

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

Arvioges¹, Pajri Anwar² dan Jiyanto²

¹ Mahasiswa Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian UNIKS

² Dosen Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian UNIKS

ABSTRACT

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.

THE EFFECTIVENESS OF THAWING TEMPERATURE INTACT PLASMA MEMBRANE (MPU) AND INTACT CROSOME CAPS (TAU) OF BALI CATTLE SPERMATOZOA

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of thawing temperature on the livability value of intact plasma membranes and full acrosomal caps of bali cattle spermatozoa. This research was conducted at the Basic Laboratory of the Faculty of Agriculture, Kuantan Singingi Islamic University in July 2020. The parameters observed were livability, intact plasma membrane (MPU) and intact acrosome hood (TAU) of Bali cattle spermatozoa. The sample used was 15 Bali beef straws. This research was conducted experimentally using a completely randomized design with 5 treatments and 6 replications. The treatments used were 24 ° C, 28 ° C, 32 ° C, 36 ° C, and 38 ° C. The results showed that thawing temperature at 32 ° C could maintain livability (98.17 ± 2.64) and an intact acrosome hood (98.8 ± 31.94) and maintain intact plasma membranes at 24 ° C, namely ($59, 50 \pm 22.96$). From the research results it can be concluded that the best treatment is at a temperature of 32 ° C.

Key words: Bali cattle, spermatozoa, livability, MPU, TAU

PENDAHULUAN

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, transportasi 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

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 Utuh Tudung Akrosom Utuh Spermatozoa Sapi Bali

METODE PENELITIAN

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

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

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.

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 20µl semen dan dimasukkan kedalam larutan 200µl hypoosmotic selanjutnya dihomogenkan dengan membentuk angka 8. Setelah homogeny larutan semen dan hypoosmotic tersebut diinkubasi kedalam inkubator dengan suhu 37°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.

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.

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 tewarnai oleh eosin dikatakan hidup sedangkan yang tewarnai dinyatakan mati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penilaian livabilitas

Perhitungan rerata livabilitas spermatozoa semen beku sapi bali dapat dilihat pada

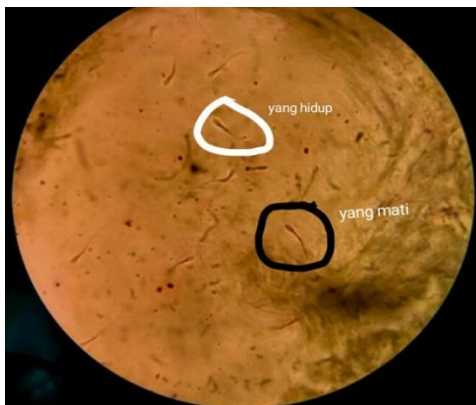
Tabel 2.

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

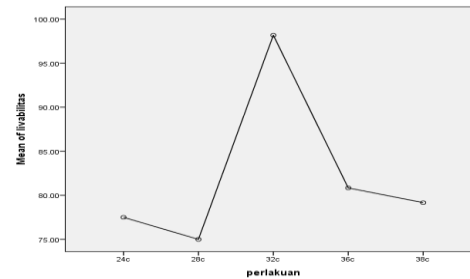
Hasil penelitian dari uji statistic anova nilai livabilitas spermatozoa tidak berpengaruh nyata ($P>0,05\%$) terhadap suhu thawing yang berbeda. Nilai rata-rata dari yang tertinggi hingga yang terendah yaitu perlakuan 32°C 98.17±2.64, perlakuan 36°C 80.83±19.29, perlakuan 38°C 79.17±17.13, perlakuan 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 melekul 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).

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 berwarna hitam ekor lurus rusak dan lingkaran berwarna 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 kapasitasasi di dalam uterus dan pada waktu fusi

dengan membran plasma oosit saat terjadi fertilisasi.

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 toksik 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, kapasitasasi, reaksi akrosom, dan pengikatan spermatozoa pada permukaan sel telur Baqir *et al.*, (2009).

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 rata-rata yang cukup tinggi, yaitu di atas rata-rata 50%, dapat dilihat pada tabel 4.

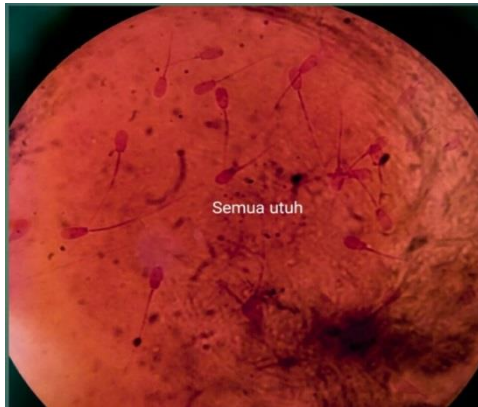
Tabel 4. Persentase Hasil Tudung Akrosom Utuh Pada Suhu yang Berbeda

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°C 98.8±31.94, perlakuan 36°C 88.83±21.53, perlakuan 38°C 87.83±14.83, perlakuan 28°C 79.16±19.79, perlakuan 24°C 75.83±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

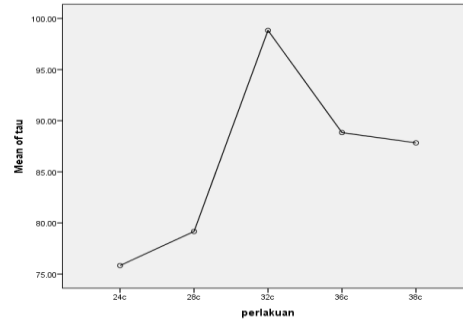
lemak poli tak jenuh sehingga terjadi peroksidasi lipid yang akan mengganggu membran plasma maupun tudung akrosom spermatozoa Susilowati, (2007). Dari gambar dibawah ini dapat kita lihat lingkaran di kepala spermatozoa tersebut menunjukkan tudung akrosom yang utuh.



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 pengembangan (*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-enzim 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 shock* 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.

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°C dengan nilai livabilitas 98.17, % membran plasma utuh 57,16 % dan tudung akrosom utuh 98.8 %.

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 tebu dengan 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 5°C 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 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. Fakhridin, dan B.K. Kouty. 2009. Outcomes of Sperm Parameters, Hypo-Osmotic Swelling Test and Intra-Uterine Insemination For Varicocele and Non-Varicocele Infertile Patients. *Journal Dohuk University*, Vol. 12. No. 1
- Bearden, William 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.
- 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.*
- 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.* lippicott Williams andwilkins philadelpia
- 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 Sience dan Performance Lab. Diambil kembali dari <http://www.pssplab/journal/06.pdf>
- Nalley. W. M. M., R. Hamdarini., dan B. Purwantari. 2007. Viabilitas Spermatozoa Rusa Timur (*Cervus Timorensis*) Di Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Dengan Penambahan Sumber Karbohidrat Berbeda Yang Disimpan Pada Suhu Ruang. *JITV*.14 (4): 311-317.
- 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.
- Salmah, N. 2014. Motilitas, Presentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Pengenceran Andromed dan Tris Kuning Telur [Skripsi]. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal 37-38.
- 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.

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.