

**SKRIPSI**

**EFEKTIFITAS SUHU THAWING TERHADAP KEADAAN  
MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) DAN TUDUNG  
AKROSOM UTUH (TAU)  
SPERMATOZOA SAPI BALI**

Oleh :

**ARVIOGES**  
**160102005**



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM KUANTAN SINGINGI  
TELUK KUANTAN  
2020**

**EFEKTIFITAS SUHU THAWING TERHADAP KEADAAN  
MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) DAN TUDUNG  
AKROSOM UTUH (TAU)  
SPERMATOZOA SAPI BALI**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**ARVIOGES  
160102005**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Peternakan**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM KUANTAN SINGINGI  
TELUK KUANTAN  
2020**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ISLAM KUANTAN SINGINGI**

Kami dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang ditulis oleh:

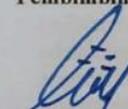
**ARVIOGES**

Efektifitas Suhu Thawing Terhadap Keadaan Membran Plasma Utuh (MPU) Dan Tudung  
Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali

Diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana peternakan

**MENYETUJUI**

**Pembimbing I**

  
**Pajri Anwar S.Pt M.Si**  
NIDN:1020038801

**PembimbingII**

  
**Jivanto S.Pt M.Si**  
NIDN. 1023108701

**Tim penguji**

**Nama**

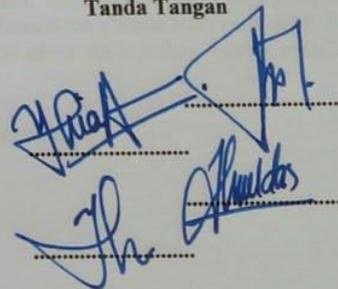
**Tanda Tangan**

**Ketua** Mashadi, S.P.,M.Si

**Skretaris** Yoshi Lia Anggraini S.Pt, M.Si

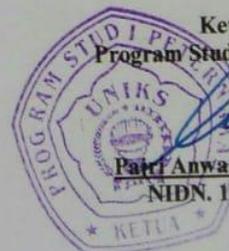
**Anggota** Imelda Siska S.Pt, M.P

**Anggota** Infitria S.Pt, M.Si



**MENGETAHUI**

  
**Dekan  
Fakultas Pertanian**  
**Mashadi, S.P.,M.Si**  
NIDN, 1025087401

  
**Ketua  
Program Studi Peternakan**  
**Pajri Anwar, S.Pt.,M.Si**  
NIDN. 1020038801

**Tanggal lulus: 05 september 2020**

**EFEKTIFITAS SUHU THAWING TERHADAP KEADAAN MEMBRAN  
PLASMA UTUH (MPU) DAN TUDUNG AKROSOM UTUH (TAU)  
SPERMATOZOA SAPI BALI**

Arvioges, di bawah bimbingan  
Pajri Anwar S.Pt, M.Si. dan Jiyanto S.Pt, M.Si.  
Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian  
Universitas Islam Kuantan Singingi, Teluk Kuantan 2020

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu *thawing* terhadap nilai livabilitas membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa sapi bali. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Dasar Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi pada bulan juli 2020. Parameter yang diamati adalah livabilitas, membran plasma utuh (MPU) dan tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa sapi bali. Sampel yang digunakan 15 straw sapi bali Penelitian ini dilakukan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 5 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan yang digunakan berupa suhu 24°C, 28°C, 32°C, 36°C, dan 38°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu *thawing* pada suhu 32°C dapat mempertahankan livabilitas ( $98,17 \pm 2,64$ ) dan tudung akrosom utuh ( $98,8 \pm 31,94$ ) serta mempertahankan membran plasma utuh pada suhu 24°C yaitu ( $59,50 \pm 22,96$ ). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan terbaik pada suhu 32°C.

**Kata kunci :** *Sapi bali, spermatozoa, livabilitas, MPU, TAU.*

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kehadiran Allah subhanahu wataala yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul “Efektifitas Suhu Thawing Terhadap Keadaan Membran Plasma Utuh (MPU) Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali”, sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana peternakan pada program studi peternakan Universitas Islam Kuantan Singingi Teluk Kuantan. Shalawat dan salam tak lupa saya tuturkan pada Nabi Muhammad SAW sebagai suri tauladan ummat manusia.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimah kasih kepada bapak Pajri anwar S.Pt, M.Si selaku pembimbing I dan bapak Jiyanto S.Pt, M.Si selaku pembimbing II dan juga kepada dosen penguji yaitu ibuk Infitria S.Pt, M.Si ibuk Imelda Siska S.Pt, M.P dan ibuk Yoshi Lia Anggraini S.Pt, M.Si yang telah membantu penulis hingga penulis bisa menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan terima kasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan untuk kesempurnaan tulisan ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Teluk Kuantan, September 2020

penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Sapi bali.....	5
2.2 Ekuilibbrasi dan Pembekuan Semen Beku.....	6
2.3 Semen beku.....	7
2.4 Thawing.....	7
2.5 Motilitas Spermatozoa .....	8
2.6 Membran Plasma Utuh.....	9
2.7 Tudung Akrosom Utuh.....	9
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	12
3.2 Materi Penelitian.....	12
3.3 Metode Penelitian.....	12
3.4 Prosedur Penelitian.....	13
3.5 Parameter yang Diamati.....	15
3.6 Analisi Data.....	16
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Penilaian Livabilitas .....	17
4.2 Penilaian Membran Plasma Utuh.....	20
4.3 Penilaian Tudung Akrosom Utuh.....	23
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	27
5.2 Saran.....	27
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	28
<b>LAMPIRAN</b> .....	32
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	40

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Tabel Analisis Ragam (Anova) Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) .....	16
2. Persentase Hasil Livabilitas Terhadap Suhu Thawing yang Berbeda.....	17
3. Persentase Hasil Membran Plasma Utuh pada Suhu Thawing yang Berbeda...	20
4. Persentase Hasil Tudung Akrosom Utuh pada Suhu Thawing yang Berbeda..	23

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Livabilitas Spermatozoa.....	18
2. Grafik livabilitas.....	18
3. Membran Plasma Utuh.....	21
4. Grafik membran plasma utuh.....	22
5. Tudung Akrosom Utuh.....	24
6. Grafik tudung akrosom utuh.....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Tabel Livabilitas.....	32
2. Tabel Membran Plasma Utuh.....	34
3. Tabel Tudung Akrosom Utuh.....	36
4. Dokumentasi Penelitian.....	37

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Keberhasilan suatu program kegiatan Inseminasi Buatan (IB) pada ternak tidak hanya tergantung pada kualitas dan kuantitas semen yang diejakulasikan seekor pejantan, tetapi tergantung juga kepada kesanggupan untuk mempertahankan kualitas dan memperbanyak volume semen tersebut untuk beberapa saat lebih lama setelah ejakulasi sehingga lebih banyak betina akseptor yang akan diinseminasi.

Mempertahankan kualitas semen dan memperbanyak hasil sebuah ejakulasi dari pejantan unggul adalah teknologi bioteknologi reproduksi salah satunya dengan melakukan pengenceran semen menggunakan beberapa bahan pengencer. Biotek media bahan pengencer bahan pengencer harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan, sperma dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun, menjadi penyanggah bagi sperma, dapat melindungi sperma dari *cold choc* (Anwar, *et al.*, 2014).

Kerusakan membran selama pembekuan spermatozoa berhubungan erat dengan komposisi asam lemak membran yang bersangkutan (Situmorang, 2002). Spermatozoa dari spesies yang mempunyai rasio asam lemak tak jenuh : asam lemak jenuh yang tinggi pada fosfolipid membran cenderung lebih sensitif terhadap cekaman dingin. Molekul-molekul lipid pada membran sel tersusun dari tiga jenis yakni fosfolipid, kolesterol dan glikolipid. Kolesterol merupakan komponen utama membran plasma. Kerentanan terhadap cekaman dingin juga berhubungan dengan melonggarnya ikatan komponen penyusun membran sel

berupa fosfolipid, lecithin dan karbohidrat maka semakin rentan terhadap cekaman dingin (Anwar *et al.*, 2015).

Motilitas progresif dan keutuhan membran. Menurut Hafez (1993) bahwa potensi spermatozoa untuk membuahi sel telur dapat diduga dari motil progresif dan keutuhan membran. Berdasarkan pemikiran tersebut perlu diketahui kaitan karakteristik motil progresif dan keutuhan membran spermatozoa semen beku terhadap keberhasilan inseminasi pada sapi Bali. Patokan daya gerak yang aktif adalah standar utama sebagai nilai mendapatkan tingkat fertilisasi inseminasi buatan (IB) yang dilaksanakan.

