

EVALUASI SELULER SPERMA SAPI PASCA *SEX-SORTING* BERBASIS AKTIVASI TLR7/8 DENGAN LIGAN R848

ANGGI NAHRIYATUSSYIFA



**PEMINATAN ILMU FAAL DAN KHASIAT OBAT
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS HEWAN
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@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 “Evaluasi Seluler Sperma Sapi Pasca *Sex-Sorting* Berbasis Aktivasi TLR7/8 dengan Ligan R848” 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, Juli 2026

Anggi Nahriyatussyifa
B35011241026



@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

RINGKASAN

ANGGI NAHRIYATUSSYIFA. Evaluasi Seluler Sperma Sapi Pasca *Sex-Sorting* Berbasis Aktivasi TLR7/8 dengan Ligan R848. Dibimbing oleh ARIEF BOEDIONO dan KUSDIANTORO MOHAMAD

Sapi merupakan salah satu komoditas ternak yang memiliki nilai ekonomi tinggi sehingga peningkatan efisiensi reproduksi menjadi aspek penting dalam industri peternakan modern. Teknologi *sex-sorting* sperma memungkinkan produksi embrio dengan jenis kelamin yang sesuai kebutuhan, namun metode yang ada saat ini masih menghadapi beberapa keterbatasan, seperti biaya yang tinggi, peralatan yang khusus, dan penurunan kualitas sperma. Aktivasi *Toll-like Receptor* (TLR) 7/8 menggunakan ligan resiquimod (R848) merupakan salah satu metode *sex-sorting* alternatif yang dikembangkan dengan prosedur yang lebih sederhana dan mudah diaplikasikan. Metode *sex-sorting* berbasis aktivasi TLR7/8 menggunakan ligan R848 telah berhasil memisahkan sperma pembawa kromosom X dan Y pada berbagai spesies. Sebagian besar penelitian masih berfokus pada tingkat keberhasilan pemisahan sperma, sedangkan informasi mengenai perubahan karakteristik seluler sperma setelah proses *sex-sorting*, terutama pada sapi, masih belum banyak dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh aktivasi TLR7/8 menggunakan ligan R848 terhadap karakteristik seluler sperma sapi serta mengonfirmasi keberhasilan *sex-sorting* sperma melalui analisis molekuler.

Penelitian ini menggunakan semen beku dari satu ekor sapi Friesian Holstein yang diproses dengan metode *double swim-up* menggunakan R848 konsentrasi 0,03 μM dengan jumlah ulangan sebanyak enam kali. Penelitian ini mengevaluasi viabilitas, konsentrasi, motilitas, kinematika, aktivitas *mitochondrial membrane potential* (MMP), dan integritas akrosom sperma setelah perlakuan *sex-sorting*. Persentase sperma pembawa kromosom X dan Y dievaluasi dengan *quantitative polymerase chain reaction* (qPCR) dengan gen *Proteolipid Protein* (PLP) dan *Sex-determining Region* (SRY) sebagai penanda molekuler.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *sex-sorting* tidak memengaruhi viabilitas, konsentrasi, dan integritas akrosom sperma pada fraksi lapisan atas dan lapisan bawah. Perlakuan *sex-sorting* menurunkan motilitas sperma pada fraksi lapisan atas dibandingkan kelompok kontrol. Perlakuan *sex-sorting* tidak memengaruhi aktivitas MMP pada fraksi lapisan atas. Perlakuan *sex-sorting* menurunkan persentase sperma dengan aktivitas MMP kategori sedang pada fraksi lapisan bawah dibandingkan kelompok kontrol. Analisis molekuler menunjukkan bahwa perlakuan *sex-sorting* tidak meningkatkan persentase sperma pembawa kromosom Y pada fraksi lapisan atas tetapi meningkatkan persentase sperma pembawa kromosom X pada fraksi lapisan bawah dari 41,5% menjadi 64,0%.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa aktivasi TLR7/8 menggunakan ligan R848 dengan konsentrasi 0,03 μM mampu memperkaya sperma pembawa kromosom X pada fraksi lapisan bawah, tetapi belum mampu memperkaya sperma pembawa kromosom Y pada fraksi lapisan atas. Perlakuan *sex-sorting* sperma dengan R848 menjaga fungsi seluler utama sperma sehingga berpotensi menjadi alternatif yang relatif sederhana dan aman untuk memperkaya sperma pembawa kromosom X pada sapi. Sperma hasil *sex-sorting* berpotensi untuk dimanfaatkan

pada teknologi reproduksi berbantu, khususnya *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI), untuk menghasilkan embrio sapi dengan jenis kelamin yang lebih terarah sesuai kebutuhan program pemuliaan dan produksi ternak.

