

**PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM KLORIDA DAN LAMA
INKUBASI TERHADAP MEMBRAN PLASMA UTUH
SPERMATOZOA SAPI BALI**

SKRIPSI

**YODI HARDIANTO
I011181018**



**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

SKRIPSI

**PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM KLORIDA DAN LAMA
INKUBASI TERHADAP MEMBRAN PLASMA UTUH
SPERMATOZOA SAPI BALI**

Disusun dan Diajukan Oleh:

**YODI HARDIANTO
I011181018**

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

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yodi Hardianto

NIM : 1011181018

Program Studi : Peternakan

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya yang tulis saya yang berjudul :

**"PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM KLORIDA DAN LAMA
INKUBASI TERHADAP MEMBRAN PLASMA UTUH SPERMATOZOA
SAPI BALI"**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengamblian tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sebagian atas atau seluruhnya dari karya skripsi ini tidak sesuai atau plagiasi saya bersedia dikenakan sanksi akademik sesuai peraturan yang berlaku.

Makassar, April 2023

Peneliti

Yodi Hardianto

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

**PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM KLORIDA DAN LAMA
INKUBASI TERHADAP MEMBRAN PLASMA UTUH
SPERMATOZOA SAPI BALI**


Disusun dan diajukan oleh:

**YODI HARDIANTO
1011 18 1018**

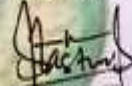
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi S1 Fakultas Peternakan
Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 12 Mei 2023
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

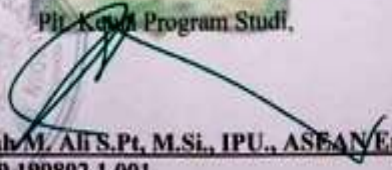
Pembimbing Utama,


Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Toleng, M.Sc.
NIP. 19540602 1978 1 001

Pembimbing Pendamping,


MasTuti M. S.Pt., M.Si.
NIP. 19880405 201904 4 001

Pt. Ketua Program Studi,


Dr. Ir. Hikmah M. Ali S.Pt., M.Si., IPU., ASEAN Eng.
NIP. 19710819 199802 1 001

ABSTRAK

Yodi Hardianto. I011181018. Pengaruh Konsentrasi Natrium Klorida dan Lama Inkubasi Terhadap Membran Plasma Utuh Spermatozoa Sapi Bali. Dibimbing oleh **Abdul Latief Toleng** sebagai pembimbing utama dan **Masturi M.** sebagai pembimbing kedua.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas membran plasma utuh spermatozoa dengan menggunakan konsentrasi NaCl dan lama inkubasi yang berbeda. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) pola factorial dengan sembilan perlakuan (P1 = 0,8gr NaCl/45 menit, P2 = 0,8gr NaCl/60 menit, P3 = 0,8gr NaCl/75 menit, P4 = 0,9gr NaCl/45 menit, P5 = 0,9gr NaCl/60 menit, P6 = 0,9gr NaCl/75 menit, P7 = 1gr NaCl/45 menit, P8 = 1gr NaCl/60 menit dan P9 = 1gr NaCl/75 menit) dengan tiga kali ulangan (frekuensi penampungan semen). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi antara konsentrasi dengan waktu inkubasi berpengaruh nyata terhadap MPU spermatozoa sapi Bali. penurunan presentase MPU spermatozoa ketika konsentrasi NaCl dan waktu inkubasi semakin meningkat dari setiap perlakuan, yakni P1=75,16% ($\pm 4,53$); P2=52,16% ($\pm 4,85$); P3=34,00% ($\pm 7,85$), P4=65,66% ($\pm 1,60$); P5=50,83% ($\pm 12,33$); P6=32,50% ($\pm 3,90$), P7=55,66% ($\pm 0,28$); P8=51,66% ($\pm 1,75$); P9= 39,33% ($\pm 3,05$). Dapat disimpulkan bahwa kombinasi konsentrasi NaCl 0,8 gram dengan waktu inkubasi 45 menit merupakan kombinasi paling baik dalam mempertahankan membran plasma utuh spermatozoa.

