

**PENGARUH LAMA SENTRIFUGASI DAN KUNING TELUR
BERBEDA PADA PENGECER TRIS AMINOMETHANE
TERHADAP MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) DAN
TUDUNG AKROSOM UTUH (TAU) SPERMATOZOA
KAMBING SAANEN**

SKRIPSI

**RESKI AMALIA
I011 20 1111**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**



**PENGARUH LAMA SENTRIFUGASI DAN KUNING TELUR
BERBEDA PADA PENGECER TRIS AMINOMETHANE
TERHADAP MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) DAN
TUDUNG AKROSOM UTUH (TAU) SPERMATOZOA
KAMBING SAANEN**

SKRIPSI

**RESKI AMALIA
I011 20 1111**

**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 : Reski Amalia

NIM : I011 20 1111

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: **Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda pada Pengencer Tris Aminomethane terhadap Membrane Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Kambing Saanen** 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, 13 Agustus 2024

Peneliti



Reski Amalia



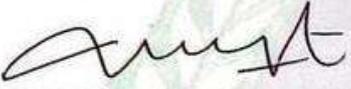
HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda pada Pengencer Tris Aminomethane terhadap Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Kambing Saanen

Nama : Reski Amalia

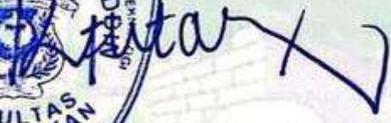
Nim : I011201111

Skripsi ini Telah Diperiksa dan Disetujui oleh:


Prof. Dr. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., IPU Pembimbing Utama


Dr. Muhammad Ihsan A. Dagong, S.Pt., M.Si. Pembimbing Pendamping




Dr. Agr. Ir. Renny Fatmyah Utamy, S.Pt., M.Agr., IPM
Ketua Program Studi



lulus: 6 Agustus 2024

RINGKASAN

Reski Amalia. I011201111. Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda pada Pengencer Tris Aminomethane terhadap Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Kambing Saanen. Dibimbing Oleh **Muhammad Yusuf** dan **Muhammad Ihsan A. Dagong**.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama pencucian dan jenis kuning terbaik sebagai pengencer tris kuning telur terhadap membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa kambing Saanen. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktorial, yakni faktor S (lama sentrifugasi) dengan 3 perlakuan ($S_1=15$ menit, $S_2=20$ menit, $S_3=25$ menit) dan faktor T (jenis kuning telur) dengan 2 perlakuan (T_1 =kuning telur ayam ras, T_2 =kuning telur itik) ulangan sebanyak 5 kali (*Processing* semen). Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah MPU dan TAU spermatozoa. Pengamatan MPU diuji dengan mencampurkan sperma dengan larutan HOST (*Hypoosmotic Swelling Test*). Pengamatan TAU dilakukan dengan cara mencampurkan semen dengan larutan formosalin. Hasil penelitian diperoleh bahwa lama sentrifugasi dan jenis kuning telur yang digunakan berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap persentase MPU dan TAU spermatozoa kambing Saanen. Pada MPU tertinggi diperoleh pada spermatozoa kambing Saanen yang disentrifugasi dengan lama waktu 20 menit menggunakan kuning telur ayam ras yaitu sebesar 67,62 ($\pm 1,80$) menunjukkan perbedaan nyata ($P<0,05$), namun MPU pada sentrifugasi 15 dan 25 menit tidak menunjukkan perbedaan nyata. TAU tertinggi diperoleh pada spermatozoa kambing Saanen yang disentrifugasi dengan lama waktu 20 menit menggunakan kuning telur ayam ras yaitu sebesar 67,96 ($\pm 1,66$) menunjukkan perbedaan nyata ($P<0,05$), namun TAU pada sentrifugasi 15 dan 25 menit tidak menunjukkan perbedaan nyata. Dapat disimpulkan bahwa penggunaan telur ayam dan itik sebagai pengencer dengan pengaruh lama sentrifugasi dan kuning telur berbeda menunjukkan bahwa lama sentrifugasi 20 menit yang terbaik diantara perlakuan 15 menit dan 25 menit, sedangkan perlakuan telur ayam lebih baik daripada telur itik terhadap kualitas MPU dan TAU semen kambing Saanen.

