



**MOTILITAS TOTAL SPERMA DOMBA HASIL SEPARASI MENGGUNAKAN
RESIQUIMOD PADA PENYIMPANAN SUHU 5°**

*TOTAL MOTILITY OF SEPARATION SHEEP SPERM USING RESIQUIMOD AT 5°
TEMPERATURE STORAGE*

Luthfillah Az-zahra Achmad, Rangga Setiawan, dan Nucholidah Solihati

Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran

Jln. Ir. Soekarno km. 21. Jatinangor, Kab. Sumedang 45363, Jawa Barat

Korespondensi : luthfillah20001@mail.unpad.ac.id

Abstract

Separation is an attempt to change the natural proportion of X and Y spermatozoa. One method of sperm separation is the Swim up method. This study aims to determine the effect of using resiquimod (R848) on the quality of separated sperm stored at 5°. The quality includes total motility of local sheep sperm. This study was conducted on December 21, 2023 – January 31, 2024 with the object of research male local sheep aged 3-4 years. This study used four treatments and five repetitions, namely P0 (without R848), P1 (R848 0.3 µM), P2 (R848 0.6 µM), and P3 (R848 0.9 µM). The results of this study showed that the use of resiquimod (R848) with 5° storage temperature decreased total sperm motility by 40% within 24 hours. The use of resiquimod (R848) 0.3 µM initiated a decrease in the percentage of total motility of the lower layer. The use of resiquimod (R848) did not affect the total motility of upper layer sperm. The conclusion of this study is that the use of resiquimod (R848) 0.3 µM in the separation of local sheep sperm affects the total motility of lower layer sperm which is manifested through low total motility.

Keywords : *Resiquimod (R848), Total Motility, 5° Temperature*

Pendahuluan

Domba merupakan salah satu ternak yang banyak dikembangkan di Indonesia karena memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai penghasil daging. Menjelang hari tertentu, seperti Hari Raya Idul Adha atau pun acara Aqiqah, penjual dan permintaan domba akan meningkat terutama pada domba berjenis kelamin jantan. Jenis kelamin domba yang sulit ditentukan merupakan salah satu kendala yang sering dialami. Penerapan separasi atau pemisahan sperma-tozoa X dan Y merupakan salah satu upaya dalam meningkatkan efisiensi reproduksi ternak serta mendukung kegiatan inseminasi buatan (IB). Cara

tersebut bertujuan untuk mengubah proporsi alami spermatozoa X dan Y (50:50) menjadi proporsi yang diinginkan dengan menggunakan metode tertentu. Metode *swim up* merupakan salah satu metode yang dapat dilakukan untuk menyeleksi sperma X dan Y. Indikasinya sperma Y mampu bergerak lebih cepat berenang dari lapisan bawah menuju lapisan atas. Penambahan bahan tertentu dalam metode *swim up* dapat menambah efektivitas metode *swim up*, salah satunya dengan menambahkan resiquimod (R848). Dasar penggunaan resiquimod (R848) pada metode *swim up* membuat pergerakan sperma X terhambat karena keberadaan *Toll Like Receptor 7/8* (TLR

7/8) yang hanya terdapat pada sperma X tepatnya di bagian tengah dan ekor sperma X. Hal tersebut mengurangi energi dan motilitas sperma X tanpa memengaruhi sperma Y yang tetap bergerak naik menuju lapisan atas. Motilitas merupakan indikator penting dalam penilaian keberhasilan separasi sperma. Penilaian motilitas didasarkan pada gerakan serta kecepatan dari spermatozoa.

Pada aplikasi inseminasi buatan terdapat jeda waktu antara proses preservasi sperma, termasuk proses separasi dan disposisi sperma pada saluran reproduksi betina. Jeda waktu tersebut seperti waktu jarak tempuh (waktu distribusi) dapat memengaruhi kualitas sperma hasil separasi. Semakin lama waktu yang dibutuhkan, maka semakin besar penurunan kualitas semen yang akan digunakan dalam IB. Perpanjangan waktu penyimpanan semen yang berbanding terbalik dengan aktivitas metabolismenya merupakan prinsip dasar dari penyimpanan semen, maka terdapat teknik penyimpanan semen yang dikembangkan dengan menyimpan semen pada suhu rendah, yaitu suhu 5°C yang disimpan pada *refrigerator*, dan semen yang dibekukan menggunakan nitrogen cair. Akan tetapi, penggunaan nitrogen cair dalam pembekuan semen memerlukan biaya yang cukup mahal, sehingga dalam penelitian ini penulis tertarik untuk meneliti semen hasil *sexing* yang disimpan pada suhu 5°C.