Kata kunci: Inkubasi, MPU, NaCl, dan Spermatozoa

ABSTRACT

Yodi Hardianto. I011181018. Effect of Sodium Chloride Concentration and Incubation Period on Intact Plasma Membrane of Bali Cattle Spermatozoa. Supervised by **Abdul Latief Toleng** as the main supervisor and **Masturi M.** as the second supervisor.

This study aims to determine the quality of intact plasma membranes of spermatozoa using different concentrations of NaCl and incubation time. The design used in this study was a factorial complete randomized design (CRD) with nine treatments (P1 = 0.8gr NaCl/45 minutes, P2 = 0.8gr NaCl/60 minutes, P3 = 0.8gr NaCl/75 minutes, P4 = 0.9gr NaCl/45 minutes, P5 = 0.9gr NaCl/60 minutes, P6 = 0.9gr NaCl/75 minutes, P7 = 1gr NaCl/45 minutes, P8 = 1gr NaCl/60 minutes and P9 = 1gr NaCl/ 75 minutes) with three repetitions (semen storage frequency). The results showed that the combination treatment between concentration and incubation time had a significant effect on the Bali cattle spermatozoa MPU. decrease in the percentage of MPU spermatozoa when the concentration of NaCl and incubation time increased for each treatment, namely P1 = 75.16% (± 4.53); P2=52.16% (± 4.85); P3=34.00% (± 7.85), P4=65.66% (± 1.60); P5=50.83% (± 12.33); P6=32.50% (± 3.90), P7=55.66% (± 0.28); P8=51.66% (± 1.75); P9 = 39.33% (± 3.05). It can be concluded that the combination of 0.8 gram NaCl concentration with an incubation time of 45 minutes is the best combination in maintaining intact plasma membranes of spermatozoa.

Keywords: Incubation, MPU, NaCl, and Spermatozoa

KATA PENGANTAR

Shalom dan Salam Sejahtera bagi kita semua....

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan makalah hasil penelitian ini dengan segala keterbatasan. Berbagai kesulitan yang dihadapi penulis dalam penyusunan makalah ini, namun berkat dukungan dan doa dari berbagai pihak sehingga kesulitan yang dihadapi penulis dapat dilewati dengan mudah. Terimakasih terucap bagi segenap pihak yang telah meluangkan waktu, pemikiran dan tenaganya sehingga penyusunan makalah usulan penelitian ini selesai. Oleh sebab itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. **Yonatan dan Dewi Susiana** sebagai orang tua penulis yang selalu mendukung anaknya untuk terus melanjutkan kuliahnya dan belajar dengan benar untuk mencapai masa depan yang indah.
2. **Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Toleng, M.Sc.** selaku pembimbing utama dan **Ibu Masturi M., S.Pt., M.Si.** selaku pembimbing anggota, telah meluangkan banyak waktu dan perhatiannya untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyusun skripsi ini.
3. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** dan **Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA. DES.** selaku penguji yang telah memberikan arahan dan masukan dalam proses perbaikan tugas akhir ini.
4. **Dr. Syahdar Baba, S.Pt., M.Si.,** selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, beserta jajarannya dan juga kepada dosen-dosen

pengajar Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin yang telah mengajarkan ilmu yang tak ternilai harganya kepada penulis, serta kepada staf fakultas yang telah membantu dalam proses pengurusan berkas selama penulis berkuliah.

5. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.** selaku Rektor Universitas Hasanuddin, penulis mengucapkan banyak terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan sarjana (S1) pada program studi Peternakan
6. **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., IPM, ASEAN Eng., Kakanda Atthar Diansyah S.Pt., dan kakanda Hasrin S.Pt. M.Si** atas segala bantuannya dalam mengarahkan dan membimbing penulis dalam proses penelitian dan pembuatan Skripsi ini.
7. **Kepala CV. Samata Integrated Farming System** yang telah memberikan arahan dan masukan dalam proses penelitian tugas akhir ini.
8. Teman Seperjuangan **HIMAKER (Raja, Jum, Figri, Fauzan, Arisa, dan Neng)** terima kasih atas kebersamaannya yang mewarnai masa-masa perkuliahan
9. Teman Seperjuangan **Panglima Rapa-Rapa (Asrullah, Wiya, Putri, Lea, Icha, Suba, Novita, Intan, Dia, Silvi dan Risma)** terima kasih atas kebersamaannya yang mewarnai masa-masa perkuliahan.
10. Saudara PA dan Kakak PA **HINENI (Kak Iin, Novita, Alpri dan Neng)** terima kasih atas saran dan semangat dalam perkuliahan.

11. Teman Seperjuangan dalam melaksanakan **praktek kerja lapang (Raja, Jum, Putri, Kiki, Umi, dan Wiya)** atas segala bantuannya dalam penyelesaian tugas akhir ini.
12. Tim Peneliti 2019 (**Kiran, Ayu, Dian, Sila dan Pian**) terima kasih atas bantuannya selama proses penelitian tugas akhir ini.
13. Teman-teman seangkatan 2018, mereka adalah **CRANE18** yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terima kasih telah membersamai perkuliahan ini.

Semoga segala bentuk apresiasi mendapat imbalan yang layak dari Tuhan Yang Maha Esa. Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, sangat diharapkan saran dari pembaca sekalian. Terima kasih.

Makassar, 17 April 2023

Yodi Hardianto

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	2
Tujuan dan Kegunaan	3
TINJAUAN PUSTAKA	4
Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa	4
Faktor-Faktor yang Mempengaruhi MPU Spermatozoa	6
Pengukuran Membran Plasma Utuh Spermatozoa	9
METODE PENELITIAN.....	11
Waktu dan Lokasi Penelitian	11
Alat dan Bahan	11
Rancangan Penelitian.....	11
Prosedur Penelitian	13
Metode Pelaksanaan	13
Perlakuan Spermatozoa	16
Analisis Data.....	17
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
Karakteristik Semen Segar Sapi Bali.....	18

Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Sapi Bali dengan Konsentrasi NaCl dan Lama Inkubasi	24
KESIMPULAN DAN SARAN.....	29
Kesimpulan	29
Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN.....	37
RIWAYAT HIDUP.....	42

DAFTAR TABEL

No.		Halaman
1.	Kualitas Semen Segar Sapi Bali Makroskopik	18
2.	Kualitas Semen Segar Sapi Bali Mikroskopik.....	21
3.	MPU Spermatozoa dengan Konsentrasi dan Inkubasi Berbeda.....	26

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Membran Plasma Sel.....	4
2. Spermatozoa dengan MPU yang Normal dan Rusak	5
3. Metode Hos Test	9
4. Diagram Alir Penelitian	13
5. Hasil Pengamatan Membran Plasma Utuh Spermatozoa.....	24
6. Persentase MPU Spermatozoa	25

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sapi Bali merupakan sapi lokal Indonesia yang berasal dari hasil domestikasi dari banteng liar yang telah berjalan lama (Talib, 2002). Sapi Bali mempunyai kemampuan daya adaptasi yang baik diberbagai lingkungan di Indonesia. Selain itu, sapi Bali mempunyai kemampuan reproduksi yang tinggi, sehingga sumberdaya genetik sapi Bali merupakan plasma nutfah yang perlu dipertahankan keberadaanya (Hikmawaty dkk., 2014). Salah satu cara untuk mempertahankan keberadaan sapi Bali yaitu dengan inseminasi buatan. Inseminasi buatan dapat memberikan peluang bagi pejantan sapi Bali untuk meningkatkan populasi sapi Bali secara maksimal. Keberhasilan inseminasi buatan dapat dipengaruhi oleh kualitas semen yang dihasilkan oleh pejantan sapi Bali (Hoesni, 2015).

