

SKRIPSI

**PENGARUH METODE *SWIM UP* DENGAN LAMA SENTRIFUGASI
DAN INKUBASI YANG BERBEDA TERHADAP TUDUNG AKROSOM
UTUH (TAU) DAN MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU)
SPERMATOZOA SAPI BALI**

**Disusun dan diajukan
oleh**

**NUR IZZATUL MUMINAH
I011181013**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**PENGARUH METODE *SWIM UP* DENGAN LAMA SENTRIFUGASI
DAN INKUBASI YANG BERBEDA TERHADAP TUDUNG AKROSOM
UTUH (TAU) DAN MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU)
SPERMATOZOA SAPI BALI**

SKRIPSI

**NUR IZZATUL MUMINAH
I011181013**

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

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI
PENGARUH METODE *SWIM UP* DENGAN LAMA SENTRIFUGASI
DAN INKUBASI YANG BERBEDA TERHADAP TUDUNG AKROSOM
UTUH (TAU) DAN MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU)
SPERMATOZOA SAPI BALI**

Disusun dan diajukan
oleh

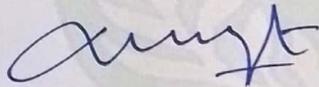
**NUR IZZATUL MUMINAH
I011181013**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk
dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program
Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin
Pada tanggal **25** Agustus 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

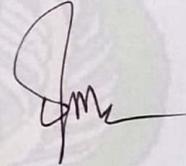
Pembimbing Utama,

Menyetujui,

Pembimbing Anggota

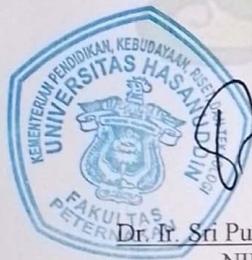


Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU
NIP. 19700725 199903 1 001



Dr. Sutomo Syawal, S.Pt., M.Si
NIP. 19760328 200212 1 001

Ketua Program Studi,



Dr. Ir. Sri Purwanti, S.Pt., M.Si., IPM ASEAN.Eng
NIP. 19751101 200312 2 002

LEMBAR KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nur Izzatul Muminah
NIM : I011181013
Program Studi : Peternakan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Pengaruh Metode *Swim Up* dengan Lama Sentrifugasi dan Inkubasi yang Berbeda Terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Sapi Bali

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan 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.

Makassar, Agustus 2022



Yang menyatakan
(Nur Izzatul Muminah)

ABSTRAK

NUR IZZATUL MUMINAH. I011 18 1013. Pengaruh Metode *Swim Up* dengan Lama Sentrifugasi dan Inkubasi yang Berbeda Terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Sapi Bali. Pembimbing Utama: **Muhammad Yusuf** dan Pembimbing Anggota: **Sutomo Syawal**.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama sentrifugasi dan inkubasi terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa sapi Bali hasil *swim up*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial dengan sembilan perlakuan (P1K1= sentrifugasi 5 menit dan inkubasi 30 menit, P1K2= sentrifugasi 5 menit dan inkubasi 45 menit, P1K3= sentrifugasi 5 menit dan inkubasi 60 menit, P2K1= sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 30 menit, P2K2= sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 45 menit, P2K3= sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 60 menit, P3K1= sentrifugasi 15 menit dan inkubasi 30 menit, P3K2= sentrifugasi 15 menit dan inkubasi 45 menit, P3K3= sentrifugasi 15 menit dan inkubasi 60 menit), tiga kali ulangan (penampungan semen) dan menggunakan dua medium (medium *Tyroide albumin Lactate Pyruvate* (TALP) dan *Brackett and Oliphant* (BO)). Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu persentase TAU dan MPU. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama sentrifugasi dan inkubasi spermatozoa hasil *swim up* dengan menggunakan medium TALP maupun BO berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU). Persentase TAU *Swim Up* spermatozoa menggunakan medium TALP maupun BO diperoleh nilai tertinggi masing-masing pada P2K2 (sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 45 menit) dengan rata-rata $90,50 \pm 3,00 \%$ dan $89,66 \pm 3,05 \%$. Adapun persentase MPU hasil *swim up* dengan menggunakan medium Talp maupun BO diperoleh nilai tertinggi masing-masing pada P2K2 (sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 45 menit) dengan rata-rata $89,16 \pm 3,01 \%$ dan $88,16 \pm 3,88 \%$. Dapat disimpulkan bahwa lama waktu sentrifugasi dan inkubasi spermatozoa sapi Bali hasil *swim up* yang terbaik baik menggunakan medium TALP maupun BO adalah sentrifugasi 10 menit dan inkubasi 45 menit.

Kata kunci: Sentrifugasi, Inkubasi, TAU, *Swim Up*, Spermatozoa, dan MPU.