Pelaksanaan *thawing* dari zona beku ke zona cair dilakukan dengan cara peningkatan suhu secara bertahap tahap supaya pengenceran (*thawing*) pada keseluruhan straw bisa dengan sempurna sehingga pelengketan pada pembekuan membran sel tidak rusak. 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

Karakteristik spermatozoa yang baik yaitu memiliki keutuhan selubung membran. Keutuhan membran berfungsi sebagai perlindungan organel-organel sel dalam membran yang berhubungan dengan tingkat metabolisme sel. Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses transportasi zat nutrisi sebagai

pembentuk energi gerak yang berhubungan dengan progresif aktif spermatozoa. Beberapa faktor dalam mempertahankan kualitas motilitas progresif spermatozoa di mulai dari teknik penampungan, pengolahan semen beku, bahan pengencer, proteksi bahan pengencer, penyimpanan semen beku, transfortasi semen beku, teknik thawing semen beku. Secara khusus mempertahankan motilitas salah satunya banyak digunakan pada proteksi semen beku. Proteksi membran dalam mempertahankan motilitas seperti sukrosa berperan sebagai krioprotektan ekstra seluler untuk melindungi membran dari kerusakan selama penyimpanan pada suhu rendah. Bahan anti *cold shock* yang umum ditambahkan adalah kuning telur atau kacang kedelai (Aboagla dan Terada, 2004). Penambahan beberapa gula di dalam pengencer efektif dapat meningkatkan kualitas spermatozoa (Herdis, *et al.*, 2016).

Penurunan suhu secara mendadak yang merupakan faktor utama penyebab terjadinya kejutan dingin (*cold shock*). Kejadian kejutan dingin kemungkinan disebabkan fase transisi dari membran lipid yang menyebabkan terjadinya fase pemisahan dan penurunan sifat-sifat permeabilitas secara selektif dari membrane biologis sel. Pengaruh yang ditimbulkan akibat munculnya factor ini adalah penurunan jumlah spermatozoa motil, pelepasan enzim, hilangnya aktivitas lesitin, perpindahan ion melewati membran dan penurunan kandungan lipid yang sangat berperan dalam mempertahankan integritas structural membran plasma (leboeuf *et al.*, 2000).

Penyimpanan semen dalam kondisi dingin atau dalam kondisi beku Semen hasil pendinginan mempunyai daya tahan relatif pendek, sedang bila disimpan dalam kondisi beku memungkinkan penggunaan semen dalam jangka waktu yang lama (Suyadi, 2001). Permasalahan utama dari semen beku adalah rendahnya

kualitas semen setelah dilakukan *thawing*. Selama proses pembekuan dapat terjadi penurunan motilitas yang disebabkan karena pengaruh pengencer atau kerusakan yang disebabkan oleh proses pembekuan (*could shock*). Nalley *et al.*, (2007) menjelaskan selama penyimpanan semen berlangsung akan terjadi kerusakan terhadap dekomposisi protein pada membran sel sehingga lapisan lipoprotein pada sel akan menyebabkan terjadinya denaturasi protein yang disebabkan reaksi peroksidasi pada membran. Begitu sebaliknya perubahan lingkungan beku ke zona suhu cair dapat mengurangi tingkat motilitas spermatozoa.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik melakukan penelitian dengan judul “ **Efektifitas Suhu Thawing Terhadap Nilai Membran Plasma Uterus dan Akrosom Spermatozoa Sapi Bali**”.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian pada latar belakang di atas dapat dirumuskan berapa suhu yang tepat untuk *thawing* untuk menjaga livabilitas, membran plasma uterus dan akrosom spermatozoa sapi bali.

## **1.3 Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu *thawing* terhadap nilai livabilitas, membran plasma uterus dan akrosom spermatozoa sapi bali.

## **1.4 Manfaat penelitian**

Manfaat penelitian ini untuk mengetahui kesesuaian suhu dalam proses *thawing* dalam mempertahankan livabilitas, membran plasma uterus dan akrosom spermatozoa sapi bali.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Sapi Bali**

Sapi bali merupakan sapi potong asli Indonesia yang merupakan hasil domestik dari banteng (*Bibos banteng*) adalah jenis sapi yang unik. Sapi asli Indonesia ini sudah lama di domestikasi suku bangsa Bali di pulau Bali sekarang sudah tersebar di berbagai daerah di Indonesia. Sapi bali berukuran sedang, dadanya dalam, tidak berpunuk dan kakinya ramping. Sapi bali betina memiliki warna bulu merah bata. Sedangkan sapi bali jantan, sebelum dewasa kelamin memiliki warna bulu yang sama dengan sapi bali betina, dan setelah dewasa kelamin terjadi perubahan warna bulu dari merah bata menjadi hitam.

Hal ini sejalan dengan Guntoro (2002) yang menyatakan bahwa perubahan warna bulu dari merah bata menjadi hitam terjadi pada saat sapi jantan sudah mencapai dewasa kelamin yang disebabkan oleh hormon testosteron. Perubahan warna bulu dimulai dari bagian kepala sampai ke bagian ekor, sedangkan sapi jantan yang sudah dikastrasi mengalami perubahan warna bulu dimulai dari bagian ekor ke bagian kepala.

Handiwirawan dan Subandriyo (2004) menyatakan bahwa terdapat warna putih pada sapi bali di bagian pantat dan paha bagian dalam, pinggiran bibir atas, dan pada kaki bawah mulai dari tarsus dan carpus sampai batas pinggir atas kuku. Kulit yang berwarna putih tersebut berbentuk oval. Pada punggungnya selalu di temukan bulu hitam membentuk garis (garis belut) memanjang dari gumba hingga pangkal ekor. Sapi bali jantan berwarna lebih gelap bila di bandingkan dengan

sapi bali betina. Warna sapi bali jantan biasanya berubah dari merah bata menjadi coklat tua atau hitam legam setelah mencapai dewasa kelamin (Toelihere, 1993).

## **2.2 Ekuilibrase dan pembekuan semen**

Ekuilibrase secara tradisional dianggap sebagai waktu total selama spermatozoa tetap berhubungan dengan gliserol sebelum pembekuan. Pada tahap ini, gliserol menembus ke dalam sel spermatozoa untuk membentuk konsentrasi intraseluler dan ekstraseluler yang seimbang. Tidak boleh diabaikan bahwa pada ekuilibrase tidak hanya terjadi keseimbangan konsentrasi gliserol, tetapi juga komponen ekstender osmotis aktif lainnya (Salamon dan Maxwell, 2000). Waktu ekuilibrase berbeda-beda pada berbagai jenis, bangsa dan individu pejantan. Menurut Toelihere (1979), bahwa semen harus berada di dalam pengencer dengan atau tanpa gliserol selama kurang lebih 4 jam pada suhu 50C.

Menurut Arifiantini dan Yusuf (2006), ekuilibrase bertujuan melindungi spermatozoa dari kematian yang disebabkan oleh penurunan tekanan osmotik yang mengganggu keutuhan membran spermatozoa akibat pembekuan. Toelihere (1979) menyatakan bahwa problema pembekuan semen berkisar pada fenomena pengaruh cold shock terhadap sel yang dibekukan dan perubahan perubahan intraseluler akibat pengeluaran air yang bertalian dengan pembentukan-pembentukan kristal es, pembekuan adalah suatu fenomena pengeringan fisik. Pada pembekuan semen, dimana terbentuk kristal-kristal es, terjadi penumpukan elektrolit dan bahan terlarut lainnya di dalam larutan atau di dalam sel-sel. Untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa maka semen beku harus selalu disimpan dalam bejana vakum atau kontainer berisi nitrogen cair yang bersuhu -196°C dan terus dipertahankan pada suhu tersebut sampai waktu dipakai. Sesudah pencairan

kembali (*thawing*) semen beku merupakan barang rapuh dan tidak dapat tahan lama seperti semen cair. Semen beku yang sudah dicairkan kembali tidak dapat dibekukan kembali (Toelihere, 1979).

### **2.3 Semen beku**

Semen beku adalah semen yang berasal dari pejantan unggul yang sehat, dan bebas dari penyakit hewan menular yang sudah diseleksi berdasarkan garis keturunan, kemampuan produksi serta reproduksi. Semen yang dijadikan sebagai semen beku harus berasal dari pejantan dengan kategori baik sesuai standar Balai Inseminasi Buatan (BIB), yaitu mempunyai konsentrasi sel sperma lebih dari  $1.000 \times 10^6$  /ml (Direktorat Jenderal Peternakan, 2007).

