

## Integritas Membran Spermatozoa pada Proses Sexing dengan Pemberian Kuning Telur

(*Spermatozoa Membrane Integrity in the Sexing Process with Egg Yolk Administration*)

Sefania A. Suoth\*, Rooije R.H. Rumende, Adelfia Papu

Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

\*Email korespondensi: sefaniasuoth44@gmail.com

### ABSTRAK

Sexing atau pemisahan spermatozoa adalah proses pemisahan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dan betina. Infertilitas merupakan satu kondisi dimana pasangan yang aktif secara seksual tanpa melakukan kontrasepsi tidak mampu mendapat kehamilan dalam kurun waktu selama 1 tahun. Sekitar 50-80 juta pasang suami istri di dunia (1 dari 7 pasutri) yang terkena masalah infertil dan pada setiap tahun muncul sekitar 2 juta pasangan suami istri infertil. Di Indonesia diperkirakan ada 4 juta sekian pasangan suami istri yang mengalami infertil atau ketidaksuburan. Solusi yang dapat dilakukan untuk mencegah dan menghindari kerusakan membran pada spermatozoa saat pemisahan spermatozoa adalah dengan menggunakan metode sentrifugasi dengan penambahan kuning telur. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis integritas membran spermatozoa pada proses sexing sebelum dan sesudah pemberian kuning telur. Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga perlakuan, yaitu kontrol, sentrifugasi, sentrifugasi + kuning telur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa integritas membran yang termasuk destabilisasi membran dan disintegritas pada kontrol sebesar 18% dan 19%. Persentase perlakuan sentrifugasi yang termasuk destabilisasi membran dan disintegritas sebesar 57% dan 50%. Sedangkan persentase perlakuan sentrifugasi + kuning telur yang termasuk destabilisasi membran dan disintegritas sebesar 25% dan 31%. Perbedaan yang signifikan terlihat pada perlakuan sentrifugasi terhadap perlakuan yang lain.

Kata kunci: Integritas membrane; spermatozoa; sexing; kuning telur.

### ABSTRACT

Sexing or separation of spermatozoa is the process of separating spermatozoa that carry male and female sexual characteristics. Infertility is a condition where couples who are sexually active without using contraception are unable to get pregnant within 1 year. Around 50-80 million married couples in the world (1 in 7 couples) are affected by infertility and every year around 2 million infertile married couples appear. In Indonesia, it is estimated that there are 4 million married couples who experience infertility or infertility. The solution that can be taken to prevent and avoid membrane damage to spermatozoa when separating spermatozoa is to use the centrifugation method with the addition of egg yolk. This study aims to identify and analyze the integrity of spermatozoa membranes during the sexing process before and after administration of egg yolk. The method used was a completely randomized design with three treatments, namely control, centrifugation, centrifugation + egg yolk. The results showed that membrane integrity including membrane destabilization and disintegrity in the control was 18% and 19%. The percentage of centrifugation treatment that included membrane destabilization and disintegrity was 57% and 50%. Meanwhile, the percentage of centrifugation + egg yolk treatment which included membrane destabilization and disintegrity was 25% and 31%. Significant differences were seen in the centrifugation treatment compared to other treatments.

Key words: Membrane integrity; spermatozoa; sexing; egg yolk.

### PENDAHULUAN

Seorang pria dibentuk melalui beberapa proses yang mulanya ditentukan pada saat fertilisasi. Kromosom seks hasil fertilisasi menentukan gonad yang akan dibentuk (Risal, 2022). Organ reproduksi pria terbagi menjadi dua bagian, yakni organ reproduksi bagian luar dan organ reproduksi bagian dalam. Spermatozoa adalah sel yang dihasilkan dari serangkaian proses yang terjadi di saluran reproduksi laki-laki dan harus melakukan perjalanan ke saluran reproduksi wanita,

pada individu lain untuk membuahi sel telur (Lailiyah *et al.*, 2018). Fungsi dari sperma ialah untuk mengantarkan gen paternal (haploid) ke sel telur dan menginisiasi perkembangan embrio. Spermatozoa umumnya terbagi menjadi tiga bagian penting, yaitu bagian kepala, badan dan ekor (flagellum).