ABSTRACT

NUR IZZATUL MUMINAH. I011 18 1013. Effect of Swim Up Method with Different Centrifugation and Incubation Time on Acrosome Integrity (TAU) and Plasma Membrane Integrity (MPU) of Bali Bull Sperm. Supervised by **Muhammad Yusuf** and **Sutomo Syawal**.

This study aimed to determine the effect of centrifugation and incubation time on Acrosome Integrity (TAU) and Plasma Membrane Integrity (MPU) of Bali Bull sperms resulting from swim up. This study was using a randomized complete with a factorial pattern with nine treatments (P1K1 = centrifugation 5 minutes and incubation 30 minutes, P1K2 = centrifugation 5 minutes and incubation 45 minutes, P1K3 = centrifugation 5 minutes and incubation 60 minutes, P2K1 = centrifugation 10 minutes and incubation 30 minutes, P2K2 = centrifugation 10 minutes and incubation 45 minutes, P2K3 = centrifugation 10 minutes and incubation 60 minutes, P3K1 = centrifugation 15 minutes and incubation 30 minutes, P3K2 = centrifugation 15 minutes and incubation 45 minutes, P3K3 = centrifugation 15 minutes and incubation 60 minutes), three replicates (cement storage) and two mediums (Tyroid albumin Lactate Pyruvate (TALP) and Brackett and Oliphant (BO) medium). The results showed that the length of centrifugation and incubation of swim-up spermatozoa using TALP and BO medium had a very significant effect ($P < 0.01$) on the percentage of Acrosome Integrity (TAU) and Plasma Membrane Integrity (MPU). The percentage of TAU Swim Up spermatozoa using TALP and BO medium obtained the highest values at P2K2 (centrifugation 10 minutes and incubation 45 minutes) with an average of $90.50 \pm 3.00\%$ and $89.66 \pm 3.05\%$. As for percentage of MPU from swim up using Talp and BO medium, the highest value was obtained at P2K2 (centrifugation 10 minutes and incubation 45 minutes) with an average of $89.16 \pm 3.01\%$ and $88.16 \pm 3, 88\%$. It can be concluded that the best time for centrifugation and incubation of Bali bull sperm using TALP and BO medium is 10 minutes of centrifugation and 45 minutes of incubation.

Keywords: centrifugation, incubation, TAU, Swim Up, sperm, and MPU.

KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wata'ala* atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi dengan judul **Pengaruh Metode *Swim Up* dengan Lama Sentrifugasi dan Inkubasi yang Berbeda Terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Sapi Bali** dapat diselesaikan. Shalawat dan salam semoga selamanya tercurah dan terlimpah kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat kelulusan pada Mata Kuliah Skripsi Produksi Ternak di Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca, terutama bagi penulis. Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang ikut berpartisipasi dan membantu dalam penyelesaian skripsi ini, oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang tak terhingga kepada:

1. Kedua orang tua penulis yaitu **Hanaping** dan **Sutrayani**, saudara penulis **Megawati** dan **Firmansyah** serta ipar penulis **Hendra Asmara** juga seluruh Keluarga penulis yang senantiasa mendoakan sehingga makalah ini dapat selesai tepat waktu serta dukungan berupa moril, materil, dan saran.
2. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M. Sc**, selaku Rektor Universitas Hasanuddin yang telah memberi kesempatan untuk saya mengenyam pendidikan di Universitas Hasanuddin.
3. **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 memberi ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis selama perkuliahan.

4. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU**, selaku pembimbing utama yang telah memberikan banyak ilmu, waktu, tenaga, dan saran-saran serta semangat untuk penulis dalam penyusunan skripsi ini.
5. **Dr. Sutomo Syawal, S.Pt., M.Si**, selaku pembimbing anggota yang telah bersedia membantu dan memberikan arahan serta semangat kepada penulis sampai skripsi ini selesai.
6. **Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc**, selaku dosen Penasehat Akademik yang telah bersedia memberi masukan dan saran kepada penulis selama perkuliahan, serta memberikan izin untuk bisa penelitian dan mengambil sampel semen di *Samata Integrated Farming System*.
7. **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si** dan **Dr. Muhammad Hatta, S.Pt, M.si**, selaku penguji / pembahas yang telah bersedia dan melancarkan seminar serta memberi saran-saran dan masukan kepada penulis.
8. **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.SI., IPM, Athar Manabi Diansyah, S.Pt, Ulil** dan **Indra Wahyudi Syarif, S.Pt** yang telah banyak membantu penulis dari pra-penelitian sampai skripsi ini selesai dan arahan serta masukan selama di Laboratorium Processing Semen.
9. **Hasrin, S.Pt., M.Si** yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk membantu penulis dalam penampungan semen di *Samata Integrated Farming System*.
10. Teman kelompok penelitian saya **Nurul Awalia Putri** dan **Sulhadawiya Kadir**, teman seperjuangan selama penelitian yang telah bersama-sama

selama kurang lebih 8 bulan bertukar pikiran dan masukan serta kerja sama menyelesaikan penelitian ini.