Kata Kunci: Kambing Saanen, Spermatozoa, Sentrifugasi, MPU, dan TAU



SUMMARY

Reski Amalia. I011201111. Effect of Centrifugation Time and Different Egg Yolks on Tris Aminomethane Diluents on Intact Plasma Membranes (IPM) and Intact Acrosome (IA) of Saanen Bucks Spermatozoa. Supervised By **Muhammad Yusuf** and **Muhammad Ihsan A. Dagong**.

This study aims to determine the effect of washing time and the best type of yolk as a diluent for Tris egg yolk on Intact Plasma Membrane (IPM) and Intact Acrosome (IA) of Saanen buck spermatozoa. This study used a completely randomized factorial design with 2 factors, namely factor S (centrifugation time) with 3 treatments (S1 = 15 minutes, S2 = 20 minutes, S3 = 25 minutes) and factor T (type of egg yolk) with 2 treatments (T1 = chicken egg yolk, T2 = duck egg yolk) repeated 5 times (Semen processing). The parameters observed in this study were IPM and IA of spermatozoa. IPM observation was tested by mixing sperm with HOST solution (Hypoosmotic Swelling Test). IA observation was carried out by mixing semen with formosalin solution. The results of the study showed that the centrifugation time and type of egg yolk used had a significant effect ($P < 0.05$) on the percentage of IPM and IA of Saanen buck spermatozoa. The highest IPM was obtained in Saanen buck spermatozoa centrifuged for 20 minutes using chicken egg yolk, which was 67.62 (± 1.80) showing a significant difference ($P < 0.05$), but IPM at 15 and 25 minutes centrifugation did not show a significant difference. The highest IA was obtained in Saanen buck spermatozoa centrifuged for 20 minutes using chicken egg yolk, which was 67.96 (± 1.66) showing a significant difference ($P < 0.05$), but IA at 15 and 25 minutes centrifugation did not show a significant difference. It can be concluded that the use of chicken and duck eggs as diluents with the influence of different centrifugation times and egg yolks showed that the 20-minute centrifugation time was the best among the 15-minute and 25-minute treatments, while the chicken egg treatment was better than the duck egg on the quality of IPM and IA of Saanen buck semen.

Keywords: Saanen Goat, Sperm, Centrifugation, IPM, and IA



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji dan syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melimpahkan seluruh rahmat sehingga penulis mampu menyelesaikan makalah Hasil penelitian yang berjudul “**Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Kuning Telur Berbeda pada Pengencer Tris Aminomethane terhadap Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Kambing Saanen**”. Penyusunan proposal ini melibatkan banyak pihak yang turut membantu membimbing dan mendukung penulis, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih utamanya kepada:

1. Kedua Orang tua tercinta Bapak **H. Risa** dan Ibu **Hj. Muliati** yang dengan sepenuh hati selalu mendoakan, berusaha memberikan apapun yang penulis butuhkan dan mendukung dalam setiap proses kehidupan yang telah dan akan dilalui penulis.
2. Kakak kandung penulis **Rini Saputri, S.Kep., Ns** dan **Rina Purnamasari, S.H** serta adik penulis **Siti Zalzabila** yang selalu memberikan dukungan dan motivasi yang tiada hentinya kepada penulis.
3. Bapak **Prof. Dr. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., IPU.** selaku pembimbing utama yang senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam mengarahkan dan membimbing penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini dan bapak **Dr. Muhammad Ihsan A. Dagong, S.Pt., M. Si,** selaku

pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan serta arahan selama penyusunan tugas akhir ini.



4. Bapak **Dr. Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., ASEAN Eng.** dan Ibu **Masturi M, S.Pt, M.Si**, selaku dosen penguji yang telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk memberikan masukan dalam proses perbaikan tugas akhir ini.
5. Kepada tim TKT Kakanda **Rajamuddin, S.Pt**, Saudari **Sri Wulan Krisdayanti Hutaaruk** dan Saudari **Herlin Endcy Mangalla** yang menjadi tim penelitian penulis dan telah banyak membantu dan membimbing penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Kepada saudari seperjuangan Akamsi Gurl: **Miftahul Jannah, Raudatul Jannah, Qibriyah, Rafriani Isnaini Ansar, Nur Hasana Syarif, Nur Amaliah, Survira Oktia Bahri, Andi Raihana Jedi, Nurjannah Al-Tadom, Indarwati Bua Putri, Nurul Azykin Salman, dan Viterah Niode** terima kasih telah menguatkan dan menjadi tempat berkeluh kesah penulis selama mengerjakan tugas akhir ini.
7. Teman LDR **Nines** dan **Syupriani** yang senantiasa memberikan dukungan kepada penulis selama proses pengerjaan skripsi ini.
8. Teman-teman **Lab. Processing Semen** yang telah banyak membantu penulis dalam pengerjaan skripsi ini.
9. Pemilik nama **Rahmat Munandar, S.Pt., M.Si**, terima kasih telah menjadi sosok rumah yang selalu ada untuk penulis dengan tulus mendukung penulis dan telah berkontribusi banyak dalam penulisan skripsi ini.