Semen beku dicairkan kembali (*thawing*) sebelum digunakan. Sesudah pencairan kembali, semen beku tidak dapat tahan lama seperti semen cair (Toelihere, 1993). Semen sebaiknya digunakan segera setelah thawing untuk memperoleh efisiensi reproduksi yang maksimal (Morrow, 1980). Peningkatan temperatur saat thawing harus meningkat secara konstan sampai waktu inseminasi (Toelihere, 1993). Teknik thawing yang tepat akan menjaga aktifitas biologis dan kualitas spermatozoa (Junaidi, A. 2000). *Thawing* membuat spermatozoa kembali hidup dan kembali ke temperatur tubuh sehingga thawing harus dilakukan secara hati-hati untuk menghindari kerusakan spermatozoa (Bearden W. O. *et al.*, 2004).

### **2.4 Thawing**

Proses *Thawing* merupakan tahapan kritis karena semen beku yang telah di *thawing* merupakan barang rapuh dan tidak tahan hidup lama seperti semen cair, selain itu semen beku yang telah dicairkan kembali juga tidak dapat dibekukan lagi. Prinsip thawing yakni peningkatan suhu secara konstan, perubahan suhu

yang mendadak akan menyebabkan kematian pada sel sperma. Penggunaan metode *thawing* yang tidak tepat dapat menyebabkan kerusakan pada sel sperma sehingga kualitas semen menurun (Samsudewa dan Suryawijaya, 2008). Kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik adalah yang mengakibatkan sedikit kerusakan sel sperma, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi sel telur yang tinggi. suhu yang baik untuk pelaksanaan *thawing* di dataran rendah adalah 37°C selama 15 detik. Sedangkan, *thawing* di dataran tinggi akan memiliki kualitas yang lebih baik apabila *thawing* dilakukan pada suhu 37°C dengan durasi yang lebih lama yaitu 20 detik.

## **2.5 Motilitas Spermatozoa**

Salah satu pengujian spermatozoa yang jelas dan mudah adalah motilitas. Motilitas dapat diamati berdasarkan persentase spermatozoa yang motil dan kualitas pergerakannya. Walaupun spermatozoa tidak memerlukan kemampuan bergerak dari tempat diposisi ketempat fertilisasi, namun motilitas diperlukan pada bagian tertentu misalnya pada saat melewati mukosa uterus. Motilitas spermatozoa berpusat pada bagian ekor karena pada bagian ini terdapat dua fibril sentrial yang dikelilingi oleh sebuah cincin terdiri dari sembilan pasang fibril ferifel, dimana fibril-fibril ini mampu menggerakkan ekor spermatozoa yang bersifat kotraktil Toelihere, (2006). Livabilitas bertujuan sebagai daya gerak progresif yang sangat diperlukan spermatozoa saat di saluran kelamin betina untuk mencapai tempat fertilisasi Sarastina *et al.*, (2012). Standar normal motilitas atau progresif aktif sel tidak kurang dari 60% sedangkan normal untuk livabilitas normalitas diatas 60%. Anwar *et al.*, (2014) tingkat livabilitas lebih tinggi dari motilitas atau progresif aktif.

## **2.6 Membran plasma utuh**

Membran spermatozoa tersusun atas lipid (fosfolipid, glikolipid dan kolesterol) dan protein. Spermatozoa diliputi oleh membran sel dari kepala hingga ekor yang mempunyai susunan sangat kompleks baik komposisi molekuler maupun secara fungsional. Membran spermatozoa tersusun dari 43% lipid, 48% protein dan 9% karbohidrat. Komponen membran spermatozoa mempunyai fungsi yang sangat penting dan spesifik seperti perletakan spermatozoa dengan sel telur, transpor substrat dan metabolisme.

Membran pada bagian ekor mempunyai fungsi untuk mendapatkan substrat untuk energi spermatozoa dan menghantar gelombang. Integritas membran plasma serta fungsinya penting untuk menjaga viabilitas sel. Membran plasma memiliki kemampuan permeabilitas yang selektif untuk mengatur aktivitas metabolik intrasel, pH dan komposisi ion. Fungsi lain dari membran plasma spermatozoa adalah peranannya dalam proses fusi dengan ovum. Integritas membran plasma sangat penting untuk diperhatikan dalam penilaian kualitas semen, karena membran tersebut melindungi secara fisik bagian spermatozoa, mengatur keluar masuknya zat - zat, ion-ion yang diperlukan dalam proses metabolisme serta menjaga keseimbangan elektrolit intra dan ekstraseluler.

## **2.7 Tudung akrosom utuh**

Tudung akrosom merupakan bagian terpenting dari spermatozoa dan berperan dalam proses pembuahan, pada tudung akrosom terdapat enzim – enzim hialuronidase, akrosin dan enzim lainnya yang akan melisiskan lapisan pelindung sel telur. Bagian akrosom meliputi bagian apical segment, principal segment dan

ekuatorial segment. Bagian membran terluar pada bagian apical segment dan principal segment disebut tudung akrosom (Hafez, 1993).

Membran pada bagian kepala berfungsi untuk penembusan sel telur pada proses fertilisasi. Membran bagian belakang akrosom berfungsi mengadakan kontak pertama dan menjadi satu dengan oolema sel telur pada proses fertilisasi. Motilitas dan Tudung akrosom merupakan variabel kualitas spermatozoa yang memiliki peranan sentral dalam menentukan keberhasilan fertilisasi. Motilitas dibutuhkan spermatozoa untuk mencapai tempat fertilisasi dari tempat pendeposisian pada saat inseminasi dan dalam proses penembusan barrier pelindung oosit. Sedangkan tudung akrosom yang utuh sangat penting karena di dalamnya terdapat enzim – enzim lisis (akrosin dan zona lisin) yang dikeluarkan saat reaksi akrosom berlangsung, selanjutnya enzim – enzim tersebut berfungsi melisis bagian tertentu zona pellusida yang akan menjadi tempat masuknya spermatozoa ke dalam sitoplasma oosit untuk kemudian membentuk pronukleus jantan.

Keutuhan dari tudung akrosom sangat penting pada saat preservasi, hal ini berhubungan dengan kandungan enzim – enzim yang terkandung di dalamnya. Kerusakan tudung akrosom akan menyebabkan enzim – enzim keluar yang menyebabkan hilangnya kemampuan spermatozoa saat pembuahan (Arifiantini, 2012). Pada proses fertilisasi selain motilitas spermatozoa, keutuhan tudung akrosom dan membran plasma sangat menentukan kemampuan membuahi oosit. Persentase tudung akrosom utuh dan membran plasma utuh merupakan integritas spermatozoa yang memiliki peran penting dalam proses fertilisasi untuk keberhasilan IB.

Keadaan ini berpengaruh terhadap daya gerak yang aktif dan progresif spermatozoa menuju fertilisasi. Patokan daya gerak yang aktif adalah standar utama sebagai nilai mendapatkan tingkat fertilisasi inseminasi buatan (IB) yang dilaksanakan. Permasalahan yang dihadapi secara alami adalah pergerakan progresif berlangsung sangat singkat apabila tidak diberi perlakuan yang baik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa. Mengatur suhu thawing merupakan salah satu cara untuk mempertahankan kualitas semen seoptimal mungkin sehingga motilitas spermatozoa dan daya tahan hidup spermatozoa dapat dipertahankan. Salah satu cara dalam mempertahankan sifat pergerakan progresif spermatozoa selama preservasi baik semen cair ataupun semen beku adalah dengan penambahan krioprotektan yang berfungsi untuk menjaga keutuhan membran dan akrosom utuh. Krioprotektan berfungsi sebagai pengikatan selubung lipoprotein pada membran spermatozoa sehingga membran plasma tetap stabil saat melalui zona temperatur kritis (Tambing *et al.*, 2008).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2020 di Laboratorium Dasar Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi.

#### **3.2 Materi penelitian**

Penelitian ini menggunakan 15 straw semen beku dari sapi Bali, Bahan dan peralatan yang digunakan diantaranya air, objek glass, cover glass, mikropipet, eppendorf, thermometer, gelas ukur 150 ml, mikroskop cahaya, inkubator, yang diamati meliputi : pengaruh suhu thawing terhadap livabilitas, membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh, satu straw dua ulangan.

