

SKRIPSI

**PENGARUH LAMA INKUBASI TERHADAP PERSENTASE
MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) DAN TUDUNG
AKROSOM UTUH (TAU) SPERMATOZOA
SAPI BALI HASIL *SEXING***

Disusun dan diajukan oleh

**A. ANDRI TAMIYADI
I011171504**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

SKRIPSI

**PENGARUH LAMA INKUBASI TERHADAP PERSENTASE
MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) DAN TUDUNG
AKROSOM UTUH (TAU) SPERMATOZOA
SAPI BALI HASIL *SEXING***

Disusun dan diajukan oleh

**A. ANDRI TAMIYADI
I011171504**

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

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase
Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung
Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa
Sapi Bali Hasil *Sexing***

Disusun dan diajukan oleh

**A. ANDRI TAMIYADI
I011 17 1504**

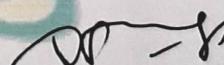
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Peternakan
Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin
Pada tanggal 01 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


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


Prof. Dr. Ir. Syamsuddin Garantiang, M.Sc
NIP. 19510707 197602 1 001

Ketua Program Studi,



Dr. Ir. Mhd. Rulwan, S.Pt., M.Si., IPU
NIP. 19760616200003 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : A. Andri Tamiyadi
NIM : I011 17 1504
Program Studi : Peternakan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali Hasil *Sexing*

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, Juni 2021

Yang menyatakan



A. Andri Tamiyadi

ABSTRAK

A. ANDRI TAMİYADI. I011 17 1504. Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali Hasil *Sexing*. Pembimbing Utama: **Muhammad Yusuf** dan Pembimbing Anggota: **Syamsuddin Garantjang**.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi terhadap persentase membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa sapi Bali hasil *sexing*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan (P0= sebelum inkubasi, P1= inkubasi 45 menit, P2= inkubasi 60 menit, dan P3= inkubasi 75 menit) dengan lima kali ulangan (penampungan semen). Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu persentase MPU dan TAU. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama inkubasi berpengaruh nyata terhadap persentase MPU ($P < 0.05$) pada P3 (inkubasi 75 menit). Persentase MPU pada perlakuan kontrol (P0)= $91,87 \pm 3,67$, untuk spermatozoa hasil *sexing* pada lapisan atas yang diperkirakan mengandung lebih banyak spermatozoa X diperoleh P1= $91,6 \pm 2,69$, P2= $88,18 \pm 1,99$, dan P3= $83,57 \pm 3,81$. Pada lapisan bawah yang diperkirakan mengandung lebih banyak spermatozoa Y diperoleh P1= $89,67 \pm 3,18$, P2= $88,12 \pm 2,58$, dan P3= $82 \pm 5,71$. Persentase TAU spermatozoa sapi Bali hasil *sexing* dipengaruhi oleh lama waktu inkubasi ($P < 0.05$). Persentase TAU pada perlakuan kontrol (P0)= $96,65 \pm 2,01$, untuk spermatozoa hasil *sexing* pada lapisan atas yang diperkirakan mengandung lebih banyak spermatozoa X diperoleh P1= $90,62 \pm 3,11$, P2= $90,34 \pm 4,78$, dan P3= $87,43 \pm 6,35$. Pada lapisan bawah yang diperkirakan mengandung lebih banyak spermatozoa Y diperoleh P1= $91,13 \pm 4,33$, P2= $86,24 \pm 6,13$, dan P3= $85,69 \pm 5,03$. Dapat disimpulkan bahwa lama waktu inkubasi selama proses *sexing* menyebabkan terjadinya penurunan persentase MPU dan TAU dari spermatozoa. Namun demikian, angka penurunan tersebut masih cukup baik untuk spermatozoa yang akan digunakan dalam proses selanjutnya.

Kata kunci: Inkubasi, MPU, *Sexing*, Spermatozoa, dan TAU.

ABSTRACT

A. ANDRI TAMİYADI. I011 17 1504. Effect of Incubation Time on the Percentages Plasma Membrane Integrity (MPU) and Acrosome Integrity (TAU) of Bali Bull Sperm Sexing. Supervised by **Muhammad Yusuf** and **Syamsuddin Garantjang**.