Kata kunci: evaluasi seluler, sperma sapi; *sex-sorting*; TLR7/8; resiquimod

@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.

SUMMARY

ANGGI NAHRIYATUSSYIFA. Cellular Evaluation of Bovine Sperm Post Sex-Sorting Based on TLR7/8 Activation with R848 Ligand. Supervised by ARIEF BOEDIONO and KUSDIANTORO MOHAMAD

Cattle are one of the most economically important livestock commodities; therefore, improving reproductive efficiency has become a key objective in modern cattle production systems. Sperm sex-sorting technology enables the production of embryo with a desired sex. However, currently available sex-sorting methods still face several limitations, including high operational costs, the need for specialized equipment, and reduction in sperm quality. Activation of Toll-like receptor (TLR) 7/8 using the ligand resiquimod (R848) has been developed as an alternative sex-sorting method due to its relatively simple and practical procedure. TLR7/8 activation based sex-sorting using R848 has successfully separated X- and Y-bearing sperm in several species. Nevertheless, most previous studies have focused primarily on sorting efficiency, whereas information regarding changes in sperm cellular characteristics following the sex-sorting process, particularly in cattle, remains limited. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of TLR7/8 activation by R848 on the cellular characteristics of bovine sperm and to confirm the effectiveness of sex-sorting through molecular analysis.

This study utilized frozen-thawed semen obtained from Friesian Holstein bulls. Semen samples were processed using a double swim-up method with 0.03 μM R848 and six replicates. The study evaluated sperm viability, concentration, motility, kinematic parameters, mitochondrial membrane potential (MMP) activity, and acrosome integrity following the sex-sorting procedure. The percentages of X- and Y-bearing sperm were determined using quantitative polymerase chain reaction (qPCR) using the Proteolipid Protein (PLP) and Sex-determining Region (SRY) genes as molecular markers.

The results showed that sex-sorting treatment did not affect sperm viability, concentration, or acrosome integrity in either the upper- or lower-layer fractions. The Sex-sorting reduced sperm motility in the upper-layer fraction compared with the control group. Sex-sorting treatment did not affect MMP activity in the upper-layer fraction. However, it reduced the percentage of sperm exhibiting moderate MMP activity in the lower-layer fraction compared with the control group. Molecular analysis revealed that the treatment did not increase the percentage of Y-bearing sperm in the upper-layer fraction but increased the percentage of X-bearing sperm in the lower-layer fraction from 41.5% to 64.0%.

This study concluded that TLR7/8 activation using 0.03 μM R848 successfully enriched X-bearing sperm in the lower-layer fraction but was unable to enrich Y-bearing sperm in the upper-layer fraction. R848-mediated sperm sex sorting preserved the major cellular functions of sperm, indicating that this method may serve as a relatively simple and safe alternative for enriching X-bearing sperm in cattle. Furthermore, sex-sorted sperm obtained through this approach may be applied in assisted reproductive technologies, particularly intracytoplasmic sperm injection (ICSI), to produce bovine embryos with a predetermined sex according to breeding and livestock production objectives.

Keywords: cellular evaluation; bovine sperm; sex-sorting; TLR7/8; resiquimod

@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

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 2026
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.



@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.

EVALUASI SELULER SPERMA SAPI PASCA *SEX-SORTING* BERBASIS AKTIVASI TLR7/8 DENGAN LIGAN R848

ANGGI NAHRIYATUSSYIFA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Ilmu Biomedis Hewan
Peminatan Ilmu Faal dan Khasiat Obat

**PEMINATAN ILMU FAAL DAN KHASIAT OBAT
PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS HEWAN
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@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.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Dr. drh. Wahono Esthi Prasetyaningtyas, M.Si

Judul : Evaluasi Seluler Sperma Sapi Pasca *Sex-Sorting* Berbasis Aktivasi
Tlr7/8 dengan Ligan R848

Nama : Anggi Nahriyatussyifa

NIM : B3501241026

Disetujui oleh:

Pembimbing 1

Prof. drh. Arief Boediono, Ph.D, PAVet(K)

Pembimbing 2

Dr. drh. Kusdiantoro Mohamad, M.Si, PAVet

Diketahui oleh:

Ketua Program Studi:

Prof. drh. Bambang Pontjo P, M.S, Ph.D, APVet, DACCM

NIP 196002281986011001

Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis:

Prof. drh. Amrozi, Ph.D

NIP 197007211995121001

Tanggal Ujian: 27 Juli 2026

Tanggal Lulus: