



**PENGARUH KADAR RESIQUIMOD (R848) TERHADAP MOTILITAS SPERMATOZOA
KAMBING PERANAKAN ETAWAH HASIL SEPARASI**
*THE EFFECT OF RESIQUIMOD (R848) LEVELS ON SPERMATOZOA MOTILITY OF ETAWAH
CROSSBREED GOAT FROM SEPARATION RESULTS*

Yulia Citaliani Rostika, Nurcholidah Solihati, dan Rangga Setiawan

Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran

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

Korespondensi : yuliarostika7@gmail.com

Abstract

The study aims to determine the effect of resiquimod (R848) levels and the optimum use of resiquimod (R848) on the spermatozoa's motility of Etawah Crossbreed goats resulting from separation. The object used in this research was fresh semen from 4-year-old Etawah Crossbreed goats. This research used a Completely Randomized Design method with four treatments (P0 = 0 μ M R848, P1 = 0.3 μ M R848, P2 = 0.6 μ M R848, dan P3 = 0.9 μ M R848). As a result, it showed that R848 significantly affects sperm motility in the lower layer but has no effect on sperm motility in the upper layer resulting from the separation. The research data was followed by the Duncan test. The result showed that the motility of P3 (80.70%) was significantly lower than P0 (89.77%), P1 (89.52%), and P2 (89.38%). It was concluded that resiquimod (R848) had an effect on lower-layer spermatozoa motility, with an optimum level of 0.3 μ M in Etawah Crossbreed goat spermatozoa.

Keywords : *Resiquimod, Motility, Spermatozoa Separation, Swim Up Methods*

Pendahuluan

Kambing merupakan salah satu ternak penghasil daging dan susu. Kambing Peranakan Etawah merupakan salah satu rumpun kambing yang banyak dipelihara di Indonesia. Kambing Peranakan Eta-wah merupakan persilangan antara kambing Etawah dengan kambing Kacang (Lubis, 2016). Kambing Peranakan Eta-wah merupakan salah satu kambing dwiguna, yaitu sebagai penghasil daging dan susu (Christi *et al.*, 2019). Daya adaptasi yang baik terhadap lingkungan tropis, menjadi salah satu alasan Kambing Peranakan Etawah cocok dikembangkan di Indonesia.

Saat ini teknologi dalam meningkatkan efisiensi usaha ternak terus berkembang. Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi ternak yang sering

digunakan oleh peternak, karena memiliki biaya yang relatif murah dan terjangkau, serta sebagai sarana dalam menyebarkan bibit unggul (Elisia & Maiyontoni, 2022). Selain dapat menghasilkan bibit yang unggul, IB dapat menghasilkan jenis kelamin anak sesuai tujuan pemeliharaan bila menggunakan semen hasil separasi spermatozoa. Separasi spermatozoa adalah teknologi yang digunakan untuk pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan spermatozoa pembawa kromosom Y. Pemisahan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y menjadi salah satu bioteknologi yang dapat meningkatkan kelahiran dengan jenis kelamin sesuai keinginan peternak (Solihati *et al.*, 2023). Hal tersebut dapat meningkatkan efisiensi usaha karena menghasilkan kelahiran anak sesuai dengan harapan dan tujuan pemeliharaan.

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam pemisahan spermatozoa yaitu metode *swim up*. Metode *swim up* merupakan metode pemisahan spermatozoa yang didasarkan pada pergerakan spermatozoa X dan spermatozoa Y. Dalam upaya meningkatkan efektivitas separasi spermatozoa dengan metode *swim up*, dapat ditambahkan zat salah satunya yaitu resiquimod (R848). Resiquimod (R848) merupakan senyawa *imidazoquinoline* yang mengaktifasi TLR 7/8 yang terdapat pada spermatozoa kromosom X. Dasar penggunaan resiquimod (R848) dengan metode *swim up* menjadikan pergerakan spermatozoa X terhambat karena keberadaan Tlr 7/8 yang hanya terdapat di bagian tengah dan ekor spermatozoa X (Wen *et al.*, 2023).

