

INTEGRITAS MORFOLOGIS DAN KINEMATIKA SPERMATOZOA SETELAH *SWIM-UP* DAN PERKIRAAN KEMAMPUAN FERTILISASINYA

METALIA GUNSARI



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS HEWAN
PEMINATAN BIOLOGI REPRODUKSI
SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@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 “Integritas Morfologis dan Kinematika Spermatozoa setelah *Swim-up* dan Perkiraan Kemampuan Fertilisasinya” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun 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 2025

Metalia Gunsari
B3501222013

- 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

METALIA GUNSARI. Integritas Morfologis dan Kinematika Spermatozoa setelah *Swim-up* dan Perkiraan Kemampuan Fertilisasinya. Dibimbing oleh MOHAMAD AGUS SETIADI, IMAN SUPRIATNA dan EKAYANTI MULYAWATI KAIIN.

Pada tahap fertilisasi *in vitro*, spermatozoa yang diperoleh dari ejakulat tidak dapat membuahi oosit secara langsung. Spermatozoa harus mengalami kapasitasasi dan reaksi akrosom. Saat terjadi reaksi akrosom, spermatozoa akan melepaskan enzim akrosomal yang digunakan spermatozoa untuk menembus lapisan pelindung oosit. Secara *in vitro* spermatozoa dibiarkan berinteraksi dengan oosit agar terjadi fertilisasi pada media fertilisasi. Namun demikian, sebelum berinteraksi dengan oosit, spermatozoa diberikan perlakuan khusus seperti *swim-up* dan sentrifugasi dengan tujuan memilih spermatozoa motil serta memisahkan spermatozoa dengan komponen yang tidak diperlukan sehingga memungkinkan terjadinya fertilisasi. Oleh karena itu penelitian dilakukan untuk mengamati kualitas dan perubahan morfologi yang terjadi pada setiap tahapan fertilisasi *in vitro*, seperti motilitas total, motilitas progresif, viabilitas, integritas membran plasma, abnormalitas, kinematika dan perubahan tudung akrosom. Hal ini bertujuan untuk dapat memperkirakan kemampuan fertilisasi dan menentukan waktu yang efektif terpaparnya spermatozoa dengan oosit.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa semen beku dari sapi Peranakan Ongole yang di *thawing* dalam *waterbath* yang sudah diisi air dengan suhu 37 °C selama 30 detik. Sampel kemudian diswim-up dengan cara 200 µL ditempatkan pada bagian dasar tabung Eppendorf sebanyak 3 buah yang berisi media *swim-up* masing-masing 1.000 µL. Tabung Eppendorf dimiringkan dengan sudut 45° dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ pada suhu 39 °C selama 1 jam. Ketiga tabung Eppendorf tersebut bagian atas media *swim-up* diambil sebanyak 700 µL dan disentrifugasi dengan kecepatan 1.600 rpm selama 8 menit. Selanjutnya, supernatan dibuang dengan menyisakan pelet sekitar 400 µL. Sebanyak 200 µL spermatozoa yang telah diswim-up ditempatkan dalam 800 µL media fertilisasi dengan konsentrasi akhir spermatozoa mencapai 10 juta/ml, dan diinkubasi pada inkubator CO₂ dengan suhu 39 °C selama 3 dan 6 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah *swim-up* terjadi peningkatan motilitas spermatozoa sebesar 70,45%, viabilitas 76,17%, membran plasma utuh 78% yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya ($p < 0,05$). Hasil pengamatan CASA menunjukkan setelah *swim up*, VCL dan VSL spermatozoa meningkat hingga setelah inkubasi 3 jam dan 6 jam pada media fertilisasi ($p < 0,05$). Terjadi peningkatan perubahan tudung akrosom seiring berjalannya waktu inkubasi ($p < 0,05$). Indikasi reaksi akrosom sudah terjadi sebanyak 37% setelah inkubasi media fertilisasi 3 jam dan meningkat pada inkubasi ke 6 jam sebesar 63,17% ($p < 0,05$).

Pada kondisi *in vitro*, spermatozoa tetap bisa mengalami kapasitasasi dan reaksi akrosom karena didukung oleh kondisi lingkungan eksternal (media fertilisasi). *Natrium bikarbonat* (NaHCO₃) dalam media fertilisasi berfungsi meningkatkan aktivitas *adenylyl cyclase*, yang memicu peningkatan cAMP (cyclic AMP) dan memicu terjadinya pelepasan tudung akrosom. Tudung akrosom akan lepas saat memulai proses penetrasi dengan zona pelusida. Tudung akrosom mengandung µ

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



enzim yang diperlukan untuk menembus zona pelusida saat proses penetrasi. enzim yang diperlukan untuk menembus zona pelusida, yaitu hialuronidase dan akrosin. Enzim hialuronidase akan melarutkan asam hialuronat pada korona radiata. Akibatnya ikatan antarsel dapat dipisahkan dan memudahkan terjadinya peleburan. Akrosin berfungsi untuk mendegradasi glikoprotein pada zona pelusida. Eksositosis enzim hidrolitik dari vesikel akrosomal juga berfungsi untuk fusi membran sperma dengan oosit untuk fertilisasi.

