, 0.9% physiological NaCl, Sperm Stein Ready to USE MICROPTIC S.L dye, Andromed® and carnoy solution. Based on the research results, it can be concluded that DNA fragmentation in Bali cattle spermatozoa at the UPT-PIBPS of the Animal Husbandry and Health Service of South Sulawesi Province is no different. Meanwhile, TAU and MPU were lower in Hercules males compared to other males.

Keywords: Frozen Semen, DNA Fragmentation, Intact Plasma Membrane, Acrosome Status.



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga Penulis dapat menyelesaikan makalah penelitian ini. Terima kasih terucap bagi segenap pihak yang telah meluangkan waktu, pemikiran dan tenaganya sehingga penyusunan makalah penelitian ini selesai. Oleh sebab itu, Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si** selaku pembimbing utama dan Bapak **Prof. Dr. Ir. Sudirman Baco, M.Sc** selaku pembimbing anggota, yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk membimbing dan mengarahkan Penulis dalam menyusun makalah ini.
2. Bapak **Ir. Sahiruddin. S.Pt., IPM., ASEAN Eng.** dan Ibu **Masturi M., S. Pt., M. Si** selaku dosen pembahas, yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk memberikan masukan dalam makalah ini.
3. **Makmur S.Pd** dan **Hj. Hasri L., S.Pd.SD** sebagai orang tua Penulis, yang selalu mendukung anaknya dan selalu mendokan penulis untuk mencapai masa depan yang indah.
4. **Kirana Dara Dinanti Adiputra. S.Pt., M.Si** selaku sahabat dan panutan penulis dalam menulis skripsi dan selalu membantu mendukung penulis dimanapun dan kapan.
5. Teman Seperjuangan **GRIIFIN17, IPMI SIDRAP BKPT UNHAS, PTL 17 SAHABAT ASTEL** yang selalu membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
6. **Andi Haris Hengky S.M** yang senangtiasa selalu memberikan dukungan kepada penulis dan meluangkan banyak waktunya kepada penulis.

Semoga makalah ini bermanfaat bagi pembaca.

Makassar, 1 juli 2024

Ainul Amalia



DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Gambaran Umum Sapi Bali.....	3
2.2 Frangmensi DNA Spermatozoa	5
2.3 Status Akrosom Spermatozoa.....	6
2.4 Membran Plasma Utuh Spermatozoa	7
BAB III METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat.....	10
3.2 Materi Penelitian.....	10
3.3 Prosedur Penelitian	11
3.4 Analisis Data.....	11
3.5 Parameter yang diamati di semen beku sapi Bali	11
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Fragmentasi <i>deoxyribo nucleic acid</i> (DNA) Spermatozoa.....	14
4.2 Tudung Akrosom Utuh Spermatozoa	15
4.3 Membran Plasma Utuh Spermatozoa	17
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	20
5.1 Kesimpulan.....	20
5.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN.....	25



DAFTAR TABEL

No.	Halaman
Tabel 1 Fragmentasi DNA, Tudung Akrosom Utuh, dan Membran Plasma Utuh Semen beku Sapi Bali di UPT-PIB PS Pucak Kab. Maros	16



DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
Gambar 1. Pengamatan Fragmentasi DNA Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali	5
Gambar 2. pengamatan Status Akrosom	6
Gambar 3. Pengamatan Membran Plasma Utuh	8
Gambar 4. Hasil Pengamatan Fragmentasi DNA	14
Gambar 5. Hasil Pengamatan Tudung Akrosom Utuh	15
Gambar 6. Hasil Pengamatan Membran Plasma Utuh.....	16







Optimization Software:
www.balesio.com

BAB I PENDAHULUAN

Provinsi Sulawesi Selatan sebagai daerah sentra produksi ternak memiliki potensi yang cukup besar sebagai lumbung ternak nasional. Hal tersebut terlihat pada peningkatan populasi ternak sapi potong yang ada di Provinsi Sulawesi Selatan, pada tahun 2019 mencapai 1.369.890 ekor dan meningkat menjadi 1.431.533 ekor pada tahun 2020 (Badan Pusat Statistik Indonesia, 2021). Sapi yang paling banyak dipelihara yaitu sapi Bali. Berbagai upaya telah dilakukan program pemerintah untuk meningkatkan produktivitas sapi Bali. Peningkatan produktivitas sapi Bali dapat dilakukan melalui program inseminasi buatan (IB). Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan.