This study aimed to determine the effect of incubation time on plasma membrane integrity (MPU) and acrosome integrity (TAU) of Bali bull sexed sperms. This study was using a randomized complete design with four different treatments (P0= before incubation, P1= 45 minutes incubation, P2= 60 minutes incubation, and P3= 75 minutes incubation) with five replications (semen collection). The parameters observed in this study were the percentage of MPU and TAU. The result of this study showed that the duration of incubation significantly affected the percentage of MPU ($P < 0.05$) at P3 (75 minutes incubation). MPU percentage in the control treatment (P0)= 91.87 ± 3.67 , for the sexed sperms on the top layer which was estimated to contain more X sperms obtained P1= 91.6 ± 2.69 , P2= 88.18 ± 1.99 , and P3= 83.57 ± 3.81 , respectively. At the bottom layer which was estimated to contain more Y sperms obtained P1= 89.67 ± 3.18 , P2= 88.12 ± 2.58 , and P3= 82 ± 5.71 , respectively. The percentage of TAU of Bali bull sexed sperms was influenced by the different incubation time ($P < 0.05$). The percentage of TAU in the control (P0)= 96.65 ± 2.01 , for the sexed sperms on the top layer which was estimated to contain more X sperms obtained P1= 90.62 ± 3.11 , P2= 90.34 ± 4.78 , and P3= 87.43 ± 6.35 , respectively. At the bottom layer which was estimated to contain more Y sperms obtained P1= 91.13 ± 4.33 , P2= 86.24 ± 6.13 , and P3= 85.69 ± 5.03 , respectively. It can be concluded that the duration of incubation during sexing caused a decrease in the percentage of MPU and TAU of the sperms. However, the reduction rate was still quite good for the sperms to be used in the next process.

Keywords: incubation, MPU, sexing, sperm, and TAU.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu wata'ala* atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi dengan judul **Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali Hasil *Sexing*** dapat diselesaikan.

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. **Prof. Ir. Muhammad Yusuf, S.Pt., Ph.D., IPU** selaku pembimbing utama serta **Prof. Dr. Ir. Syamsuddin Garantjang, M.Sc.** selaku pembimbing anggota yang dengan senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam mengarahkan dan membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. **Prof. Dr. Ir. Herry Sonjaya, DEA, DES** dan **Dr. Hasbi, S.Pt., M.Si.** selaku penguji yang telah memberikan arahan dan masukan dalam proses perbaikan tugas akhir ini.
3. **Prof. Dr. Ir. Lellah Rahim, M.Sc.** 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.

4. **Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A.** selaku Rektor Universitas Hasanuddin, penulis ucapkan banyak terima kasih atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan sarjana (S1) pada program studi Peternakan.
5. **Dr. Ir. Siti Nurlaelah, S.Pt., M.Si., IPM** selaku penasehat akademik penulis yang telah memberikan nasehat-nasehat selama berkuliah.
6. **Hasrin, S.Pt., M.Si.** yang telah membantu dalam penampungan semen di *Samata Integrated Farming System*.
7. **Ir. Sahiruddin, S.Pt., M.Si., IPM, Masturi M., S.Pt., M.Si., Athhar Manabi Diansyah, S.Pt., dan Milawati, S.P.** yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium Semen Processing Unit.
8. **Zahra Jinan Fadilla dan Indra Wahyudi Syarif** yang merupakan tim dalam penelitian ini, **Rahmat Munandar, Keluarga Cemara, Adek Kakak, Griffin17**, serta semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir.
9. Dan terkhusus kepada kedua orang tua tercinta **Ir. M. Nuryadi, M.M. dan St. Rahmawati** dengan peran yang luar biasa sepenuh hati memberikan dukungan moril dan spiritual serta ketulusan do'anya sehingga penulis dapat menyelesaikan studi S1 ini dengan baik.