Penggunaan resiquimod (R848) telah berhasil memisahkan sperma X dan Y pada mencit, sapi, dan juga kambing perah. Tetapi pada semen domba belum diketahui keberhasilannya terutama pada penyimpanan suhu rendah. Berdasarkan hal tersebut, penulis tertarik untuk mengamati pengaruh penggunaan resiquimod terhadap motilitas dan viabilitas sperma domba hasil pemisahan yang disimpan

pada suhu 5°C, serta dosis resiquimod yang optimal pada pemisahan sperma yang mendukung motilitas dan viabilitas sperma domba.

Materi dan Metode

Objek yang digunakan merupakan semen segar yang berasal dari domba lokal jantan dengan rentang umur 3-4 tahun dan memiliki bobot badan ± 30 kilogram yang diberi pakan ampas tahu dan silase sebanyak dua kali dalam satu hari, serta pemberian air minum secara ad libitum.

Penelitian dimulai dengan melakukan penampungan semen domba, pengecekan kualitas semen segar, pembuatan media *sexing*, pencucian semen segar, inkubasi sperma, dan *sexing* spermatozoa dengan metode *swim up*. Penelitian dilakukan dengan menggunakan empat perlakuan (P0 (tanpa penambahan R848), P1 (R848 0.3 μM), P2 (R848 0.6 μM), dan P3 (R848 0.9 μM)). Parameter yang diteliti adalah motilitas total spermatozoa X dan Y (%).

Persentase motilitas total sperma dari setiap lapisan hasil pemisahan dilakukan dengan mengambil dan menempatkannya di atas gelas objek, kemudian direkam melalui video rekorder yang terhubung dengan mikroskop. Parameter motilitas total sperma diukur meliputi motilitas progresif dan non progresif. Pengamatan dilakukan sampai dengan jam ke-n hingga motilitas total mendekati 40%. Nilai tersebut merupakan nilai minimum motilitas sperma yang baik digunakan untuk inseminasi buatan.

Hasil dan Pembahasan

Kualitas Semen Segar Domba Lokal

Pemeriksaan semen segar terdiri dari dua kategori, yaitu pemeriksaan secara makroskopis dan secara mikroskopis

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Domba Lokal

Parameter	Penampungan					Rata-rata
	1	2	3	4	5	
Makroskopis						
Volume (ml)	0,4	0,65	0,5	0,65	0,5	0,54 ± 0,04
Warna	Krem	Krem	Krem	Krem	Krem	Krem
Bau	Amis	Amis	Amis	Amis	Amis	Amis
Konsistensi	Kental	Kental	Kental	Kental	Kental	Kental
pH	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,50 ± 0,00
Mikroskopis						
Gerakan Massa	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Konsentrasi Sperma Total (10 ⁷ sel/ml)	254	171	250	225	179	235,8 ± 16,00
Motilitas (%)	88,30	89,21	86,40	90	81,23	87,02 ± 0,50
Viabilitas (%)	91,20	92,11	90	93,10	91	91,48 ± 0,52

Berdasarkan pada data Tabel 1, diperoleh rata-rata semen domba lokal $0,54 \pm 0,04$ mililiter. Umumnya volume semen segar domba berkisar 0,8-1,2 mililiter. Rendah tingginya volume semen segar domba disebabkan oleh keterampilan menampung semen serta ereksi dan ejakulasi yang lemah (Toelihere, 1993).

Warna semen saling berkaitan dengan konsistensi semen. Pada penelitian ini, semen segar domba lokal berwarna krem atau keruh dan konsistensinya kental. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993), bahwa semen segar domba yang normal memiliki warna seperti susu atau krem dan keruh. Semen yang berwarna keruh dan kental mengindikasikan jumlah sperma per mili-liternya semakin banyak, semakin tinggi konsentrasi sperma maka warna semen semakin keruh dan konsistensinya semakin kental (Susilawati, 2011).

Semen segar pada penelitian ini memiliki bau amis khas sperma, artinya bau semen tersebut normal. Bau semen yang normal memiliki bau amis khas sperma dan terdapat bau dari hewan tersebut (Nahtiyanti *et al.*, 2017).

Rataan pH pada penelitian ini sebesar 6,5. Toelihere (1993) menyatakan bahwa umumnya semen domba memiliki pH antara 6,2-7,0.