11. *Special thanks to* **Helmi Andania** dan **Ahmad Aswan**, teman/sahabat terbaik penulis yang selalu menemani, memberi semangat dan membantu penulis dalam hal apapun.

12. Teman-teman **Crane 2018**, **FOSIL**, **HIMSENA-UH**, dan **MAPERWA** yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah menemani dan mendukung penulis selama kuliah.

Dengan sangat rendah hati, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik serta saran pembaca sangat diharapkan demi perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan nantinya. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi kita semua. Aamiin Ya Robbal Aalamin. Akhir Qalam *Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*.

Penulis



Nur Izzatul Muminah

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang.....	1
Rumusan Masalah.....	4
Tujuan dan Kegunaan Penelitian.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	6
Sapi Bali	6
Spermatozoa	7
Metode <i>Swim Up</i> Spermatozoa	9
Tudung Akrosom Utuh (TAU)	10
Membran Plasma Utuh (MPU)	12
Pengaruh Waktu Sentrifugasi dan Inkubasi terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa	14
Hipotesis	16

METODE PENELITIAN	17
Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
Materi Penelitian.....	17
Prosedur Penelitian	18
Metode Pelaksanaan	19
Rancangan Penelitian.....	22
Parameter yang Diamati	23
Analisis Data.....	27
HASIL DAN PEMBAHASAN	28
Karakteristik Semen Segar Sapi Bali.....	28
Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i>	32
Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i>	38
KESIMPULAN DAN SARAN	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN.....	50
RIWAYAT HIDUP	68

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Kualitas Semen Segar Sapi Bali	28
2. Persentase Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i> ..	34
3. Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i> ..	39

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Sapi Bali	6
2. Spermatozoa	8
3. Diagram Alir Penelitian.....	18
4. Pengamatan Tudung Akrosom Hasil <i>Swim Up</i>	33
5. Pengamatan Membran Plasma Hasil <i>Swim Up</i>	38

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Inkubasi Terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i> dengan Menggunakan Medium Tyroide albumin <i>La ctate Pyruvate</i> (TALP)	50
2. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Lama Sentrifugasi dan Inkubasi Terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Hasil <i>Swim Up</i> dengan Menggunakan Medium <i>Brackett and Oliphant</i> (BO)	57
3. Hasil Perhitungan Uji T Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU)	64
4. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	67

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sub sektor peternakan merupakan salah satu sumber pertumbuhan bagi sektor pertanian dan perekonomian nasional pada umumnya (Aziz dkk., 2020). Industri peternakan sapi di Indonesia masih terbelang belum pesat, padahal permintaan terhadap sapi domestik sangat besar. Pada 2021, kebutuhan daging sapi diperkirakan mencapai hampir 700.000 ton atau setara dengan 3,6 juta ekor sapi. Namun produksi daging sapi dalam negeri hanya sebanyak 400.000 ton sapi per tahun. Tingginya permintaan kebutuhan daging tersebut membuat Indonesia memiliki ketergantungan terhadap impor daging sapi hampir 50% dari permintaan. Untuk mengatasi jumlah sapi yang masih kurang bisa dilakukan dengan optimalisasi reproduksi (Masitoh, 2021). Jenis sapi yang paling banyak dan cocok untuk dikembangkan di Indonesia adalah sapi Bali, karena memiliki kinerja reproduksi dan produksi daging yang baik.

Sapi Bali merupakan sapi asli Indonesia, keturunan Banteng (*Bos Sundaicus*) dan banyak dikembangkan di beberapa daerah di Indonesia. Ciri-ciri sapi Bali yaitu memiliki warna bulu merah bata, tidak memiliki punuk, bentuk badan kompak dan dada dalam (Susilawati, 2017). Sapi Bali mampu beradaptasi baik terhadap pengaruh lingkungan yang panas dan cukup toleran terhadap lingkungan dingin serta sangat efisien dalam penggunaan pakan dengan kualitas rendah. Peranan sapi Bali sangat penting dalam pembangunan subsektor peternakan, sehingga untuk meningkatkan produktivitas ternak sapi Bali perlu dilakukan sistem perkawinan secara inseminasi buatan (Hoesni, 2015).

Inseminasi Buatan (IB) merupakan bioteknologi reproduksi terapan yang dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan populasi, produktivitas, dan mutu genetik ternak (Isnaini dan Fazrien, 2020). Pelaksanaan dan penerapan teknologi inseminasi buatan di lapangan dimulai dengan langkah pemilihan pejantan unggul sehingga akan lahir anak-anak yang kualitasnya lebih baik dari induknya. Keberhasilan IB didukung oleh beberapa faktor yang sangat berpengaruh salah satunya yaitu kualitas semen pejantan yang akan digunakan. Diperlukan penanganan yang tepat agar semen dapat bertahan hidup sampai semen digunakan. Salah satu metode untuk menyeleksi spermatozoa pada semen yaitu dengan menggunakan metode *swim up*.

Swim Up adalah tata cara siapan yang memungkinkan spermatozoa motil dapat bermigrasi atau berenang dari lapisan bawah semen ke lapisan atas (WHO, 1999). *Swim up* dengan teknik layering merupakan medium kultur special yang diletakkan di bagian atas tabung untuk melakukan *washing semen*. Kualitas sperma yang baik akan berenang ke atas permukaan medium kultur selama 45-60 menit, sperma yang ada dipermukaan diambil dan dievaluasi kualitasnya. Tujuan dari *swim up* spermatozoa adalah untuk mendapatkan spermatozoa dengan motilitas yang terbaik, sehingga diperoleh semen kualitas baik sebelum diproses ke tahapan selanjutnya (Hikmawan dkk., 2016). Metode *swim up* ini menggunakan larutan TALP (*Tyroid Albumin Lactate Pyruvate*) dan BO (*Brackett and Oliphant*). Setelah dilakukan pencampuran semen dengan larutan *swim up* diamkan terlebih dahulu selama 10 menit agar semen yang baik berenang ke atas permukaan larutan. Adapun Keberhasilan metode *swim up* berkaitan erat dengan ketepatan waktu sentrifugasi dan inkubasi spermatozoa hasil *swim up*.

Sentrifugasi adalah metode yang digunakan untuk memisahkan plasma semen pada spermatozoa (Humairoh dan Karja, 2014). Sentrifugasi bertujuan untuk pencucian spermatozoa atau untuk memisahkan sel spermatozoa dengan medium pemisahannya. Sentrifugasi menyebabkan terjadinya gesekan secara mekanik antara sel spermatozoa dengan medium pemisah maupun spermatozoa dengan dinding tabung yang akan menyebabkan kerusakan struktur sel membran dan gangguan metabolisme (Ervandi dkk., 2013). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rasad dkk (2019) kecepatan dan lama sentrifugasi yang tidak tepat selama proses pemisahan spermatozoa dapat menyebabkan daya hidup dan motilitas spermatozoa menurun. Sentrifugasi metode *swim up* dengan waktu yang semakin lama akan merusak kualitas spermatozoa termasuk tudung akrosom dan membran plasma spermatozoa akibat gesekan mekanik yang terjadi selama proses sentrifugasi berlangsung.

Selain waktu sentrifugasi, waktu inkubasi yang tepat juga merupakan hal yang penting bagi ketahanan spermatozoa. Ondho (2020) menyatakan bahwa waktu inkubasi yang lebih lama menyebabkan proses metabolisme spermatozoa menjadi semakin meningkat. Proses metabolisme spermatozoa akan menghasilkan reaksi peroksidatif lipid apabila bereaksi dengan radikal bebas seiring dengan peningkatan lama inkubasi. Jika waktu inkubasi metode *swim up* yang terlalu lama dapat mengakibatkan bercampurnya kembali spermatozoa pada lapisan medium yang selain itu dapat terjadi kerusakan pada sel sperma sehingga menurunkan kualitasnya. Oleh karenanya, diperlukan waktu sentrifugasi dan inkubasi yang tepat pada metode *swim up* untuk menghasilkan spermatozoa dengan TAU dan MPU yang bagus. Hal inilah yang melatarbelakangi

dilakukannya penelitian mengenai pengaruh metode *swim up* dengan lama sentrifugasi dan inkubasi yang berbeda terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa sapi Bali.

Rumusan Masalah

Sapi Bali merupakan sapi lokal yang sangat perlu untuk dikembangkan karena memiliki daya produksi dan reproduksi yang baik serta adaptif terhadap lingkungan dan cekaman panas. Salah satu cara mengembangbiakkan bibit unggul sapi Bali yaitu dengan melakukan teknik Inseminasi Buatan (IB). Diperlukan penanganan yang tepat pada semen agar bisa menghasilkan spermatozoa dengan kualitas yang baik untuk dijadikan sebagai bahan IB. Salah satu metode yang dapat digunakan yaitu dengan menggunakan metode *swim up*. *Swim Up* adalah tata cara siapan yang memungkinkan spermatozoa motil dapat bermigrasi atau berenang dari lapisan bawah semen ke lapisan atas.

