



---

**PENGARUH KADAR RESIQUIMOD (R848) TERHADAP KEUTUHAN MEMBRAN HASIL  
SEXING PADA LAPISAN ATAS DAN BAWAH PADA SPERMATOZOA KAMBING  
PERANAKAN ETAWAH**

*THE EFFECT OF RESIQUIMOD (R848) LEVELS ON THE MEMBRANE INTEGRITY OF THE  
UPPER AND LOWER LAYERS AS THE RESULT OF SEXING IN ETAWAH CROSSBREED  
GOAT SPERMATOZOA*

**Gifari Ahmad Maulana, Nurcholidah Solihati, dan Rangga Setiawan**

*Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran*

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

*Korespondensi : gifari0523@gmail.com*

---

**Abstract**

*Etawah crossbreed goats are popular livestock bred in Indonesia because they can meet people's animal protein needs. In supporting the goat breeding program, efforts can be made to program the offspring according to rearing objectives. Sexing is the best way that can help in the breeding program. The research was conducted to determine the effect of administering resiquimod (R848) levels on the integrity of the plasma membrane resulting from sexing using the swim-up method. This method can select spermatozoa with X and Y chromosomes, with the principle that it will test the motility of the best spermatozoa by moving up to the top layer. Testing the quality of spermatozoa includes membrane integrity parameters in each layer. This research experiment used statistical analysis with the Completely Randomized Design (CRD) method. This research was given four treatments, namely P0 (without R848), P1 (R848 0.3  $\mu$ M), P2 (R848 0.6  $\mu$ M), and P3 (R848 0.9  $\mu$ M). Each treatment was repeated seven times. The results showed that the integrity of the upper and lower layers of the plasma membrane had a percentage value in the range of 80.10% - 83.53%. It can be concluded that the addition of resiquimod does not significantly affect the integrity of the plasma membrane of spermatozoa in Etawah crossbreed goats.*

**Keywords :** *Etawah crossbreed goat, Swim-up method, Resiquimod (R848), Membrane Integrity*

---

**Pendahuluan**

Peternakan kambing saat ini merupakan salah satu industri peternakan yang berkembang di Indonesia. Kambing merupakan hewan ruminansia kecil yang dapat menghasilkan anak hingga tiga kali dalam dua tahun dengan dua anak per kelahiran. Usaha perkembangbiakan ternak kambing memiliki peluang yang sangat menjanjikan mengingat tingginya permintaan di pasar. Kambing Peranakan Etawah (PE) adalah ternak populer yang dikembangkan dikarenakan dapat

memenuhi kebutuhan protein hewani masyarakat Indonesia. Kambing Peranakan Etawah berasal dari garis keturunan kambing Kacang dan Etawah. Berdasarkan produk yang dihasilkan, kambing Peranakan Etawah dapat menghasilkan daging dan susu (dwiguna). Ironisnya, kambing Peranakan Etawah memiliki produktivitas rendah akibat dari program perkembangbiakan yang kurang baik. Situasi ini menjadi lebih buruk jika kurangnya ketersediaan pejantan berkualitas yang dapat meningkatkan pro-

duktivitas ternak. Selain itu, pejantan yang digunakan untuk kawin alam kurang bervariasi, pejantan untuk kawin alam hanya dinilai berdasarkan bagian luar seperti postur tubuh, tidak berdasarkan recording dan mutu genetik. Pengaplikasian Inseminasi Buatan (IB) adalah solusi yang dapat digunakan untuk permasalahan perkembangbiakan, dikarenakan teknologi inseminasi buatan dapat menunjang peternak untuk menghasilkan bibit sesuai tujuan pemeliharaan dengan data yang lengkap. Teknologi inseminasi buatan telah banyak diaplikasikan dan diterima dengan baik oleh para peternak karena biaya lebih murah dan sudah banyak tersedia untuk kebutuhannya, serta efektivitasnya dalam mengembangkan bibit ternak yang berkualitas. Salah satu pemanfaatan aplikasi teknologi inseminasi buatan yang dapat menentukan jenis kelamin sesuai tujuan pemeliharaan yaitu *sexing* spermatozoa. *Sexing* adalah usaha untuk mengubah rasio alami spermatozoa berkromosom X dan Y menjadi rasio yang diinginkan menggunakan metode tertentu, hal ini menjadi cara alternatif yang baik dalam salah satu usaha peningkatan efisiensi reproduksi dan usaha peternakan.

Cara terbaru yang dapat digunakan untuk memisahkan spermatozoa dengan memiliki keberhasilan yang baik serta memiliki kemudahan dalam pengaplikasiannya adalah metode *swim-up* yang dimodifikasi dengan penambahan kadar resiquimod (R848). Resiquimod (R848) akan mengaktifkan reseptor TLR 7/8 yang ada pada spermatozoa berkromosom X. TLR 7/8 merupakan gen reseptor yang berada di bagian ekor. Resiquimod (R848) dapat mengikat kedua gen tersebut, sehingga spermatozoa X akan terhambat pergerakannya dan dapat terpisah dengan spermatozoa Y. Keutuhan dari membran plasma menjadi parameter yang penting untuk diamati dan dikaji, dikarenakan dua komponen sel terse-

but memiliki peran penting dalam fungsi dan keutuhan sel spermatozoa, dua komponen tersebut dapat menentukan keberhasilan fertilisasi saat perkawinan dengan memiliki kemampuan membuahi sel telur dengan efektif. Sejauh ini hasil pengukuran keutuhan membran plasma pada spermatozoa kambing Peranakan Etawah dengan penambahan kadar resiquimod belum ditemukan. Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan pengamatan tentang pengaruh kadar resiquimod (R848) terhadap keutuhan pada membran plasma spermatozoa kambing Peranakan Etawah.

### **Materi dan Metode**

Objek penelitian yang diamati yaitu semen segar dari kambing Peranakan Etawah dengan jenis kelamin jantan berusia 4 tahun yang dirawat dan dipelihara di Kandang Domba dan Kambing Lab Reproduksi Ternak dan Inseminasi Buatan, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran. Penelitian ini diawali dengan melakukan penampungan semen, pemeriksaan semen segar, pembuatan media, pencucian semen segar, dan *sexing* spermatozoa dengan metode *swim-up*. Evaluasi semen segar merupakan langkah awal untuk mengetahui kualitas suatu ejakulat sebelum dipergunakan dalam suatu penelitian. Spermatozoa hasil ejakulat akan diproses lebih lanjut dalam penelitian ini apabila memenuhi kriteria kelayakan melalui pengecekan makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi makroskopis meliputi pengecekan volume, warna, bau, pH, konsistensi. Evaluasi secara mikroskopis meliputi pengamatan gerakan massa sperma, konsentrasi sperma total, motilitas sperma, keutuhan membran plasma.

Pengujian parameter keutuhan membran plasma dapat dilakukan menggunakan larutan Hypoosmotic Swelling Test (HOS-test) dengan perbandingan 1 : 10. Sebanyak 10  $\mu$ M semen dimasukkan ke dalam mikrotub berisi 100  $\mu$ M larutan

Hypoosmotic Swelling (HOS-test) kemudian dihomogenkan. Campuran larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit dengan penyimpanan pada suhu 37°C. Setelah 30 menit inkubasi, spermatozoa dapat diamati dengan mikroskop perbesaran 400x, dan menghitung spermatozoa dengan minimal sebanyak 200 sel.

### Hasil dan Pembahasan

Metode Hypoosmotic Swelling Test (HOS-Test) digunakan untuk menguji keutuhan membran plasma. Spermatozoa yang mengalami pembengkakan menandakan bahwa spermatozoa tersebut mempertahankan keutuhannya, sedangkan spermatozoa yang tidak mengalami pembengkakan maka membrannya rusak. Membran Plasma Utuh (MPU) dapat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dan diamati minimal sebanyak 200 sel spermatozoa. Rataan kualitas keutuhan membran plasma diperoleh dari hasil perhitungan setelah spermatozoa disepariasi dengan metode *swim-up* dicantumkan pada Tabel.1.

Tabel 1. Persentase penambahan kadar resiquimod (R848) terhadap keutuhan membran plasma pada spermatozoa Kambing Peranakan Etawah

Perlakuan	Membran Plasma (%)	
	Lapisan Atas	Lapisan Bawah
P0	84,76% ± 1,04	84,20% ± 0,99
P1	84,04% ± 1,37	79,84% ± 1,58
P2	84,73% ± 0,99	80,75% ± 1,30
P3	82,02% ± 1,53	80,89% ± 1,68

#### Keterangan:

P0 = semen+ pengencer tanpa Resiquimod (R848)

P1 = semen+ pengencer dengan penambahan 0,3 µM Resiquimod (R848)

P2 = semen + pengencer dengan penambahan 0,6 µM Resiquimod (R848)

P3 = semen + pengencer dengan penambahan 0,9 µM Resiquimod (R848)

Tabel 1. menunjukkan rata-rata persentase keutuhan membran plasma spermatozoa hasil *sexing* kambing Pera-

nakan Etawah pada lapisan atas maupun lapisan bawah dengan perlakuan pemberian kadar resiquimod berkisar antara 79,84% - 84,76%. Hasil analisis ragam (Anova) menunjukkan bahwa penambahan kadar resiquimod tidak berbeda nyata terhadap keutuhan membran plasma baik lapisan atas maupun lapisan bawah.

Faktor yang menyebabkan membran plasma spermatozoa hasil *sexing* mempunyai persentase kerusakan yang rendah serta tidak adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan. Salah satu faktor pada penelitian ini menunjukkan bahwa agonis TLR7/8 yang diaktifkan oleh resiquimod hanya mengurangi motilitas spermatozoa tetapi tidak mempengaruhi kualitas dan kelangsungan hidupnya. Pendapat tersebut didukung oleh penelitian Wen *et al.*, (2023) menyatakan bahwa pensinyalan TLR7/8 mengurangi motilitas spermatozoa X dengan memengaruhi fungsi mitokondria dan metabolisme ATP. Hal ini sesuai dengan penelitian pada mencit yang dilakukan Umehara *et al.*, (2019) menyatakan bahwa TLR 7/8 merupakan protein reseptor terkait membran, secara spesifik diekspresikan pada ekor spermatozoa X dan tidak pada spermatozoa Y. Aktivasi ligan TLR7/8 secara selektif menekan mobilitas spermatozoa X, namun tidak pada spermatozoa Y, sehingga memungkinkan terjadinya pemisahan spermatozoa X dan Y. Hal ini menandakan bahwa resiquimod sebagai agen pemisah spermatozoa pada pengencer tidak memberikan dampak negatif terhadap Membran Plasma Utuh (MPU). Menurut penelitian Huang *et al.*, (2022) melaporkan bahwa resiquimod berpengaruh terhadap daya gerak spermatozoa X, aktivitas mitokondria dan konsentrasi intraseluler ATP tanpa menurunkan nilai viabilitas dan fertilitas.

Membran plasma yang utuh memungkinkan metabolisme berjalan dengan baik, yang berarti produksi ATP tidak terganggu dan dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup (Rizal &

Herdis, 2005. Membran plasma sel yang utuh akan meningkatkan motilitas, tuding akrosom utuh, dan jumlah spermatozoa hidup. Hal ini mengakibatkan proses metabolisme berjalan dengan baik dan dapat mempertahankan daya hidup pada spermatozoa (Rizal & Herdis, 2005). Membran plasma sel juga terdiri dari berbagai makromolekul, termasuk protein, lipoprotein, dan glikoprotein, seperti yang dinyatakan Subowo (1995) dalam (Rizal & Herdis, 2005). Fungsi dari makromolekul ini adalah sebagai reseptor atau saluran yang mengatur segala proses biokimia yang terjadi di dalam sel.

Faktor lingkungan dapat menyebabkan kerusakan membran plasma. Menurut Arifiantini *et al.*, (2005) bahwa perubahan tekanan osmotik yang terjadi pada plasma semen akan membuat terjadinya kerusakan pada membran plasma spermatozoa, hal tersebut akan mengurangi permeabilitas pada spermatozoa (Hidayat, 2013) dalam (Cahya *et al.*, 2017). Perubahan temperatur yang signifikan akan membuat membran plasma spermatozoa mengalami kerusakan. Menurut Aprianti, (2012) perubahan tekanan osmotik yang terjadi akan mengakibatkan pecahnya membran plasma spermatozoa dan akan menyebabkan kerusakan. Tekanan osmotik pada bahan pengencer dapat mempengaruhi membran plasma spermatozoa (Hidayati *et al.*, 2015).

Tingginya persentase keutuhan membran plasma pada penelitian ini menandakan bahwa spermatozoa tidak mengalami kerusakan yang drastis dan resiquimod tidak memberikan dampak negatif terhadap membran plasma dicirikan dengan rata-rata persentase 79,84% - 84,76%. Persentase tersebut berada di atas batas membran plasma yang baik. Penambahan kadar resiquimod dengan kadar 0  $\mu\text{M}$ , 0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$  dan 0,9  $\mu\text{M}$  pada sexing dengan metode *swim-up* menunjukkan bahwa larutan masih dalam keadaan isotonis yang tidak menyebab-

kan tekanan osmotik yang meningkat, sehingga membran plasma dapat mempertahankan keutuhannya. Penambahan kadar resiquimod pada sexing bisa dikatakan aman terhadap spermatozoa dan tidak merusaknya. Hal ini terlihat pada setiap perlakuan yang mengandung resiquimod memiliki nilai membran plasma yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan tanpa pemberian resiquimod. Hal ini menunjukkan bahwa membran plasma spermatozoa yang tidak motil dalam pengencer tetap mempertahankan keutuhannya, sehingga penurunan motilitas spermatozoa yang drastis tidak diikuti dengan penurunan membran plasma yang drastis juga.

### Kesimpulan

1. Penambahan kadar resiquimod (R848) sampai dengan 0,9  $\mu\text{M}$  tidak berpengaruh nyata terhadap keutuhan membran plasma kambing Peranakan Etawah hasil sexing.

2. Penambahan kadar resiquimod (R848) 0,3  $\mu\text{M}$ , 0,6  $\mu\text{M}$  dan 0,9  $\mu\text{M}$  pada lapisan atas dan lapisan bawah menghasilkan persentase membran plasma tidak jauh berbeda antar perlakuan.

### Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa naskah ini tidak ada benturan kepentingan dengan pihak manapun terkait materi yang dibahas dalam makalah, pendanaan, dan perbedaan pendapat antar para penulis.

### Daftar Pustaka

- Aprianti, C. (2012). Pengaruh waktu ekuilibrisasi terhadap kualitas semen beku sapi pesisir pre dan Post Thawing. Tesis. Program Studi Ilmu Ternak Program Pascasarjana Universitas Andalas.
- Arifiantini, I., Yusuf, T. L., & N, Graha. (2005). Longvitas dan recovery rate pasca thawing semen beku sapi fresian holstein menggunakan bahan pengencer yang berbeda. *Buletin Peternakan*, 29(2), 53-61.

- Cahya, R. I., Ondho, Y. S., & Setiatin, E. T. (2017). Persentase membran plasma utuh dan tudung akrosom utuh spermatozoa kambing peranakan etawah dalam pengencer yang berbeda. *Prosiding Jurusan Peternakan*, 406–416.
- Hidayati, N., Arifiantini, R. I., & Sajuthi, D. (2015). Preservasi semen kambing peranakan etawa dalam pengencer tris dan sitrat kuning telur dengan penambahan sodium dodecyl sulphate. *Jurnal Veteriner*, 16(15), 334–342.
- Huang, M., Cao, X. Y., Dia, 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. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22115>
- Rizal, M., & Herdis. (2005). Daya hidup spermatozoa epididimis domba garut yang dikriopreservasi menggunakan modifikasi pengencer tris. *Jurnal Hayati*, 12, 2.
- Tethool, A. N., Ciptadi, G., Wahjuningsih, S., & Susilawati, T. (2022). Karakteristik dan jenis pengencer semen sapi Bali: Suatu Review. *In Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis* (Vol. 12, Issue 1). <https://doi.org/10.46549/jipvet.v12i1.214>
- 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.
- Vans, G., & Maxwell. (1987). *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths.
- Wen, F., Liu, W., Li, Y., Zou, Q., Xian, M., Han, S., & Hu, J. (2023). TLR7/8 agonist (r848) inhibit bovine x sperm motility via pi3k/gsk3 $\alpha/\beta$  and pi3k/nfkb pathways. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123485.