

# UJI INTEGRITAS MEMBRAN PLASMA SPERMA MENGUNAKAN DUA METODE YANG BERBEDA PADA SEMEN BEKU KERBAU MURRAH

JOHANA DIAN RAHAYU



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN  
PEMINATAN BIOLOGI REPRODUKSI  
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University  
Bogor Indonesia

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



### *@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Uji Integritas Membran Plasma Sperma Menggunakan Dua Metode yang Berbeda pada Semen Beku Kerbau Murrah” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, September 2024

Johana Dian Rahayu  
B3501222050

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## RINGKASAN

JOHANA DIAN RAHAYU. Uji Integritas Membran Plasma Sperma Menggunakan Dua Metode yang Berbeda pada Semen Beku Kerbau Murrah. Dibimbing oleh BAMBANG PURWANTARA, RADEN IIS ARIFIANTINI dan SYAHRUDDIN SAID.

Kerbau (*Bubalus bubalis*) merupakan salah satu ternak ruminansia besar yang memiliki potensi tinggi dikembangkan di Indonesia. Rumpun kerbau yang terdapat di Indonesia satu diantaranya adalah kerbau murrah. Kerbau murrah merupakan jenis kerbau perah sebagai penghasil susu, daging dan ternak kerja. Perkembangbiakan ternak kerbau dapat dilakukan dengan kawin alam atau inseminasi buatan (IB). Semen beku untuk program IB setidaknya harus memenuhi standar *post thawing motility* (PTM) sebesar 40%. Sperma seluruh permukaannya diselimuti oleh membran plasma yang berfungsi sebagai pelindung terhadap perubahan lingkungan dan sistem transpor komponen dari dalam ke luar sel atau sebaliknya. Integritas membran plasma sperma berperan penting untuk menjaga fungsi sperma secara keseluruhan. Sperma dengan integritas membran plasma yang baik dapat bertahan dan melalui serangkaian perubahan kompleks dalam organ reproduksi betina serta mampu untuk membuahi oosit. Evaluasi integritas membran plasma yang aktif dan fungsional oleh karena itu, sangat diperlukan untuk keberhasilan fertilisasi.

Metode yang sering digunakan untuk menguji integritas membran plasma sperma ialah *Hypo Osmotic Swelling Test* (HOS-Test). Prinsip metode ini adalah kemampuan membran plasma sperma di dalam larutan hipo-osmotik. Metode lain yang dapat digunakan untuk memeriksa integritas membran plasma sperma adalah dengan pewarna *Carboxyfluorescein diacetate* dan *propidium iodide* (CFDA-PI). Pewarna CFDA mampu menembus membran plasma yang utuh dan berikatan dengan esterase, sehingga dapat mengidentifikasi sel-sel yang hidup sedangkan pewarna PI hanya menembus sel-sel mati. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan integritas membran plasma sperma semen beku kerbau murrah menggunakan HOS-Test dan CFDA-PI.

Penelitian menggunakan semen beku dari 4 pejantan kerbau murrah dengan umur berkisar 10-12 tahun. Sampel yang digunakan enam kode *batch* masing-masing 5 straw, sehingga jumlah total straw yang digunakan sebanyak 120 buah. Semen beku dicairkan terlebih dahulu kemudian dievaluasi motilitas, viabilitas, abnormalitas, status akrosom sperma dan integritas membran plasma sperma dengan HOS-Test dan pewarnaan CFDA-PI. Motilitas sperma diamati menggunakan *Computer-assisted sperm analysis* (CASA). Penilaian viabilitas sperma menggunakan pewarnaan eosin-nigrosin. Status akrosom sperma dievaluasi menggunakan pewarnaan *Fluorescein isothiocyanate-peanut agglutinin* (FITC-PNA). Pengamatan abnormalitas sperma menggunakan pewarna *Carbolfuchsin-eosin* (*William staining*).