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

Makassar, April 2021

A. Andri Tamiyadi

DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	3
<i>Sexing</i> Spermatozoa	3
Membran Plasma Utuh (MPU)	5
Tudung Akrosom Utuh (TAU).....	8
METODE PENELITIAN.....	12
Waktu dan Tempat	12
Materi Penelitian	12
Rancangan Penelitian	12
Prosedur Penelitian.....	13
Metode Pelaksanaan.....	14
Parameter yang Diamati.....	16
Analisis Data	20
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
Karakteristik Semen Segar Sapi Bali	21
Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	24
Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	27
KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	37
RIWAYAT HIDUP.....	47

DAFTAR TABEL

No.	Halaman
1. Kualitas Semen Segar Sapi Bali.....	21
2. Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> ..	25
3. Persentase Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> ...	28

DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
1. Diagram alir proses <i>sexing</i> spermatozoa.....	13
2. Pengamatan Membran Plasma Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	24
3. Pengamatan Tudung Akrosom Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i>	27

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Halaman
1. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) Lapisan Atas (Spermatozoa X)	37
2. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Membran Plasma Utuh (MPU) Lapisan Bawah (Spermatozoa Y)	39
3. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Tudung Akrosom Utuh (TAU) Lapisan Atas (Spermatozoa X)	41
4. Hasil Analisis Ragam Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Tudung Akrosom Utuh (TAU) Lapisan Bawah (Spermatozoa Y)	43
5. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian.....	45

PENDAHULUAN

Sapi Bali (*Bos sondaicus*) merupakan sapi asli Indonesia yang populasinya cukup besar dengan wilayah penyebaran yang luas. Semakin tingginya permintaan akan daging dan ternak sapi seharusnya mendorong pihak-pihak terkait untuk memperbaiki produktivitas dan mengelola sapi Bali sebaik-baiknya. Sapi Bali memiliki keunggulan dalam beradaptasi dengan lingkungan yang memiliki ketersediaan pakan berkualitas rendah, juga memiliki fertilitas yang tinggi (Handiwirawan dan Subandriyo, 2004).

Inseminasi Buatan (IB) merupakan bioteknologi reproduksi terapan yang dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan populasi, produktivitas, dan mutu genetik ternak. Teknologi Inseminasi Buatan (IB) dianggap sebagai cara untuk meningkatkan populasi dan produktivitas ternak yang paling berhasil. Hal tersebut disebabkan karena Inseminasi Buatan (IB) lebih dapat diterima secara luas oleh peternak serta didukung dengan biaya pelaksanaannya yang relatif murah dan terjangkau (Isnaini dan Fazrien, 2020; Susilawati, 2014).

Namun, perkembangan teknologi dalam bidang reproduksi ternak tidak hanya terbatas pada peningkatan angka kelahiran melalui Inseminasi Buatan (IB). Namun, dapat pula digunakan untuk menghasilkan pedet dengan jenis kelamin sesuai dengan yang diinginkan. Hal tersebut dapat dilakukan melalui teknologi *sexing* spermatozoa. *Sexing* spermatozoa merupakan proses pemisahan spermatozoa yang berkromosom X dan Y menggunakan medium pemisah (Luzardin dkk., 2020).

Berbagai metode *sexing* telah dilakukan untuk memisahkan spermatozoa berkromosom X dan Y. Salah satu metode yang dianggap cukup sederhana

dilakukan adalah metode sedimentasi putih telur. *Sexing* dengan sedimentasi putih telur didasarkan pada perbedaan motilitas antara spermatozoa X dan Y. Prinsip metode ini adalah membuat medium yang berbeda konsentrasinya, sehingga spermatozoa yang motilitasnya tinggi (Y) akan mampu menembus konsentrasi medium yang lebih pekat, sedangkan spermatozoa X akan tetap berada pada medium yang mempunyai konsentrasi rendah (Sianturi dkk., 2004).

Keberhasilan proses *sexing* spermatozoa X dan Y dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu lama proses inkubasi. Waktu inkubasi yang terlalu singkat akan menghasilkan proporsi spermatozoa X dan Y yang kurang akurat, sedangkan waktu inkubasi yang terlalu lama dapat mengakibatkan peningkatan kerusakan pada spermatozoa sehingga menurunkan kualitasnya. Proses inkubasi diketahui dapat menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa akibat adanya proses kimiawi (Yusrina dkk., 2018).