Program inseminasi buatan (IB) adalah kualitas semen yang digunakan untuk mempermudah peternak untuk meningkatkan produktivitas ternak. Inseminasi buatan dapat dilakukan menggunakan semen segar maupun semen yang telah dibekukan. Namun sejauh ini, dalam praktiknya lebih dominan menggunakan semen yang telah dibekukan mengingat keefisienannya dalam hal distribusi dan memiliki masa simpan yang lebih lama. Sebelum semen beku digunakan untuk inseminasi buatan, terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kualitas semen beku. Hal ini dikarenakan pada beberapa kasus yang terjadi, proses pengolahan semen, pengenceran, ekuilibrisasi dan pembekuan dapat mempengaruhi kualitas semen beku yang akan diaplikasikan pada ternak (Savitri dkk., 2014).

Berdasarkan SNI semen beku sapi Bali yang menjadi parameter adalah

motil progresif, dan konsentrasi/Straw. Parameter fragmentasi DNA, osom, dan membran plasma utuh, sampai saat ini belum di jadikan



parameter, oleh karena itu parameter tersebut perlu dikaji lebih mendalam khususnya pada pejantan-pejantan sapi Bali yang ada di Unit Pelaksana Teknis Pelayanan Inseminasi Buatan Dan Produksi Pucak Sulawesi Selatan. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi kualitas semen beku sapi Bali dalam meningkatkan keberhasilan kebuntingan atau meningkatkan efisiensi reproduksi dan penyebaran bibit unggul yang ada di Unit Pelaksana Teknis Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen Pucak Maros.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran Umum Sapi Bali

Di Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia, jenis sapi yang paling banyak dipelihara oleh peternak adalah sapi Bali. Sapi Bali ini adalah ternak sapi yang telah lama tersebar secara tradisional di seluruh wilayah sebagai salah satu kegiatan peternak untuk meningkatkan pendapatannya penghasilan (Haryani *et al.*, 2016).

Sapi Bali memiliki keunggulan dibandingkan dengan sapi lainnya antara lain mempunyai angka pertumbuhan yang cepat, adaptasi dengan lingkungan yang baik, dan penampilan reproduksi yang baik. Sapi Bali merupakan sapi yang paling banyak dipelihara pada peternakan kecil karena fertilitasnya baik dan angka kematian yang rendah (Purwantara , 2014). Populasi yang tinggi dan menyebar diseluruh daerah di Indonesia juga menjadi bukti bahwa sapi Bali mampu beradaptasi dengan baik dan cocok untuk dipelihara dan dikembangkan oleh peternak sebagai sumber pangan nasional (Hikmawati dkk., 2014).

Untuk meningkatkan produktivitas sapi potong di Sulawesi Selatan perlunya tatalaksana yang baik serta pakan. Pakan menjadi salah satu faktor penentu keberhasilan produktivitas ternak. Penyediaan pakan yang sesuai untuk ternak akan mempercepat proses pembesaran dan pemeliharaan ternak. Pakan dapat diperoleh dari hasil pertanian, perikanan, peternakan dan hasil industri yang mengandung nutrisi sesuai dengan kebutuhan ternak. Di samping itu peternak juga membutuhkan pakan sapi yang praktis, berkualitas dan kontinyu. Menurut Utari et

) ketersediaan pakan yang baik sangat mempengaruhi kulaitas produksi sapi Bali.



Semen beku merupakan semen yang berasal dari pejantan unggul yang sehat, bebas dari penyakit hewan menular yang diencerkan sesuai prosedur proses produksi semen beku dan disimpan di dalam rendaman nitrogen cair pada suhu -196⁰C dalam kontainer kriogenik. Kriteria semen yang dijadikan semen beku harus berasal dari pejantan unggul yang memiliki konsentrasi sperma lebih dari 1.000 x 10⁶/ml (Departemen Jenderal Peternakan, 2007). Proses pembekuan merupakan suatu teknik penyimpanan sel hewan, tumbuhan ataupun materi genetik (termasuk semen dan oosit) dalam keadaan beku. Pada teknik ini terjadi penurunan aktivitas metabolisme tanpa mempengaruhi organel-organel di dalam sel, sehingga fungsi fisiologi, biologi, dan morfologi tetap terjaga (Rahmawati, 2017).

Inseminasi buatan adalah suatu proses mengawinkan ternak dengan cara buatan yang melibatkan prosedur kompleks dan petugas pelaksana yang terlatih. Salah satu faktor yang dapat menentukan keberhasilan program IB yaitu mutu semen beku sapi. Oleh sebab itu, mutu semen beku harus selalu terjaga agar fertilitasnya tetap baik. Semen beku yang berkualitas baik mempunyai persentase motilitas dan spermatozoa hidup yang tinggi. Namun, terdapat banyak faktor yang dapat menurunkan kualitas semen mulai dari proses pengolahan, penyimpanan dalam kontainer, dan distribusi semen beku itu sendiri (Pratiwi *et al.*, 2014).

Pembekuan semen yang mengakibatkan terdegradasinya beberapa molekul protein spermatozoa berkorelasi terhadap penurunan kualitas spermatozoa, seperti penurunan motilitas sebesar 40% (Tanaka dkk., 2002), peningkatan abnormalitas, penurunan viabilitas sebesar 20-30% (Dhanju dkk., 2001) dan penurunan kemampuan kapasitas saat fertilisasi (Nandre dkk., 2013).



2.2 Fragmentasi DNA Spermatozoa

Fragmentasi atau kerusakan kromatin *deoxyribose nucleic acid* (DNA) spermatozoa merupakan faktor penting penyebab terjadinya infertilitas. Pada area kepala spermatozoa terdapat inti yang mengandung DNA yang merupakan komponen penting dalam proses fertilisasi (Adiputra *et al.*, 2022). Semua informasi genetik yang akan diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya terdapat pada untaian DNA di dalam inti spermatozoa (Saili *et al.*, 2006).



Gambar 1. Pengamatan Fragmentasi DNA Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali

Fragmentasi DNA spermatozoa merepresentasikan keutuhan kromatin spermatozoa yang bertindak menjaga stabilitas *packaging* DNA paternal mulai dari proses spermatogenesis hingga fertilisasi. Fertilisasi akan berjalan optimal jika kromatin sudah matang. Kromatin spermatozoa yang belum matang menyebabkan penurunan fungsi dalam mengemas DNA sehingga berdampak pada fragmentasi DNA (Indriastuti, 2020).

Penyebab kerusakan kromatin DNA menurut Rodriguez-Martinez (2007) dapat terjadi karena perubahan polimer DNA dan secara terus menerus terpapar pada lingkungan fisik dan kimia yang bervariasi yang berpotensi mengubah struktur alamiah DNA tersebut. Perubahan ini akan memengaruhi proses replikasi (Oliva,

dan transkripsi DNA yang mengarah pada kerusakan DNA (Evenson dkk.,

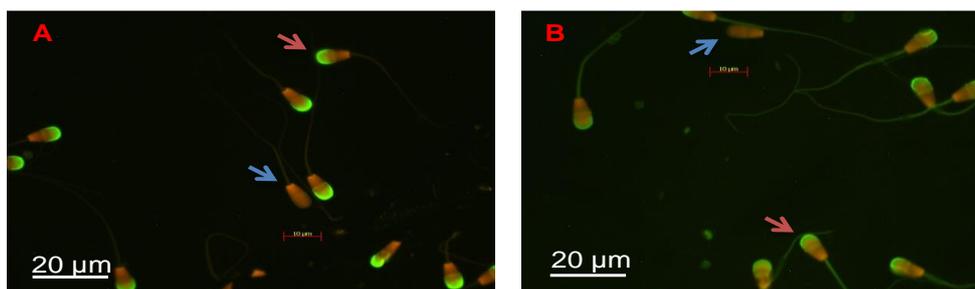
akan juga sangat berpengaruh terhadap kerusakan dan kualitas DNA



tepatnya pada proses spermatogenesis terutama fase spermiogenesis. Kerusakan DNA telah dilaporkan sebelumnya oleh Adiputra dkk (2023) melaporkan hasil 5,82% terjadi fragmentasi DNA pada sapi Bali berbeda dengan hasil penelitian Priyanto *et al.* (2015) hanya 1,84% pada sapi Bali namun keduanya masih dikatakan normal dan layak untuk digunakan.

2.3 Status Akrosom Spermatozoa

Tudung Akrosom Utuh (TAU) merupakan lapisan yang menutupi inti sel (nukleus) dan didalamnya terdapat beberapa enzim yang berperan membantu inti memasuki sitoplasma sel telur pada saat terjadi fertilisasi yakni dengan merusak lapisan pembungkus sel telur melalui reaksi akrosom (Sugiarti dkk., 2004). Untuk mampu melakukan fertilisasi spermatozoa harus memiliki akrosom dalam kondisi utuh untuk dapat melakukan fungsi reaksi akrosom pada waktu yang tepat, melepaskan enzim serta memfasilitasi spermatozoa dalam menembus zona pelusida (Adiputra dkk., 2022).



