



KARAKTERISTIK INTEGRITAS DNA DAN DEFISIENSI PROTAMIN SEMEN BEKU SAPI DONGGALA

Dimas Djafar Gunawan¹, Abdullah Baharun², Ekayanti M Kaiin³

dimassss1250@gmail.com¹

Universitas Djuanda Bogor

Abstrak: Penelitian mengenai spermatozoa sapi lokal Indonesia sudah banyak dilakukan, namun informasi tentang kualitas spermatozoa sapi Donggala sangat minim informasi terkait dengan aspek spermatozoa. Sapi Donggala merupakan sapi asli Indonesia yang berasal dari Provinsi Sulawesi Tengah. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi karakteristik integritas DNA spermatozoa dan defisiensi protamin spermatozoa semen beku sapi Donggala. Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah integritas DNA spermatozoa menggunakan pewarnaan acridine orange, status akrosom spermatozoa menggunakan pewarnaan FITC PNA-PI, defisiensi protamin spermatozoa menggunakan pewarnaan chromomycin A3 (CMA3) dan morfologi spermatozoa menggunakan pewarnaan eosin-nigrosin. Penelitian ini menggunakan semen beku sapi Donggala yang berasal dari UPTD Sidera. Penelitian ini menggunakan uji sample t-test dan uji pearson correlation dengan 6 pejantan sapi Donggala dan 4 pengulangan. Dari jumlah tersebut membutuhkan 24 unit satuan pengamatan. Data dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA dengan bantuan perangkat SPSS versi 24. Hasil penelitian menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) parameter integritas DNA spermatozoa dengan kode pejantan 103 (96,4%), 110 (97,4%) dan DB (95,8%) dan abnormalitas primer pada bagian narrow dengan kode pejantan 102 (1,5%). Uji korelasi dari semua pejantan menunjukkan adanya hubungan berkorelasi positif kuat antar parameter (pearson correlation $> r$ tabel). Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi Donggala dengan kode 103 (96,4%), 110 (97,4%) dan DB (95,8%) memiliki kualitas paling baik pada parameter Integritas DNA spermatozoa dan abnormalitas primer. Jenis abnormalitas spermatozoa (narrow) tertinggi terdapat pada pejantan 102 (1,5%). Secara menyeluruh kualitas semen beku sapi Donggala menunjukkan hasil yang baik dan masih layak digunakan untuk IB.

Kata Kunci: semen beku sapi Donggala, integritas DNA, defisiensi protamin.

Abstract: Studies on spermatozoa of Indonesian local bulls have been extensively conducted; yet the information on the quality of donggala bull spermatozoa is very limited. Donggala cattle is native Indonesian cattle originating from Central Sulawesi Province. This study was aimed at assessing the characteristics of DNA integrity and protamin deficiency of frozen semen of donggala bull. Measurements were taken on spermatozoa DNA integrity by using acridine orange staining method, spermatozoa acrosome status by using FITC PNA-PI staining method, spermatozoa protamin deficiency by using chromomycin A3 (CMA3) staining method, and spermatozoa morphology by using eosin-nigrosin staining method. Frozen semen was obtained from 6 donggala bulls of UPTD Sidera. Data were subjected to t-test, pearson correlation test, and one-way analysis of variance by using SPSS version 24 application. Results showed that DNA integrity values consisting of 96.4% (bull code 103), 97.4% (bull code 110), and 95.8% (bull code DB) were significantly different ($P < 0.05$). Primary abnormality in narrow part was 1.5% (bull code 102). Inter-

parameter correlation was found to be positively strong (pearson correlation > r table). It was concluded that donggala bulls code 103, 110, and DB had the best spermatozoa DNA integrity and primary abnormality. The highest spermatozoa abnormality (narrow) was found in bull code 102. Overall, frozen semen of donggala bulls had good quality and was proper to use for artificial insemination

Keywords: frozen semen, donggala bull, DNA integrity, protamin deficiency.

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi untuk menghasilkan keturunan dan dapat meningkatkan mutu genetik. Pelaksanaan IB dilakukan dengan cara mendeposisikan semen atau spermatozoa dari pejantan terbaik langsung ke dalam oviduct (cincin ke-4) pada ternak betina estrus. Program IB telah terbukti memberikan dampak positif pada peningkatan populasi ternak (Susilawati, 2013).

Sebelum pelaksanaan IB semen di bekukan terlebih dahulu. Ada kerusakan Spermatozoa disebabkan oleh penurunan suhu berkali-kali disaat semen beku disimpan. Kristal kristal es merusak membran sel mitokondria ataupun protein. Priyanto (2015) menyatakan Kerusakan tersebut dapat dipahami karena dalam proses pembekuan, spermatozoa mengalami penurunan suhu ekstrim berkali-kali, mulai dari proses pembekuan menggunakan nitrogen -196°C dan proses thawing dimana suhu mencapai 37°C. Selain akibat cold shock, kerusakan juga dapat disebabkan oleh pengencer semen yang mengandung krioprotektan yang bersifat hiperosmotik (Arifiantini et al., 2012). Penelitian mengenai spermatozoa sapi lokal Indonesia sudah banyak dilakukan, namun informasi tentang kualitas spermatozoa sapi Donggala sangat minim informasi terkait dengan aspek spermatozoa. Sapi Donggala merupakan sapi asli Indonesia yang berasal dari Provinsi Sulawesi Tengah. Evaluasi spermatozoa sapi Donggala ini sangat penting untuk melihat fertilisasi yang berperan penting dalam kebuntingan. Fertilisasi akan berjalan dengan baik ketika kualitas spermatozoa memenuhi standar yang baik. Kualitas spermatozoa yang baik dapat dilihat dari faktor integritas DNA spermatozoa, defisiensi protamin spermatozoa, status akrosom dan morfologi spermatozoa Sapi Donggala.

