



**DAYA TAHAN TUDUNG AKROSOM DAN MEMBRAN PLASMA SPERMATOZOA SAPI
BALI YANG DIPAPARKAN PADA SUHU RUANG**

**THE RESSITANCE OF ACROSOME CAP AND PLASMA MEMBRANE OF BALI CATTLE
SPERMOTOZOAS EXPOSED TO ROOM TEMPERATURE**

Trio Mohammad Syafi'i, Bayu Rosadi

Fakultas Peternakan Universitas Jambi

Jln. Lintas Jambi - Muara Bulian KM 15 Mendalo Indah, Jambi 36361

Email : bayurosadi@unja.ac.id

Abstract

This study aimed to determine the effect of storage at room temperature on the durability of the acrosome cap and plasma membrane of Bali cattle spermatozoa. This research was conducted at the Reproduction Laboratory of the Faculty of Animal Husbandry, Jambi University. The experiment was carried out using a completely randomized design with 4 treatments and 6 replications. Storage treatment at room temperature consisted of T0: no storage (control), T1: storage for 2 hours, T2: storage for 4 hours, T3: storage for 6 hours. The data obtained from each variable analyzed with variance. The treatment had a significant effect, so Duncan's further test was carried out. The process of calculating the data using the SPSS program. From the results of this study, it was found that storage of spermatozoa at room temperature reduced the quality of Bali cattle's spermatozoa against the acrosome cap and plasma membrane ($P < 0.05$). At storage for up to 4 hours, 44.33% acrosomal cap intact is still eligible for insemination. In plasma membrane, storage at room temperature for 6 hours obtained 35.83% showed a fairly low average, which was below 60% as the minimum requirement for insemination.

Keywords: spermatozoa, Bali cattle, acrosome cap, plasma membrane

Pendahuluan

Sapi Bali merupakan ternak ruminansia endemik Indonesia dengan beragam keunggulan yang dimiliki, diantaranya yaitu memiliki kemampuan beradaptasi dengan lingkungan yang memiliki ketersediaan pakan berkualitas rendah, sapi Bali juga memiliki fertilitas yang tinggi (Sarassati dan Agustina, 2015). Kualitas pejantan yang menghasilkan spermatozoa menentukan keberhasilan inseminasi baik pada kawin alam ataupun inseminasi buatan (IB). Pejantan sangat relevan dengan nilai ekonomi ternak sapi dengan manajemen reproduksi berbasis kawin alam (Foote, 2003), dan telah didokumentasikan bahwa pejantan dapat menentukan

80-85% dari efisiensi reproduksi populasi sapi (Kastelic 2014).

Di sebagian besar negara, evaluasi kualitas semen dilakukan secara in situ di peternakan (Irons et al 2007; Penny, 2018), sebaliknya, Australian Cattle Veterinarian Association hanya mengakui penilaian morfologi sperma yang valid yang dikeluarkan oleh laboratorium referensi (Entwistle & Fordyce, 2003). Dalam hal ini, semen perlu disimpan, diangkut, dan dievaluasi setelah tiba di laboratorium. Demikian pula, di negara lain di mana petugas medis veteriner jarang melakukan penilaian kualitas semen sendiri (Garcia-Paloma et al, 2017), semen perlu disimpan untuk jangka waktu pendek atau

menengah. Selain itu, penyimpanan semen jangka pendek sangat penting untuk memungkinkan kriopreservasi semen berikutnya dari pejantan yang sangat berharga (Reist-Marti et al, 2005) atau untuk memungkinkan inseminasi dengan semen pejantan segar (Murphy et al, 2018). Hal ini juga penting untuk peternakan yang terletak jauh dari laboratorium pengujian dan untuk peternakan di bawah kondisi iklim yang ekstrim (Landaeta-Hernandez et al, 2002). Penyimpanan semen jangka pendek diperlukan di peternakan di mana praktisi veteriner memulai evaluasi semen di lapangan.