Lama waktu inkubasi juga mempengaruhi kualitas tudung akrosom dari spermatozoa. Spermatozoa hasil *sexing* harus mampu menjaga keutuhan tudung akrosomnya agar reaksi akrosom dapat terjadi pada waktu yang tepat dengan cara melepaskan enzim guna membantu spermatozoa dalam menembus zona pellucida (Neild *et al.*, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama inkubasi terhadap kualitas Membran Plasma Utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) spermatozoa sapi Bali (*Bos sondaicus*) hasil *sexing*, sehingga semen hasil *sexing* tersebut tidak hanya bertujuan untuk memaksimalkan penentuan jenis kelamin ternak, melainkan menjaga kemampuan fertilisasi yang baik dari spermatozoa hasil *sexing*.

TINJAUAN PUSTAKA

Sexing Spermatozoa

Sexing spermatozoa adalah salah satu bioteknologi reproduksi yang dikembangkan dengan menghasilkan kemajuan yang cukup berarti. Pemanfaatan bioteknologi dibidang reproduksi ternak bertujuan untuk mengatasi masalah subsektor peternakan dalam upaya meningkatkan produktivitas ternak untuk skala peternakan rakyat maupun komersial (Afiati, 2004). Penerapan bioteknologi reproduksi khususnya untuk *sexing* spermatozoa dengan memisahkan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y merupakan alternatif yang dilakukan agar dapat memprediksi jenis kelamin ternak yang akan dilahirkan, sehingga dapat disesuaikan dengan tujuan pemeliharaannya (Bhalakiya *et al.*, 2018).

Pemanfaatan *sexing* atau pemisahan spermatozoa X dan Y merupakan pilihan tepat untuk mendukung peran Inseminasi Buatan (IB) dalam rangka meningkatkan efisiensi usaha peternakan. Berbagai metode *sexing* yang telah dilakukan antara lain metode sedimentasi, kolom albumin, sentrifugasi gradien densitas percoll, electophoresis, H-Y antigen, *flow cytometry*, dan filtrasi dengan sephadex. Metode *sexing* yang mudah diaplikasikan yaitu separasi dengan albumin (Hafez and Hafez, 2000).

Tujuan dilakukannya *sexing* yaitu untuk mengendalikan jenis kelamin ternak dengan cara memisahkan spermatozoa kromosom X dan Y sebelum ternak tersebut lahir. Dengan adanya *sexing*, diharapkan dapat mengubah proporsi alamiah jantan (50) : betina (50) yang akan dilahirkan. Pemisahan kromosom ini salah satunya dapat dilakukan dengan metode sedimentasi dengan albumen telur (putih telur). Metode ini didasarkan atas perbedaan motilitas spermatozoa X dan

Y sebagai implikasi dari perbedaan massa, serta ukuran spermatozoa Y lebih kecil dibandingkan spermatozoa X, sehingga sperma Y lebih cepat bergerak atau mempunyai daya penetrasi yang tinggi untuk masuk ke suatu larutan seperti albumen telur (putih telur) (Akhdiat, 2012).

Menurut Takdir dkk. (2016) putih telur dipilih sebagai media *sexing* karena dapat dengan mudah dibuat fraksi atau medium pemisah dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Kandungan protein yang tinggi pada putih telur juga bermanfaat sebagai sumber energi bagi spermatozoa pada saat proses pemisahan berlangsung. Secara ekonomis, putih telur lebih efisien dan menguntungkan apabila digunakan sebagai media *sexing* dibanding bahan lainnya karena harganya yang murah dan terjangkau serta mudah didapatkan.

Namun, *sexing* atau pemisahan spermatozoa menggunakan metode ini memiliki kelemahan yaitu menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi membran spermatozoa (Kusumawati, 2015). Oleh sebab itu, dibutuhkan pengencer yang dapat melindungi spermatozoa selama proses *sexing* dengan metode sedimentasi putih telur agar kualitasnya tetap baik (Susilawati, 2002). Andromed sebagai pengencer, mengandung lesitin yang berasal dari ekstrak kacang kedelai yang berperan penting pada proses semen cair. Dilaporkan bahwa Andromed mengandung lesitin yang cukup tinggi, yakni sebanyak 6,76 g/100 ml (Ervandi dkk., 2013). Hasil penelitian yang dilakukan Aku (2005) menunjukkan bahwa Andromed juga mengandung protein, karbohidrat, mineral (natrium, kalsium, kalium, magnesium, klorida, fosfor), asam sitrat, gliserol, lemak, dan glyceryl phosphoryl choline (GPC). Seluruh bahan-bahan yang terkandung didalam pengencer semen Andromed tersebut merupakan bahan-bahan yang telah umum