Waktu sentrifugasi dan inkubasi pada metode *swim up* merupakan faktor yang perlu diperhatikan agar dapat menghasilkan spermatozoa dengan kualitas terbaik, yaitu spermatozoa motil yang memiliki tudung akrosom yang utuh juga membran plasma yang utuh. Jika sentrifugasi dilakukan dengan waktu yang terlalu singkat maka dapat mengakibatkan proses pemisahan spermatozoa tidak maksimal karena spermatozoa dan plasma sperma belum terpisah dengan baik. Sebaliknya jika waktu sentrifugasi yang terlalu lama maka dikhawatirkan kualitas spermatozoa akan menurun karena terjadi gesekan mekanik yang terlalu lama. Adapun waktu inkubasi yang terlalu singkat kemungkinan besar akan menghasilkan spermatozoa dengan jumlah yang sedikit, sedangkan jika waktu inkubasi terlalu lama spermatozoa dapat tercampur kembali dalam lapisan media

dengan konsentrasi lain dan dapat merusak sel spermatozoa sehingga menurunkan kualitas spermatozoa. Sehingga perlu dilakukan penelitian bagaimana pengaruh lama waktu sentrifugasi dan inkubasi spermatozoa dengan metode *swim up* terhadap kualitas semen sapi Bali.

Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kualitas Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa sapi Bali hasil *swim up* menggunakan medium *TALP* dan *BO* dengan lama sentrifugasi dan inkubasi yang berbeda.

Adapun kegunaan dari penelitian ini terdiri atas kegunaan umum dan khusus. Kegunaan umum penelitian ini yaitu sebagai bahan acuan atau tambahan pengetahuan bagi instansi seperti inseminator mengenai perbedaan kualitas TAU dan MPU spermatozoa sapi Bali hasil *swim up* menggunakan medium *talp* dan *bo*. Sedangkan kegunaan khusus penelitian ini yaitu mengetahui waktu optimum dalam melakukan sentrifugasi dan inkubasi spermatozoa hasil *swim up*.

TINJAUAN PUSTAKA

Sapi Bali

Sapi Bali merupakan keturunan dari sapi liar yang disebut banteng (*Bos Bibos Bos* atau *Sondaicus*) yang telah mengalami proses penjinakan (domestikasi) berabad-abad lamanya. Sapi Bali termasuk tipe sapi pedaging dan pekerja. Sapi Bali memiliki bentuk tubuh menyerupai banteng, tetapi ukuran tubuh lebih kecil akibat proses domestikasi (Syarifuddin dan Hartono, 2019). Keunggulan sapi Bali diantaranya mutu daging berstestuktur lembut dan tidak berlemak. Daya reproduksinya bagus sehingga jenis sapi ini menjadi primadona di kalangan peternak sapi di Indonesia (Yulianto dan Saparinto, 2010).



Gambar 1. **Sapi Bali**
Sumber: Billiocta (2021)

Ciri-ciri sapi Bali yaitu memiliki warna bulu merah bata, warna ini tidak berubah pada yang betina, tetapi pada jantan dewasa berubah menjadi hitam. Sapi Bali tidak memiliki punuk, bentuk badan kompak dan dada dalam. Ciri khusus yang dimiliki sapi Bali murni, yaitu warna putih pada bagian belakang paha, pinggiran bibir atas, dan pada kaki bawah mulai tarsus dan carpus sampai batas pinggir atas kuku. Rambut pada ujung ekor berwarna hitam, dan rambut pada bagian dalam telinga berwarna putih. Adapun Pada bagian atas punggung terdapat garis belut (garis hitam) yang jelas (Susilawati, 2017).

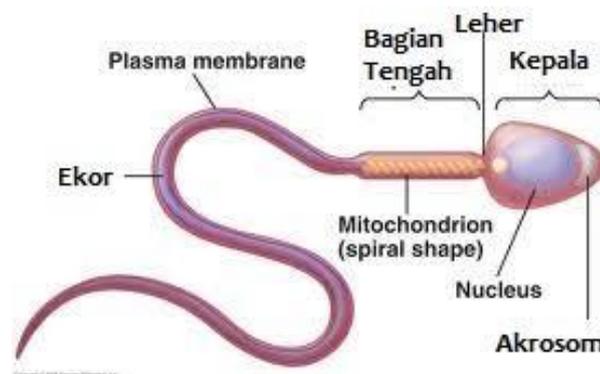
Sapi Bali sangat adaptif terhadap lingkungan dan cekaman panas, sangat produktif panen pedet dapat mencapai 80-85%, mampu mencerna pakan berkualitas rendah dengan persentase karkas 51-57%, harga jual lebih tinggi dan dapat digunakan untuk tenaga kerja. Kelemahan kecil kurang responsif dengan pakan berkualitas, tidak dapat dipelihara dengan domba, persilangan dengan *Bos Taurus* infertil (Kuswati dkk., 2020). Menurut Yulianto dan Saparinto (2010) daya reproduksi sapi Bali dan mudah beranak maka populasinya cukup tinggi. Jenis sapi ini cocok dikembangkan di dataran rendah, yaitu di tempat yang berketinggian di bawah 100 m dpl.