Proses pembekuan sering menyebabkan kerusakan terhadap kualitas spermatozoa. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian apakah ada kerusakan akibat penyimpanan semen beku sapi Donggala. Penelitian terhadap kerusakan DNA spermatozoa, kerusakan protamin spermatozoa, kerusakan status akrosom dan abnormalitas pada kepala spermatozoa perlu dilakukan karena erat kaitanya dengan fertilisasi. Kerusakan DNA spermatozoa yang terlalu tinggi akan menyebabkan rendahnya angka kebuntingan (Aitken et al., 2001). Kromatin spermatozoa yang rusak menyebabkan terlambatnya penyatuan inti saat fertilisasi dan menyebabkan kematian embrio (Cordova et al., 2002). Salah satu penyusun kromatin adalah protamin. Protamin merupakan protein utama di dalam inti spermatozoa yang berikatan dengan DNA (Arpanahi et al., 2009). spermatozoa dengan akrosom utuh yang mampu melakukan penetrasi zona pelusida dan melakukan fusi dengan membran plasma oosit (Celeghini et al., 2010). Abnormalitas primer merupakan ketidak normalan morfologi spermatozoa yang terjadi ketika spermatozoa masih di dalam tubuli seminiferi (spermatogenesis). Kelompok abnormalitas ini lebih berbahaya karena sebagian bersifat genetik dapat

menurunkan fertilisasi sehingga memengaruhi keberhasilan inseminasi buatan. Semen dengan persentase abnormalitas cukup tinggi cenderung memiliki fertilisasi yang rendah karena berkaitan dengan kemampuan mengawali fertilisasi. Abnormalitas sekunder merupakan morfologi spermatozoa tidak normal yang terjadi selama spermatozoa melewati saluran reproduksi (Ariantie, 2014). Sel spermatozoa yang sehat dan normal sangat dibutuhkan saat proses fertilisasi, kerusakan sel spermatozoa menyebabkan sapi betina mengalami kegagalan dalam kebuntingan.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan mulai 1 Agustus sampai dengan 10 September 2022 di Gedung Genomik, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Jl. Raya Bogor KM 46 Cibinong, Kabupaten Bogor, 16911.

Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang diperlukan untuk penelitian ini, mikropipet dan tips, mikro tube, objek glass, cover glass, waterbath control, mikroskop yang telah dipasang ke komputer dengan bantuan aplikasi Spermvision 3.7 (Minitube-Germany®), mikroskop fluorescent (Carl Zeiss Imager Z7), hotplate, timbangan analitik, sudip, wadah 100 ml, freezer, bunsen, timer, gelas ukur, staining jar.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah semen beku sapi Donggala yang berasal dari UPTD Sidera., larutan phosphate buffer saline (PBS) yang terdiri atas NaCl 2 ml, KCl 0,05 ml, KH₂HPO₄ 0,05 ml, Na₂HPO₄ 0,2875 ml, glucose 0,2525 ml, sodium lactate 0,1155 ml, H₂O 250 ml, acridine orange 0,04%-0,1%., Larutan fixative carnoy terdiri atas methanol 300 ml dan acetid acid glacial 100 ml., McIlvaine buffer terdiri atas Na₂HPO₄ 5,445 g, citric acid 2.882 g, dan H₂O 300 ml., flourescein isothiocyanate (FITC) peanut agglutinin (PNA), propidium iodide (PI)., Chromomycin A3 (CMA3)., Ethanol Absolut 96%, spirtus, dan larutan eosin-nigrosin yang terdiri atas campuran 1g Eosin B, 5g Nigrosin, 3g Na Citrat dan 100 ml aquades, dan kutek.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan uji sample t-test dan uji pearson correlation dengan 6 pejantan sapi Donggala dan 4 pengulangan. Dari jumlah tersebut membutuhkan 24 unit satuan pengamatan. Data dianalisis menggunakan uji One-Way ANOVA dengan bantuan perangkat SPSS versi 24.

Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah integritas DNA spermatozoa, status akrosom, defisiensi protamin spermatozoa dan morfologi spermatozoa.

Prosedur Penelitian

1. Thawing Semen Beku

Semen beku di thawing pada waterbath control yang berisikan aquades dengan suhu 37 °C selama 30 detik. Semen beku kemudian di masukkan ke dalam mikro tube dan diletakan di atas hotplate dengan suhu 37 °C.