Berdasarkan data berbagai tahapan perlakuan paparan pada produksi embrio in vitro, kualitas spermatozoa masih memenuhi syarat untuk melakukan fertilisasi dan dengan inkubasi minimal 6 jam diprediksi menghasilkan tingkat fertilisasi yang baik.

Kata kunci: integritas morfologis; kinematika; reaksi akrosom; spermatozoa; swim up.

- 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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



SUMMARY

METALIA GUNSARI. Morphological Integrity and Kinematics of Spermatozoa after Swim-up and Estimation of Fertility Ability. Supervised by MOHAMAD AGUS SETIADI, IMAN SUPRIATNA dan EKAYANTI MULYAWATI KAIIN.

During the in vitro fertilization stage, spermatozoa obtained from ejaculate cannot directly fertilize the oocyte. The sperm must undergo capacitation and the acrosome reaction. During the acrosome reaction, the sperm release acrosomal enzymes, which they use to penetrate the protective layer of the oocyte. In vitro, spermatozoa are allowed to interact with the oocyte in fertilization media to enable fertilization. However, before this interaction, the sperm undergo special treatments such as swim-up and centrifugation to select motile sperm and separate them from unnecessary components, thereby increasing the chances of successful fertilization. Therefore, research is conducted to observe the quality and morphological changes that occur at each stage of in vitro fertilization, including total motility, progressive motility, viability, plasma membrane integrity, abnormalities, kinematics, and acrosomal status. This aims to estimate fertilizing potential and determine the optimal timing for sperm-oocyte interaction.

The samples used in this study were frozen semen from Ongole crossbred cattle. The semen was thawed in a water bath at 37 °C for 30 seconds. Next, a swim-up technique was performed: 200 µL of thawed semen was placed at the bottom of each of three conical Eppendorf tubes, each containing 1 mL of swim-up medium. The tubes were tilted at a 45° angle and incubated in a CO₂ incubator at 39 °C for 1 hour. After incubation, 700 µL of the upper layer of swim-up medium from each tube was collected and centrifuged at 1600 rpm for 8 minutes. The supernatant was discarded, leaving approximately 400 µL of pellet. Then, 200 µL of the swim-up spermatozoa pellet was transferred into 800 µL of fertilization medium, achieving a final sperm concentration of 10 million/mL. This mixture was incubated in a CO₂ incubator at 39 °C for 3 and 6 hours, respectively.

The study results showed that the swim-up treatment significantly increased sperm motility (70.45%), viability (76.17%), and intact plasma membranes (78%) compared to other treatments ($p < 0.05$). CASA analysis revealed that after swim-up, both curvilinear velocity (VCL) and straight-line velocity (VSL) increased following 3 and 6 hours of incubation in fertilization media ($p < 0.05$). Additionally, the incidence of the acrosome reaction increased over time ($p < 0.05$), with 37% of sperm showing acrosome reaction after 3 hours, rising to 63.17% after 6 hours in fertilization medium ($p < 0.05$).

In vitro, spermatozoa can still undergo capacitation and the acrosome reaction because they are supported by the external environment (fertilization medium). Sodium bicarbonate (NaHCO₃) in the fertilization medium functions to increase adenylyl cyclase activity, which triggers a rise in cAMP (cyclic AMP) and induces acrosome cap release. The acrosome cap detaches at the start of penetration into the oocyte. The acrosomal cap contains enzymes required to penetrate the zona pellucida during penetration. The enzymes released at this stage are hyaluronidase and acrosin. Hyaluronidase dissolves hyaluronic acid in the corona radiata, consequently dismantling intercellular bonds and facilitating fusion.



Acrosin functions to degrade glycoproteins in the zona pellucida. Exocytosis of hydrolytic enzymes from the acrosomal vesicle also serves to fuse the sperm membrane with the oocyte for fertilization.

Based on the data from the various treatment steps during in vitro embryo production, the sperm quality remained sufficient for fertilization, and with a minimum of 6 hours incubation, it is predicted that a good fertilization rate can be achieved.

Keywords: acrosome reaction; integrity morphology; kinematics; swim up.



- 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 2025
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 IPB.

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

INTEGRITAS MORFOLOGIS DAN KINEMATIKA SPERMATOZOA SETELAH *SWIM-UP* DAN PERKIRAAN KEMAMPUAN FERTILISASINYA

METALIA GUNSARI

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
2025**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

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



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



Judul Tesis : Integritas Morfologis dan Kinematika Spermatozoa setelah *Swim-up* dan Perkiraan Kemampuan Fertilisasinya.
Nama : Metalia Gunsari
NIM : B3501222013

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. drh. Mohamad Agus Setiadi

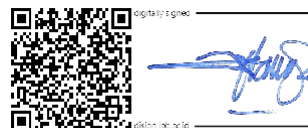


Pembimbing 2:
Prof. Dr. drh. Iman Supriatna

Pembimbing 3:
Dr. Ekayanti Mulyawati Kaiin, M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. drh. Bambang Pontjo Priosoeryanto, MS,
Ph.D, APVet, DACCM.
NIP. 196002281986011001



Dekan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis
Prof. drh. Amrozi, Ph.D.
NIP. 197007211995121001



Tanggal Ujian: 10 Juli 2025

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 kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Integritas Morfologis dan Kinematika Spermatozoa setelah *Swim-up* dan Perkiraan Kemampuan Fertilisasinya**” Penulisan tesis ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Biomedis Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University. 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. Mohamad Agus Setiadi selaku Ketua Komisi Pembimbing, dan Prof. Dr. drh. Iman Supriatna serta Dr. Ekayanti Mulyawati Kaiin, M.Si. selaku Anggota Komisi Pembimbing atas bimbingan, nasihat, motivasi serta kritik yang sifatnya membangun dalam penyelesaian penelitian dan penulisan tesis ini;
2. Prof. Dr. drh. Bambang Purwantara, M.Sc. selaku Penguji Tesis dari luar komisi pembimbing atas saran, masukan, serta kritiknya guna 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 Program Studi Ilmu Biomedis Hewan khususnya bagian Divisi Reproduksi dan Kebidanan, atas ilmu, pengalaman, dan seluruh bantuannya selama penulis menempuh studi;
5. Badan Riset dan Inovasi Nasional atas Beasiswa Penelitian melalui Bantuan Riset Tugas Akhir Penelitian Tesis Magister Tahun 2023;
6. Ayahanda tercinta Harifuddin Sando dan Ibunda tersayang Muliyatun, Saudara satu-satunya Desta Rafli Saputra dan seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan dan memberi dukungan kepada penulis;
7. Sahabat seperjuangan penelitian IVF (Mitha Yusmala, S.Pd., drh. Arindya Andrian, M.Si., dan drh. Asman Ramadhan Damanik, M.Si), teman-teman BRP (Ahad Putra Dewantara, S.Si., Khalista Khalis, S.Si, M.Si., Purwatininggrum, S.P, M.Si., Johana Dian Rahayu, S.Si, M.Si., Immanuella Tumatenden, S.Pt, dan drh. Rita Oktaria atas kebersamaannya serta Husnul Hotimah, S.Ag, Nidia Aprilia, S.A.P, Nila Aprilia, Lalu Wire Karismasandi, S.I.Kom dan koko Andy Gunawan atas dukungannya;

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat memperkaya khazanah keilmuan dalam bidang Biologi Reproduksi.

Bogor, Juli 2025

Metalia Gunsari



@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 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 ISI	xvii
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
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	2
1.6. Kerangka Pemikiran	2
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. <i>Swim-up</i>	4
2.2. Spermatozoa	4
2.3. Kapasitas	7
2.4. Reaksi Akrosom	7
2.5. Penilaian Kualitas	8
III METODE	10
3.1. Kode Etik	10
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.3. Alat dan Bahan	10
3.4. Prosedur Kerja	10
3.5. Analisis Data	14
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1. Kualitas spermatozoa	15
4.2. Kinematika spermatozoa	17
4.3. Perubahan Membran Akrosom	19
V SIMPULAN DAN SARAN	23
5.1. Simpulan	23
5.2. Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	31
RIWAYAT HIDUP	33



DAFTAR TABEL

3.1.	Penilaian kinematika spermatozoa	11
4.1.	Rata-rata kualitas spermatozoa	15
4.2.	Rata-rata kinematika spermatozoa	17

DAFTAR GAMBAR

1.1.	Kerangka Pemikiran	3
2.1.	Struktur morfologi spermatozoa mamalia	5
2.2.	Model pergerakan spermatozoa	6
2.3.	Mekanisme reaksi akrosom spermatozoa.	8
3.1.	Kerangka Penelitian	11
4.1.	Viabilitas spermatozoa	16
4.2.	Integritas membran plasma utuh	16
4.3.	Grafik keutuhan tudung dan reaksi akrosom	19
4.4.	Status akrosom	20

DAFTAR LAMPIRAN

1.	Komposisi media <i>swim-up</i>	32
2.	Komposisi media fertilisasi	32
3.	Komposisi larutan HOS	32
4.	Komposisi pewarnaan FITC-PNA	32