Suhu penyimpanan menentukan persentase spermatozoa normal secara morfologis (Fitzpatrick et al 2002). Pada saat penyimpanan spermatozoa, perubahan suhu yang ekstrim pada spermatozoa akan menyebabkan kerusakan sel, sehingga dapat menurunkan motilitas, viabilitas, tudung akrosom, dan ketahanan membran plasma. Penyimpanan pada suhu kamar selama 72 jam telah terbukti mempengaruhi motilitas tergantung pada extender yang digunakan (Murphy et al, 2017). Selain itu, pengasaman sampel semen diamati dari 4-6 jam hingga 24 jam dalam aliquot yang diawetkan di suhu kamar untuk tiga macam pengencer (Fernandez-Novo et al, 2021). Pada dasarnya kualitas semen cair cepat menurun pada proses penyimpanan pada suhu ruang (29°) baik dengan adanya bahan pengencer maupun tanpa bahan pengencer. Proses penyimpanan semen cair sapi pada umumnya dilakukan pada suhu 3-5°C. Semen cair yang disimpan pada suhu 5°C mampu bertahan selama 3-4 hari (Priastomo et al., 2009).

Tudung akrosom memiliki fungsi yang cukup penting untuk keberhasilan fertilisasi saat perkawinan. 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). Membran plasma merupakan pelindung spermatozoa bagian luar yang sangat berperan dalam proses fertilisasi. Kerusakan membran mengakibatkan terganggunya proses metabolisme intraseluler, sehingga spermatozoa akan lemah dan bahkan mengakibatkan kematian spermatozoa. Penyimpanan semen yang lebih lama akan semakin meningkatkan tingkat kematian spermatozoa karena rusaknya membran plasma yang berakibat pada terganggunya suplai energi spermatozoa sehingga menurunkan motilitas. Jumlah spermatozoa yang mati akan memengaruhi spermatozoa yang masih hidup selama proses penyimpanan (Solihati et al., 2006).

Untuk mendapatkan semen cair yang berkualitas berbagai aspek perlu diperhatikan diantaranya mempertahankan fungsi fisiologis spermatozoa selama penyimpanan. Semen akan mengalami proses metabolisme selama penyimpanan pada suhu ruang maupun dingin. Kualitas spermatozoa selama penyimpanan sangat penting untuk diketahui karena menentukan daya fertilisasinya. Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki pengaruh penyimpanan spermatozoa sapi Bali pada suhu kamar terhadap daya tahan tudung akrosom dan membran plasma.

Materi dan Metode

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Jambi dimulai sejak tanggal 10 Oktober 2020. Koleksi semen sapi Bali dilakukan di UPTD Perbibitan Dinas Ketahanan Pangan dan Hortikultura Provinsi Jambi.

Koleksi dan Pengenceran Semen Sapi Bali

Prosedur penelitian ini dimulai dengan proses penampungan semen

menggunakan vagina buatan. Semen diencerkan dengan menggunakan bahan pengencer tris sitrat kuning telur dengan konsentrasi akhir 10^8 spermato-zoa/ml. Komposisi bahan pengencer tris sitrat kuning telur yang digunakan terdiri dari kuning telur 20 ml, asam sitrat 1,86 g, fruktosa 1,37, antibiotik (penisilin 0,1 100.000 IU/100ml dan streptomisin 0,1 g), aquades 100 ml.

Penyimpanan Spermatozoa

Semen yang sudah diencerkan didistribusi dalam tabung-tabung effendorf ukuran 1 ml dengan volume 0,5 ml. Selanjutnya semen dibagi secara acak menjadi 4 perlakuan penyimpanan pada suhu ruang sebagai berikut: P0 (tanpa penyimpanan), P1 (penyimpanan selama 2 jam), P2 (penyimpanan selama 4 jam) dan P3: penyimpanan selama 6 jam. Setiap perlakuan terdiri dari 6 ulangan

Peubah yang diamati

Tudung akrosom diamati menggunakan metode Saacke dan White (1972). Semen sebanyak 25 μ l ditambahkan ke dalam 100 μ l larutan NaCl fisiologis yang mengandung 1% formalin. Larutan campuran dikocok perlahan sampai homogen, dibiarkan selama 5 menit. Preparat ulas tipis dari semen dibuat pada gelas objek. Pengamatan terhadap minimum 200 spermatozoa menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Spermatozoa yang

memiliki tudung akrosom utuh ditandai oleh ujung kepala yang berwar-na hitam tebal, sedangkan yang rusak tidak tampak tanda yang sama.