Penggunaan resiquimod (R848) dalam separasi dengan metode *swim up* telah dilaporkan keberhasilannya oleh beberapa peneliti. Indikator penilaian kualitas spermatozoa yang mengalami perubahan pascapemisahan dengan metode *swim up* salah satunya adalah motilitas. Persentase motilitas spermatozoa sangat berpengaruh pada fertilitas spermatozoa saat IB. Pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up* dengan menggunakan resiquimod (R848), telah dilakukan pada beberapa hewan. Penerapan pada spermatozoa kambing Peranakan Etawah belum diketahui keberhasilannya terhadap motilitasnya. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kadar resiquimod serta menentukan kadar optimum penggunaan resiquimod (R848) terhadap motilitas spermatozoa kambing Peranakan Etawah.

Materi dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak dan Inseminasi Buatan, Fakultas Peternakan,

Universitas Padjadjaran, dan Kandang Reproduksi Ternak dan Inseminasi buatan, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran. Penelitian ini berlangsung pada bulan Januari – Februari 2024.

Materi. Objek yang digunakan pada penelitian merupakan semen segar kam-bing jantan Peranakan Etawah dengan umur empat tahun. Penampungan dila-kukan sebanyak dua kali dalam satu minggu (Senin dan Kamis), selanjutnya semen yang sudah ditampung akan men-dapatkan perlakuan di Laboratorium Reproduksi Ternak dan Inseminasi Buatan, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran. Bahan yang digunakan di antaranya: resiquimod (R848), DMSO, vaselin, aquabides, air hangat, NaCl 3%, NaCl fisiologis, kristal tris, glukosa, dan asam sitrat. Alat yang digunakan di antaranya: vagina buatan, tabung penampung, mikrotube, mikropipet, mikroskop, gelas objek, gelas penutup, kamar hitung neubauer, kertas label, spidol, kertas lakmus, labu ukur, tisu, pemanas air, sentrifugal, waterbath, neraca analitik, vortex, dan counter.

Metode. Penelitian ini dimulai dengan penampungan semen, pemeriksaan semen segar, pembuatan media, pencuci-an semen segar, separasi spermatozoa dengan metode *swim up*, dan pemisahan lapisan atas dan lapisan bawah. Pemerik-saan semen segar yang sudah ditampung perlu dilakukan untuk mengetahui kualiti-tas semen. Pemeriksaan semen segar ter-diri atas dua kategori yaitu makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi makroskopis terdiri atas volume, konsistensi, bau, pH, dan warna. Evaluasi mikroskopis terdiri atas gerakan massa, konsentrasi sperma total, dan motilitas. Pengujian parameter motilitas lapisan atas dan lapisan bawah, dilakukan dengan cara meletakkan sam-pel sebanyak $\pm 20 \mu\text{L}$ di atas gelas objek kemudian ditutup menggunakan gelas penutup. Kemudian

diamati menggunakan mikroskop yang terhubung dengan video recorder dengan perbesaran 10×40 .

Hasil dan Pembahasan

Motilitas merupakan salah satu parameter dalam penilaian kualitas spermatozoa yang menjadi dasar informasi kemampuan spermatozoa dalam fertilisasi. Menurut Manehat *et al.* (2021) motilitas individu spermatozoa merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan fertilitas seekor pejantan, semakin tinggi motilitas individu maka semakin tinggi pula kemampuan pejantan dalam pembuahan. Persentase motilitas spermatozoa dari setiap lapisan hasil pemisahan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan persentase motilitas hasil pemisahan dengan penambahan resiquimod (R848)

Perlakuan	Motilitas (%)	
	Lapisan Atas	Lapisan Bawah
P0	90,44±1,74	89,77±2,53
P1	90,68±2,19	89,52±1,66
P2	93,01±0,94	89,38±2,57
P3	89,89±1,41	80,70±2,34

Keterangan:

P0= Kadar Resiquimod (R848) 0 μ M.

P1= Kadar Resiquimod (R848) 0,3 μ M.

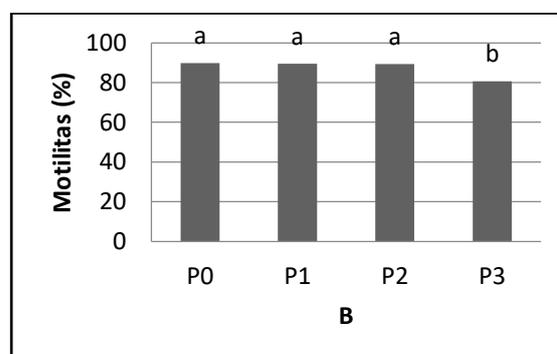
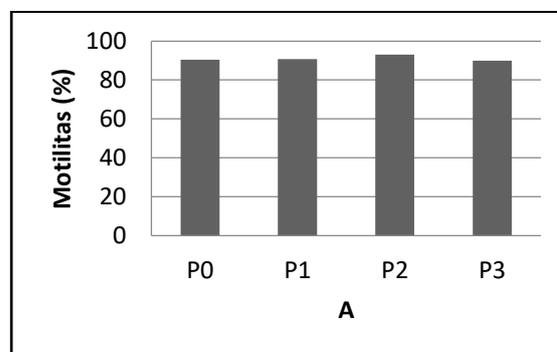
P2= Kadar Resiquimod (R848) 0,6 μ M.