#### **3.3 Metode penelitian**

##### **3.3.1 Rancangan percobaan**

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan, dan 6 ulangan. Adapun perlakuannya adalah sebagai berikut:

Perlakuan 1 = suhu 24°C

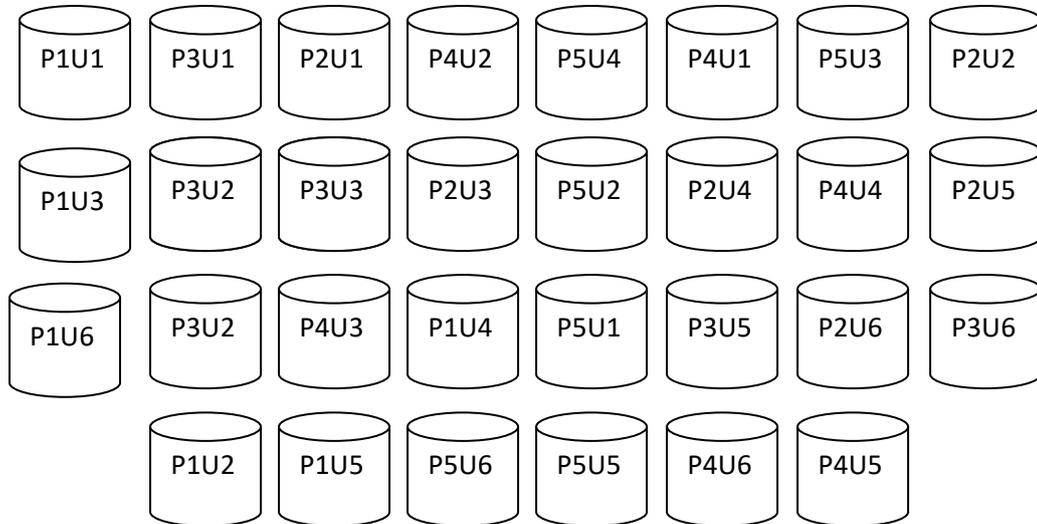
Perlakuan 2 = suhu 28°C

Perlakuan 3 = suhu 32°C

Perlakuan 4 = suhu 36°C

Perlakuan 5 = suhu 38°C

### Layout penelitian



### 3.4 Prosedur penelitian

Persiapan alat untuk digunakan menthawing straw semen beku mengambil dan mempersiapkan sebanyak 15 straw sebagai bahan objek penelitian menghidupkan mikroskop sebagai melihat aktifitas pengecekan perlakuan progresif spermatozoa, Tudung Akrosom Utuh (TAU) dan Membran Plasma Utuh (MPU). Menyediakan dan mempersiapkan gelas ukur yang telah berisi air dan suhu yang sesuai dengan perlakuan, (straw terendam keseluruhan). Mengambil straw dalam container 1 buah kemudian dimasukkan kedalam perlakuan percobaan setelah straw direndam 10 detik sesuai dengan perlakuan suhu kemudian diambil dan dikeringkan dengan tisu.

#### Penilaian Membran Plasma Utuh (MPU)

Menyiapkan metode osmotik restitance test komposisi larutan hypoosmotic terdiri atas 0,9/g fruktosa 0,49/g natrium sitrat yang dilarutkan dengan akuabides. Sisa straw yang digunakan melihat progresif spermatozoa disegerakan dimasukkan kedalam eppendorf kemudian mengambil  $20\mu\text{l}$  semen

dan dimasukkan kedalam larutan  $200\mu\text{l}$  hiposmotik selanjutnya dihomogenkan dengan membentuk angka 8. Setelah homogeny larutan semen dan hiposmotik tersebut diinkubasi kedalam inkubator dengan suhu  $37^{\circ}\text{c}$  selama 35 menit. Setelah diinkubasi selama 40 menit kemudian mengambil larutan menggunakan mikropipet terus diletakkan di atas objek glass terus ditutup dengan cover glass terus dilihat menggunakan mikroskop cahaya 400 kali pembesaran. Teknik penghitungan membran plasma utuh minimum 100 spermatozoa yang dihitung dibawah lepas pandang 400 kali pembesaran 100 spermatozoa yang dihitung termasuk spermatozoa yang utuh dan yang rusak.

### **Penilaian Tudung Akrosom Utuh**

Melihat tudung akrosom utuh menyediakan pewarna eosin 2% yaitu eosin bluis 2g dalam 100 ml sodium sitrat. Mengambil 1 tetes semen dalam eppendorf kemudian di teteskan ke cover glass dengan campuran eosin 1 tetes kemudian di homogenkan. Selanjutnya membuat preparatulas dengan cara di gesek. Setelah preparatulas dilakukan kemudian dikeringkan dengan api bunset. Metode penghitungan tudung akrosom utuh dengan cara dibawah mikroskop dengan 1000 kali pembesaran. Penghitungan persentase tudung akrosom utuh dengan cara 100 spermatozoa terhitung 100 yang tidak utuh dan utuh.

### **Teknik menghitung spermatozoa hidup**

Menyediakan eosin dan 1 tetes semen mencampurkan eosin dengan spermatozoa di atas cover glass dan membuat preparatulas kemudian dikeringkan di atas api bunset menghitung spermatozoa hidup dengan cara 100 spermatozoa terhitung dibawah mikroskop 400 kali Spermatozoa yang hidup ditandai dengan

tidak tawarnai oleh eosin dikatakan hidup sedangkan yang tawarnai dinyatakan mati.

### 3.5 Parameter yang diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yakni:

#### 1. Livabilitas Spermatozoa

Livabilitas adalah keadaan spermatozoa dalam keadaan hidup tapi tidak aktif pengukuran ini menggunakan preparatulas yang telah diberikan eosin 10%.

Rumus livabilitas = spermatozoa hidup/ total sel terhitung  $\times$  100%

#### 2. Membran Plasma Utuh

Membran plasma utuh adalah keadaan keseluruhan keutuhan selubung membran dalam mempertahankan organel-organel sel dalam membran dan berfungsi baik transportasi aktif zona membran. Pengukurannya menggunakan cairan tekanan osmotik swelling pengencer.

Rumus MPU = Spermatozoa yang utuh / total sel terhitung  $\times$  100%.

#### 3. Tudung Akrosom Utuh

Tudung akrosom utuh adalah keadaan keseluruhan keutuhan tudung akrosom utuh dibagian kepala yang membentuk cincin pengukurannya dengan cara melihat keutuhan lingkaran cincin yang telah dibuat preparatulasnya dengan menggunakan cairan eosin metilen blue dilihat dibawah mikroskop  $1000 \times$  penglihatan.

Rumus TAU = Spermatozoa TAU yang utuh/ total sel terhitung  $\times$  100%.

### 3.6 Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam dengan rancangan acak lengkap (RAL). Jika menunjukkan berpengaruh nyata maka di lakukan uji lanjut beda nyata terkecil (BNT). Untuk mempermudah analisis data dilakukan dengan menggunakan bantuan aplikasi SPSS 20. Model matematika rancangan RAL di uraikan di bawah ini :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Dimana:  $i = 1,2,3,4,5$  (perlakuan)

$j = 1,2,3,4,5,6$  (ulangan)

$Y_{ij}$  = Hasil Pengamatan pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

$\mu$  = Rataan umum

$\tau_i$  = pengaruh perlakuan ke-i

$\beta_j$  = Pengaruh kelompok ke-j

$\epsilon_{ij}$  = pengaruh acak pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

Tabel 1. Analisis ragam (Anova) Model rancangan acak lengkap (RAL)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					0,5%	1%
Perlakuan	t-1	JK <sub>P</sub>	KT <sub>P</sub>			
Galat 1	1(r-1)	JK <sub>G1</sub>	KT <sub>G1</sub>	F Hitung		
Total	Srt-1	JKT		F Tabel		

$$BNT_{\alpha} = (t_{\alpha, df_e}) \cdot \sqrt{\frac{2(MS_E)}{r}}$$

UJI BNT

ktg : Kudrat tebnga galat

dbg : Db galat

a : Taraf nyata

r : Banyaknya ulangan

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Hasil penilaian livabilitas

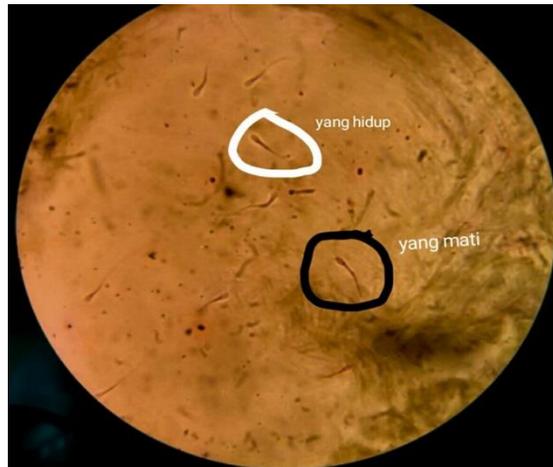
Perhitungan rerata livabilitas spermatozoa semen beku sapi bali dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase Hasil Livabilitas terhadap Suhu Thawing yang Berbeda