Pada pemeriksaan mikroskopis, gerakan massa yang diperoleh pada penelitian ini adalah +++ yang menandakan gerakan massa semen tersebut sangat baik. Gerakan massa yang sangat baik ditandai dengan gelombang besar, banyak, tebal, aktif, dan gelap seperti gumpalan awan hitam yang bergerak cepat (Susilawati, 2011). Konsentrasi sperma total yang diperoleh dari penelitian ini memiliki rata-rata $235,8 \times 10^7$ sel per mililiter. Konsentrasi tersebut masih dalam keadaan yang normal. Menurut Toelihere (1993) rata-rata konsentrasi spermatozoa domba berkisar $200-300 \times 10^7$.

Penelitian ini memperoleh motilitas semen segar domba lokal dengan rata-rata sebesar 87,02%. Nilai motilitas tersebut termasuk baik, artinya semen domba memiliki kualitas tinggi. Menurut pendapat Gundogan *et al.* (2010) kisaran normal motilitas sperma domba lebih dari 70%. Nilai rata-rata viabilitas semen segar pada penelitian ini sebesar 91,48%. Rataan viabilitas

tersebut lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelum-nya dengan nilai viabilitas 87,96% (Akhdia, 2012). Persentase viabilitas spermatozoa lebih tinggi dari persentase motilitas.

Persentase Motilitas Total

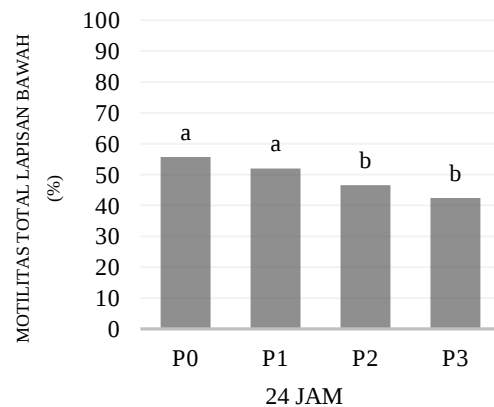
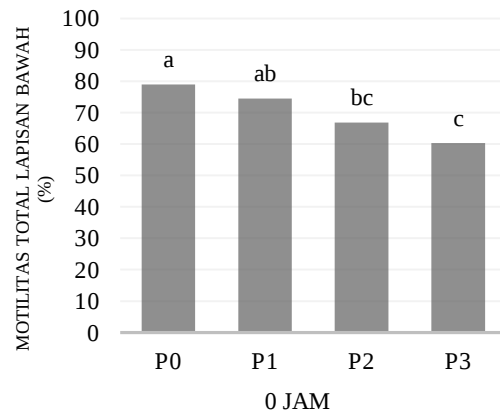
Motilitas atau daya gerak spermatozoa digunakan sebagai indikator utama dalam penilaian kualitas sperma. Motilitas spermatozoa memiliki peranan penting dalam keberhasilan fertilisasi (Zulyazaini *et al.*, 2016). Hasil penelitian motilitas menggunakan data hingga penyimpanan pada jam ke-24. Hal ini dikarenakan pada jam ke-24 sudah terdapat sperma yang motilitasnya mendekati 40%.

Tabel 2. Persentase Motilitas Total Spermatozoa

Jam	Perlakuan	Lapisan atas	Lapisan bawah
		%.....	
0	P ₀	80,64±0,36	79,01±0,68
	P ₁	78,30±1,29	74,52±0,93
	P ₂	79,12±1,44	66,84±2,23
	P ₃	78,35±1,66	60,27±3,30
24	P ₀	56,69±1,77	55,73±1,31
	P ₁	56,85±1,31	52,00±1,60
	P ₂	54,51±1,10	46,55±1,27
	P ₃	52,99±0,34	42,46±0,88

Penggunaan resiquimod (R848) pada penyimpanan suhu 5°C menyebabkan penurunan motilitas total sperma hingga 40% terjadi pada waktu penyimpanan sperma selama 24 jam. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan resiquimod (R848) tidak berpengaruh nyata terhadap motilitas total sperma lapisan atas. Adapun resiquimod (R848) berpengaruh nyata terhadap motilitas total sperma lapisan bawah baik jam ke-0 dan ke-24.

Penambahan resiquimod (R848) dalam media *sexing* berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas total sperma lapisan bawah. Selanjutnya, uji



lanjut Tukey HSD dilakukan untuk mengetahui signifikansi antar grup perlakuan.