digunakan dalam membuat pengencer semen selama ini. Rata-rata kualitas semen yang menggunakan pengencer Andromed lebih baik dibandingkan dengan pengencer tris-kuning telur.

Hasil penelitian yang dilaporkan oleh Mardiyah (2006) terhadap *sexing* spermatozoa yang menggunakan albumin sebagai media pemisah dengan konsentrasi albumin 10% pada fraksi atas dan 30% pada fraksi bawah memperoleh hasil yaitu spermatozoa X:Y sekitar 73,20% : 26,80% pada fraksi atas dan 31,14% : 68,86% pada fraksi bawah. Demikian juga dari hasil penelitian Akhdiat (2012) menunjukkan bahwa pada lapisan bawah dengan konsentrasi putih telur 30% diperoleh spermatozoa Y sekitar 63,58%.

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 dkk., 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 oophorus (Moce dan Graham, 2008; Matrinez, 2003).

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).

Lama waktu inkubasi berpotensi untuk menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa akibat adanya proses kimiawi (Yusrina dkk., 2018). Hal tersebut disebabkan karena selama proses inkubasi, spermatozoa membutuhkan lebih banyak energi untuk bergerak dan menembus medium *sexing*. Energi tersebut dapat dihasilkan dari proses metabolisme sel baik secara aerob maupun anaerob. Sehingga, meningkatnya kebutuhan energi akan menyebabkan peningkatan metabolisme sel, yang pada akhirnya juga menyebabkan peningkatan konsumsi oksigen bagi spermatozoa (Anwar dkk., 2019). 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. Adanya peroksidasi lipid yang berkepanjangan dapat merusak membran plasma spermatozoa (Else and Kraffe, 2015).

Disamping itu, kerusakan membran plasma spermatozoa juga dapat terjadi saat proses sentrifugasi. Sentrifugasi merupakan tahap lanjut dari proses inkubasi dengan tujuan untuk pencucian 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. Penurunan kualitas spermatozoa setelah sexing bisa mencapai 20% (Ervandi dkk., 2013; Berg *et al.*, 2005).

HOST (*Hypoosmotic Swelling Test*) adalah metode khusus untuk menguji keutuhan membran plasma spermatozoa. HOST (*Hypoosmotic Swelling Test*) mulai diperkenalkan pada tahun 1963 oleh Drevious 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 *et al.*, 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 dalam sel dan menyebabkan kebengkakan, fenomena inilah yang dapat diamati dan diukur untuk menguji integritas membran plasma. Fenomena ini lebih mudah diamati pada ekor spermatozoa daripada kepala karena membran plasma yang mengelilingi ekor tampak lebih longgar (Vazquez *et al.*, 1997).

Spermatozoa dengan ekor melingkar menunjukkan bahwa membran plasma spermatozoa tersebut masih utuh (Ahmad *et al.*, 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 (Uysal and Korkmaz, 2004).

Membran plasma spermatozoa dapat dilindungi oleh lesitin yang terdapat didalam pengencer Andromed (Aires *et al.*, 2003). Mekanisme kerja lesitin dalam mempertahankan kualitas spermatozoa yaitu lesitin pada pengencer berikatan dengan membran plasma (menyelimuti membran plasma) sehingga mampu mempertahankan kestabilan membran (Purwoistri dkk., 2013).

Hasil penelitian Anwar dkk. (2015) menunjukkan bahwa rata-rata persentase membran plasma utuh semen segar sapi Bali yaitu $72,00 \pm 2,71$ %. Penelitian lain yang dilakukan oleh Ervandi dkk. (2013) terhadap integritas membran plasma semen segar dari sapi Limousin yaitu mencapai $88,59 \pm 3,74$ %. Setelah dilakukan *sexing* dengan metode sedimentasi putih telur menggunakan pengencer Andromed dan diinkubasi selama 20 menit, diperoleh hasil bahwa persentase membran plasma pada lapisan atas yaitu $87,60 \pm 4,47$ % dan pada lapisan bawah yaitu $80,85 \pm 7,45$ %.