Perlakuan (°C)	Livabilitas (%)
24	77.50±16.36
28	75.00±24.22
32	98.17±2.64
36	80.83±19.29
38	79.17±17.13
Total	82.13±18.26

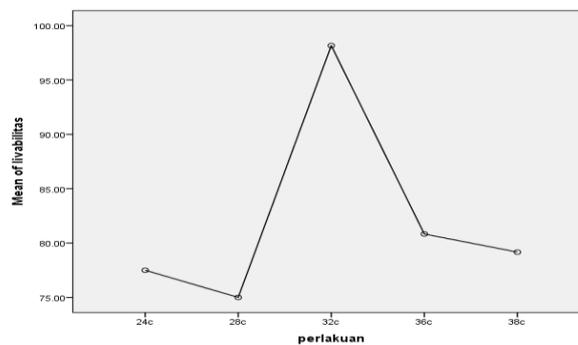
Hasil penelitian dari uji statistic anova nilai livabilitas spermatozoa tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05\%$ ) terhadap suhu thawing yang berbeda. Nilai rata-rata dari yang tertinggi hingga yang terendah yaitu perlakuan 32°C 98.17±2.64, perlakuan 36°C 80.83±19.29, perlakuan 38°C 79.17±17.13, perlakuan 24°C 77.50±16.36, perlakuan 28°C 75.00±24.22. Hasil dari penelitian menunjukkan tingkat livabilitas spermatozoa yang baik pada suhu 32°C dan yang terendah pada suhu 28°C. Semen beku setelah thawing dalam air suhu 32°C menghasilkan nilai livabilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan dalam air suhu 24°C, 28°C, 36°C, dan 38°C meskipun secara analisis statistik tidak berbeda signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa bila suhu thawing semakin rendah menyebabkan penurunan livabilitas spermatozoa dan semakin tinggi akan menurunkan tingkat livabilitas. Selain itu, suhu thawing 32°C yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan suhu ideal bagi aktivitas spermatozoa, sehingga sperma livabilitas terlihat lebih tinggi persentasenya.

Dari gambar di dibawah ini dapat kita lihat lingkaran berwarna hitam yg tewarnai eosin dinyatakan mati dan lingkaran berwarna putih tidak tewarnai dinyatakan hidup.



Gambar1. Livabilitas spermatozoa

Hal ini di sebabakan karena suhu rendah menyebabkan lambatnya pemecahan salju strow, sehingga berakibat terhadap kerusakan komponen penyusun membran spermatozoa. Anwar, *et al*, (2015) membran sel berfungsi sebagai transportasi aktif dan memiliki makro mekul sebagai metabolisme nutrisi yang di gunakan sebagai pergerakan atau hidup spermatozoa progresif aktif.



Gambar 2. Grafik livabilitas

Hasil grafik menunjukkan bahwa penilaian terbaik terletak pada suhu 32°C. Terjadi penurunan nilai livabilitas seiring peningkatan suhu dan penurunan

suhu. Hal ini dapat kita gambarkan bahwa peningkatan suhu akan menyebabkan kerusakan membrane sel, sehingga metabolisme terganggu. Livabilitas spermatozoa untuk pembuatan semen yang diencerkan atau semen beku minimal memiliki 60 % sampai 75% spermatozoa hidup Garner and Hafez, (2000). Presentase hidup spermatozoa ditentukan oleh membran plasma yang utuh. Membran plasma spermatozoa berfungsi untuk melindungi organel spermatozoa dan transportasi elektrolit untuk metabolisme spermatozoa Salmah, (2014). Membran plasma yang rusak dapat berpengaruh fungsi fisiologis dan metabolisme spermatozoa sehingga menyebabkan spermatozoa mati Butarbutar, (2009).

Kondisi ini menimbulkan hot shock maupun kontaminasi dengan oksigen pada spermatozoa sehingga mempengaruhi kestabilan membran yang berdampak pada kualitas semen beku. Rodriguez, *et al.*, (2005), melaporkan bahwa proses thawing pada semen beku sapi dengan suhu 37°C selama 60 detik menyebabkan terjadinya beberapa kerusakan pada membran spermatozoa. Sedangkan Ansary *et al.*, (2010) melaporkan motilitas, livabilitas dan integritas membran tertinggi yaitu thawing pada air bersuhu 37°C selama 30 detik. Perbedaan kualitas semen beku post thawing tersebut menunjukkan bahwa thawing pada suhu dan durasi yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda pula pada kualitas semen beku. Pembekuan semen merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi produksi semen beku karena dalam proses pembekuan akan mengakibatkan terjadinya kerusakan. SNI 01-4869 1-2005, menyatakan untuk dapat didistribusikan dan diinseminasikan persentase spermatozoa post thawing minimal harus sebesar 40%.

Metabolisme spermatozoa dapat mempengaruhi daya hidup spermatozoa karena pada spermatozoa yang memiliki aktivitas metabolisme tinggi menghasilkan asam laktat yang tinggi yang dapat membunuh spermatozoa Varasofiari *et al.*, (2013). Membran plasma yang utuh memiliki hubungan dengan motilitas spermatozoa, semakin banyak membran plasma utuh maka semakin banyak spermatozoa yang progresif aktif Azzahra *et al.*, (2016).

#### 4.2 Penilaian Membran Plasma Utuh (MPU)

Perhitungan rerata membran plasma utuh spermatozoa semen beku sapi bali dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase hasil membran plasma utuh pada suhu thawing yang berbeda

Perlakuan (°C)	Membran plasma utuh (%)
24	59.50±22.96b
28	55.33±24.22b
32	57.16±17.09b
36	38.83±14.49ab
38	17.83±7.054a
Total	45.73±23.31b

Keterangan: Notasi pada perlakuan yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berpengaruh yang nyata ( $P < 0,05\%$ ) antar perlakuan.

Hasil penelitian dari uji statistic anova nilai membran plasma utuh spermatozoa berpengaruh yang nyata ( $P < 0,05\%$ ) terhadap suhu thawing yang berbeda. Nilai rata-rata dari yang tertinggi hingga yang terendah yaitu perlakuan 24°C 59.50±22.96b, perlakuan 32°C 57.16±17.09b, perlakuan 28°C 55.33±24.22b, perlakuan 36°C 38.83±14.49ab, perlakuan 38°C 17.83±7.054a. Hasil dari uji lanjut anova berpengaruh nyata perlakuan 24 terhadap perlakuan 38 tapi tidak berpengaruh pada perlakuan 28 32 dan 36 pengaruhnya perlakuan terhadap suhu 38 disebabkan karena adanya kejutan panas atau *hot shock*. *Hot shock* terjadi karena pertukaran suhu beku ke suhu progresif aktif spermatozoa

normal. Untuk melakukan pengaaktifkan hibernasi spermatozoa dalam straw suhu beku diperlukan suhu perlahan lahan suhu normal. Tujuan perlakuan suhu normal menghindari terjadinya kerusakan pada struktur komponen penyusun membran akibat dari thawing. Fungsi keutuhan MPU spermatozoa berhubungan terhadap progresif aktif spermatozoa. Menurut Anwar *et al.*, (2014) keutuhan membran plasma utuh berpengaruh positif terhadap pergerakan aktif spermatozoa perlakuan terbaik dari hasil penelitian terlihat pada perlakuan 32°C disebabkan karena suhu 32°C tidak merusak keutuhan membran plasma utuh yang merusak keutuhan membran pada suhu rendah 28°C dan suhu tinggi 38°C. . Dari gambar di dibawah dapat kita lihat lingkaran bewarna hitam ekor lurus rusak dan lingkaran bewarna putih ekor melingkar utuh.