P3= Kadar Resiquimod (R848) 0,9 μ M.

Hasil penelitian pada Tabel 1 menunjukkan rataan motilitas spermatozoa lapisan atas lapisan bawah hasil pemisahan. Rataan motilitas lapisan bawah memiliki hasil yang lebih rendah dari lapisan atas. Berdasarkan hasil analisis ragam, penggunaan resiquimod (R848) tidak berpengaruh nyata terhadap motilitas lapisan atas. Akan tetapi, memberikan hasil yang berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas pada lapisan bawah. Hasil

analisis uji Duncan untuk motilitas spermatozoa pada lapisan atas dan bawah dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil uji lanjut berganda Duncan pada Gambar 1 (B), menunjukkan bahwa P₃ dengan kadar resiquimod (R848) 0,9 μ M memberikan hasil nyata lebih rendah dibandingkan dengan P₀, P₁, dan P₂ pada motilitas lapisan bawah. Namun, P₀, P₁, dan P₂ tidak berbeda nyata. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar resiquimod (R848) sebanyak 0,3 μ M dan 0,6 μ M memiliki persentase motilitas yang sama dengan perlakuan tanpa pemberian resiquimod (R848). Berbeda dengan pemberian resiquimod (R848) sebanyak 0,9 μ M yang menghasilkan motilitas nyata lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan tanpa resiquimod (R848). Hal tersebut menunjukkan kadar resiquimod (R848) yang tinggi dapat menyebabkan motilitas lapisan bawah menjadi lebih rendah.



Gambar 1. (A) Motilitas Spermazoa Lapisan Atas; (B) Motilitas Spermatozoa Lapisan Bawah

Keterangan:

P0= Kadar Resiquimod (R848) 0 μ M.

P1= Kadar Resiquimod (R848) 0,3 μ M.

P2= Kadar Resiquimod (R848) 0,6 μ M.

P3= Kadar Resiquimod (R848) 0,9 μ M.

Resiquimod (R848) merupakan senyawa *imidazoquinolline* yang berperan dalam modifikasi respon imun. *Immi-dazoquinolline* merupakan sekelompok molekul kecil sintetik yang dapat mengaktifkan *Toll-like receptor 7*, *Toll-like receptor 8*, atau keduanya (Lu *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa penggunaan resiquimod (R848) pada pemisahan spermatozoa dengan metode *swim up*, mengaktifasi Tlr 7/8 yang berada pada spermatozoa X (Umehara *et al.*, 2019). Ren *et al.* (2021) menyatakan bahwa Tlr 7/8 pada kambing perah diduga berada di bagian ekor spermatozoa X, dimungkinkan keberadaan Tlr 7/8 erat kaitannya terhadap daya gerak spermatozoa.

Lebih lanjut dilaporkan bahwa pengaktifasian Tlr 7/8 pada sperma X mengaktifkan terhambatnya produksi ATP dari aktivitas heksokinase dan aktivitas mitokondria yang berdampak pada pengurangan energi dan motilitas sperma-tozoa X (Umehara *et al.*, 2019; Ren *et al.*, 2021; Wen *et al.*, 2023). Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian ini, bahwa keberadaan resiquimod (R848) sebagai ligand dari TLR 7/8 menurunkan motilitas sperma pada lapisan bawah media yang diduga mengandung banyak spermatozoa X.

Spermatozoa memanfaatkan ATP sebagai sumber energi dalam proses pergerakan, sehingga tetap motil serta untuk mempertahankan hidupnya (Rizal, 2009). Berdasarkan hasil penelitian, motilitas lapisan atas lebih

tinggi dibandingkan motilitas lapisan bawah. Hal tersebut menunjukkan resiquimod (R848) tidak berdampak pada motilitas spermatozoa pada lapisan atas yang diduga mengandung banyak spermatozoa Y. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ren *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa produksi ATP mitokondria pada sperma Y tidak terpengaruh oleh keberadaan resiquimod (R848), sehingga motilitasnya memiliki kecepatan yang normal. Ketika produksi ATP terhambat, pergerakan spermatozoa X cenderung tertahan di lapisan bawah dan spermatozoa Y akan bergerak ke permukaan media, karena tidak terpengaruh oleh keberadaan resiquimod (R848) (Umehara *et al.* 2019).