Spermatogenesis adalah suatu proses untuk spermatozoa, dan merupakan satu proses kelanjutan dari pembelahan sel germinal atau sel induk dan awalnya dimulai dari masa pubertas (Swari, 2021). Secara umum, spermatogenesis terbagi atas tiga tahap yakni, spermatositogenesis, meiosis, dan spermiogenesis. Membran sel atau membran plasma merupakan struktur selaput yang tipis dan menyelubungi sel spermatozoa. Membran plasma sangat berperan dalam proteksi organel-organel sel spermatozoa (Arvioges *et al.*, 2021). Membran sel spermatozoa tersusun dari tiga jenis yaitu fosfolipid, kolestrol dan glikolipid.

Fosfolipid adalah turunan dari senyawa lipid yang memuat gugus ester fosfat. Senyawa fosfolipid merupakan salah satu pembentuk dan komponen utama pada membran sel bersama-sama dengan glikolipid, kolestrol, dan protein. Setiap fosfolipid terdiri dari dua asam lemak (kaki) yang terdiri dari hidrogen dan karbon, sedangkan satu gugus fosfat (kepala) terdiri dari molekul fosfor dengan empat molekul oksigen yang berikatan (Hisham, 2021). Telur merupakan salah satu makanan yang mengandung protein yang sangat banyak. Telur mengandung nutrisi diantaranya, protein, lemak, vitamin, bahkan mineral. Komposisi telur terdiri dari kurang lebih air (72,8-75,6%), protein (12,8-13,4%), dan lemak (10,5-11,8%). Telur terdiri dari tiga bagian utama yaitu kulit telur (Kerabang), bagian yang berwarna bening (albumen), dan bagian berwarna kuning (yolk) (Septin, 2019). Kuning telur merupakan emulsifier yang sangat kuat dan memiliki sejenis bahan dengan tingkat kesukaan pada air dan minyak sekaligus. Komponen pengemulsi pada kuning telur adalah fosfolipid, lipoprotein dan protein.

Sexing atau pemisahan spermatozoa adalah proses pemisahan spermatozoa yang membawa sifat kelamin jantan dan betina. Sexing spermatozoa merupakan upaya pemisahan kromosom X dan Y pada spermatozoa. Proses ini sudah banyak diujicobakan dan terbukti efisien sehingga bisa menghasilkan anak atau keturunan yang diharapkan (Yuliani *et al.*, 2020). Sentrifugasi adalah langkah pertama di hampir semua prosedur pemisahan atau sitolisis yang digunakan untuk memisahkan endapan dari suspensi dengan ukuran berbeda (Brassard *et al.*, 2018). Koefisien kecepatan dan waktu sentrifugasi memiliki hubungan terbalik. Berdasarkan persamaan gerak melingkar beraturan, semakin tinggi kecepatannya sentrifugasi, semakin sedikit waktu putaran sentrifugasi (EidLidt *et al.*, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi integritas membran spermatozoa manusia pada proses sexing sebelum dan sesudah pemberian kuning telur, serta menganalisis apakah terjadi perbedaan integritas membran spermatozoa manusia pada proses sexing sebelum dan sesudah pemberian kuning telur.

## METODE

Penelitian ini telah dilakukan selama bulan Juni - Juli di Laboratorium Bioteknologi Fakultas MIPA UNSRAT. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: tabung endprof 61 buah, mikropipet kapasitas 10  $\mu\text{L}$  - 1000  $\mu\text{L}$  1 buah; beaker glass 10 mL dan 100 mL 1 buah; kertas lakmus 7 buah; *centrifuge* elektrik 1 buah, counter 1 buah, aluminium foil, kamera digital, dan

mikroskop cahaya, alat tulis menulis. Bahan yang akan dipakai, antara lain: spermatozoa manusia 7 orang pendonor, kuning telur, aquades, eosin.

Metode dalam penelitian ini menggunakan metode sentrifugasi gradien densitas percoll dan hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan metode analisis varians (ANAVA), kemudian dilanjutkan dengan uji wilayah-berganda Duncan ( $\alpha$  0,05).

### **Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode massage (Crecentia *et al.*, 2020) oleh para pendonor dan ejakulasi sperma ditampung di beker gelas yang tertutup dengan kertas alumunium foil dan setelah ejakulasi sampel diletakan dalam wadah (toples) berisi air hangat 37°C (suhu tubuh manusia) agar sampel tetap terjaga. Pada tahap ini pengujian kualitas sampel atau uji makro dilakukan dengan meliputi volume 2 – 5mL, pH 7,1 – 8,0 kekentalan, aroma klorin dan warna putih.