2. Pengujian Integritas DNA Spermatozoa

Pengujian Integritas DNA spermatozoa dilakukan dengan cara mengulas semen yang telah di-thawing pada object glass dan keringkan dengan api bunsen. Ulasan semen difiksasi ke dalam larutan carnoy sebanyak 200 ml selama 2 jam dan dibilas dengan aquades dan kering udarakan. Setelah kering sampel direndam ke dalam larutan

AO (5 menit) sebanyak 250 ml sampai over night, dan dibilas dengan aquades. Hasil bilasan tersebut ditutup dengan cover glass dan direkatkan (kutek bening). Dievaluasi menggunakan mikroskop fluorescent (Carl Zeiss Imager Z7) dengan pembesaran 400X dan Panjang gelombang 490-530 nm.

3. Pengujian Status Akrosome

Pengujian akrosom utuh dilakukan dengan menggunakan teknik FITC PNA-PI dilakukan dengan cara mengulas semen yang telah di-thawing pada object glass dan dikeringkan di atas api bunsen, selanjutnya ulasan semen difiksasi ke dalam larutan etanol 96% sebanyak 200 ml selama 10 menit kemudian dikering udarakan (Rajabi et al., 2019). Pemberian larutan PNA sebanyak 20-30 μ l dicampurkan dengan sampel dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya dicampurkan dengan PI (10 μ l) dan inkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. pencucian dilakukan menggunakan larutan PBS dan kering udarakan. Setelah sampel kering kemudian ditutup menggunakan cover glass dan direkat dengan kutek bening, dan dievaluasi menggunakan mikroskop fluorescent (Carl Zeiss Imager Z7) dengan perbesaran 400X dan Panjang gelombang 380-420 nm.

4. Pengujian Defisiensi Protamin

Pengujian pengujian defisiensi protamin menggunakan teknik fluoresen Chromomycin A3 (CMA3) dilakukan dengan cara mengulas semen pada object glass dan keringkan di atas api bunsen, selanjutnya ulasan semen difiksasi ke dalam larutan larutan carnoy sebanyak 200 ml selama 10 menit pada suhu -4°C (Simoes et al., 2009). Pencucian dilakukan PBS dan kering udarakan, selanjutnya object glass ditetesi larutan CMA3 sebanyak 20-50 μ l dan inkubasi selama 20-30 menit pada suhu 37 °C. Pencucian object glass menggunakan larutan McIlvain buffer dan kering udarakan dan ditutup dengan cover glass, serta direkatkan menggunakan kutek bening lalu dievaluasi di bawah mikroskop fluorescent (Carl Zeiss Imager Z7) dengan pembesaran 400X dan Panjang gelombang 460-470 nm.

5. Pengujian Morfologi

Pewarnaan spermatozoa menggunakan pewarnaan eosin-nigrosin, semen ditetaskan sebanyak 2-5 μ l semen yang telah di-thawing diatas object glass selanjutnya ditetesi larutan eosin-nigrosin dengan perbandingan 1:2. campuran semen dan eosin-nigrosin kemudian diulas tipis pada object glass dan dikeringkan dengan api bunsen hingga kering. Selanjutnya object glass dan ulasan semen diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400X dengan total minimal 200 sel atau 10 lapang pandang.

6. Pengujian Pearson Correlation

Pengujian ini dilakukan menggunakan perangkat SPSS dengan pengujian pearson correlation antar pejantan sapi Donggala. Data mengenai integritas DNA spermatozoa, defisiensi protamin spermatozoa, satu akrosom dan morfologi spermatozoa sapi Donggala di korelasikan untuk melihat ke linearan data dari pejantan sapi Donggala.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Beku

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) dari parameter integritas DNA spermatozoa. Hasil uji ANOVA pada parameter integritas DNA spermatozoa, defisiensi protamin spermatozoa, status akrosom dan morfologi spermatozoa dapat dilihat pada tabel 1.

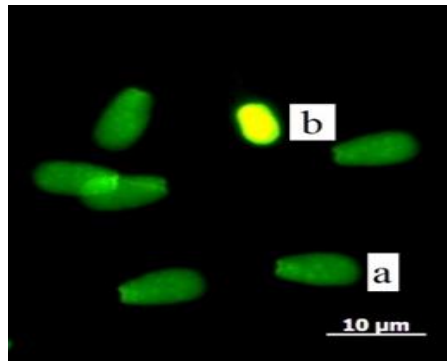
Tabel 1 Presentase Integritas DNA Spermatozoa, Status Akrosom, dan Defisiensi Protamin Spermatozoa Sapi Donggala

Kode	Integritas DNA (%)	Status Akrosom (%)	Defisiensi Protamin (%)
102	91,6±0,85 ^b	92,4±1,31	2,8±2,47
103	96,4±7,23 ^a	80,5±6,40	4,5±0
104	94,4±2,72 ^{ab}	87,4±6,30	1,0±0,0
105	84±3,39 ^c	92,9±1,89	3,0±2,12
110	97,4±0,75 ^a	79,5±9,85	1,25±0,35
DB	95,8±2,72 ^a	96,8±1,19	3,0±1,41