Membran plasma dievaluasi dengan metode osmotic resistance test (ORT) (Revell & Mrode 1994). Semen sebanyak 25 μ l ditambahkan ke dalam 200 μ l larutan hipoosmotik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Hasil inkubasi dibuat preparat ulas tipis pada gelas objek. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x, jumlah minimum spermatozoa yang diamati adalah 200. Spermatozoa dengan membran plasma utuh dicirikan ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak dicirikan ekor yang lurus.

Analisis Data

Data yang didapatkan dari setiap peubah yang diamati analisis dengan sidik ragam. Bila perlakuan berpengaruh nyata maka dilakukan uji lanjut Duncan. Proses penghitungan data menggunakan program SPSS versi 14.0.

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian rata-rata peubah yang diamati dalam pemeriksaan kualitas spermatozoa sapi Bali pada suhu ruang meliputi: tudung akrosom dan membran plasma dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rataan Tudung Akrosom, dan Membran Plasma Spermatozoa Sapi Bali Peubah yang diamati

Perlakuan	Tudung akrosom utuh (%)	Membran plasma utuh (%)
P0	52,16 $\pm$ 1,94 ^d	56,50 $\pm$ 2,34 ^d
P1	48,00 $\pm$ 1,74 ^c	46,16 $\pm$ 1,94 ^c
P2	44,33 $\pm$ 2,16 ^b	41,00 $\pm$ 2,75 ^b
P3	41,00 $\pm$ 2,36 ^a	35,83 $\pm$ 1,94 ^a

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan spermatozoa sapi Bali menurunkan tudung akrosom utuh ($P < 0,05$). Penurunan tudung akrosom utuh dari 52,16% pada 0 jam pemeriksaan sampai 41% pada penyimpanan 6 jam (Tabel 1). Persentase tudung akrosom spermatozoa selama penyimpanan suhu ruang (29°C) dari 0 jam sampai penyimpanan 6 jam pada masing-masing perlakuan menunjukkan semakin menurun. Pada penyimpanan 2 jam tudung akrosom 48%, pada penyimpanan 4 jam 44,33% menunjukkan bahwa persentase tudung akrosom dalam rata-rata yang cukup baik. Persentase minimal tudung akrosom utuh untuk inseminasi buatan adalah 30% (Evans dan Maxwell, 1987), dan persentase motilitas paling sedikit 40% (Toelihere, 1993).

Menurut Wicaksono dan Arifiantini (2009), pada suhu ruang spermatozoa mempunyai daya tahan hidup yang sangat pendek. Hal ini disebabkan pada suhu ruang antara 24°C dan 29°C spermatozoa melakukan aktivitas seluler yang hampir optimal sehingga substrat energi cepat habis dan terdapat akumulasi asam laktat sebagai sisa metabolisme. Data penelitian menunjukkan bahwa semakin lama spermatozoa disimpan dalam suhu ruang maka persentase tudung akrosom spermatozoa semakin menurun. Penurunan persentase spermatozoa selama penyimpanan di suhu ruang memang selalu terjadi. Semakin lama waktu penyimpanan berarti energi yang dibutuhkan spermatozoa semakin tinggi sedangkan nutrisi yang tersedia dalam semen berkurang.

Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa semakin lama semen disimpan pada suhu ruang (29°C), maka persentase dari masing-masing perlakuan semakin mengalami penurunan. Nilai rata-rata persentase membran plasma 56,50%; 46,16%); 41%; dan 35,83%.

Penyimpanan spermatozoa selama 6 jam pada suhu ruang berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap membran plasma. Persentase membran plasma spermatozoa selama penyimpanan di suhu ruang mulai dari 0 jam sampai 6 jam menunjukkan bahwa rata-rata yang cukup rendah, yaitu dibawah rata-rata 60%. Semen segar hasil ejakulasi yang memenuhi syarat digunakan dalam program IB harus memiliki persentase MPU 60% (Revell dan Mrode, 1994).