Uji integritas membran plasma sperma metode HOS-Test dilakukan dengan menambahkan 30  $\mu\text{L}$  sampel semen beku dalam 300  $\mu\text{L}$  larutan HOS-Test, dihomogenkan dan diinkubasi dalam suhu 37 °C selama 30 menit. Pengamatan sperma dilakukan menggunakan mikroskop *phase contrast* perbesaran 400 X. Sperma dengan integritas membran plasma yang baik menunjukkan reaksi berupa ekor yang menggulung sedangkan sperma dengan membran yang rusak akan ditandai dengan ekor yang lurus. Sperma yang bereaksi dan yang tidak bereaksi dihitung dari total minimal 500 sel. Uji integritas membran sperma metode pewarnaan CFDA-PI dilakukan dengan menambahkan 20  $\mu\text{L}$  sampel semen beku, dalam 40  $\mu\text{L}$  pewarna

CFDA dan 5  $\mu$ L pewarna PI kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 10 menit dalam kondisi gelap. Sperma diamati dengan mikroskop fluoresen dengan perbesaran 400x. Sperma dengan integritas membran plasma yang baik berfluoresensi hijau terang, sedangkan membran sperma yang rusak berpendar merah terang serta sel yang berpendar warna hijau dan merah (*moribund*). Sperma dihitung dengan total minimal 500 sel. Hasil pengujian HOS-Test dan CFDA-PI dianalisis secara statistik menggunakan Independent Sample T-Test dengan taraf nyata 95%.

Hasil penelitian ini menunjukkan metode HOS-Test memunculkan dua reaksi sperma yaitu sperma dengan ekor *coil* (64,83%) dan sperma dengan ekor yang lurus (35,17%). Pengujian dengan pewarnaan CFDA-PI muncul tiga kategori reaksi yaitu sel berwarna hijau (58,97%), sel berwarna merah (28,55%) dan sel dengan warna hijau-merah (12,48%). Analisis statistik dengan uji T-Test menunjukkan nilai signifikansi  $0,00 < 0,05$  bahwa nilai rata-rata dari kelompok HOS-Test dan CFDA menunjukkan perbedaan yang signifikan. Nilai integritas membran plasma semen beku kerbau murreh yang diuji dengan metode HOS-Test lebih tinggi dibandingkan dengan metode pewarnaan CFDA-PI.

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah penilaian HOS-Test menunjukkan dua kategori reaksi dan CFDA-PI menunjukkan tiga kategori reaksi. Penilaian HOS-Test merupakan metode yang murah, cepat dan praktis diaplikasikan dalam skala laboratorium maupun lapangan. Pewarnaan CFDA-PI dapat menjadi metode penilaian lanjut yang lebih akurat dan tepat untuk integritas membran plasma sperma sehingga dapat memberikan dasar yang lebih detail dan tepat untuk menentukan kualitas semen beku.

Kata kunci: CFDA-PI, HOS-Test, membran plasma sperma, kerbau murreh

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## SUMMARY

JOHANA DIAN RAHAYU. Sperm Plasma Membrane Integrity Test Using Two Different Methods on Frozen Murrah Buffalo Semen. Supervised by BAMBANG PURWANTARA, RADEN IIS ARIFANTINI and SYAHRUDDIN SAID.

Buffalo (*Bubalus bubalis*) is one of the large ruminant livestock that has high potential for development in Indonesia. One type of buffalo found in Indonesia is the Murrah buffalo. Murrah buffalo is a type of dairy buffalo that produces milk, meat and working livestock. Buffalo breeding can be done by natural mating or artificial insemination (AI). Frozen semen for the IB program must at least meet the post thawing motility (PTM) standard of 40%. All parts of the sperm are covered by a plasma membrane which functions as protection against environmental changes and as a system for transporting components from inside to outside the cell or vice versa. The integrity of the sperm plasma membrane plays an important role in maintaining overall sperm function. Sperm with good plasma membrane integrity can survive and go through a series of complex changes in the female reproductive organs and are able to fertilize oocytes. Evaluation of the integrity of an active and functional plasma membrane is therefore, indispensable for successful fertilization.

The most commonly used method for testing the integrity of the sperm plasma membrane is the hypoosmotic swelling test (HOS-Test). The principle of this method is the ability of the sperm plasma membrane in a hypo-osmotic solution. Another method for testing the integrity of the sperm plasma membrane is the use of the dye carboxyfluorescein diacetate and propidium iodide (CFDA-PI). CFDA dye can penetrate intact membranes and binds to esterase, so it can identify living cells, whereas PI dye only penetrates dead cells. This study aims to compare sperm plasma membrane integrity using HOS-Test and CFDA-PI in frozen Murrah buffalo semen.

This research used frozen semen from 4 bulls aged 10-12 years with six batch codes of 5 straws each, so the total number of straws used was 120 pieces. Frozen semen was thawed first and then evaluated for motility, viability, abnormalities, acrosome status and membrane integrity with HOS-Test and CFDA-PI staining. Sperm motility was observed using computer-assisted sperm analysis (CASA). Assessment of sperm viability using eosin-nigrosine staining. Sperm acrosome status was evaluated using Fluorescein isothiocyanate-peanut agglutinin (FITC-PNA) staining. Observation of sperm abnormalities using Carbolfuchsin-eosin dye (William staining).

The HOS-Test method sperm membrane integrity test was carried out by adding 30  $\mu\text{L}$  of frozen semen samples in 300  $\mu\text{L}$  of HOS-Test solution, homogenizing and incubating at 37 °C for 30 minutes. Sperm observations were carried out using a microscope with a magnification of 400 X. Sperm with good plasma membrane integrity show a reaction in the form of a curled tail, while sperm with a damaged membrane will be characterized by a straight tail. Reacting and non-reacting sperm were counted from a total of at least 500 cells. The sperm membrane integrity test using the CFDA-PI staining method was carried out by adding 20  $\mu\text{L}$  of frozen semen samples, 40  $\mu\text{L}$  of CFDA dye and 5  $\mu\text{L}$  of PI dye and then incubating at 37 °C for 10 minutes in dark conditions. Sperm were observed with a fluorescent microscope at 400x magnification. Sperm with good plasma membrane integrity fluoresce bright green, while damaged sperm membranes fluoresce bright red and cells that fluoresce green and red (moribund). Sperm are counted for a total of at least 500 cells. The HOS-Test and CFDA-PI test results were analyzed statistically using the Independent Sample T-Test with a significance level of 95%.

The results of this study show that the HOS-Test method produces two sperm reactions after being exposed to HOS solution, namely sperm with coil tails (64.83%) and sperm with straight tails (35.17%). In the test using CFDA-PI staining, three reaction categories emerged, namely green cells (58.97%), red cells (28.55%) and green-red cells (12.48%). Statistical analysis using the T-Test showed a significance value of  $0.00 < 0.05$  that the average value of the HOS-Test and CFDA groups showed a significant difference. The plasma membrane integrity value of frozen Murrah buffalo semen tested using the HOS-Test method was higher compared to the CFDA-PI staining method.

In conclusion, the HOS-Test assessment showed two reaction categories and the CFDA-PI showed three. HOS-Test assessment is a cheap, fast and practical method applied on a laboratory and field scale. CFDA-PI staining can be a more accurate and precise method for further assessment of sperm plasma membrane integrity to provide a more detailed and precise basis for determining the quality of frozen semen.

**Keywords:** CFDA-PI, HOS-Test, murrah buffalo, sperm plasma membrane

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024  
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.*



**UJI INTEGRITAS MEMBRAN PLASMA SPERMA  
MENGUNAKAN DUA METODE YANG BERBEDA PADA  
SEMEN BEKU KERBAU MURRAH**

**JOHANA DIAN RAHAYU**

Tesis  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Sains pada  
Program Studi Ilmu Biomedis Hewan

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN  
PEMINATAN BIOLOGI REPRODUKSI  
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



**@Hak cipta milik IPB University**

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. drh. Ni Wayan Kurniani Karja M.P., Ph.D



Judul Tesis : Uji Integritas Membran Plasma Sperma Menggunakan Dua  
Metode yang Berbeda pada Semen Beku Kerbau Murrah  
Nama : Johana Dian Rahayu  
NIM : B3501222050

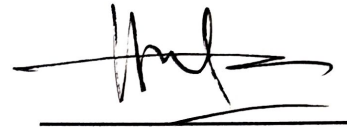
@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

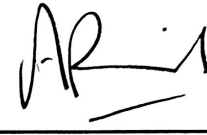
Pembimbing 1:  
Prof. Dr. drh. Bambang Purwantara, M.Sc.



Pembimbing 2:  
Prof. Dr. Dra. R. Iis Arifiantini, M.Si.