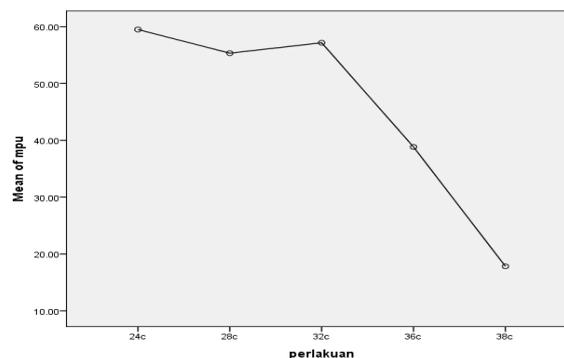


Gambar 3. Membran plasma utuh

Perbedaan persentase membran plasma utuh dalam penelitian ini disebabkan oleh perbedaan konsentrasi suhu pada setiap perlakuan. Hal ini sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Irawan (2007), bahwa pada keadaan normal, natrium (Na) bersama dengan pasangan (terutama klorida, Cl) akan memberikan kontribusi lebih dari 90% terhadap efektif osmolalitas di dalam

cairan ekstraselular. Keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses metabolisme dan berhubungan dengan motilitas serta daya hidup spermatozoa. Metabolisme sel akan berlangsung baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh, sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas masuk dan keluar dari sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme Surachman *et al.*, (2009).

Menurut Rizal dan Nasrullah (2004), selama proses pematangan spermatozoa di dalam epididimis, juga terjadi perubahan susunan komponen senyawa-senyawa penyusun membran plasma sel spermatozoa. Membran plasma sel spermatozoa akan kehilangan sebagian kolesterol, sehingga terjadi peningkatan nisbah antara asam lemak tak jenuh dan kolesterol (Rizal dan Nasrullah, 2004) . Hal ini menyebabkan membran plasma menjadi lebih "rapuh" (fragile). Kondisi membran plasma yang demikian ini secara fisiologis memang dibutuhkan untuk memudahkan spermatozoa menjalani proses kapasitasi di dalam uterus dan pada waktu fusi dengan membran plasma oosit saat terjadi fertilisasi.



Gambar 4. Grafik MPU

Hasil grafik menunjukkan bahwa penilaian terbaik terletak pada suhu 24°C. Terjadi penurunan nilai membran plasma utuh seiring peningkatan suhu. Hal ini

dapat digambarkan bahwa peningkatan suhu akan menyebabkan kerusakan membran sel, sehingga metabolisme terganggu. Kerusakan membran spermatozoa disebabkan karena selama proses thawing terbentuk radikal bebas metabolit oksigen yang bersifat toxit pada tingkatan yang rendah di dalam sel spermatozoa bersamaan dengan suplai oksigen yang terbatas, bersamaan pula dengan produksi radikal bebas. Hal ini menimbulkan spekulasi bahwa peningkatan mendadak dalam pemanfaatan oksigen oleh spermatozoa menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas, sehingga terjadi peningkatan lipidperoxidasi sebagai faktor penyebab kerusakan membran spermatozoa Datta *et al.*, (2009). Fungsi keutuhan membran plasma spermatozoa adalah sebuah faktor penting dalam metabolisme spermatozoa, kapasitas, reaksi akrosom, dan pengikatan spermatozoa pada permukaan sel telur Baqir *et al.*, (2009).

#### 4.3 Penilaian Tudung Akrosom Utuh

Berdasarkan hasil penelitian tudung akrosom utuh (TAU) spermatozoa Sapi Bali pada tahap preservasi suhu 32°C hari pertama hingga hari keenam pengamatan, menunjukkan bahwa persentase TAU masih dalam rataan yang cukup tinggi, yaitu diatas rataan 50%, dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Persentase Hasil Tudung Akrosom Utuh Pada Suhu yang Berbeda

Perlakuan (°C)	Tudung akrosom utuh (%)
24	75.83±17.37
28	79.16±19.79
32	98.8±31.94
36	88.83±21.53
38	87.83±14.83
Total	86.10±17.48

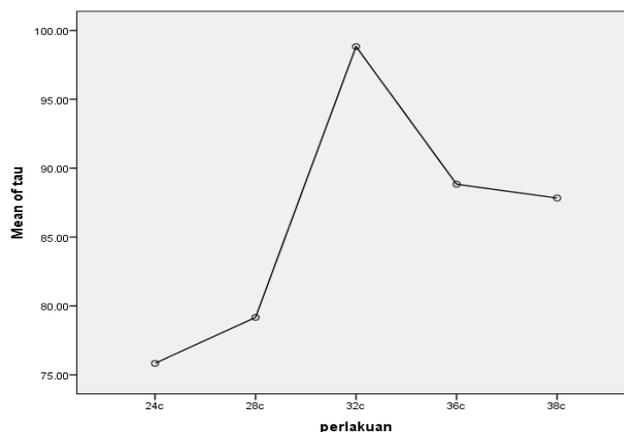
Hasil penelitian dari uji statistic anova tidak ada pengaruh yang nyata ( $P>0,05$ ) nilai tudung akrosom utuh spermatozoa terhadap pemberian suhu yang berbeda. Nilai rata-rata dari yang tertinggi hingga yang terendah yaitu perlakuan  $32^{\circ}\text{C}$   $98.8\pm 31.94$ , perlakuan  $36^{\circ}\text{C}$   $88.83\pm 21.53$ , perlakuan  $38^{\circ}\text{C}$   $87.83\pm 14.83$ , perlakuan  $28^{\circ}\text{C}$   $79.16\pm 19.79$ , perlakuan  $24^{\circ}\text{C}$   $75.83\pm 17.37$ . Tudung akrosom memiliki fungsi yang cukup penting untuk keberhasilan fertilisasi saat perkawinan. Keutuhan dari tudung akrosom sangat penting pada saat preservasi, hal ini berhubungan dengan kandungan enzim – enzim yang terkandung di dalamnya. Kerusakan tudung akrosom akan menyebabkan enzim – enzim keluar yang menyebabkan hilangnya kemampuan spermatozoa saat pembuahan Arifiantini, (2012). Pada proses fertilisasi selain motilitas spermatozoa, keutuhan tudung akrosom dan membran plasma sangat menentukan kemampuan membuahi oosit. *Reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan akan mempengaruhi lipid membran terutama asam lemak poli tak jenuh sehingga terjadi peroksidasi lipid yang akan mengganggu membran plasma maupun tudung akrosom spermatozoa Susilowati, (2007). Dari gambar dibawah ini dapat kita lihat lingkaran di kepala spermatozoa tersebut menunjukkan tudung akrosom yang utuh.



Gambar 5. Tudung akrosom utuh

Hasil penelitian menunjukkan dari 5 Perlakuan yang dilakukan perlakuan terbaik terletak pada suhu 32°C karena pada suhu 32°C tudung akrosom utuh hanya sedikit yang mengalami kerusakan begitu juga MPU dan livabilitas spermatozoa. Persentase tudung akrosom utuh dan membran plasma utuh merupakan integritas spermatozoa yang memiliki peran penting dalam proses fertilisasi untuk keberhasilan IB. Rusaknya membran plasma biasanya disertai dengan rusaknya tudung akrosom, sehingga menyebabkan keluarnya enzim-enzim yang diperlukan selama proses fertilisasi.

Bagian membran plasma dan akrosom lebih peka dibandingkan inti dan bagian okomotor spermatozoa. Membran luar akrosom lebih sensitif dari bagian dalam akrosom sperma. Kerusakan atau perubahan tudung akrosom merupakan salah satu bentuk abnormalitas dari kepala spermatozoa. Perubahan bentuk tudung akrosom dapat berupa pengembungan (*swollen*), pecah (*ruptered*), berkerut (*ruffled*) dan terlepas (*detached*). Kerusakan tudung akrosom menyebabkan berkurangnya kemampuan spermatozoa dalam melakukan fertilisasi. Keadaan ini terjadi karena pada selubung akrosom mengandung bahan-bahan akrosomal yaitu enzim-ensim penting untuk proses fertilisasi Herdis *et al.*, (2003).



Gambar 6. Grafik TAU

Hasil grafik menunjukkan bahwa penilaian terbaik terletak pada suhu 32°C. Terjadi penurunan nilai tudung akrosom utuh pada suhu rendah dan peningkatan suhu. Hal ini dapat kita gambarkan bahwa pada suhu yang rendah akan terjadinya *colk shok* atau kejutan dingin yang dapat merusak tudung akrosom utuh peningkatan suhu akan menyebabkan kerusakan membran sel karna terjadinya kejutan panas atau *hot shock*, sehingga metabolisme pada spermatozoa akan terganggu.

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan suhu yang berbeda pada thawing memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05\%$ ) terhadap MPU dan tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap livabilitas dan tudung akrosom utuh. Hasil perlakuan terbaik terdapat pada suhu thawing  $32^{\circ}\text{C}$  dengan nilai livabilitas 98.17, % membran plasma utuh 57,16 % dan tudung akrosom utuh 98.8 %.

### **5.2. Saran**

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang uji livabilitas membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh dengan menggunakan suhu yang berbeda pada suhu  $24^{\circ}\text{C}$  yang memiliki fungsi yang sama yaitu untuk menthawing pada straw sapi

## DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla EM, dan Terada T. 2004. Effect of Egg Yolk During the Freezing Step of Cryopreservation on the Viability of Goat spermatozoa. *Theriogenology* 62 : 1160-1172.
- Anwar, P., Ondho, Y.S., Samsudewa, D. 2014. Pengaruh Pengencer ekstrak air tebedengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Peternakan*. 11(2): 48-54.
- Anwar, P., Ondho, Y.S., Samsudewa, D. 2015. Kualitas membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa sapi Bali dipreservasi suhu 5oC dalam pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur. *Jurnal Agromedia*. 33(1): 53-56.
- Ansary MS, Bushra A, Rakha, Akher S. 2010. Effect of Straw Size and Thawing Time on Quality of Cryopreserved Buffalo (Bubalus
- Arifiantini, R.I dan T.L, Yusuf, 2006. Keberhasilan Penggunaan Tiga Pengencer Dalam Dua Jenis Kemasan Pada Proses Pembekuan Semen Sapi Frisien Holstein. *Majalah Ilmiah Peternakan*. 9 (3) 89-93
- Arifiantini I. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen. IPB Press, Bogor.
- Azzahra, F.Y., E.T. Setiatin dan D. Samsudewa. 2016. Evaluasi Motilitas dan Persentase Hidup Semen Segar Sapi PO Kebumen Pejantan Muda. Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. Semarang. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*, (2):99-107.
- Baqir, M., M.R. Fakhrildin, dan B.K. Kouty. 2009. Outcomes of Sperm Parameters, Hypo-Osmotic Swelling Test and Intra-Uterine Insemination For Varicocelic and Non-Varicocelic Infertile Patients. *Journal Dohuk University*, Vol. 12. No. 1
- Bearden, Wiliam O, Ingram Thomas N, LaForge Raymond W. 2004. Marketing principles And perspectives. The McGraw-Hills Companies. New York..
- Butarbutar, E. 2009. Efektifitas Frekuensi Exercise Terhadap Peningkatan Kualitas Semen Sapi Simmental [Skripsi]. Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara. Hal 23-50.
- Bucak, M. N., O Uysal. 2008. Effects of Oxidized Glutathione, Bovine Serum Albumin, Cysteine and Lycopene on the Quality of Oocyte. 76: 383-390.
- Datta, U., Sekar, M. C., Hembram, M. L., Dasgupta, R., 2009. Development of a New Methode to Preserve Caprine Cauda Epididymal

Spermatozoa in situ at 10o C. Proceedings. Departement of Veterinary Gynaecology Obstetrics Faculty of Veterinary and Animal Sciences West Bengal University of Animal and Fishery Sciences. Kolkata West Bengal. India.

Direktorat Jenderal Peternakan. 2007. Pedoman Budidaya Sapi Potong. Ditjenak, Jakarta.

Garner D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: E. S. E. Hafez (Ed.). Reproduction in Farm Animal. 7th. ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. 96-106.

Guntoro, S. 2002. Membudidayakan Sapi Bali. Kanisius. Yogyakarta

Hafez E.S.E. 1993. Reproduction in Farm Animals: Semen Evaluation. Lea and Febiger, Philadelphia. Hal. 405-423. Diakses 14 September 2013. 1: 88 – 92.

Hafez, E.S. E. 2000. Reproduction in farm animal 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia

Herdis, Darmawan, W.A., dan M Rizal, 2016. Penambahan beberapa jenis gula dapat meningkatkan kualitas spermatozoa beku asal epididimis ternak domba. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 10 (2) : 200-204.

Herdis, Toliehere MR, Supriatna I, Purwantara B, Adikara RTS. 2003. Integritas dan daya hidup spermatozoa pada pembekuan semen domba garut (*Ovis arios*) dengan pengencer dasar tris susu skim dan kuning telur. *J Sains dan Teknol Indo* 2 (3): 62-68.

Handiwirawan, E dan Subandriyo. 2004. Potensi dan Keragaman Sumberdaya Genetik Sapi Bali. *Wartazoa* Vol. 14 No. 3 : 107-115.

Irawan, M. A. 2007. Glukosa dan Metabolisme Energi. *Polton Sports Science dan Performance Lab*. Diambil kembali dari <http://www.pssplab/journal/06.pdf>

Junaidi, A. 2000 Deteksi estrus dan Inseminasi, Dalam : Kursus Penyegaran Mengenai Reproduksi Pada Sapi Bagi Dokter Hewan Praktisi, Bagian Reproduksi dan Kebidanan, FKH UGM, Yogyakarta.

Labetubun J., dan I.P. Siwa. 2007. Kualitas Spermatozoa Kauda Epididimis Sapi Bali dengan Penambahan Laktosa atau Maltosa yang Dipreservasi pada suhu 3-5oC. *Jurnal Veteriner* September. 12 (3) : 200-207.

Morrow, D. A. 1980 *Current Therapy and Theriogenology : Diagnosis, Treatment and Prevention of Reproductive Disease in Animals*, WB Saunders Company, Philadelphia, USA.

- Nalley, W. M. M., R. Hamdarini., dan B. Purwantari. 2007 Viabilitas Spermatozoa Rusa Timur (*CervusTimorensis*) Di Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Dengan Penambahan Sumber Karbohidrat Berbeda Yang Disimpan Pada Suhu Ruang. *JITV*.**14** (4): 311-317.
- Quinn, P.J., Y. W. Chow and I.G. White. 1980. Evidence That Phospholipid Protects Ram Spermatozoa From Cold Shock At A Plasma Membran Site. *J. Reprod. Fertil* 60. 403- 407.
- Rizal, M. dan Nasrullah. 2004. Pemanfaatan Spermatozoa Epididimis Dalam Teknologi Reproduksi. *Wartazoa*: Vol. 14 No. 1.
- Rodriguez, F. A – Almeida, M., Cuadras, A., Anchondo, S., Romo – Garcia, B. E., Sanchez, J. A., Jimenez, A. D., Alarcon - Rojo. 2005. Heparin Level Effect on Sperm Capacitation of Fresh an Frozen - Thawed Bovine Semen. *Proceedings Vol. 56 . Western Section. American Society of Animal Science. Mexyco City.*
- Samsudewa, D. dan A. Suryawijaya. 2008. Pengaruh Berbagai Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner semnaspro08-13.pdf*. Diakses 14 September 2013. 1: 88 – 92
- Salamon, S. and W. M. C. Maxwell.2000. Frozen storage of ram semen 1.Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, 37: 85-249.
- Saili, T., M.R. Toelihere, A. Boediono, dan B. Tappa. 2000. Keefektifan albumin sebagai media pemisah spermatozoa sapi pembawa kromosom X dan Y. *Jurnal Hayati*. 7(4):106-109.
- Salmah, N. 2014. Motilitas, Presentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Pengenceran Andromed dan Tris Kuning Telur [Skripsi]. Fakultas Peternakan Unversitas Hasanuddin. Makassar. Hal 37-38.
- Sarastina, T. Susilawati dan G. Ciptadi. 2012. Analisi Beberapa Parameter Motilitas Spermatozoa pada Berbagai TernakMenggunakan Computer Assisted Semen Analysis (CASA). *Jurnal Ternak Troika*, 6(2):1-12.
- Situmorang, P. 2002. Pengaruh Penambahan Kolesterol Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Sapi, Itik dan Entog. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 30 September – 1 Oktober 2002, Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, 2002, 236-242*

- Suyadi. 2001. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan semen beku sapi FH post thawing terhadap kualitas sperma post kapasitasi. *J. Tropical Animal. Special Edition*, 85-90.
- Surachman, M., Herdis, Yulnawati, M dan H. Maheshwari. 2008. Kualitas Semen Cair Asal Epididimis Kerbau Belang Dalam Bahan Pengencer yang Mendapatkan Penambahan Sukrosa. *Jurnal Media Peternakan* 32(2): 88-94.
- Susilowati, E., 2007, *Sains Kimia Prinsip dan Terapannya 2B*. Penerbit Tiga Serangkai, Solo.
- Tambing, S.N., Utama, K., Sariubang, M. 2008. Efektivitas konsentrasi kuning telur di dalam pengencer tris dengan dan tanpa plasma semen terhadap kualitas semen beku kambing saanen. *JITV*.13(4): 315-322.
- Toelihere, M.R. 1979, *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*, Penerbit Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung
- Toelihere, M.R. 2006. *Pokok Pokok Pikiran Seorang Begawan Reproduksi*. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Varasofiari, L.N., E.T. Setiatin, dan Sutopo. 2013. Evaluasi Kualitas Semen Segar sapi Jawa Brebes Berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan. *Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. Semarang. Animal Agriculture*, 2(1):201- 208.