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata

Integritas DNA Spermatozoa

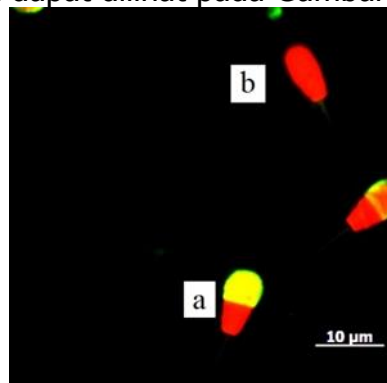
Pengujian integritas DNA spermatozoa sapi Donggala berbeda nyata ($P < 0,05$) diantara pejantan. Kode pejantan 103 (96,4%), 110 (97,4%) dan DB (95,8%) berbeda nyata dengan kode 102 (91,6%) dan 105 (84%), namun tidak berbeda nyata dengan kode 104 (94,4%). Kode 102 (91,6%) dan 104 (94,4%) berbeda nyata dengan kode 105 (84%). Data penelitian tersebut menunjukkan sapi pejantan 103 (96,4%), 110 (97,4%) dan DB (95,8%) memiliki nilai integritas DNA spermatozoa terbaik hal ini sesuai dengan penelitian Said, (2015) dengan rata-rata nilai Integritas DNA spermatozoa 86-100%. Jumlah DNA spermatozoa yang normal berada di angka kurang dari 15%, sedangkan kerusakan DNA spermatozoa di atas 25% menyebabkan spermatozoa menjadi infertil atau tidak dapat membuahi sel telur (Michael et al., 2013). Penyebab DNA spermatozoa sapi Donggala berbeda nyata dari pejantan lainnya bukan dari umur pejantan tersebut, dari ke-enam pejantan tersebut memiliki umur yang sama yaitu 4 tahun hanya pejantan dengan kode 105 yang memiliki umur 3 tahun. Faktor yang menyebabkan pejantan memiliki kualitas yang berbeda adalah dari genetik sapi Donggala itu sendiri. Menurut Chanalpiwat (2010) setelah dilakukan pembekuan terjadi penurunan pada beberapa parameter kualitas spermatozoa namun tidak pada kerusakan DNA. Faktor genetik lebih banyak berperan dibandingkan proses pembekuan. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan kerusakan DNA : (1) faktor internal, hal ini ditentukan secara genetik sejak lahir rentan terhadap paparan eksternal yang akibatnya cenderung mengalami kerusakan DNA. (2) faktor eksternal yang diduga berperan pada terjadinya kerusakan DNA adalah adanya kerusakan oksidatif yang berupa adanya infeksi atau paparan bahan-bahan oksidatif lainnya. Hasil evaluasi Integritas DNA spermatozoa menggunakan Acridine Orange dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Hasil Evaluasi DNA spermatozoa yang diberi pewarnaan Acridine Orange. a) DNA utuh, b) DNA rusak. Mikroskop fluorescent (Carl Zeiss Imager Z7) pembesaran 400X.

Status Akrosom

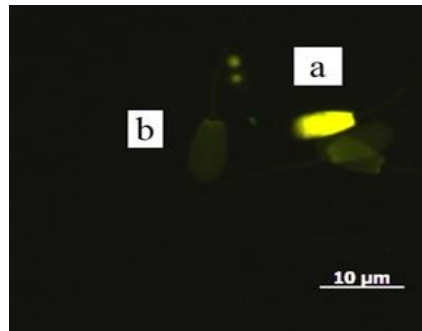
Pengujian keutuhan akrosom sapi Donggala tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$) pada semua pejantan. Hasil rata-rata yang di dapat pada penelitian ini dari pejantan sapi Donggala dengan kode 102 (92,4%), 103 (80,5%), 104 (87,4%), 105 (92,9%), 110 (79,5%) dan DB (96,8%). Hasil rata-rata akrosom pejantan DB (96,8%) 105 merupakan akrosom utuh di bandingkan pejantan lainnya, hal ini sesuai dengan penelitian Kusumawati, (2017) rata-rata nilai status akrosom sebesar 98,85%. Menurut (Hernandez et al., 2012) Spermatozoa dengan persentase keutuhan akrosom di bawah 50% akan kehilangan kemampuan fertilisasinya. Hasil evaluasi status akrosom spermatozoa menggunakan FITC-PNA PI dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Hasil evaluasi akrosom menggunakan FITC-PNA PI a) akrosom tidak utuh , b) akrosom utuh. Mikroskop fluorescent (Carl Zeiss Imager Z7) pembesaran 400X.

Defisiensi Protamin

Pengujian defisiensi protamin semen beku sapi Donggala tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$) pada semua pejantan. Rata-rata defisiensi protamin spermatozoa pada masing-masing pejantan adalah 102 (2,8%), 103 (4,5%), 104 (1,0%), 105 (3,0%), 110 (1,25%) dan DB (3,0%). Pejantan 104 (1,0%) memiliki nilai defisiensi protamin terendah dibandingkan pejantan lainnya. Defiensi protamin dikaitkan dengan penurunan kualitas sperma berupa protein, tetapi belum ada kepastian yang tepat mengenai nilai maksimum dan minimum defisiensi protamin (Zandemami et al., 2012). Hasil Penelitian (Zandemami et al., 2012) didapatkan persentase defisiensi protamin spermatozoa pada pria normal sebesar 26% dan pada oligo astheno teratozoospermic atau spermatozoa pria tidak normal sebesar 43,25%. Hasil evaluasi defisiensi protamine spermatozoa dengan pewarnaan CMA3 dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Hasil evaluasi defisiensi protamin menggunakan pewarnaan CMA3 (a), protamin rusak (b), protamin normal. Mikroskop fluorescent (Carl Zeiss Imager Z7) pembesaran 400X.

