

Kualitas Semen Ayam Kampung Pada Suhu 3-5°C Pada Pengenceran Fosfat Kuning Telur Dengan Penambahan Laktosa

(CEMENT QUALITY OF CHICKEN VILLAGE ON TEMPERATURE 3-5°C IN DILUTION PHOSPHATE EGG YOLK WITH ADDITION OF LACTOSE)

Rahel Situmorang¹, Wayan Bebas², I G. N. B. Trilaksana²

¹Mahasiswa Program Studi Dokter Hewan

²Laboratorium Reproduksi veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana

Jalan P. B. Sudirman, Denpasar, Bali, 80364, telp (0361) 701808

E-mail : ra_chel04ssy@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan laktosa pada pengenceran fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5° C. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat kelompok perlakuan yaitu: Kontrol yaitu pengencer tanpa penambahan laktosa (T₁), pengencer + laktosa 0,3^{w/v} % (T₂), pengencer + laktosa 0,6 ^{w/v} % (T₃), pengencer + laktosa 1,2 ^{w/v} % (T₄). Sumber semen berasal dari 2 ekor ayam kampung jantan sehat lalu dihomogenkan dan dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengenceran dilakukan dengan mencampurkan kuning telur terhadap larutan PBS dengan konsentrasi 20%. Pengenceran dilakukan dengan konsentrasi spermatozoa 150 x 10⁶/ml pengencer. Semen yang telah diencerkan disimpan pada refrigerator dengan suhu 3-5°C. Pengamatan dilakukan setiap 12 jam terhadap motilitas progresif dan daya hidup spermatozoa sampai motilitas di bawah 40% dan daya hidup di bawah 45%, data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varians, selanjutnya dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *General Linear Model (Multivariate)*. Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Duncan, penghitungan statistik menggunakan SPSS 17.0 *for windows*. Hasil penelitian menunjukkan penambahan laktosa berpengaruh nyata (p<0,05) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung. Penambahan konsentrasi 0,6 ^{w/v} % memberikan hasil terbaik dan lama penyimpanan juga berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa, dimana semakin lama penyimpanan semen maka semakin rendah motilitas dan daya hidup spermatozoa.

Kata kunci : Laktosa, motilitas, daya hidup, penyimpanan semen, ayam kampung.

ABSTRACT

The purpose of this research is to know the effect of lactose addition at egg yolk phosphate dilution to chicken spermatozoa motility and vitality which is stored in 3-5° C. This research using Rancangan Acak Lengkap (RAL) with 4 different group such as: Control which is diluent without lactose addition (T₁), diluents + lactose 0,3^{w/v} % (T₂), diluents + lactose 0,6 ^{w/v} % (T₃), diluents + lactose 1,2 ^{w/v} % (T₄). The source of the semen is come from 2 healthy male chicken, homogenized and already checked through macroscopic and microscopic way. The dilution done by mixing the egg yolk with 20% concentration of PBS. The dilution also done with the concentration of spermatozoa is 150 x 10⁶/ml diluents. The semen which has been diluted stored in refrigerator in 3-5°C. There are some general check every 12 hours at the progressive motility and vitality until below 40% of motility and below 45% of vitality, the data has been analyzed with variant analysis and statistic test using General Linear Model (Multivariate). If there are any significant different then must be a next test

using Duncan test, statistic calculation using SPSS 17.0 for windows. The result of the research shown the significant effect ($p < 0,05$) of lactose addition to motility and vitality of chicken spermatozoa. The addition of 0,6 % concentration gave the best result and storage time also has effect for motility and vitality of spermatozoa, the longer semen is in stored the lower motility and vitality of spermatozoa is.

Keyword: Lactose, motility, vitality, semen storage, chicken.

PENDAHULUAN

Kebutuhan ayam kampung di Indonesia semakin meningkat seiring dengan semakin banyaknya masyarakat yang memelihara ayam kampung, baik digunakan sebagai usaha peternakan, atau pun untuk mencukupi kebutuhan sendiri. Peranan ayam kampung terutama sebagai penghasil daging dan telur dapat diandalkan sebagai tambahan pendapatan (*cash income*) bagi peternak (Purwanti, et al., 2006). Namun dalam pengembangan ayam kampung terdapat beberapa hambatan untuk pemenuhan dan pengembangan produksinya. Permasalahan yang sering ditemukan adalah penyediaan bibit ayam kampung unggul. Dalam pencarian calon bibit unggul, selain didasarkan pada tampilan luarnya juga dapat dilakukan dengan konsep pemuliaan ternak, sehingga dapat diperoleh bibit unggul yang dapat meningkatkan produksi ternak (Darwati, 2000).