Kualitas semen sapi Bali jantan mempunyai peranan yang sangat penting dalam pelaksanaan perkawinan ternak sapi, baik secara alami maupun dengan cara inseminasi buatan (Khairi, 2016). Untuk mengetahui kualitas semen sapi dapat dilakukan dengan cara melakukan evaluasi semen. Evaluasi semen yang dilakukan meliputi uji makroskopis dan uji mikroskopis. Uji makroskopis mengamati volume, warna, bau, konsistensi dan pH semen, sedang uji mikroskopis mengamati motilitas, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi, membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) (Fazrien dkk., 2020).

Membran plasma bagi spermatozoa diperlukan sebagai pelindung organel didalam sel dari perubahan lingkungan. Apabila membran plasma mengalami

kerusakan maka dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa. Untuk menguji keutuhan membran plasma spermatozoa dapat dilakukan dengan uji *Hypoosmotic Swelling Test (HOS Test)* (Fazrien dkk., 2020). Evaluasi membran plasma utuh penting untuk dilakukan karena berperan dalam proses fertilisasi. Fungsi keutuhan membran plasma spermatozoa merupakan sebuah faktor penting dalam metabolisme spermatozoa (Arsiwan dkk., 2014). Sebagian besar proses metabolisme sel memerlukan dan dipengaruhi oleh elektrolit. Konsentrasi elektrolit tubuh menentukan tekanan intraseluler sel dan ekstraseluler sel. Menjaga tekanan osmotik dan distribusi beberapa cairan dalam tubuh merupakan tugas utama empat elektrolit mayor. Sekitar 90% tekanan osmotik dicairan ekstrasel ditentukan oleh natrium, khususnya dalam bentuk natrium klorida (NaCl) (Yaswir dan Ferawati, 2012).

Menguji kualitas membran plasma utuh (MPU) juga memerlukan waktu inkubasi yang tepat agar tidak terjadi kerusakan pada membran plasma utuh (MPU). Menurut Olmo, dkk., (2014), proses inkubasi yang lama akan menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa. Hal inilah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian dengan judul ‘‘ Membran Plasma Utuh Spermatozoa Sapi Bali dalam Natrium Klorida dengan Konsentrasi dan Lama Inkubasi yang Berbeda ‘‘.

Rumusan Masalah

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan inseminasi buatan yaitu salah satunya kualitas spermatozoa. Untuk mengetahui kualitas spermatozoa dapat dilakukan dengan cara mengevaluasi semen. Evaluasi semen ini meliputi uji makroskopis (volume, warna, bau, konsistensi dan pH) dan uji mikroskopis (motilitas, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi, MPU dan TAU). Salah satu yang

menjadi penentu kualitas spermatozoa yaitu keutuhan membran plasma yang membungkus spermatozoa. Membran plasma spermatozoa berfungsi melindungi sel sperma dari perubahan lingkungan, membantu proses metabolisme sel sperma dan memisahkan larutan ionik didalam sel dari larutan ionik diluar sel. Untuk menguji keutuhan membran plasma spermatozoa dapat dilakukan dengan uji *Hypoosmotic Swelling Test (HOS Test)*. Spermatozoa yang mempunyai membran plasma yang baik ditandai dengan ekor yang melingkar, dalam proses pengamatan MPU ini membutuhkan konsentrasi NaCl dan lama inkubasi yang tepat.

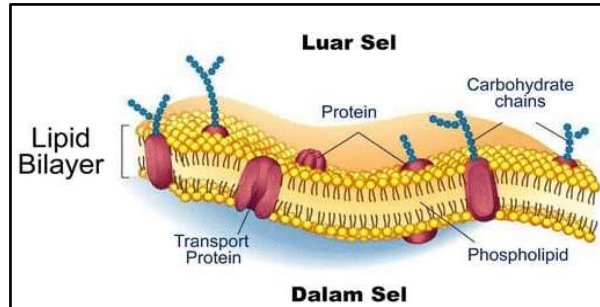
Tujuan dan Kegunaan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa sapi Bali terkhusus pada membran plasma utuh spermatozoa dengan menggunakan konsentrasi NaCl dan lama inkubasi yang berbeda pada saat dilakukannya uji *Hypoosmotic Swelling Test (HOS Test)*.

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai bahan kajian bagi ilmu pengetahuan dan teknologi, serta sebagai sumber informasi bagi calon peneliti dibidang reproduksi ternak dan Balai Inseminasi Buatan.

TINJAUAN PUSTAKA

Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa



Gambar 1. Membran Plasma Sel
Sumber : Gramedia, 2014

Membran Plasma atau Membran sel merupakan suatu sistem membran yang terdapat pada lapisan terluar yang membatasi isi sel dari lingkungannya (Febriani, 2017). Membran plasma bersifat semipermeabel (zat-zat tertentu saja yang dapat melewati membran plasma), hidup dan sangat tipis. Komposisi kimia membran plasma yaitu lapisan luar dan dalam berupa molekul protein sedangkan bagian tengah molekul lemak. Membran plasma ini berfungsi mengontrol pertukaran zat antara isi sel dengan lingkungan sekitar, melindungi isi sel, mengatur keluar masuknya molekul-molekul, sebagai reseptor rangsangan dari luar sel (Gade, 2014). Setiap sel sperma dibungkus oleh suatu membran yang tersusun atas molekul-molekul lipida berlapis ganda dan protein-protein. Membran ini memisahkan larutan ionik didalam sel dari larutan ionik diluar sel. Membran dapat melewatkan molekul tertentu dan menahan molekul lainnya dari suatu aliran fluida yang dilewati membran (Supu, 2015).

Membran plasma utuh spermatozoa adalah suatu keadaan yang menunjukkan fungsi fisiologis membran yang terjaga sebagai control terhadap transport air sehingga cairan diluar sel tidak dapat memasuki sel. Keutuhan membran plasma menentukan hidup dan matinya spermatozoa sehingga persentase membran plasma utuh tidak berbeda jauh dengan persentase viabilitas spermatozoa (Lestari dkk., 2014). Keutuhan membran plasma spermatozoa secara fisiologis berperan melindungi dan mempertahankan motilitas spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina, kapasitas, dan fertilisasi secara langsung maupun tidak langsung membran plasma memiliki kemampuan untuk berinteraksi dan menempel pada *cumulus oophprus* (Tamiyadi, 2021).



Gambar 2. a). spermatozoa dengan MPU yang normal
b). spermatozoa dengan MPU yang rusak
Sumber : Septiyani, 2012.

Spermatozoa yang memiliki membran plasma yang normal akan mengalami pembengkokan pada bagian ekor ketika dilakukan uji kualitas membran plasma utuh spermatozoa, begitu pula sebaliknya apabila spermatozoa tidak mengalami pembengkokan pada bagian ekor maka membran plasma spermatozoa tersebut telah

rusak atau tidak normal. Kerusakan struktur membran akan mengganggu metabolisme sel spermatozoa. Metabolisme yang tidak sempurna akan menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif yang akan menyebabkan kerusakan membran plasma. Kerusakan membran plasma spermatozoa akan menyebabkan kehilangan motilitas, perubahan metabolisme yang cepat, perubahan morfologi, lepasnya tudung akrosom, dan pelepasan komponen intraseluler. Lama waktu inkubasi berpotensi menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa akibat adanya proses kimiawi (Yusrina dkk., 2018). Menurut Olmo dkk., (2014) bahwa waktu inkubasi yang terlalu lama dapat meningkatkan radikal bebas. Radikal bebas yang berlebihan menyebabkan sperma mengalami peroksidasi lipid yang dapat merusak ketahanan membran plasma.