Morfologi Spermatozoa

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$) dari abnormalitas primer pada narrow. Hasil uji ANOVA pada abnormalitas primer dan sekunder dapat dilihat pada tabel 2.

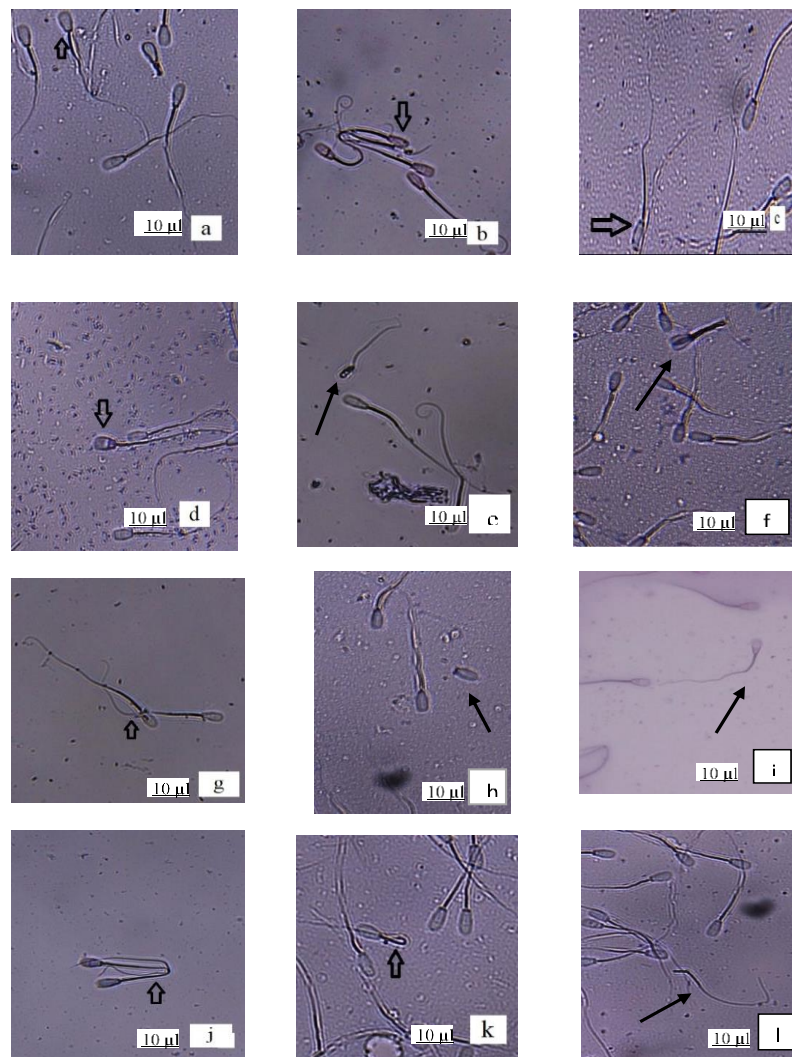
Tabel 2 Morfologi Abnormalitas Primer dan Sekunder Spermatozoa Sapi Donggala

Parameter	Pejantan					
	102 (%)	103 (%)	104 (%)	105 (%)	110 (%)	DB (%)
Normal	93,3±1,72	95,6±1,04	94,8±1,73	96,1±1,46	96,98±1,35	94,9±0,12
Abnormal	6,7±1,72	4,4±1,04	5,2±1,73	4,5±1,46	3,02±1,35	5,1±0,12
Primer:	4,2	2,6	3,7	2,4	2,1	3
<i>Pearshape</i>	0,5±0,22	0,1±0,13	0,3±0,26	0,6±0,24	0,1±0,10	0,2±0,10
<i>Narrow</i>	1,5±0,67 ^a	1,0±0,25 ^{ab}	1,2±0,99 ^{ab}	0,5±0,41 ^b	0,4±0,43 ^b	0,6±0,47 ^b
<i>Abnormal Contour</i>	0,2±0,12	0,1±0,05	0,3±0,24	0,2±0,17	0,3±0,05	0,3±0,17
<i>Macrocephalus</i>	0,7±0,66	0,2±0,13	0,4±0,33	0,3±0,31	0,3±0,10	0,4±0,10
<i>Microcephalus</i>	0,3±0,39	0,7±0,39	0,6±0,64	0,2±0,19	0,2±0,29	0,2±0,18
<i>Double head</i>	0,0	0,1±0,10	0	0	0,1±0,10	0
<i>Abaxial</i>	0,3±0,10	0,2±0,24	0,1±0,15	0,2±0,13	0,3±0,13	0,5±0,27
<i>Detached head</i>	0,7±0,57	0,2±0,13	0,8±0,36	0,4±0,41	0,4±0,23	0,8±0,58
Sekunder:	2,5	1,8	1,5	2,1	0,92	2,1
<i>Bent mid piece</i>	1,0±0,19	0,8±0,42	0,7±0,37	0,6±0,30	0,3±0,15	1,0±0,50
<i>Bent tail</i>	1,0±0,77	0,3±0,31	0,2±0,18	0,3±0,21	0,02±0,05	0,1±0,13
<i>Folded tail</i>	0,2±0,29	0,5±0,32	0,4±0,48	0,7±0,72	0,5±0,53	0,9±0,57
<i>Broken Tail</i>	0,3±0,22	0,2±0,15	0,2±0,21	0,5±0,45	0,1±0,05	0,1±0,08