Tudung Akrosom Utuh (TAU)

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. Tudung akrosom adalah salah satu variabel penting dari kualitas spermatozoa yang memiliki peranan sentral dalam menentukan keberhasilan fertilisasi, sehingga harus tetap terjaga keutuhannya hingga terjadi kapasitasi. 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 bisa dapat dilepaskan saat sperma sudah mencapai ovum di dalam organ reproduksi betina. 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 pada rusaknya tudung akrosom utuh spermatozoa. Kualitas tudung akrosom utuh yang rendah dapat disebabkan akibat pengaruh kimiawi dalam media 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 aparatus golgi dari spermatid yang tidak membentuk tudung akrosom (Ondho, 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 (Moses, 2018; 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 inkubasi yang lama selama tahapan *sexing* spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan terhadap tudung akrosom. 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). Spermatozoa yang belum berkapasitasi menandakan bahwa spermatozoa tersebut memiliki membran plasma yang masih utuh. Membran plasma yang utuh dan normal tidak mengalami perubahan distribusi dan komposisi lipid dan fosfolipid penyusun membran plasma, dengan kata lain proses metabolisme sel tidak tertanggu (Felix *et al.*, 2004).

Spermatozoa mamalia kaya akan asam lemak tidak jenuh dan bersifat sangat mudah terkena ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang dapat mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa dan meningkatkan kerusakan morfologi yang berpengaruh terhadap kapasitas sperma dan reaksi akrosom (Sikka, 1996). 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.

Menurut Kusumawati (2015), hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa *sexing* spermatozoa dapat meningkatkan kapasitas dan reaksi akrosom. Selain pengaruh kimiawi dari lama waktu inkubasi, proses sentrifugasi juga dapat menyebabkan gesekan antar spermatozoa dengan medium pemisah yang

mengakibatkan kerusakan struktur membran dan gangguan metabolisme (Susilawati, 2001).

Kolesterol merupakan salah satu komponen penyusun membran spermatozoa yang berfungsi sebagai agen kapasitasi. Jumlah dan pendistribusian kolesterol pada membran spermatozoa mengindikasikan tahapan kapasitasi (Visconti *et al.*, 1999). Hilangnya kolesterol dari membran plasma spermatozoa dan terjadinya kerusakan membran akibat sentrifugasi dapat mempengaruhi integritas membran yang menyebabkan perubahan pada sistem regulasi ion-ion. Transportasi ion kalsium (Ca^{2+}) ke dalam dan ke luar sel menjadi tidak normal, sehingga menyebabkan konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) intraseluler meningkat (Berg, 2005). Peningkatan ion kalsium (Ca^{2+}) intraseluler ini akan memicu terjadinya kapasitasi (Susilawati, 2011). Namun, menurut Dow and Bavister (1989), albumin dapat mengontrol kadar kolesterol dan ion yang berfungsi menstabilkan membran plasma spermatozoa sehingga diharapkan mampu mencegah terjadinya kapasitasi dan reaksi akrosom yang lebih awal.

Hasil penelitian Anwar dkk. (2015) menunjukkan bahwa rata-rata persentase tudung akrosom utuh semen segar sapi Bali yaitu $68,25 \pm 3,20$ %. Penelitian lain yang dilakukan oleh Ervandi dkk. (2013) terhadap keutuhan tudung akrosom yang ditandai dengan belum terjadinya kapasitasi terhadap spermatozoa dari semen segar sapi Limousin yaitu $87,55 \pm 3,79$ %. Setelah dilakukan *sexing* dengan metode sedimentasi putih telur menggunakan pengencer Andromed dan diinkubasi selama 20 menit, diperoleh hasil bahwa persentase membran plasma pada lapisan atas yaitu $87,60 \pm 4,18$ % dan pada lapisan bawah yaitu $83,71 \pm 6,31$ %.