10. Teman-teman **Crown20** dan **APM21 HIMAPROTEK-UH** yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terima kasih atas segala bantuannya dalam penyelesaian tugas akhir ini.

11. Serta semua pihak yang turut membantu terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa gagasan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat penulis harapkan guna kebaikan bersama. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi kami pada khususnya.

Makassar, 13 Agustus 2024

Reski Amalia



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
RINGKASAN	v
SUMMARY	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Kambing Saanen	4
2.2. Kualitas Semen Kambing.....	5
2.3. Tris Kuning Telur.....	6
2.4. Membran Plasma Utuh Spermatozoa	8
2.5. Tudung Akrosom Utuh Spermatozoa.....	10
2.6. Pencucian Semen.....	12
2.7. Simpan Beku.....	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	16
3.1. Waktu dan tempat penelitian.....	16
3.2. Materi penelitian	16
3.3. Tahapan dan prosedur penelitian	16
3.4. Analisis data.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Kualitas Semen Segar Kambing Saanen	26
4.2. MPU Semen Kambing Saanen dengan Jenis Kuning Telur dan Lama Sentrifugasi Berbeda.....	31
	x



4.3. TAU Semen Kambing Saanen dengan Jenis Kuning Telur dan Lama Sentrifugasi Berbeda.....	34
BAB V PENUTUP.....	37
5.1. Kesimpulan.....	37
5.2. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	
BIODATA PENELITI	



DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Uji Makroskopis dan Mikroskopis Kualitas Semen Segar Kambing Saanen ...	26
2. Membran Plasma Utuh Semen Segar Kambing Saanen dengan Jenis Telur dan Lama Sentrifugasi Berbeda.....	31
3. Tudung Akrosom Utuh Semen Segar Kambing Saanen dengan Jenis Telur dan Lama Sentrifugasi Berbeda.....	34



DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Kambing Saanen	4
2. Diagram Alir Penelitian	24
3. Pengamatan MPU Spermatozoa Kambing Saanen	31
4. Pengamatan TAU Spermatozoa Kambing Saanen.....	34



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Teknologi inseminasi buatan (IB) merupakan sebuah inovasi bioteknologi ternak yang dapat digunakan untuk mendukung kegiatan program persilangan pada kambing. Penerapan teknologi IB pada ternak kambing saat ini masih mengalami hambatan terutama karena kualitas semen beku yang kurang memenuhi standar. Masalah utama adalah tingginya kematian spermatozoa yang disebabkan oleh kerusakan membran plasma akibat radikal bebas dan hidrogen peroksida. Menurut Rizal dan Herdis (2010) radikal bebas adalah senyawa kimia dengan elektron tak berpasangan yang sangat reaktif. Untuk menghasilkan semen berkualitas, diperlukan medium pengencer yang memberikan lingkungan dan nutrisi optimal bagi spermatozoa yang berfungsi sebagai sumber energi dan melindungi spermatozoa dari kejutan dingin serta menjaga keseimbangan osmotik, elektrolit, dan pH selama proses pengenceran semen. Hal ini membantu mempertahankan intensitas selubung lipoprotein dan sel spermatozoa saat pembekuan (Nilawati, 2011; Affandhy *et al.*, 2003; Triana, 2005). Salah satu bahan pengencer alami yang dapat digunakan adalah pengencer tris dari kuning telur ayam dan kuning telur itik.