Kerusakan membran spermatozoa akan menyebabkan terganggunya proses metabolisme intraseluler spermatozoa sehingga spermatozoa akan melemah dan bahkan bisa menyebabkan kematian. Hal ini sesuai dengan Herdis et al. (2005) yang menyatakan bahwa kematian spermatozoa yang tinggi pada proses pengolahan semen disebabkan oleh rusaknya membran plasma spermatozoa akibat peroksida lipid. Hal tersebut menurut Maxwell and Watson (1996) terjadi karena membran spermatozoa banyak mengandung lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap reaksi peroksidasi lipid.

Banyak peneliti telah berusaha untuk menjelaskan mekanisme yang mendasari hubungan antara suhu lingkungan dan kualitas spermatozoa. He et al (2016) menyatakan bahwa panas dapat menyebabkan stress fisiologis pada spermatozoa. Pada hewan model ditunjukkan bahwa produksi berlebihan ROS yang diinduksi oleh suhu tinggi dapat mengganggu integritas DNA dalam sel spermatozoa dan pada gilirannya menurunkan kualitas spermatozoa (Cheng et al, 2015). Suhu tinggi dapat menyebabkan apoptosis sel spermatogenik melalui ekspresi protein kejutan panas yang berlebihan (HSP), yang menginduksi gangguan spermatogenik (Wang et al, 2003). Investigasi lebih lanjut diperlukan untuk mengklarifikasi detailnya mekanisme biologis yang mendasari efek suhu pada kualitas spermatozoa.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Penyimpanan spermatozoa pada suhu ruang (29°C) menurunkan kua-litas spermatozoa sapi Bali terhadap tudung akrosom dan membran plasma.
2. Pada penyimpanan hingga 4 jam tudung akrosom 44,33% mengalami penurunan masih memenuhi syarat digunakan untuk inseminasi, setelah 6 jam membran plasma 35,83% a tidak memenuhi syrat untuk insemi-nasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini RI. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. *IPB Press. Bogor*.
- Cheng CH, Yang FF, Liao SA, Miao YT, Ye CX, Wang AL. 2015.. High temperature induces apoptosis and oxidative stress in pufferfish (*Takifugu obscurus*) blood cells. *J Therm Biol*. 53:172–9
- Christensen P, Boelling D, Pedersen KM, Korsgaard IR, Jensen J. 2005. Relationship between sperm viability as determined by flow cytometry and nonreturn rate of dairy bulls. *J. Androl*. 26: 98–106.
- Entwistle K, Fordyce G. 2003. Evaluating and Reporting Bull Fertility, 1st ed.; *Australian Cattle Vets: Brisbane, Australia*.
- Evans G, Maxwell WMC. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. *London: Butterworths*.
- Fernandez-Novo A, Santos-Lopez S, Barrajon-Masa C, Mozas P, de Mercado E, Caceres E, Garrafa A, Gonzalez-Martin JV, Perez-Villalobos N, Oliet A, Astiz S, Perez-Garnelo SS. 2021. Effect of Extender, Storage Time and Temperature on Kinetic Parameters (CASA) on Bull Semen Samples. *Biology (Basel)* 10(8):806.
- Fitzpatrick LA, Fordyce G, McGowan MR, Bertram JD, Doogan VJ, De Faveri, Miller RG, Holroyd RG. 2002. Bull selection and use in northern Australia. *Anim. Reprod. Sci*. 71: 39–49.
- Foote RH. 2003. Fertility estimation: A review of past experience and future prospects. *Anim. Reprod. Sci*. 75: 119–139.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In *Reproduction In Farm Animals*. Edited by E. S. E. Hafez. 7th Edition. *Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. USA*.
- García-Paloma JA, Pérez Garnelo SS, Montoya Monsalve G, Astiz Blanco S. 2017. Aptitud reproductiva en toros de monta natural. II. Valoración física, colecta y valoración seminal. *Bol. Anembe* 115, 17–36.
- He JR, Liu Y, Xia XY, Ma WJ, Lin HL, Kan HD, 2016.. Ambient temperature and the risk of preterm birth in Guangzhou, China (2001-2011). *Environ Health Perspect*. 124:1100–1106.
- Herdis, Toelihere MR, Supriatna I, Purwantara B, Adikara RTS. 2005. Optimalisasi kualitas semen cair domba Garut (*Ovis aries*) melalui penambahan mal-tosa ke dalam pengencer semen tris kuning telur. *Media Kedokteran Hewan* 21(2):88-93.
- Irons PC, Nöthling JO, Bertschinger HJ. 2007. Bull breeding soundness evaluation in Southern Africa. *Theriogenology* 68: 842–847
- Kastelic JP. 2014. Understanding and evaluating bovine testes. *Theriogenology* 81: 18–23.
- Kumaresan A, Johannisson A, Al-Essawe EM, Morrell JM. 2017. Sperm viability, reactive oxygen species, and DNA fragmentation index combined can discriminate between above- and below-