Penggunaan resiquimod (R848) dalam pemisahan hanya menekan motilitas spermatozoa X tanpa menurunkan kemampuan dalam proses pembuahan. Berdasarkan hasil penelitian rata-rata motilitas pada lapisan atas dan bawah berkisar antara 80,70% hingga 93,01%, hal tersebut menunjukkan sampel layak digunakan untuk IB. Toelihere (1985) menyatakan bahwa semen yang layak digunakan untuk IB minimal 40%. Sampel dapat digunakan untuk IB setelah keberadaan resiquimod (R848) dihilangkan, yaitu dengan pencucian sampel. Pencucian dilakukan dengan sentrifugasi untuk memisahkan resiquimod (R848) dan sampel ditambahkan dengan media pengencer yang baru. Hal ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa motilitas yang terhambat dapat dimediasi dengan menghilangkan resiquimod (R848) di dalam media (Umehara *et al.*, 2019).

Kesimpulan

1. Penggunaan resiquimod (R848) menurunkan motilitas spermatozoa kambing Peranakan Etawah pada lapisan bawah, akan tetapi tidak

berpengaruh terhadap motilitas lapisan atas.

2. Penggunaan resiquimod (R848) sebanyak 0,3 μM merupakan kadar optimum pada metode separasi spermatozoa kambing Peranakan Etawah.

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

- Christi, R. F., Salman, L. B., Hermawan., & Suharwanto, D. (2019). Karakteristik Ukuran Tubuh Kambing Peranakan Ettawa pada Periode Dara dan Laktasi 1 di Kelompok P4S Agribis-nis Assalam Indihiang Kabupaten Tasikmalaya. *Jurnal Sains Peternakan*, 7(2), 122–127. <https://doi.org/10.21067/jsp.v7i2.3993>
- Elisia, R., & Maiyontoni (2022). Pengaruh Media Swim-up terhadap Karakteristik Spermatozoa Epididimis Kerbau. *Jurnal Peternakan Mahaputra*, 2(2), 146–152.
- Lu, R., Groer, C., Kleindi, P. A., Moulder, K. R., Huang, A., Hunt, J. R., Cai, S., Aires, D. J., Berkland, C., & Forrest, L. (2019). Formulation and preclinical evaluation of a Toll-like receptor 7/8 agonist as an anti-tumoral immunomodulator. *J Control Release*, 306, 165–176.
- Lubis, E. M. (2016). Efisiensi Reproduksi Kambing Peranakan Etawa Di Lembah Gogoniti Farm Di Desa Kemirigede Kecamatan Kesamben Kabupaten Blitar. *AVES: Jurnal Ilmu Peternakan*, 10(1), 5.
- Manehat, F. X., Dethan, A. A., & Tahuk, P. K. (2021). Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas Spermatozoa dan pH Semen Sapi Bali dalam Pengencer Sari Tebu Air-Kuning Telur yang Disimpan dalam Waktu yang Berbeda. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 3(2), 76–90.
- Ren, F., Xi, H., Ren, Y., Li, Y., Wen, F., Xian, M., Zhao, M., Zhu, D., & Wang, L. (2021). TLR7 / 8 signalling affects X-sperm motility via the GSK3 α / β -hexokinase pathway for the efficient production of sexed dairy goat embryos. 1–17.
- Rizal, M. (2009). Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Sapi Bali yang Dipreservasi pada Suhu 3-5 o C dalam Pengencer Tris dengan Konsentrasi Laktosa yang Berbeda. *Jitv*, 14(2), 142–149.
- Solihati, N., Rasad, S. D., Nena Hilmia, N. H., & Irianti, S. A. (2023). Identifikasi Sperma Pembawa Kromosom X dan Y Secara Morfometri sebagai Dasar Aplikasi Sexing Semen Sapi Pasundan. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 10(2), 44–51. <https://doi.org/10.35508/nukleus.v10i2.13323>
- Toelihere. (1985). *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung, Indonesia: 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), e3000398.
- 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). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123485>