**Lampiran 1. Analisis livabilitas**

Tabel 5. livabilitas

	Suhu 24°C	Suhu 28°C	Suhu 32°C	Suhu 36°C	Suhu 38°C
U1	85	96	100	50	86
U2	95	97	100	98	60
U3	90	97	99	65	55
U4	50	45	98	84	95
U5	70	55	93	96	88
U6	75	60	99	92	91

Descriptives

Livabilitas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
24c	6	77.5000	16.35543	6.67708	60.3360	94.6640	50.00	95.00
28c	6	75.0000	24.22396	9.88939	49.5785	100.4215	45.00	97.00
32c	6	98.1667	2.63944	1.07755	95.3967	100.9366	93.00	100.00
36c	6	80.8333	19.29162	7.87577	60.5880	101.0786	50.00	98.00
38c	6	79.1667	17.12795	6.99246	61.1920	97.1413	55.00	95.00
Total	30	82.1333	18.26384	3.33451	75.3135	88.9532	45.00	100.00

## ANOVA

Livabilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2039.467	4	509.867	1.670	.188
Within Groups	7634.000	25	305.360		
Total	9673.467	29			

**Lampiran 2. Membran plasma utuh**

Tabel 6. MPU

	Suhu 24°c	Suhu 28°c	Suhu 32°c	Suhu 36°c	Suhu 38°c
U1	65	77	50	30	15
U2	77	80	88	55	17
U3	80	75	45	40	25
U4	45	30	60	35	8
U5	70	35	40	18	15
U6	20	35	60	55	27

Descriptives

MPU

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
24c	6	59.5000	22.96737	9.37639	35.3972	83.6028	20.00	80.00
28c	6	55.3333	24.22120	9.88826	29.9147	80.7519	30.00	80.00
32c	6	57.1667	17.09288	6.97814	39.2288	75.1045	40.00	88.00
36c	6	38.8333	14.49713	5.91843	23.6195	54.0471	18.00	55.00
38c	6	17.8333	7.05455	2.88001	10.4300	25.2366	8.00	27.00
Total	30	45.7333	23.31336	4.25642	37.0280	54.4387	8.00	88.00

ANOVA

MPU

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7430.533	4	1857.633	5.574	.002
Within Groups	8331.333	25	333.253		
Total	15761.867	29			

Perlakuan°C	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan	38	6	17.8333a
	36	6	38.8333ab
	28	6	55.3333b
	32	6	57.1667b
	24	6	59.5
	Sig.		0.057

**Lampiran 3. Tudung akrosom utuh**

Tabel 7. TAU

	Suhu 24°c	Suhu 28°c	Suhu 32°c	Suhu 36°c	Suhu 38°c
U1	75	85	95	98	93
U2	92	97	99	45	100
U3	93	98	100	95	100
U4	75	45	100	100	88
U5	45	70	99	97	60
U6	75	80	100	98	86

Descriptives

TAU

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
24c	6	75.8333	17.37143	7.09186	57.6031	94.0635	45.00	93.00
28c	6	79.1667	19.79310	8.08050	58.3951	99.9382	45.00	98.00
32c	6	98.8333	1.94079	.79232	96.7966	100.8701	95.00	100.00
36c	6	88.8333	21.53524	8.79173	66.2335	111.4332	45.00	100.00
38c	6	87.8333	14.83801	6.05759	72.2618	103.4049	60.00	100.00
Total	30	86.1000	17.48171	3.19171	79.5722	92.6278	45.00	100.00

## ANOVA

TAU

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1956.533	4	489.133	1.771	.166
Within Groups	6906.167	25	276.247		
Total	8862.700	29			

#### Lampiran 4. Dokumentasi penelitian



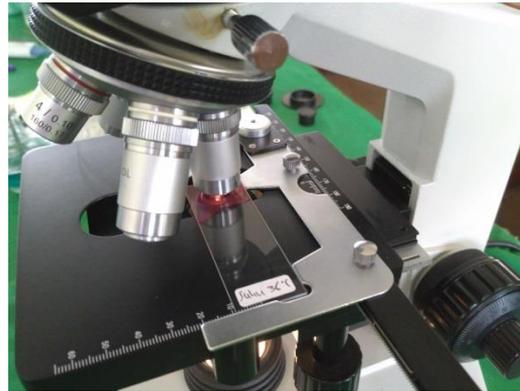
Menggambil straw dalam container



Proses menthawing



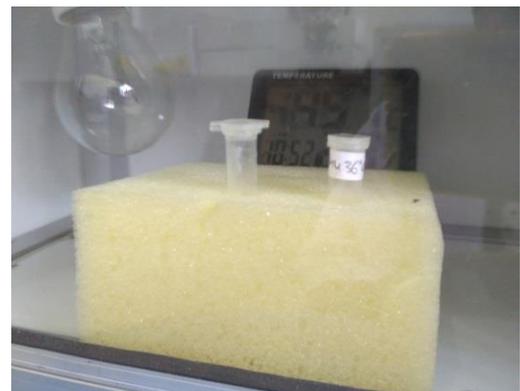
Pewarna eosin



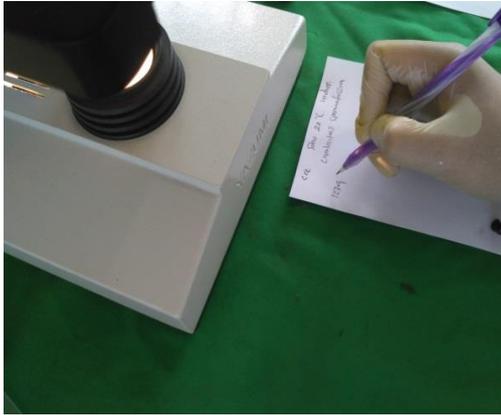
Melihat straw menggunakan mikroskop



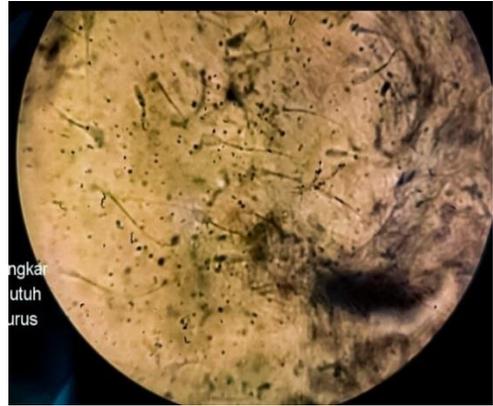
Straw sapi yang sudah dicampur natrium sitrat fruktosa dan aquabides



Proses inkubasi spermatozoa selama 40 menit



Proses menghitung spermatozoa sapi bali



ngkar  
utuh  
lurus

Membran plasma utuh



Straw sapi yang selesai di teliti



Semua utuh

Tudung akrosom utuh

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 18 april 1997 di Teluk Kuantan Kecamatan Kuantan Tengah Kabupaten Kuantan Singingi. Penulis merupakan anak kelima dari lima bersaudara dari pasangan bapak Nujrah dan ibu yusnah. Pendidikan dasar diselesaikan oleh penulis pada tahun 2009 di SDN 018 Koto Taluk, Kecamatan Kuantan Tengah, pendidikan Lanjutan Tingkat Pertama diselesaikan pada tahun 2013 di SMPN 7 Sungai Jering Kecamatan Kuantan Tengah, dan pendidikan Lanjutan Tingkat Akhir diselesaikan pada tahun 2016 di SMKN 1 Teluk Kuantan. Pada tahun 2016 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Peternakan difakultas pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi. Salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana peternakan di Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi. Penulis telah melakukan penelitian pada bulan juli sampai bulan agustus 2020 di Laboratorium dasar Fakultas Pertanian Universitas Islam Kuantan Singingi Teluk Kuantan.