Gambar 2. Status Akrosom Spermatozoa Seme

Kepala spermatozoa terbagi menjadi dua bagian yaitu akrosom anterior yang dibungkus oleh tudung akrosom dan *post* akrosomal posterior. Tudung akrosom mengandung akrosin, hyaluronidase dan enzim-enzim hidrolitik lainnya

memiliki peran dalam proses fertilisasi (Arifiantini dkk., 2006). Kerusakan akrosom spermatozoa dapat disebabkan karena perubahan mekanis seperti



proses penanganan dan pembekuan semen (Samsudewa dkk., 2007). Menurut Afiati dkk. (2004) bahwa kristal-kristal es akibat dehidrasi sel yang berlebihan dalam proses pembekuan semen merupakan penyebab utama kerusakan tudung akrosom secara mekanis.

Beberapa penelitian berkaitan dengan TAU telah dilaporkan sebelumnya oleh Fatah *et al.* (2018) pada sapi bali 41 % dan pada sapi Simmental 50% untuk pengamatan tudung akrosom utuh (TAU). Membran akrosom spermatozoa terdiri atas *Inner Acrosome Membrane (IAM)* dan *Outer Acrosome Membran (OAM)* yang berfungsi sebagai pelindung akrosom spermatozoa akan terwarnai. Protein spesifik penyusun membran spermatozoa akan terwarnai sehingga dapat dibedakan. Apabila bagian dari akrosom sel spermatozoa mengalami kerusakan atau tidak utuh sel spermatozoa tidak mampu dalam menyerap warna dengan baik dan hasil pewarnaan akan terlihat pudar. Ketidak beraturan dibagian kepala juga dapat dijadikan salah satu indikasi membran plasma telah mengalami kerusakan serta berpotensi terhadap kerusakan akrosom (Nofa *et al.*, 2017).

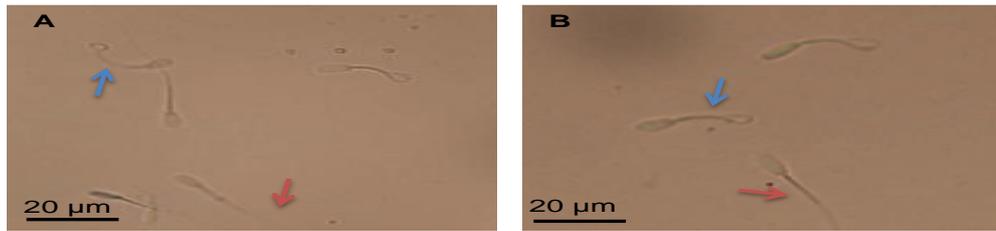
2.4. Membran Plasma Utuh Spermatozoa

Membran plasma spermatozoa berfungsi untuk melindungi organel spermatozoa dan transport elektrolit untuk metabolisme spermatozoa (Salmah, 2014). Membran plasma yang tidak utuh atau rusak dapat berpengaruh terhadap fungsi metabolisme spermatozoa sehingga menyebabkan spermatozoa itu mati (Butarbutar, 2009).

Membran Plasma Utuh (MPU) merupakan hal mutlak yang harus dimiliki spermatozoa yang baik karena memiliki peran sebagai pusat pengaturan seluruh biokimia yang terjadi di dalam sel. Karakteristik spermatozoa yang baik memiliki keutuhan selubung membran.



Keutuhan membran berfungsi untuk melindungi organel-organel sel yang ada di dalam membran dan berhubungan dengan tingkat metabolisme sel.



Gambar 3. Status Akrosom Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali

Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses transportasi zat nutrisi sebagai pembentuk energi gerak yang berhubungan dengan progresif aktif spermatozoa (Arvioges dkk., 2021).

Membran spermatozoa tersusun dari protein lipid dan karbohidrat yang tersusun secara nonkovalen dan sangat sensitif terhadap faktor-faktor ekstrinsik seperti suhu, kekuatan ionik dan polaritas pelarut (Park dan Graham, 1992).

Beberapa penelitian mengenai Evaluasi MPU pada spermatozoa telah di laporkan sebelumnya oleh Muzakkir *et al.* (2017) yang memiliki rataan MPU spermatozoa semen segar sapi Aceh adalah $88,30 \pm 1,61$ % dan pada penelitian Ratnawati *et al* (2008) yaitu memiliki rataan 92,67% pada sapi Bali. Membran plasma yang tidak utuh atau rusak dapat berpengaruh terhadap fungsi metabolisme spermatozoa sehingga menyebabkan spermatozoa itu mati (Butarbutar, 2009).