- average fertility bulls. *J. Dairy Sci.* 100: 5824–5836.
- Landaeta-Hernández AJ, Yelich JV, Lemaster JW, Fields MJ, Tran T, Chase CC, Rae DO, Chenoweth PJ. 2002. Environmental, genetic and social factors affecting the expression of estrus in beef cows. *Theriogenology* 57: 1357–1370
- Maxwell WMC, Watson PF. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 55-65.
- Mitchell JR, Doak GA. 2004. The Artificial Insemination and Embryo Transfer of Dairy and Beef Cattle. *Pearson Prentice Hall*
- Murphy EM, Murphy C, O'Meara C, Dunne G, Eivers B, Lonergan P, Fair SA. 2017. Comparison of semen diluents on the in vitro and in vivo fertility of liquid bull semen. *J. Dairy Sci.* 100: 1541–1554.
- Murphy EM. O' Meara C, Eivers B, Lonergan P, Fair S. 2018. Optimizing storage temperature of liquid bovine semen diluted in INRA96. *J. Dairy Sci.* 101: 5549–5558.
- Penny, C. Examination of Bulls for Breeding Soundness. 2018. An Illustrated Guide. In Proceedings of the International Bull Fertility Conference—Theory to Practice, *Westport, Ireland*, pp. 1–66
- Priastomo IB, Antanto RJ, Khoirinaya C, Wardani AA. 2009. Daya tahan spermatozoa sapi Frisien Holstein dalam berbagai pengencer pada suhu 5°C. *Media Peternakan* 30 : 163-172.
- Reist-Marti SB, Abdulai A, Simianer H. 2005. Conservation programmes for African cattle: Design, cost and benefits. *J. Anim. Breed. Genet.* 122: 95–109.
- Revell SG, Mrode RA. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim Reprod Sci* 36:77-86.
- Rizal M., Herdis. 2008. Inseminasi Buatan Pada Domba. Jakarta. *Rineka Cipta, Jakarta*.
- Saacke RG, White JM. 1972. Semen quality tests and their relationship to fertility. *Proceeding 4th Tech. Conf. on AI and Reprod., NAAB*, pp. 22-27.
- Sarassati T, Agustina KK. 2015. Kualitas daging Sapi Wagyu dan daging Sapi Bali yang disimpan pada suhu -190C. *Indonesia Medicus Veterinus* 4(3): 178-185.
- SNI (Standar Nasional Indonesia). 2017. Semen Beku - Bagian 1: Sapi (SNI 4869- 1:2017). BSN (Badan Standarisasi Nasional). Jakarta.
- Solihati N, Idi R, Setiawan R, Asmara IY. 2006. Pengaruh Lama Penyimpanan Semen Cair Ayam Buras pada Suhu 5°C terhadap Periode Fertil dan Fertilisasi Sperma. <http://pustaka.unpad.ac.id>.
- Toelihere MR. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Vishwanath R, Shannon P. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 23–53.
- Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas AJ, Falcone T, Agarwal A. 2003. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril.* 80:531–5.
- Wicaksono A, Arifiantini RI. 2009. Uji banding empat bahan pengencer untuk preservasi semen anjing retriever. *JITV.* 14(1): 50-57.