### **Pengujian Awal Kualitas Sperma**

Setelah pengambilan sampel yang dilakukan oleh pendonor selanjutnya akan diuji makroskopis yang meliputi volume, pH, kekentalan, aroma dan warna. Kemudian sampel dibagi menjadi tiga bagian yaitu bagian T0, T1, T2, yang ditempatkan pada tabung ependorf. Bagian T0 ditujukan untuk kontrol tanpa perlakuan, bagian T1 akan diterapkan perlakuan yaitu berupa sentrifugasi, bagian T2 akan diterapkan penambahan kuning telur Setelah sampel telah dibagi akan diuji mikroskopis, yang meliputi integritas membran sel spermatozoa (Crecentia *et al.*, 2020).

### **Pemeriksaan Mikroskopis yang meliputi Parameter Penelitian**

Pemeriksaan ini dilakukan dengan tiap bagian T0 akan diambil menjadi tiga ulangan, setiap ulangan dengan 1 tetes sampel pada gelas objek yang akan ditetesi 1 tetes larutan eosin (pewarna) dan langsung dilihat dibawa mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x. Bagian T1 akan diterapkan perlakuan sentrifugasi dengan 2500rpm selama 5 menit, setelah sentrifugasi akan diambil menjadi tiga ulangan, setiap ulangan dengan 1 tetes sampel pada gelas objek yang akan ditetesi 1 tetes larutan eosin (pewarna) dan langsung diuji mikroskopis dibawa mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x. Bagian T2 akan diterapkan perlakuan sentrifugasi dengan 2500rpm selama 5 menit dan penambahan kuning telur konsentrasi 5% (5% dari banyaknya sampel yang didapat, setelah sentrifugasi akan diambil menjadi tiga ulangan, setiap ulangan dengan 1 tetes sampel pada gelas objek yang akan ditetesi 1 tetes larutan eosin (pewarna) dan langsung diuji mikroskopis dibawa mikroskop dengan perbesaran 400x dan 1000x (Rumende, 2021).

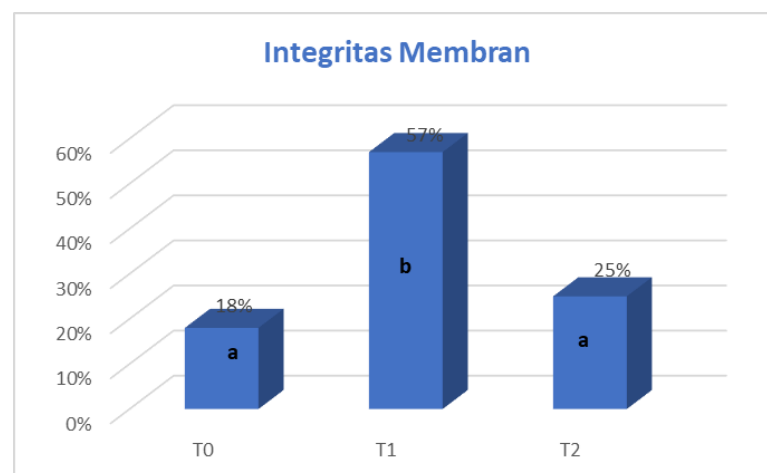
## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Integritas Membran Sel Spermatozoa**

Hasil pengamatan dilaboratorium pada saat penelitian dilakukan selama bulan Juni-Juli 2023 menunjukkan setiap sampel yang diteliti didapat pH 8, volume 1.5-2 mL, warna krem, bauh normal, dan kental. Pengamatan integritas membran dilakukan dengan dua perlakuan yakni sentrifugasi dan penambahan kuning telur.

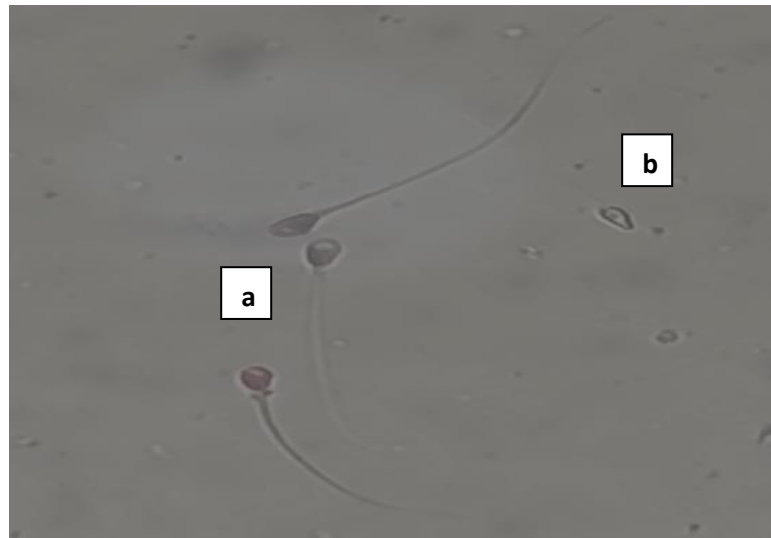
Pengamatan integritas membran dilakukan tiga kali, yaitu pada T0 (kontrol), T1 (sentrifugasi), dan T2 (sentrifugasi + kuning telur). Hasil analisis sidik ragam (ANAVA) satu arah menunjukkan bahwa dampak sentrifugasi antara T0, T1, T2 berpengaruh sangat nyata terhadap integritas membran spermatozoa ( $F_{hit} > F_{tabel}$ ,  $p < 0,05$ ), sehingga dilanjutkan dengan uji wilayah-berganda Duncan ( $\alpha 0,05$ ) untuk menentukan nilai tengah mana yang sama dan nilai tengah mana yang tidak sama.

Dampak sentrifugasi terhadap integritas membran sel pada T1 berbeda sangat nyata dengan T0, yang menunjukkan peningkatan destabilisasi membran yang ditandai dengan outer membran sel spermatozoa rusak sebesar T1 57%, hal ini T1 mengalami peningkatan kerusakan membran dibandingkan dengan T0 yang tidak diberikan perlakuan (kontrol) sebesar 18%. Tetapi hasil uji wilayah-berganda Duncan ( $\alpha 0,05$ ) pada T2 sebesar 25% tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan T0 akan tetapi antara T1 dan T2 menunjukkan perbedaan yang nyata. Hasil analisis sidik ragam (ANAVA) dan uji wilayah-berganda Duncan ( $\alpha 0,05$ ) Gambar 1.



Gambar 1. Persentase analisis sidik ragam (ANAVA) dan uji wilayah-berganda Duncan ( $\alpha 0,05$ )

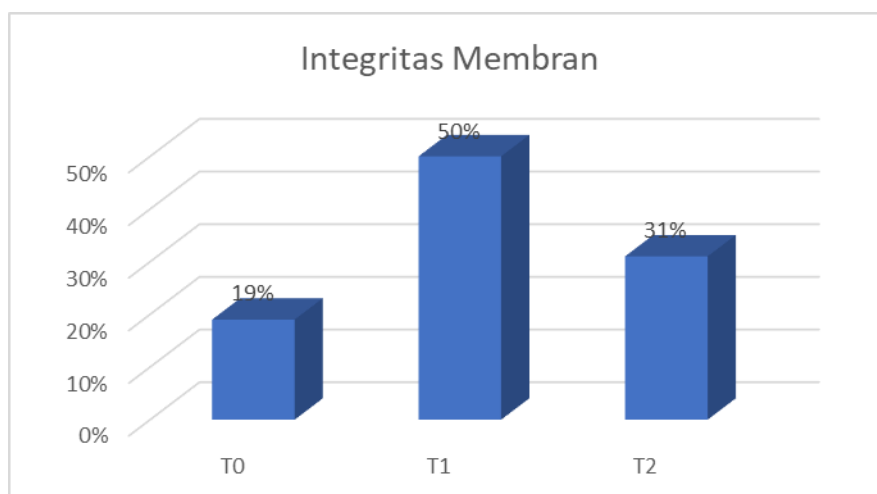
Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa sentrifugasi menimbulkan dampak negatif yang besar terhadap integritas spermatozoa yang ditandai dengan destabilisasi membran sel atau rusaknya outer membran sel spermatozoa, hal ini akan berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa itu sendiri jika tidak diatasi dengan berbagai cara untuk menangani destabilisasi membran sel spermatozoa pada saat sentrifugasi. Tetapi pengaruh dari kuning telur memberikan dampak positif terhadap integritas membran sel spermatozoa karena kandungan fosfolipid pada kuning telur berperan untuk menyediakan energi dan melindungi serta mempertahankan integritas membran sel spermatozoa (Septin, 2019), sehingga kualitas spermatozoa akan lebih baik dari spermatozoa yang disentrifugasi tanpa kuning telur. Destabilisasi membran dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. a. Sel spermatozoa yang mengalami destabilisasi, b. Sel spermatozoa utuh.

### Dampak Disintegritas Membran Sel Spermatozoa

Dampak sentrifugasi terhadap T0 dan T1 menunjukkan peningkatan disintegritas membran yang ditandai dengan terlepasnya outer membran sel spermatozoa atau mengalami reaksi akrosom masing-masing sebesar T0 19% dan T1 mengalami peningkatan menjadi 50%. Pada T2 destabilisasi membran sel sebesar 25% hal ini lebih rendah dari persentase T1. Hasil persentase disintegritas membran sel spermatozoa dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil perhitungan persentase disintegritas membran sel spermatozoa

Dari hasil persentase ini dapat dilihat bahwa dampak negatif sentrifugasi terhadap membran sel spermatozoa ialah disintegritas membran yang ditandai

dengan terlepasnya outer membran atau mengalami reaksi akrosom dini. Akan tetapi pengaruh dari kuning telur memberikan dampak positif terhadap membran sel spermatozoa karena kandungan fosfolipid pada kuning telur berperan untuk menyediakan energi dan melindungi serta mempertahankan integritas membran sel spermatozoa (Septin, 2019).

Suatu keadaan setelah disintegritas membran terjadi jika tidak terkandung protein dekapasitasi dalam seminal plasma maka akan berlanjut pada terlepasnya outer membran pada kepala spermatozoa, seperti halnya sel spermatozoa yang mengalami reaksi akrosom dan sel spermatozoa akan mengalami kematian selnya. Keutuhan membran sel berfungsi sebagai pelindung organel-organel sel dalam membran yang berhubungan dengan tingkat metabolisme sel spermatozoa. Keutuhan membran plasma sangat berpengaruh dan penting bagi spermatozoa, karena kerusakan pada membran akan sangat berpengaruh pada proses transportasi zat nutrisi sebagai pembentuk energi gerak yang berhubungan dengan progresif aktif spermatozoa. Rusaknya membran plasma seringkali disertai dengan rusaknya organel-organel sel tudung akrosom utuh, sehingga menyebabkan keluarnya enzim-enzim yang diperlukan selama proses fertilisasi (Arvioges *et al.*, 2021). Membran sel spermatozoa yang mengalami disintegritas dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Disintegritas membran sel spermatozoa

## KESIMPULAN

Integritas membran spermatozoa manusia pada proses sexing sebelum pemberian kuning telur mengalami kerusakan dan hilangnya outer membran sel akibat proses sentrifugasi yang diterima sel spermatozoa. Integritas membran spermatozoa manusia pada proses sexing sesudah pemberian kuning telur mengalami penurunan kerusakan dan hilangnya outer membran dibandingkan dengan tanpa pemberian kuning telur. Terdapat perbedaan yang nyata terhadap integritas membrane sel spermatozoa pada sebelum dan sesudah pemberian kuning telur pada proses sexing.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Arvioges., P. Anwar & Jiyanto. (2021). *Efektifitas Suhu Thawing Terhadap Keadaan Membran Plasma Utuh (Mpu) Dan Tudung Akrosom Utuh (Tau) Spermatozoa Sapi Bali*. Uniks.
- Brassard, D., Clime, L., Daoud, J., Geissler, M., Malic, L., Charlebois, D., & Veres, T. (2018). *Microfluidic-Based Platform for Universal Sample Preparation and Biological Assays Automation for Life-Sciences Research and Remote Medical Applications*. Deep Space Gateway Science Workshop 2018.
- Crecentia A. B., C. D. Gaina., N. D. F. K. Foeh. (2020). *Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Babi dalam Pengencer Air Kelapa-Kuning Telur Ayam Kampung*. Undana.
- Lailiyah, F., Srianto P., Saputro A. L., Madyawati, S. P., Agustono B. dan Prastiya R. A. (2018). *Efektifitas Daya Pisah Electric Separating Sperm (ESS) terhadap Spermatozoa Kromosom X dan Y pada Kambing Sapera*. Jurnal Medik Veteriner. 1(3): 93-98.
- Rumende, R. R. H., Baideng, E. L., Rares, F. E. S. dan Rares, L. M. (2021). *Analysis of Spermatozoa Quality Using Percoll Density Gradient Centrifugation Through the Administration of Phospholipid + Egta*. Journal of Applied Life Sciences and Environment. 54(187): 298-309.
- Septin D. R. P. (2021). *Pengaruh Penyimpanan Tepung Kuning Telur Terhadap Kemampuan Emulsifier Yang Diaplikasikan Pada Mayonnaise*. Unika. Semarang.
- Yuliani, E., L.A. Zaenuri dan I.W.L. Sumadiasa. (2020). *Penerapan teknologi inseminasi buatan menggunakan sperma sexing pada ternak sapi di kecamatan lingsar Kabupaten Lombok Barat*. JAIUM. 7(2): 121-125.