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi MPU Spermatozoa

Konsentrasi natrium klorida (NaCl)

Natrium adalah kation terbanyak dalam cairan ekstrasel, 35-40% natrium (Na) ada didalam tubuh. Lebih dari 90% tekanan osmotik di cairan ekstrasel ditentukan oleh garam, khususnya dalam bentuk natrium klorida (NaCl), sehingga perubahan tekanan osmotik pada cairan ekstrasel menggambarkan perubahan konsentrasi (Poli, dkk., 2016).

Larutan fisiologis memiliki tekanan yang sama dengan cairan tubuh. Larutan fisiologis seperti NaCl berfungsi sebagai media isotonik. Ion Na dan Cl berperan dalam mengatur keseimbangan asam basa dan mempertahankan tekanan osmotik cairan sel (Wibowo dkk., 2022).

Proses metabolisme sel memerlukan dan dipengaruhi oleh elektrolit. Konsentrasi elektrolit menentukan tekanan intra sel dan ekstra sel. Menurut Yaswir dan Ferawati (2012), menjaga tekanan osmotik dan distribusi beberapa kompartemen cairan tubuh adalah fungsi utama empat elektrolit mayor, yaitu natrium (Na), kalium (K), klorida (Cl) dan bikarbonat (HCO₃). Lebih dari 90% tekanan osmotik cairan ekstrasel ditentukan oleh garam yang mengandung natrium, khususnya dalam bentuk natrium klorida (NaCl), sehingga perubahan tekanan osmosis cairan ekstrasel menggambarkan perubahan konsentrasi natrium (Yaswir dan Ferawati, 2012).

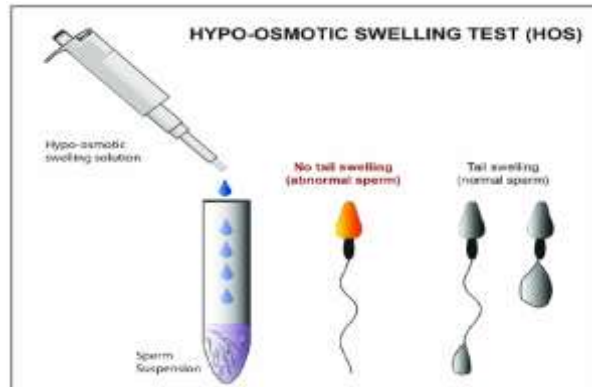
Lama inkubasi

Inkubasi merupakan proses mendiamkan suatu larutan dengan campuran lainnya guna untuk melihat reaksi yang terjadi pada larutan tersebut ketika didiamkan dalam jangka waktu tertentu. Proses inkubasi dapat meningkatkan produksi radikal bebas yang sangat berbahaya bagi sel sperma. Membran plasma sperma mengandung banyak asam lemak tak jenuh ganda atau *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang sangat rentan bereaksi dengan radikal bebas. PUFA merupakan komponen utama membran plasma sperma dalam menjaga dan mempertahankan kondisi fisiologis sperma untuk bertahan hidup (Yusrina dkk., 2018). Semakin lama waktu inkubasi maka semakin banyak pula radikal bebas yang dihasilkan sperma. Radikal bebas merupakan produk sampingan hasil metabolisme sperma. Proses metabolisme semakin meningkat seiring dengan adanya peningkatan suhu yang dialami sel sperma (Susilawati, 2011; Yuliana dan Lukman. 2013).

Menurut Olmo, dkk. (2014) waktu inkubasi yang terlalu lama memicu peningkatan produksi radikal bebas. Radikal bebas yang berlebihan menyebabkan sperma mengalami peroksidasi lipid yang dapat merusak keutuhan membran plasma. Membran plasma yang rusak dapat mengganggu proses metabolisme sperma dalam menghasilkan energy untuk pergerakannya (motilitas). Peroksidasi lipid yang berkepanjangan dapat merusak membran plasma sperma bahkan menyebabkan hilangnya fungsi enzim dan transporter membran. Kerusakan membran tidak hanya terjadi pada bagian ekor saja, melainkan kerusakan membran dapat terjadi pada bagian mitokondria (Anwar, dkk., 2019).