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata

Pengujian morfologi abnormalitas primer (narrow) menunjukkan rata-rata persentase pada masing-masing pejantan adalah 102 (1,5%), 103 (1%), 104 (1,2%) 105 (0,5%), 110 (0,4%), dan DB (0,6%). Abnormalitas primer tertinggi terdapat pada pejantan 102 (1,5%). Menurut (Patmawan et al., 2021) Spermatozoa dengan morfologi abnormalitas bentuk narrow mengalami

penyempitan kepala secara menyeluruh dari daerah akrosom sampai post akrosom. Penyempitan pada bagian kepala spermatozoa terjadinya karena perkembangan yang tidak sempurna saat fase spermatosit primer. Abnormalitas spermatozoa jenis narrow tidak dapat melakukan fertilisasi dengan sel kelamin betina karena murni sebagai bentuk abnormalitas spermatozoa. Menurut Kondracki et al., (2006) di dalam organ reproduksi betina terdapat sistem uterotubal junction yang bertugas menyeleksi spermatozoa abnormal. Menurut Susilawati (2013) Morfologi abnormalitas pada spermatozoa <10% sangat baik dalam proses fertilisasi. Abnormalitas spermatozoa haruslah dalam jumlah yang sedikit sehingga tidak mempengaruhi fertilitas (Yudi et al., 2010). Hasil evaluasi morfologi spermatozoa dengan pewarnaan eosin-nigrosin dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5 Evaluasi Morfologi menggunakan Eosin-Nigrosin,. Primer: a) Pearshape = kepala bentuk pear, b) Narrow = penyempitan kepala, c) Abnormal contour = kontur kepala tidak normal, d) Macrocephalus = bentuk kepala besar, e) Microcephalus = bentuk kepala kecil, f) Double head = memiliki 2 kepala, g)

Abaxial = terbentuk fossa perlekatan di bagian tengah ekor, h) Detached head = kepala putus dengan ekor. Sekunder: i) Bent mid piece = ekor bengkok bagian tengah, j) Bent tail = ekor menekuk, k) Folded tail = ekor dilipat, l) Broken tail = ekor putus.

Korelasi Semen Beku Pejantan Sapi Donggala

Hasil penelitian menunjukkan adanya korelasi positif kuat antara pejantan (pearson correlation < r tabel) 102, 103, 104, 105, 110 dan DB. Hasil uji korelasi anantara pejantan dapat dilihat pada table 3.

Tabel 3 Korelasi Kualitas Semen Sapi Donggala

KODE PEJANTAN	102	103	104	105	110	DB
102	1	.984**	.993**	.995**	.980**	.999**
103	.984**	1	.993**	.967**	.990**	.983**
104	.993**	.993**	1	.982**	.979**	.995**
105	.995**	.967**	.982**	1	.964**	.997**
110	.980**	.990**	.979**	.964**	1	.977**
DB	.999**	.983**	.995**	.997**	.977**	1

Ket = **: berkorelasi positif kuat (Pearson correlation > r tabel)

Hasil analisis uji korelasi antara pejantan spermatozoa sapi Donggala menunjukkan berkorelasi positif kuat (pearson correlation > r tabel) pada semua pejantan 102, 103, 104, 105, 110 dan DB. Dari pejantan sapi Donggala memiliki kualitas spermatozoa yang saling terkait, hal ini menunjukkan sapi Donggala yang diperoleh di UPTD Sidera sudah melewati seleksi sesuai standar dan semua pejantan memiliki kualitas yang sama. Menurut (Riyadhi et al., 2012) Seleksi pejantan yang dilakukan di BIB harus memenuhi standar bull breeding soundness evaluation (BBSE) yaitu meliputi organ reproduksi umum, index lingkaran skrotum, motilitas spermatozoa dan morfologi spermatozoa. Kualitas spermatozoa sapi Donggala sudah sesuai dengan SNI, hal tersebut dikarenakan sapi Donggala yang diperoleh dari balai yang berasal dari UPTD Sidera sudah melewati tahap uji SNI. Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Handayani, 2021) Hasil uji laboratorium menunjukkan bahwa kualitas semen beku yang sudah memiliki SNI lebih baik dibandingkan dengan semen beku yang belum memiliki SNI.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sapi Donggala dengan kode 103 (96,4%), 110 (97,4%) dan DB (95,8%) memiliki kualitas paling baik pada parameter Integritas DNA spermatozoa dan abnormalitas primer. Jenis abnormalitas spermatozoa (narrow) tertinggi terdapat pada pejantan 102 (1,5%). Secara menyeluruh kualitas semen beku sapi Donggala menunjukkan hasil yang baik dan masih layak digunakan untuk IB.

Saran

Perlu dilakukan uji lebih lanjut dengan umur yang berbeda pada sapi Donggala, karena pada penelitian ini parameter integritas DNA spermatozoa pada kode 105 memiliki perbedaan umur dan memiliki nilai rata-rata yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Aitken R, Krausz C. 2001. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction* 122: 497-506.
- Alexander, J.H. 2008. Bull breeding soundness evaluation: A practitioner's perspective. *Theriogenology* 70:469-472.
- Annisa Rahmawati. 2017. Deteksi Kerusakan DNA Spermatozoa dengan Pewarna Acridine Orange. Prosiding Seminar Nasional Unirow Tuban.
- Ariantje, O. S., Yusuf, T. L., Sajuthi, D., & Arifiantini, R. I. (2014). Kualitas semen cair kambing peranakan etawah dalam modifikasi pengencer tris dengan trehalosa dan rafinosa. *Jurnal Veteriner*, 15(1), 11-22.
- Arifiantini, I.T. Wresdiyati, dan E. F. Retnani. 2006. Morfologi spermatozoa sapi Bali (*Bos sondaicus*) menggunakan pewarnaan "Williams". *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. 31(2):105-110
- Arifiantini RI. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. Bogor (ID): IPB Pr.
- Arifiantini RI, Wresdiyanti T, Retnani EF. 2010. Kaji Banding Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sundaicus*) Menggunakan Pewarnaan William's, Eosin Nigrosin dan Formol Saline. *Jurnal Sains* 24:65-70.
- Arpanahi AM, Brinkworth M, Iles D, Krawetz SA, Paradowska A, Platts AE, Saida M, Steger K, Tedder P, Miller D. 2009. Endonuclease sensitive regions of human spermatozoal chromatin are highly enriched in promoter and CTCF binding sequences. *Genome Research* 19:1338-1349.
- Aulanni'am. 2011. Inhibin B: Struktur dan Karakter Biokimiawi sebagai Kandidat Kontrasepsi Pria. Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair. Surabaya. ISBN 978- 602-8967-22-8.
- Awda, Basim J, Meghan Mackenzie-Bell, and Marry M. Buhr. 2009. Reactive Oxygen Species and Boar Sper Function. *Journal Biolreprod*. 81:553 – 561.
- Bei, M. S. B., Foeh, N. D., & Gaina, C. D. (2021). Kualitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Buah Lontar dan Kuning Telur Ayam Kampung dengan Metode Penyimpanan yang Berbeda. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 4(1), 12-12.
- Celeghini ECC, de Andrade AFC, Raphael CF, Nascimento J, Ticianelli JS, de Arruda RP. 2010. Damage assessment of the equine sperm membranes by fluorimetric technique. *Braz Arch Biol Technol* 53(6): 1285-1292.
- Chanalpiwat, P, Kampon, K, Padet, T. 2010. The sperm DNA damage after cryopreservation of boar semen in relation to post-thawed semen qualities, antioxidant supplementation and boars effects. *J.Vet.Med*. 40(2)187-193.
- Cocchia N, Pasolini MP, Mancini R, Petrazzuolo O, Cristofaro I, Rosapane I, Sica A, Tortora G, Lorizio R, Paraggio G, Mancini A. 2011. Effect of SOD (superoxide dismutase) protein supplementation in semen extenders on motility, viability, acrosome status and ERK (extracellular signal-regulated kinase) protein phosphorylation of chilled stallion spermatozoa. *Theriogenology* 75: 1201-1210.
- Cordova A, Perez-Gutierrez JF, Lleo B, García Artiga C, Alvarez A, Drobchak V, Martín Rillo S. 2002. In vitro fertilizing capacity and chromatin condensation of deep frozen semen packaged in 0.5 ml and 5 ml straws. *Theriogenology* 57 : 2119-2128.
- Dogan S, Vargovic P, Oliveira R, Belser LE, Kaya A, Moura A, Memili E. 2015. Sperm protamine-status correlates to the fertility of breeding bulls. *Biology of reproduction*, 92(4): 92,1-9.
- Erenpreisa J, Freivalds T, Slaidina M, Erenpreiss J, Krampe R, Butikova J, Ivanov A, Pjanova D. 2003. Toluidine blue test for sperm DNA integrity and elaboration of image cytometry algorithm. *Cytometry* 52(1) : 19-27.
- Fitri, Susi Nurul. 2020. MATERI GENETIK. Lampung: KEMENDIKBUD
- Fitriati. 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididymis sapi peranakan ongol (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-50 C. *Journal*

- Animal Production 10 (1) : 22-29.
- Gunarso, W. (1989). Mikroteknik. Bogor (ID): Pusat antar Universitas Ilmu Hayati Institut Pertanian Bogor.
- Hamsun M, Najamuddin, Halim A, Nasarudin, Sunarti S. 2002 Standar Mutu Bibit Ternak Sulawesi Tengah. Pusat Penelitian Hewan Tropis Universitas Tadulako dan Dinas Pertanian, Perkebunan Dan Peternakan Provinsi Sulawesi Tengah, Palu
- Handayani, E., Supriatna, I., Tumbelaka, L. I., & Kaiin, E. M. (2021). Analisis Komparatif Kualitas Semen Beku yang Telah dan Belum Bersertifikasi Standar Nasional Indonesia. *J Vet*, 22(1), 207-15.
- Harriyati Z. 2013. The roles of Biology in utilization of Indonesian bioresources to improve nation competitiveness. *Proceedings of The Indonesian Biological Society Scientific Meeting*, Purwokerto: 31 Agustus - 1 September 2013. hal 88.
- Hernandez PJE, Fernandez RF, Rodriguez SJL, Soto MYG, Verona JEH, Garcia RAD. 2012. Post-thawing acrosomal viability and reaction in sperm obtained from equine epididymis tail. *Rev Salud Anim*. 34(2):84-88.
- Ichimura, S., M. Zama and H.Fujita. 1971. Quantitative determination of single-stranded section in DNA using the fluorescent probe acridine orange. *Biochim Biophys Acta*. 240: 485-95.
- Kementrian Pertanian RI. 2014. Penetapan Menti Pertanian RI Nomor 666/Kpts/SR.120/2014 tentang rumpun sapi Donggala.
- Kondracki S, Banaszewska D, Wysokinska, and Chomicz J. 2006. Sperm morphology of cattle and domestic pig. *J Reprod Bio*. 2(6): 99-104.
- Kusumawati, E. D. 2017. Fertilitas Spermatozoa Sapi Peranakan Ongole Setelah Sexing Dengan Menggunakan Metode Yang Berbeda. [Thesis]. Universitas Brawijaya.
- Michael J, Hengatberger KJ, Tutt D, Holryod RG, Forydce G, Boe Hanaen GB, Johnaton SD. 2013. Sperm chromatin in beef bulls in tropical environments. *Theriogenology*. 79(6):946-952.
- Mumu MI. 2009. VIABILITAS SEMEN SAPI SIMENTAL YANG DIBEKUKAN MENGGUNAKAN KRIOPROTEKTAN GLISEROL. Sulawesi Tengah: Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako.
- Parrish J. 2003. *Techniques in Domestic Animal Reproduction-Evaluation and Freezing of semen*.
- Priyanto L., Arifiantini R.I., Yusuf T.L. 2015. Deteksi Kerusakan DNA Spermatozoa Semen Segar dan Semen Beku Sapi Menggunakan Pewarna Toluidine Blue. *Jurnal Veternier* Vol. 16 No 1 : 48-55 ISSN : 1411 - 8327
- Rahayu S, Susilawati T, Soewondo A. 2020. BIOLOGI REPRODUKSI. Malang: UB PRESS
- Rajabi Toustani R, Akter QS, Almadaly EA, Hoshino Y, Adachi H, Mukoujima K, Murase T. 2019. Methodological improvement of fluorescein isothiocyanate peanut agglutinin (FITC-PNA) acrosomal integrity staining for frozen-thawed Japanese Black bull spermatozoa. *J. Vet. Med. Sci.*:18-0560.
- Riyadhi, M., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2012. Korelasi morfologi abnormalitas primer spermatozoa terhadap umur pada beberapa bangsa sapi potong. *Agroscientiae*. 19(2) : 79-85
- Said, S., Afiati, F., & Maulana, T. (2015). Study on changes of sperm head morphometry and DNA integrity of freeze-dried bovine spermatozoa. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 40(3), 145-152.
- Sarastina, Susilawati T, Ciptadi G. 2012. Analisa Beberapa Parameter Motilitas Spermatozoa pada berbagai bangsa sapi menggunakan Computer Assisted Semen Analysis (CASA). *Jurnal Ternak Tropika* 6(2): 1-12.
- Sekaran, Uma dan Bougie, R. (2013). *Statistik Parametrik untuk Penelitian Kualitatif*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Simo~es R, Feitosa W, Mendes C, Marques M, Nicacio A, Barros F de, Visintin J,

- Assumpção M. 2009. Use of chromomycin A3 staining in bovine sperm cells for detection of protamine deficiency. *Inf. Heal.* 84(3).
- Susilowati, S. 2010. Efek waktu sentrifugasi terhadap motilitas, daya hidup dan tudung akrosom spermatozoa kambing. *Jurnal Veterinaria Medika* 3(1): 61-64.
- Susilawati T. 2013. Pedoman inseminasi buatan pada ternak. Universitas Barwijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-203-458-2.
- Susilawati T. 2000. Teknologi Preservasi dan Kriopreservasi Spermatozoa dan Ova. [Tesis]. Program Pasca Sarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Wykes SM, Krawetz SA. 2003. The structural organization of sperm chromatin. *The J of Biol Chem* 278(32) : 29471-29477.
- Yudi, I. Arifiantini, B. Purwantara, dan T.L. Yusuf. 2008. Daya tahan semen segar dan kualitas semen cair kuda dengan konsentrasi spermatozoa berbeda. *JITV*.13 (1) : 35-42.
- Zandemami, M., Qujeq, D., Akhondi, M. M., Kamali, K., Raygani, M., Lakpour, N., M. R. (2012). Correlation of CMA3 staining with sperm quality and protamine deficiency. *Laboratory Medicine*, 43(6), 262-267