Sapi Bali dikembangkan, dimanfaatkan dan dilestarikan sebagai sumberdaya ternak asli yang mempunyai ciri khas tertentu dan mempunyai kemampuan untuk berkembang dengan baik pada berbagai lingkungan yang ada di Indonesia. Sapi Bali juga memiliki performa produksi yang cukup bervariasi dan kemampuan reproduksi yang tetap tinggi. Sehingga, sumber daya genetik sapi Bali merupakan salah satu aset nasional yang merupakan plasma nutfah yang perlu dipertahankan keberadaannya dan dimanfaatkan secara lestari sebab memiliki keunggulan yang spesifik. 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 (Hikmawaty dkk., 2014).

Spermatozoa

Spermatozoa merupakan sel reproduksi yang berasal dari jantan. Spermatozoa dibentuk dalam tubulus seminiferus yang berada di dalam testes. Tubulus ini berisi rangkaian sel yang kompleks yaitu perkembangan atau

pembelahan sel dari sel orminal sampai dengan terbentuknya spermatozoa (gamet jantan) (Susilawati, 2011). Menurut Harissatria dkk (2018) kerusakan spermatozoa yang terjadi pada proses spermatogenesis merupakan kendala utama dalam upaya mempertahankan kualitas semen. Untuk mengatasi hal tersebut, salah satu yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan beberapa senyawa ke dalam pengencer yang mampu memberikan perlindungan terhadap spermatozoa.



Gambar 2. **Spermatozoa dan bagian-bagiannya**

Sumber: Hisham (2021)

Struktur sperma terdiri atas kepala, bagian tengah, dan ekor. Bagian kepala mengandung nukleus yang ujungnya ditutupi akrosom dan mengandung enzim yang membantu sperma menembus sel telur. Pada bagian tengah terdapat mitokondria yang menyediakan energi bagi gerakan ekor untuk bergerak menuju sel telur (ovum). Setiap ejakulasi, semen dikeluarkan kurang lebih 2-5 ml yang setiap militernya mengandung sekitar 50-130 juta sperma (Wijaya dkk., 2016).

Sel spermatozoa dihasilkan oleh tubulus seminiferus atas pengaruh FSH. Menurut Munarto dkk (2016) didalam reproduksi diperlukan adanya standar kualitas spermatozoa. Hal ini diperlukan agar dapat memaksimalkan terjadinya fertilisasi atau keberhasilan munculnya individu baru. Spermatozoa yang baik memiliki viabilitas dan motilitas tinggi, abnormalitas yang rendah, serta keadaan tudung akrosom yang utuh dan membrane plasma yang tidak rusak.

Metode *Swim Up* Spermatozoa

Metode *swim up* adalah tata cara siapan yang memungkinkan spermatozoa motil bermigrasi/berenang dari lapisan bawah semen ke lapisan atas (Utomo dkk., 2021). Metode *swim up* merupakan medium kultur spesial yang diletakkan di bagian atas tabung untuk melakukan *washing semen*. Kualitas sperma yang baik akan berenang ke atas permukaan medium kultur, sperma dipermukaan diambil dan dievaluasi kualitasnya. Pemisahan spermatozoa dengan *swim up* didasarkan atas perbedaan kecepatan renang spermatozoa ke luar dari pellet menuju ke permukaan media (De Jounge dkk., 1997; Mirajuddin, 1997; Yuliani, 2000).

Tujuan dari *swim up* spermatozoa adalah untuk mendapatkan spermatozoa dengan motilitas yang terbaik, sehingga diperoleh semen kualitas baik sebelum diproses ke tahapan selanjutnya. Faktor lain seperti penyimpanan semen juga ikut mempengaruhi keberlangsungan daya hidup spermatozoa. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas semen dengan menggunakan cara *swim up* dalam medium yang isotonis (Hikmawan dkk., 2016).

Menurut Sariadi (2014) pemisahan spermatozoa dengan *swim up* dapat meningkatkan kualitas spermatozoa, angka kebuntingan dan rasio jenis kelamin anak jantan. Salah satu upaya pemisahan kromosom X dengan spermatozoa berkromosom Y dapat dilakukan dengan cara *swim up* dalam medium isotonis. Telah terbukti bahwa spermatozoa yang dipisahkan dengan dengan *swim up* diperoleh populasi spermatozoa berkromosom Y lebih banyak secara sangat nyata pada lapisan atas dibandingkan populasi spermatozoa berkromosom X. Tingkat keberhasilan pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada metode *swim up* sangat dipengaruhi oleh lama waktu *swim up*.