Penggunaan pengencer alami seperti pengencer tris kuning telur ayam dan kuning telur itik dapat dilakukan, plasma semen menjadi masalah utama dalam

...an semen kambing karena adanya enzim *phospholipase A* yang disebut *yolk coagulating enzyme* (Paulenz *et al.*, 2005). Enzim ini dapat ...akan koagulasi apabila bereaksi dengan protein hewani pengencer seperti



kuning telur dan susu. Apabila pengenceran dilakukan tanpa mencuci semen, *phospholipase A* akan menghidrolisis fosfolipid kuning telur menjadi *lysophospholipid* seperti *lysolecithin* yang bersifat toksik bagi spermatozoa dan dapat menyebabkan reaksi akrosom dini sehingga spermatozoa lebih cepat rusak. Oleh karena itu, untuk meningkatkan kualitas sperma kambing, plasma semen harus dihilangkan melalui pencucian segera setelah penampungan (Bintara, 2010). Pencucian menggunakan metode sentrifugasi dapat memisahkan spermatozoa dari plasma, sehingga memungkinkan penambahan pengencer yang efektif untuk memberikan suplai nutrisi dan senyawa penting yang dibutuhkan spermatozoa, seperti pengencer kuning telur, untuk menjaga keseimbangan osmotik dan pH, serta melindungi spermatozoa selama penyimpanan dan pembekuan.

Dalam upaya peningkatan kualitas sperma, tidak hanya metode pengolahan yang perlu diperhatikan, tetapi juga perlu diikuti dengan penilaian kualitas sperma secara akurat. Penilaian kualitas semen meliputi keadaan umum seperti volume, warna, bau, konsistensi, pH, motilitas atau daya hidupnya. Penilaian kualitas semen sebelum dilakukan pencucian sangat penting karena akan digunakan untuk menemukan kadar pengencer sperma (Bintara, 2010)., Parameter Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) menjadi hal yang penting untuk diamati dalam proses pengujian kualitas semen beku. Pengujian MPU akan menentukan kemampuan membran plasma spermatozoa dalam menjaga keseimbangan fisiologis dan perlindungan terhadap kerusakan selama penyimpanan dan pembekuan. Sementara itu, pengujian TAU

untuk mengevaluasi kemampuan spermatozoa dalam menembus zona saat proses fertilisasi yang melibatkan reaksi akrosom. Penilaian MPU



dan TAU memberikan gambaran tentang potensi fertilisasi semen beku dan kualitas keseluruhan spermatozoa, memastikan bahwa proses inseminasi buatan memiliki kemungkinan keberhasilan yang lebih tinggi (Rizal, 2006).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama pencucian terhadap kualitas semen kambing Saanen dan untuk mengetahui jenis kuning telur terbaik sebagai pengencer tris kuning telur sebagai pengencer terhadap membrane plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa. Adapun kegunaan dari penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber informasi terkait lama waktu sentrifugasi yang berbeda dan penambahan jenis kuning telur berbeda pada pengencer spermatozoa kambing Saanen.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Performa Reproduksi Kambing Saanen



Gambar 1. Kambing Saanen
Sumber : Data Pribadi, 2023

Kambing Saanen berasal dari lembah Saanen, Swiss, berbulu pendek dengan warna putih atau krem juga coklat muda, dan merupakan tipikal kambing penghasil susu (Zuriati *et al.*, 2011), produksi susu kambing Saanen termasuk tinggi (Irawati *et al.*, 2019). Jenis kambing Saanen tersebut mudah beradaptasi dan mulai banyak berkembang di wilayah Asia (Khandoker *et al.*, 2018) Dalam rangka meningkatkan jumlah populasi ternak diperlukan proses reproduksi yang baik, sedangkan untuk proses reproduksi yang baik sangat diperlukan kualitas semen yang baik pula. Kualitas spermatozoa mengalami penurunan dikarenakan faktor lingkungan selama pemrosesan untuk pengenceran, seperti terjadinya reaksi oksidatif yang mengakibatkan peningkatan radikal bebas dalam semen (Dewanto *et al.*, 2017). Reaksi oksidatif yang berkelanjutan akan menyebabkan infertilitas

et al., 2019).



Performa reproduksi betina dapat dilihat dari angka kebuntingan, *litter size*, *service per conception*, dan mortalitas. Reproduksi memiliki peranan penting dalam kenaikan jumlah populasi kambing perah dan jumlah anak sekelahiran yang tinggi akan mempengaruhi kenaikan populasi. Selain itu, performa reproduksi juga akan mempengaruhi jumlah produksi susu kambing perah. Ketiganya memiliki hubungan yang sama saat salah satu mengalami kenaikan maka yang lain akan mengalami kenaikan. Jika populasi kambing bertambah maka performa reproduksi yang ada sudah menunjukkan tingkatan yang baik begitupun hasil dari produksi susu yang maksimal (Sudewo dkk., 2012).

2.2. Kualitas Semen Kambing

Evaluasi semen adalah salah satu parameter untuk memprediksi kemampuan seekor pejantan dalam melakukan fertilisasi. Metode yang digunakan untuk evaluasi semen sangat banyak, namun hanya beberapa saja yang digunakan untuk menentukan kualitas semen secara praktis (Moradpour, 2019). Parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas semen adalah parameter makroskopik dan mikroskopik. Parameter makroskopik merupakan parameter yang terdiri dari pengamatan volume, warna, konsistensi, dan derajat keasaman atau pH. Sedangkan parameter mikroskopik merupakan parameter yang diamati dengan bantuan mikroskop seperti konsentrasi, motilitas, abnormalitas, viabilitas, MPU, TAU, dan kinematika spermatozoa (Rahayu, 2014; Cenariu *et al.*, 2018; Moradpour, 2019).

Semen kambing berwarna putih dan krem jika konsentrasi spermatozoa kadang-kadang sering berwarna kuning, karena mengandung riboflavin ekresikan oleh kelenjar vesikula (Evans dan Maxwell, 1987). Derajat



kekeruhannya tergantung pada konsentrasi spermatozoa semakin keruh semen maka jumlah spermatozoa permililiter semen semakin banyak (Partodihardjo, 1992). Semen kambing terdiri dari dua bagian utama yaitu plasma dan spermatozoa (Evans dan Maxwell, 1987).

Warna, konsistensi dan konsentrasi spermatozoa mempunyai hubungan yang sangat erat satu dengan yang lain, yaitu semakin encer suatu semen maka konsentrasi spermatozoa semakin rendah dan warnanya pun semakin pucat. Konsistensi semen sangat bergantung pada perbandingan spermatozoa dan plasma semen (Evans dan Maxwell, 1987 dalam Hastono *et al.*, 2002), sedangkan motilitas erat kaitannya dengan persentase sperma hidup dan dipengaruhi oleh umur sperma, tersedianya energi (ATP), dan cairan suspensi (Hafez, 1993).

2.3. Tris Kuning Telur

Bahan pengencer semen mempunyai fungsi antara lain sebagai sumber energi, pelindung spermatozoa terhadap kerusakan akibat pendinginan yang cepat (*anti cold shock*), menjadi penyangga (*buffer*) untuk mencegah efek terhadap perubahan, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, menghambat pertumbuhan bakteri, menambah volume semen, serta melindungi sel spermatozoa selama proses kualitas spermatozoa serta mampu memberikan lingkungan dan nutrisi optimum bagi spermatozoa (Toelihere, 1993). Syarat bahan pengencer antara lain mengandung unsur-unsur yang hampir sama dengan sifat fisik dan kimia semen, tidak boleh mengandung zat-zat yang bersifat racun baik terhadap spermatozoa maupun saluran kelamin hewan betina, serta tetap

mempertahankan daya fertilitas spermatozoa (Purdy, 2006). Untuk menghasilkan teku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang



mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun saat *thawing* (Hoesni, 2017).

Tris (*Tris hydroxymethyl aminomethane*) pada umumnya digunakan sebagai komponen utama dalam pengencer karena memiliki kapasitas penyangga yang baik dan toksisitas yang rendah. Pengencer Tris aminomethan terdiri atas tris, asam sitrat, fruktosa dan air sebagai pencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik, menjaga keseimbangan elektrolit, mengikat butir-butir lemak, sumber energi, melindungi sel spermatozoa selama proses pengawetan, adanya kuning telur dalam pengencer Tris aminomethan akan melengkapi fungsi pengencer dalam melindungi dan mempertahankan motilitas sel spermatozoa ketika terjadinya perubahan suhu dari 5 sampai -196°C (Nirwana *et al.*, 2017).

Penggunaan kuning telur dalam pengencer bertujuan untuk menjadi bahan krioprotektan ekstraseluler yaitu krioprotektan dengan molekul-molekul besar yang tidak dapat menembus membran sel (Supriatna dan Pasaribu, 1992). Manfaat dari kuning telur lainnya terletak pada kandungan lipoprotein dan lesitin yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa (Toelihere, 1985). Kuning telur terdiri atas 4% air, protein 16,5%, lemak 32% dan hidrat arang 1%. Lemak kuning telur terdiri atas gliserida 62%, fosfolipid 33% dan kolesterol 5%. Fosfolipid terdiri atas *lehitine* 73% dan *cephalin* 15% (Susilawati *et al.*, 2013). Minimal pemakaian kuning telur sebanyak 5% dari zat pengencer bila langsung digunakan, sedangkan bila akan disimpan pemakaian kuning telur maksimum 20% dari zat pengencer (Sari *et al.*, 2019).

Kuning telur ayam kampung memiliki kandungan energi sebanyak 150 kkal, 13 gram protein, 10 gram lemak, dan 1,5 gram karbohidrat. Sedangkan



kuning telur itik memiliki kandungan energi sebanyak 130 kalori, 10 gram lemak, 619 mg kolesterol, 102 sodium, 9 gr protein, dan 1 gram karbohidrat. Berdasarkan kandungan nutrisi yang dimiliki, dapat dilihat bahwa kuning telur ayam kampung lebih baik dibandingkan dengan kuning telur itik. Bahan pengencer tris kuning telur terdiri dari tris *aminomethane*, asam sitrat monohidrat, kristal glukosa, kuning telur, *penicillin*, *streptomycin* dan *aquabidestilata*. Tris *aminomethane* berfungsi sebagai *buffer* dan mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. Kuning telur berfungsi melindungi spermatozoa terhadap *cold shock* dan sebagai sumber energi (Triana, 2005).

2.4. Membran Plasma Utuh (MPU)

Membran plasma spermatozoa merupakan bagian yang berfungsi untuk mengatur lalu lintas keluar masuknya semua substrat dan elektrolit dari sel yang dibutuhkan dalam proses metabolisme bagi spermatozoa. Metabolisme sel akan berlangsung baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh (Surachman *et al.*, 2009). Keutuhan membran plasma spermatozoa secara fisiologis berperan untuk melindungi dan mempertahankan motilitas spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina, kapasitas, dan fertilisasi karena secara langsung maupun tidak langsung membran plasma memiliki kemampuan untuk berinteraksi dan menempel pada *cumulus oophprus* (Moce dan Graham, 2008; Matrinez, 2003). Membran plasma sangat berperan dalam terjadinya proses fertilisasi sehingga pengujian terhadap keutuhan membran plasma adalah indikator yang sangat penting untuk memprediksi daya fertilitas spermatozoa

(Korkmaz, 2004).



Membran plasma spermatozoa tersusun atas lipid (phospholipid, glikolipid dan kolesterol) dan protein. Phospholipid dan glikolipid merupakan senyawa asam lemak tak jenuh ganda sehingga mudah berikatan dengan radikal bebas. Kerusakan struktur membran akan mengganggu metabolisme sel spermatozoa. Metabolisme yang tidak sempurna akan menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif yang mudah berikatan dengan asam lemak tak jenuh yang terkandung di dalam membran spermatozoa yang akan menyebabkan kerusakan membran. Kerusakan pada membran spermatozoa akan menyebabkan kehilangan motilitas, perubahan metabolisme yang cepat, perubahan morfologi, lepasnya tudung akrosom dan pelepasan komponen intraseluler (Wahjuningsih *et al.*, 2012).

Hypoosmotic Swelling Test (HOST) adalah metode khusus untuk menguji keutuhan membran plasma spermatozoa. HOST mulai diperkenalkan pada 1963 oleh Drevius yang menemukan bahwa spermatozoa yang terpapar pada medium *hipoosmotik* akan mengalami pembengkokan ekor seperti spiral. Hal tersebut merupakan akibat gangguan kontraksi-relaksasi ekor karena adanya aliran ion (Jeyendran., 1984). Spermatozoa akan bereaksi ketika dimasukkan ke dalam larutan *hipoosmotik*. Hal ini terjadi karena larutan *hipoosmotik* akan masuk ke dalam sel melewati membran plasma. Akibat perbedaan tekanan osmotik dari larutan tersebut dengan tekanan osmotik luar sel lebih tinggi, maka larutan tersebut akan masuk ke sel dan menyebabkan pembengkakan. Fenomena inilah yang dapat diamati dan diukur untuk menguji integritas membran plasma.

Fenomena ini lebih mudah diamati pada ekor spermatozoa daripada kepala karena plasma yang mengelilingi ekor tampak lebih longgar (Vazquez *et al.*,



1997). Spermatozoa dengan ekor melingkar menunjukkan bahwa membrane plasma spermatozoa tersebut masih utuh (Ahmad *et al.*, 2003).

Dalam penelitian oleh Karagiannidis *et al.*, (2000), ditemukan bahwa sekitar 70-75% dari sperma segar kambing memiliki membran plasma utuh yang baik. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa standar minimal untuk membran plasma utuh pada sperma kambing adalah sekitar 65-75%. Penelitian mengenai kualitas membrane plasma utuh spermatozoa setelah pembekuan yang dilakukan oleh Corteel (1974), ditemukan bahwa sekitar 50-60% spermatozoa kambing yang dicairkan memiliki membran plasma utuh. Standar minimal yang sering digunakan adalah sekitar 45-55%.

2.5. Tudung Akrosom Utuh (TAU)

Tudung akrosom utuh (TAU) adalah salah satu variabel penting dari kualitas spermatozoa yang memiliki peranan sentral dalam menentukan keberhasilan fertilisasi, sehingga harus tetap terjaga keutuhannya hingga terjadi kapasitasi. TAU merupakan suatu struktur yang berbentuk topi yang menutupi dua per tiga bagian anterior kepala. Kualitas tudung akrosom yang rendah dapat disebabkan akibat pengaruh kimiawi dalam media pengencer serta pengaruh mekanik seperti gesekan dengan partikel pengencer atau dengan dinding tabung. Tudung akrosom yang rusak akan menyebabkan enzim-enzim keluar dan kemampuan spermatozoa saat fertilisasi akan menurun. Tudung akrosom perlu tetap utuh sebelum diinseminasikan agar enzim yang ada didalamnya dapat dilepaskan saat sperma sudah mencapai ovum di dalam organ reproduksi betina

et al., 2020).



Kualitas tudung akrosom dari spermatozoa sangat mempengaruhi terjadinya proses kapasitasi dan reaksi akrosom. Kapasitasi adalah proses persiapan atau perubahan fisiologis yang dialami spermatozoa dengan cara melepaskan bahan-bahan pelapis membran spermatozoa secara bertahap, terutama pada bagian akrosom untuk meningkatkan daya fertilitasnya (Susilawati, 2011). Sedangkan, reaksi akrosom merupakan proses pelepasan enzim penetrasi yang memungkinkan spermatozoa dapat menembus zona pellusida dan membuahi ovum. Namun, apabila reaksi akrosom terjadi sebelum spermatozoa mencapai tempat fertilisasi, spermatozoa akan kehilangan kemampuan untuk memfertilisasi oosit (Neild *et al.*, 2005).

Proses metabolisme spermatozoa saat di inkubasi terlalu lama menghasilkan reaksi peroksidatif lipid apabila bereaksi dengan radikal bebas. Peroksidasi lipid dapat mengubah struktur sel sperma sehingga menyebabkan mantel pelindung kepala sperma pecah dan berakibat rusaknya TAU spermatozoa. Kerusakan tudung akrosom dapat meningkat apabila kerusakan membran plasma juga meningkat akibat adanya proses kimiawi yang terjadi selama inkubasi. Sehingga penilaian keutuhan akrosom perlu dilakukan karena spermatozoa dengan akrosom tidak utuh akan berkolerasi negatif dengan fertilitas spermatozoa (Garner *and* Hafez, 2008). Cameron *and* Fairnie (1984) mengemukakan bahwa kerusakan akrosom ini tidak selalu menimbulkan kematian pada spermatozoa, namun sangat berpengaruh terhadap daya fertilitas spermatozoa. Kerusakan akrosom sebesar 15-25% pada semen yang diolah menjadi semen beku akan

menyebabkan infertilitas. Selain itu, kerusakan tudung akrosom dapat berasal dari infertilitas primer atau berasal dari kegagalan dalam proses spermatogenesis



berupa aparatus golgi dari spermatid yang tidak membentuk tudung akrosom (Ondho, 2020).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Ritar dan Salamon (1983), ditemukan bahwa sekitar 75-85% dari spermatozoa segar kambing memiliki tudung akrosom utuh yang baik. Nilai standar lain yang digunakan adalah sekitar 70-80%. Penelitian yang dilakukan oleh Sundararaman *et al.*, (2007) mengenai kualitas tudung akrosom utuh spermatozoa setelah pembekuan melaporkan bahwa sekitar 50-65% spermatozoa kambing yang *thawing* memiliki tudung akrosom utuh yang baik. Standar minimal yang digunakan oleh banyak peneliti adalah sekitar 50-60%

2.6. Pencucian Semen

Pencucian semen dengan cara sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan spermatozoa dengan plasma sperma, sehingga dapat meningkatkan kualitas sperma dan memisahkan spermatozoa yang motil dan yang tidak motil serta memisahkan komponen plasma seminalis yang mempengaruhi kualitas spermatozoa. Waktu sentrifugasi dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa yang dihasilkan. Sentrifugasi bertujuan untuk memungkinkan terjadinya proses pemisahan dengan baik, karena dengan adanya seminal plasma, pemisahan sperma dengan kolom pemisah yang berbeda viskositasnya akan sulit, sehingga tidak terpisah dengan baik (Sianturi dan Kusumaningrum, 2017).

Proses sentrifugasi menyebabkan gesekan secara mekanik antara sel spermatozoa dengan medium pemisah yang menyebabkan kerusakan struktur sel

dengan gangguan metabolisme dan akan menurunkan kualitas mencapai (Arg et al., 2005). Selain itu terjadi gesekan antara spermatozoa dan



medium pemisah yang mengakibatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa. Medium pencuci yang diperlukan untuk pencucian spermatozoa harus mengandung zat makanan sebagai pengganti hilangnya plasma semen, mampu mempertahankan pH dan tidak bersifat racun terhadap spermatozoa (Salisbury *et al.*, 1985). Salah satu bahan pencuci yang dapat digunakan adalah tris kuning telur. Fungsi Tris kuning telur sebagai penyangga atau buffer, menstabilkan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) yang merupakan larutan yang mengandung fruktosa dan asam sitrat (Novita *et al.*, 2019).

Sentrifugasi berulang-ulang dengan laju yang semakin tinggi akan menghasilkan ekstrak sel yang terpilah menurut komponennya. Proses sentrifugasi yang berakibat pada pengurangan konsentrasi plasma semen dan medium pengencer merupakan salah satu penyebab turunnya motilitas bila dihubungkan dengan ketersediaan energi spermatozoa (Toelihere, 1985). Hasil penelitian Fitri (2002) menunjukkan bahwa spermatozoa setelah dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit menunjukkan adanya kerusakan membran plasma dan tudung akrosom spermatozoa kambing Saanen.

2.7. Simpan Beku

Kualitas semen beku merupakan salah satu faktor pembatas terhadap keberhasilan program IB pada kambing. Semen kambing mudah mengalami kerusakan selama proses pembekuan karena terjadinya pembentukan kristal-

es yang dapat menyebabkan kematian spermatozoa. Selama proses pembekuan semen, kristal-kristal es yang terbentuk akan menyebabkan



konsentrasi elektrolit meningkat di dalam sel yang akan melarutkan selubung lipoprotein dinding sel spermatozoa, dan pada waktu thawing akan mengubah permeabilitas membran plasma sehingga spermatozoa akan mati (Tambing *et al.*, 2000).

Pembekuan pada dasarnya adalah suatu proses pengeringan fisik di bawah titik beku. Bilamana suatu larutan dibekukan, maka zat pelarutnya berupa air akan membeku dan membentuk kristal-kristal es, sedangkan bahan terlarutnya tidak dapat bersatu dengan kristal-kristal es tersebut, melainkan berakumulasi semakin pekat kristal-kristal es yang terdapat di dalam sel sperma ini dapat merusak secara mekanik, sedangkan konsentrasi elektrolit yang berlebihan akan melarutkan selubung lipoprotein pada dinding sel spermatozoa, sehingga pada saat pencairan kembali (*thawing*), permeabilitas membran selnya akan berubah dan mengakibatkan kematian sel (Herdiawan, 2004). Sel atau spermatozoa akan mengalami kerusakan pada saat proses pembekuan atau *thawing*, karena terbentuknya kristal es didalam sel, pada proses pembekuan yang cepat akan memperkecil kristal es, sedangkan sistem pembekuan yang lama akan memperbesar kristal es sehingga tingkat kerusakannya lebih tinggi, proses pembekuan yang optimal adalah agar sel toleransi terhadap efek kristal dan efek racun dari pengencer.

Proses pendinginan, pembekuan dan *thawing* mengakibatkan stres fisik dan kimia pada membran spermatozoa yang dapat menurunkan viabilitas dan kemampuan memfertilisasi ovum (Susilawati, 2013). Sukmawati, Arifiantini dan

(2014) menyatakan bahwa pada saat proses pembekuan dan *thawing* mengalami berbagai perubahan suhu dan tekanan osmotik sehingga



menurunkan kualitas semen diantaranya adalah penurunan motilitas, viabilitas dan membran plasma utuh. Standar kualitas semen beku kambing telah ditetapkan oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN), yang tertuang dalam SNI semen beku kambing dan domba ditetapkan minimal motilitas 40% (SNI semen beku kambing dan domba 2014).