Ilustrasi 1. Motilitas Total Lapisan Bawah Jam ke-0 dan Jam ke-24

Keterangan :

P₀ = 0 µM resiquimod (R848)

P₁ = 0,3 µM resiquimod (R848)

P₂ = 0,6 µM resiquimod (R848)

P₃ = 0,9 µM resiquimod (R848)

Hasil uji lanjut Tukey HSD pada ilustrasi di atas menunjukkan bahwa motilitas total sperma lapisan bawah penyimpanan 0 jam pada P₀ (79,01%) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan P₂ (66,84%) dan P₃ (60,27%), tetapi tidak nyata lebih tinggi dibandingkan P₁ (74,52%). Hasil P₁ (74,52%) nyata lebih tinggi dibandingkan P₃ (60,27%), tetapi tidak nyata lebih tinggi dibandingkan P₀ (79,01%) dan P₂ (66,84%). Signifikansi tersebut menunjukkan bahwa pemberian resiquimod (R848) 0,3 µM

penyimpanan 0 jam, masih menghasilkan motilitas total lapisan bawah yang sama dengan perlakuan tanpa penambahan resiquimod (R848), berbeda dengan pemberian resiquimod (R848) 0,6 μ M dan 0,9 μ M penyimpanan 0 jam yang menghasilkan motilitas total nyata lebih rendah dibandingkan perlakuan tanpa pemberian resiquimod (R848).

Adapun pada penyimpanan jam ke-24 menunjukkan bahwa motilitas total sperma lapisan bawah penyimpanan suhu 5°C selama 24 jam pada P₀ (55,73%) dan P₁ (52,00%) nyata lebih tinggi dibandingkan dengan P₂ (46,55%) dan P₃ (42,46%). Signifikansi tersebut menunjukkan bahwa pemberian resiquimod (R848) 0,3 μ M pada penyimpanan 5°C selama 24 jam masih menghasilkan motilitas total yang sama dengan perlakuan tanpa penambahan resiquimod (R848), berbeda dengan pemberian resiquimod (R848) 0,6 μ M dan 0,9 μ M menghasilkan motilitas total yang nyata lebih rendah dibandingkan perlakuan tanpa pemberian resiquimod (R848).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan resiquimod (R848) dalam media *swim up* yang disimpan pada suhu 5°C mengalami penurunan motilitas total sperma hingga 40% terjadi dalam waktu 24 jam. Penurunan tersebut terjadi karena metabolisme yang menurun selama proses penyimpanan, sehingga ATP yang dihasilkan ikut menurun. Hal tersebut mengakibatkan semakin sedikitnya sperma yang memiliki cadangan energi untuk bergerak, sehingga motilitas sperma semakin kecil (Kusumawati *et al.*, 2016). Penggunaan resiquimod (R848) tidak memberikan pengaruh terhadap motilitas total sperma pada lapisan atas baik pada penyimpanan 0 jam atau 24 jam. Hal ini disebabkan bahwa pada lapisan atas diasumsikan terdapat banyak sperma Y. Penggunaan resiqui-

mod (R848) tidak berdampak terhadap sperma Y. Hal tersebut disebabkan karena TLR 7/8 tidak terdapat pada sperma Y sehingga penggunaan resiquimod (R848) tidak berpengaruh terhadap motilitas total sperma pada lapisan atas (Umehara *et al.*, 2019).

Adapun pada lapisan bawah, nilai motilitas total pada semua grup perlakuan yang mengandung resiquimod (R848) mengalami penurunan, baik pada penyimpanan 0 jam maupun 24 jam. Penurunan nilai motilitas total pada lapisan bawah semakin tinggi seiring dengan penambahan kadar resiquimod (R848) di dalam media. Semakin tinggi dosis resiquimod (R848) yang ditambahkan dalam media, maka semakin menurunkan motilitas total pada sperma lapisan bawah. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Umehara *et al.* (2019) bahwa resiquimod (R848) akan mengaktifkan ligan TLR7/8 yang menekan motilitas pada sperma X tetapi tidak pada sperma Y. Penelitian Wen *et al.* (2023) juga mengungkapkan bahwa keberadaan resiquimod (R848) mempengaruhi metabolisme ATP dan fungsi mitokondria. Dalam penelitiannya juga dijelaskan bahwa penggunaan resiquimod (R848) dalam media *swim up* membuat tingkat ATP secara signifikan lebih tinggi pada sperma bagian atas daripada sperma bagian bawah.