Metode yang diperlukan untuk pencucian spermatozoa harus mengandung zat makanan sebagai pengganti hilangnya plasma semen, serta mampu mempertahankan pH dan tidak bersifat racun terhadap spermatozoa. Medium *Bracket and Oliphant's* (BO) merupakan medium fisiologis yang dapat digunakan untuk pencucian spermatozoa. Medium BO banyak mengandung mineral, kalsium, magnesium, dan sodium klorida juga mengandung glukosa piruvat sebagai bahan nutrisi spermatozoa serta asam amino yang sangat dibutuhkan bagi kelangsungan hidup spermatozoa, sedangkan sodium piruvat dan glukosa dalam media BO sebagai sumber energi (Sari, 2006). Selain medium BO medium TALP (*Tyroid Albumin Lactate Pyruvate*) juga dapat digunakan dalam metode *swim upspermatozoa*. Walaupun komposisi medium BO mirip dengan TALP, tetapi pada medium TALP mengandung Na laktat, *hypotaurine* dan *epinephrine* yang ternyata efektif dalam meningkatkan kapasitas spermatozoa secara *in vitro* (Triwulaningsih dkk., 2002).

Tudung Akrosom Utuh (TAU)

Akrosom atau tudung akrosom adalah sebuah struktur dengan lapis ganda yang terletak diantara membran plasma dan bagian anterior dari kepala sel sperma (Wirenviona dan Riris, 2020). Tudung akrosom merupakan suatu struktur yang berbentuk topi yang menutupi dua per tiga bagian anterior kepala. Bagian akrosom meliputi bagian *apical segment* (membran terluar), *principal segment* (tudung akrosom) dan *equatorial segment*. Tudung akrosom memiliki enzim *hyaluronidase*, *akrosin*, dan *corona penetrating enzyme* (CPE) yang berfungsi untuk melisiskan zona pellusida sebagai jalur masuknya spermatozoa ke dalam sitoplasma ovum pada saat proses fertilisasi (Ondho, 2020).

Pengamatan tudung akrosom utuh diperlukan untuk menjamin keberhasilan dalam membuahi sel telur atau dengan kata lain merupakan faktor penting terjadinya fertilisasi. Hal ini disebabkan karena tudung akrosom berfungsi untuk melindungi enzim yang ada didalamnya sehingga proses fertilisasi dapat berjalan dengan baik (Cahyani dkk., 2020). Keutuhan akrosom dapat dengan mudah diperiksa secara *in vitro* menggunakan mikroskop fase kontras atau diperiksa dengan pewarna berbasis *fluorofor*. Pemeriksaan spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh, dapat dilakukan dengan pemaparan spermatozoa didalam larutan NaCl fisiologis yang mengandung formalin 1%. Tudung akrosom utuh ditunjukkan oleh ujung kepala spermatozoa yang berwarna hitam tebal apabila terpapar larutan tersebut (Puja dan Gunawan, 2020).

Faktor penyebab rendahnya TAU dapat diakibatkan karena faktor fisik akibat pengocokan pada saat proses pencampuran semen dengan medium pengencer, hal ini akan menyebabkan efek buruk terhadap keutuhan tudung akrosom akibat benturan antara spermatozoa dengan dinding tabung reaksi. Susilowati (2010) menyatakan bahwa kualitas tudung akrosom utuh yang rendah dapat disebabkan akibat pengaruh kimiawi dalam medium pengencer serta pengaruh mekanik seperti gesekan dengan partikel pengencer atau dengan dinding tabung. Selain itu, kerusakan tudung akrosom dapat berasal dari abnormalitas primer atau berasal dari kegagalan dalam proses spermatogenesis berupa aparati golgi dari spermatid yang tidak membentuk tudung akrosom (Ondho, 2020).

Kualitas tudung akrosom dari spermatozoa sangat mempengaruhi terjadinya proses kapasitasi dan reaksi akrosom. Reaksi akrosom merupakan proses pelepasan enzim penetrasi yang memungkinkan spermatozoa dapat

menembus zona pellusida dan membuahi oosit. Adapun yang dimaksud dengan kapasitas 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 (Moses, 2018; Susilawati, 2011).

Membran Plasma Utuh (MPU)

Membran Plasma Utuh (MPU) merupakan hal yang mutlak harus dimiliki spermatozoa yang baik karena membran plasma memegang peranan yang sentral dalam mengatur seluruh proses *biochemic* yang terjadi di dalam sel. Membran plasma merupakan bagian spermatozoa yang sangat berperan dalam proteksi organel-organel sel. Rusaknya membran plasma utuh biasanya disertai rusaknya organel-organel sel tudung akrosom utuh, sehingga menyebabkan keluarnya enzim-enzim yang diperlukan selama proses fertilisasi. Perlakuan penurunan suhu secara bertahap dapat berfungsi sebagai mempertahankan pengikatan selubung lipoprotein pada membran spermatozoa sehingga membran plasma tetap stabil saat melalui zona temperatur kritis. Peningkatan suhu akan menyebabkan kerusakan membran sel, sehingga metabolisme terganggu (Arvioges dkk., 2021).