Pembimbing 3:  
Prof. Dr. Ir. Syahrudin Said, M.Agr.Sc.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:  
Prof. Dr. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto,  
M.S.,APVet.  
NIP. 196002281986011001

Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis  
Dr. drh. Amrozi  
NIP. 197007211995121001


Tanggal Ujian:  
13 Agustus 2024

Tanggal Lulus:



### *@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Uji Integritas Membran Plasma Sperma Menggunakan Dua Metode yang Berbeda pada Semen Beku Kerbau Murrah”**. Penulisan tesis ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Magister Sains pada Peminatan Biologi Reproduksi, Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor.

Penulis dalam kesempatan ini ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian, menyusun dan menyelesaikan penulisan tesis ini, yaitu kepada:

1. Prof. Dr. drh. Bambang Purwantara, M.Sc. selaku Ketua Komisi Pembimbing; Prof. Dr. R. Iis Arifiantini, M.Si. selaku Anggota Komisi Pembimbing 1; Prof. Dr. Ir. Syahrudin Said, M.Agr.Sc. selaku Anggota Komisi Pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan saran dalam penyelesaian penelitian dan tesis;
2. Prof. drh. Ni Wayan Kurniani Karja M.P., Ph.D selaku Dosen Penguji tesis dari luar komisi pembimbing atas saran, masukan serta kritiknya sehingga penulis dapat lebih memperkaya dan menyempurnakan substansi dari tesis ini;
3. Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, MS, Ph.D, APVet, DACCM selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedis Hewan atas bantuannya selama penulis melaksanakan studi;
4. Seluruh dosen dan tenaga kependidikan Peminatan Biologi Reproduksi, Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, atas ilmu, pengalaman, dan seluruh bantuannya selama penulis melaksanakan studi dan penelitian;
5. Laboratorium Stem Cell, Gedung Genomik, Badan Riset dan Inovasi Nasional (Pak Tulus, Pak Gunawan, Bang Edy) atas bimbingan dan saran selama masa penelitian;
6. Ayahanda Supardi dan segenap keluarga besar untuk segalanya dan tak pernah henti memberikan doa dan dukungan;
7. Para sahabat seperjuangan Biologi Reproduksi (Kak Arin dan Sindy), sahabat seangkatan Ilmu Biomedis Hewan 2022 Genap (Bang Fiqi, Kak Nadya, Kak Nazwa, Dhisa), dan para penghuni tetap laboratorium In Vitro (Kak Mitha, Ella, Bang Asman, Bang Rizal, Bang Ahad, Kak Tata) atas kebersamaan, perhatian, semangat, dan kerjasama yang diberikan.
8. Sahabat terbaik yang seperti saudara (Ilman Huda Prawira) yang selalu memberi dukungan, motivasi dan semangat kepada penulis selama menempuh studi.

Penulis menyadari tesis ini masih jauh dari sempurna. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, September 2024  
*Johana Dian Rahayu*



### *@Hak cipta milik IPB University*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Ruang Lingkup	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kerbau murrah	4
2.2 Morfologi dan Fisiologi Semen Kerbau	5
2.3 Kriopreservasi semen	6
2.4 Integritas membran plasma sperma	7
2.5 Pengujian integritas membran plasma sperma	7
III METODE	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Prosedur Kerja	10
3.4 Analisis data	12
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	13
4.1 Kualitas semen beku Kerbau murrah	13
4.2 Perbandingan hasil evaluasi integritas membran plasma sperma dengan metode HOS-Test dan pewarnaan CFDA-PI	14
4.3 Hubungan antara integritas membran plasma dengan parameter kualitas semen beku Kerbau murrah	18
V SIMPULAN DAN SARAN	20
5.1 Simpulan	20
5.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	27



## DAFTAR TABEL

1	Rerata kualitas semen beku kerbau murreh pada masing-masing pejantan	13
2	Perbandingan integritas membran plasma sperma menggunakan HOS-Test dan pewarna CFDA-PI	15
3	Perbandingan pengujian membrane plasma sperma menggunakan metode HOS-Test dan pewarnaan CFDA-PI	16
4	Korelasi antara parameter kualitas semen beku kerbau murreh	19

## DAFTAR GAMBAR

1	Kerbau murreh	4
2	Struktur sel sperma	5
3	Integritas akrosom Kerbau murreh	13
4	Grafik perbandingan hasil rata-rata uji integritas membran plasma sperma kerbau murreh	15
5	Hasil analisis menggunakan metode HOS-Test	17
6	Integritas membran plasma sperma kerbau murreh menggunakan pewarnaan CFDA-PI	17