Penggunaan resiquimod (R848) pada metode *swim up* telah mengaktifkan TLR 7/8 yang berada pada bagian ekor sperma X. TLR 7/8 menyebabkan pergerakan sperma lebih rendah dibandingkan dengan sperma tanpa pemberian resiquimod (R848) dimana TLR 7/8 tidak diaktifkan. Keadaan tersebut membuat persentase motilitas sperma X lebih rendah pada lapisan bawah karena produksi ATP dari aktivitas heksokinase yang terhambat. Penggunaan resiquimod (R848) untuk memisahkan sperma X dan Y pada

metode *swim up*, telah menghambat pergerakan sperma X. Hal tersebut memungkinkan sperma X naik dengan cepat ke lapisan atas lebih kecil dan cenderung tertahan di lapisan bawah (Wen *et al.*, 2023; Umehara *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2022). Sampel hasil *sexing* dari setiap lapisan dapat digunakan untuk inseminasi buatan. Keberadaan TLR 7/8 telah menekan motilitas sperma X tanpa me-nurunkan fertilitas dan daya hidup sperma. Berdasarkan hal tersebut, sperma yang pergerakannya terhambat karena penambahan resiquimod (R848) dapat dipulihkan kembali dengan melakukan sentrifugasi untuk memisahkan resiquimod (R848) dalam media. Hal tersebut merujuk pada penelitian Umehara *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa rendahnya motilitas sperma lapisan bawah dapat dipulihkan dengan menghilangkan resiquimod (R848) dalam media *sexing*.

KESIMPULAN

Pemberian resiquimod (R848) pada media separasi sperma menurunkan motilitas total sperma domba lokal di lapisan bawah media pada penyimpanan suhu 5°C, tetapi tidak berpengaruh pada motilitas total sperma di lapisan atas media.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rangga Setiawan, S.Pt, M.Sc., Ph.D. dan Dr. Nurcholidah Solihati, S.Pt, M.Si. yang telah senantiasa membimbing, memberikan dukungan, saran, arahan, dan waktu dalam mengarahkan penulis.

DAFTAR PUSTAKA

Akhdiat, T. (2012). Proporsi Spermatozoa Y Hasil Pemisahan Dengan Fraksi Albumen Telur dan Lama Penyimpanan Semen Domba Lokal. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, (2), 59–69.

Gundogan, M., Yeni, D., Kocatepe, U. A., Avdatek, F., Kocatepe, U. A., Fidan, A. F., & Kocatepe, U. A. (2010). Pengaruh Konsentrasi Sperma Terhadap Motilitas, Morfologi, Membran dan Integritas DNA serta Parameter Stres Oksidatif Sperma Domba Jantan Selama Penyimpanan Cairan DNA. *Animal Reproduction Science*, 122, 200–207.

Huang, M., Cao, X. Y., He, Q. F., Yang, H. W., Chen, Y. Z., Zhao, J. L., Ma, H. W., Kang, J., Liu, J., & Quang, F. S. (2022). Alkaline Semen Diluent Combined with R848 for Separation and Enrichment of Dairy Goat X- Sperm. *Journal of Dairy Science*, 105 (12), 10020–10032.

Kusumawati, E. D., Leondro, H., Krisnaningsih, A. T. N., Susilawati, T., Isnaini, N., & Widhad, R. (2016). Pengaruh Suhu dan Lama Simpan Semen Segar terhadap Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa (Pe). *Seminar Nasional Hasil Penelitian*, 409–412.

Nahtiyanti, S., Ondho, Y. S., & Samsudewa, D. (2017). Perbedaan Kualitas Makroskopis Semen Segar Domba Batur dalam Flock Mating dan Pen Mating. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 12 (2), 191–198.

Susilawati, T. (2011). *Spermatologi*. Malang: UB Press.

Toelihere, M. R. (1993). *Inseminasi Buatan Pada Ternak. Cetakan Ketiga*. Bandung: Penerbit Angkasa.

Umehara, T., Tsujita, N., & Shimada, M. (2019). Activation of Toll-like Receptor 7/8 Encoded by the X Chromosome Alters Sperm Motility and Provides a Novel Simple Technology for Sexing Sperm. *PLOS Biology*, 17 (8), 1–24.

Wen, F., Liu, W., Li, Y., Zou, Q., Xian, M., Han, S., Zhang, H., Liu, S., Feng, X., & Hu, J. (2023). TLR7/8 Agonist (R848) Inhibit Bovine X Sperm Motility Via PI3K/GSK3 α/β and

PI3K/NF κ B Pathways. *International Journal of Biological Macromolecules*, 232 (22), 123485.

Zulyazaini, Z., Dasrul, D., Wahyuni, S., Akmal, M., & Abdullah, M. A. N. (2016). Karakteristik Semen dan Komposisi Kimia Plasma Seminalis Sapi Aceh yang Dipelihara di BIBD Saree Aceh Besar. *Jurnal Agripet*, 16 (2), 121–130.