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 (Isnaini, 2011; Cahya dkk., 2017; Wahjuningsih dkk., 2012).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan Handayani dkk (2015) spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh dan hidup ditandai dengan adanya pembengkakan kepala diikuti ekor berputar dengan pancaran warna terang. Spermatozoa yang memiliki membran plasma rusak dan hidup ditandai dengan ekor lurus dan tidak ada pembengkakan kepala dengan pancaran warna terang. Spermatozoa yang memiliki membran plasma rusak dan mati ditandai dengan ekor lurus tidak ada pembengkakan kepala dengan pancaran warna merah.

Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses metabolisme dan berhubungan dengan motilitas serta daya hidup spermatozoa yang dihasilkan. Metabolisme sel akan berlangsung baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh. Evaluasi terhadap spermatozoa dengan membran plasma yang utuh dapat diuji dengan menggunakan metode *hypoosmotic swelling* (HOS) test. Spermatozoa dengan membran yang masih utuh akan menahan cairan hipoosmotik di dalam sel, sehingga ekornya terlihat melingkar atau bengkok. Sedangkan spermatozoa dengan ekor yang lurus menunjukkan membran plasma telah mengalami kerusakan, karena tidak mampu menahan air yang masuk (Arsiwan dkk., 2014).

Pengaruh Waktu Sentrifugasi dan Inkubasi terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa

Sentrifugasi atau pencucian sperma adalah suatu metode penghilangan komponen plasma sperma (plasma semen) yang mengansung kolesterol dan unsur plasma sperma lainnya yang dapat mempengaruhi kualitas dan pembuahan. Gaya sentrifugal dari sentrifugasi memisahkan semen antara padatan (pelet) dan cairan (Indiah dan Wahjuningsih, 2010). Adapun inkubasi merupakan salah satu tahap untuk menentukan keutuhan membran plasma spermatozoa, oleh karena itu dibutuhkan waktu yang tepat dalam proses inkubasi. Proses inkubasi diketahui 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 sperma dalam menjaga dan mempertahankan kondisi fisiologis sperma untuk bertahan hidup (Yusrina dkk., 2018).

Menurut Susilowati (2010) kualitas tudung akrosom utuh yang rendah dapat disebabkan akibat pengaruh mekanik seperti gesekan dengan partikel pengencer atau dengan dinding tabung. Pernyataan ini dapat diketahui bahwa sentrifugasi akan mempengaruhi kualitas TAU. Selain waktu sentrifugasi, inkubasi dengan waktu yang kurang tepat juga akan merusak keutuhan Tudung Akrosom Utuh (TAU) spermatozoa.

Hasil penelitian Handayani dkk (2015) menyatakan bahwa persentase spermatozoa sapi Aceh sesudah pencucian dengan sentrifugasi lebih rendah dibandingkan spermatozoa kelompok sebelum maupun sesudah pencucian dengan

swim up, sedangkan persentase MPU spermatozoa setelah pencucian dengan *swim up* lebih tinggi dibandingkan sebelum pencucian. Menurunnya persentase spermatozoa sapi Aceh setelah perlakuan pencucian dengan sentrifugasi diduga akibat pengaruh kimiawi dan mekanik langsung gaya sentrifugasi seperti gesekan permukaan membran spermatozoa dengan dinding tabung selama proses pemisahan. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa penurunan persentase MPU spermatozoa sapi Aceh setelah pemisahan dengan sentrifugasi seiring dengan lama dan kecepatan sentrifugasi yang digunakan. Kondisi ini berkaitan dengan besarnya gesekan mekanik pada permukaan membran spermatozoa. Makin lama waktu dan kecepatan sentrifugasi yang digunakan makin besar gesekan mekanik yang terjadi pada membran maka makin besar pula kerusakan membran plasma yang terjadi pada spermatozoa. Makin tinggi kerusakan membran plasma spermatozoa akan menyebabkan persentase spermatozoa yang memiliki membrane plasma utuh makin menjadi menurun (Dasrul, 2005).

Lama waktu inkubasi berpotensi untuk menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa akibat adanya proses kimiawi (Yusrina dkk., 2018). Peningkatan jumlah konsumsi oksigen pada sel sperma dapat meningkatkan intensitas peroksidasi lipid pada sel serta pembentukan radikal hidrogen peroksida (H_2O_2) dan malondialdehid pada sel. Peroksidasi lipid yang berkepanjangan dapat merusak membran plasma spermatozoa (Else dan Kraffe, 2015). Disamping itu, kerusakan MPU dapat terjadi saat proses sentrifugasi. Sentrifugasi menyebabkan terjadinya pergesekan secara mekanik antara sel spermatozoa dengan medium pemisah maupun spermatozoa dengan dinding tabung yang akan menyebabkan kerusakan struktur sel membran dan gangguan metabolisme (Ervandi dkk., 2013).

Hipotesis

Diduga bahwa lama waktu sentrifugasi dan inkubasi spermatozoa dengan metode *swim up* berpengaruh terhadap Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa sapi Bali.