Membran pada mitokondria mengandung kompleks protein rantai respirasi, *adenosine trifosfat* (ATP) sintesis dan transporter membran. Kandungan lain yang terdapat pada membran mitokondria yaitu kanal ion *voltage dependent selective anion channel* (VDAC) yang berfungsi mengatur keluar masuk ion-ion dan ATP dari mitokondria. Kerusakan pada mitokondria dapat menghambat kerja protein transport(porin), ion dan enzim lainnya karena terganggunya sifat permeable selektif pada membran yang mengakibatkan sebagian molekul bebas keluar masuk kedalam sel (Asmarinah, 2010).

Pengukuran Membran Plasma Utuh Spermatozoa



Gambar 3. Metode *Hos Test*
Sumber : Baldini, dkk 2021

Hypoosmotic swelling (Hos) test adalah salah satu teknik untuk mengevaluasi keutuhan membran plasma sperma. Pada awalnya HOS tes dirancang pada sperma manusia untuk mengevaluasi aktivitas biokimia dari fisik membran plasma secara utuh. Saat ini HOS tes sudah dilakukan pada hewan domestikasi seperti sapi, kuda dan babi, kebanyakan dilakukan pada semen segar (Hardyana dkk., 2012). Medium osmolalitas (Hos tes) dibuat dengan cara melarutkan NaCl kedalam aquades yang telah diukur volumenya. NaCl yang digunakan pada perlakuan ditimbang terlebih dahulu sebelum dilarutkan kedalam aquades. Perbandingan antara aquadest dan NaCl menggunakan perbandingan volume/gram (Arsiwan dkk., 2014).

Suatu membran semipermeabel apabila dibatasi oleh larutan yang berbeda tekanan osmotiknya, maka air akan mengalir melintasi membran tersebut dari larutan yang hipoosmotik ke larutan hiperosmotik, sehingga banyaknya air pada larutan yang hiperosmotik bertambah dan tekanan osmotiknya mengecil, sedangkan banyaknya air pada larutan yang hipoosmotik berkurang dan tekanan osmotiknya membesar.

Hiperosmotik yaitu pengaturan secara aktif konsentrasi cairan sel yang lebih tinggi dari cairan diluar sel atau medium, sedangkan hipoosmotik yaitu pengaturan aktif konsentrasi cairan dalam sel yang lebih rendah dari konsentrasi cairan luar sel atau medium. Keadaan ini terus berlangsung sampai besarnya tekanan osmotik antara kedua larutan tersebut sebanding. Dasar metode Hos tes adalah hukum osmosis. Bila spermatozoa terpapar pada medium hipoosmotik, maka air akan mengalir kedalam spermatozoa sampai tercapai keseimbangan osmotik antara larutan didalam dan diluar spermatozoa, sehingga spermatozoa membengkak. Kebengkakan ini berupa pembengkakan yang mudah dilihat, pembengkakan ini adalah akibat gangguan kontraksi relaksasi ekor oleh karena adanya aliran ion/bahan yang berat molekulnya dari ekor ke medium hipoosmotik (Arifiantini dkk., 1999).

Peristiwa osmosis pada spermatozoa ini dapat terjadi karena membran plasmanya bersifat semipermeabel dan berfungsi normal. Jadi spermatozoa yang terpapar pada medium hipoosmotik dan memperlihatkan pembengkakan ekor adalah spermatozoa yang normal. Menurut Casper et al. (1996) Hos tes dikembangkan untuk melihat kemampuan membran spermatozoa sebagai sarana transport. Sperma dalam larutan hipoosmotik, apabila membran berfungsi dengan baik maka akan terjadi pembengkakan pada membran plasma dan pembengkakan ekor (Arifiantini dkk., 1999).