Untuk menanggulangi masalah yang ada perlu cara untuk meningkatkan produksi ayam kampung, salah satu cara adalah dengan menggunakan teknologi inseminasi buatan atau dikenal dengan sebutan IB. Menurut Anon (2008) teknik ini sangat ekonomis karena dapat dilakukan sendiri sehingga lebih menghemat biaya selain itu semen yang telah diencerkan tersebut dapat membuahi lebih banyak betina.

Penggunaan semen segar dalam melakukan inseminasi, spermatozoa hanya mampu hidup kurang dari dua jam, apabila disimpan tanpa terlebih dahulu dilakukan pengenceran, sehingga dibutuhkan suatu bahan pengencer yang dapat mempertahankan kualitas semen selama proses penyimpanan (Toelihere, 1993). Bahan pengencer yang bisa digunakan salah satunya adalah pengencer kuning telur fosfat (Salisbury dan Van Demark, 1985). Selama proses pengenceran semen, akan terjadi perubahan membran dan plasma sehingga menyebabkan terjadinya penurunan stabilitas membran spermatozoa (Thompson, 2005). Pada sel spermatozoa, kejutan dingin pada proses penyimpanan semen dapat menyebabkan penurunan motilitas. Karbohidrat dapat digunakan sebagai krioprotektan dalam proses penyimpanan semen hewan pada suhu 3-5⁰C, salah satunya yaitu laktosa. Penggunaan laktosa berfungsi sebagai krioprotektan dan juga sebagai anti radikal bebas. Penambahan laktosa ke

dalam bahan pengencer fosfat kuning telur pada semen ayam kampung diharapkan dapat mencegah terjadinya cold shock dan menangkal radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan membran spermatozoa, sehingga motilitas dan daya hidup spermatozoa dapat dipertahankan selama proses pengenceran dan penyimpanan semen pada suhu 3-5⁰C.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan dua ekor ayam kampung jantan, umur 8 bulan sebagai sumber semen dan sebelum dilakukan penampungan semen, ayam diadaptasikan selama 2 minggu. Selama penelitian ayam dikandangkan dan diberi makanan butiran berupa campuran jagung, beras merah, dan gabah dengan perbandingan 1:1:1. Ayam diberi makan sebanyak 200 gram/hari dan diberi air secukupnya. Penampungan semen dilakukan dengan melakukan metode pengurutan. Semen dari kedua pejantan dikumpulkan kemudian dihomogenkan dan dilakukan pemeriksaan secara makroskopis (volume, pH, bau, konsistensi) dan mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu, dan konsentrasi). Setelah kualitas semen diketahui kemudian diencerkan dengan pengencer fosfat kuning telur dengan konsentrasi 150 x 10⁶/ ml, sesuai dengan rancangan percobaan. (T1) : sebagai kontrol menggunakan bahan pengencer fosfat kuning telur tanpa penambahan laktosa, (T2) : pengencer + laktosa 0,3^{w/v} % , (T3) : pengencer + laktosa 0,6 ^{w/v} %, (T4) : pengencer + laktosa 1,2 ^{w/v} %. Tiap kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali. Kemudian semen yang telah diencerkan disimpan dalam refrigerator suhu 3-5⁰C dan dilakukan pengamatan terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Pengamatan motilitas dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes semen (0,05 ml) di atas obyek gelas hangat (37⁰C) lalu tutup dengan cover gelas dan amati di bawah mikroskop gerakan motilitas spermatozoa yang bergerak progresif secara subyektif dalam prosen pada 3 lapang pandang berbeda. Penentuan daya hidup dilakukan dengan pengecatan Eosin-Negrosin Sitrat. Pengecatan dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes (0,05 ml) semen yang telah diencerkan dengan menambahkan satu sampai dua tetes Eosin-Negrosin Sitrat lalu diamkan beberapa menit dan dibuat preparat ulas. Segera dianginkan dan lakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 450×. Spermatozoa yang mati akan terlihat berwarna merah sedangkan spermatozoa yang hidup akan tidak terwarnai (transparan). Lakukan penghitungan sebanyak 200 spermatozoa dan hitung persentase spermatozoa yang mati atau yang hidup. Data yang diperoleh terlebih dahulu diuji normalitas dengan menggunakan Kolmogorov Smirnov dan uji homogenitas dengan menggunakan

Levene's Test. Data dianalisis dengan analisis varians, selanjutnya dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *General Linear Model (Multivariate)*. Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Duncan. Penghitungan statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS 17. 0 for windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian motilitas spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5° C dengan penambahan laktosa pada bahan pengencer fosfat kuning telur menunjukkan bahwa penambahan laktosa dan waktu pengamatan memberikan pengaruh berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung. Uji lanjutan dengan *Duncan* menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa dengan perlakuan laktosa 0,6 w/v% memberikan hasil terbaik untuk mempertahankan motilitas spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5° C pada bahan pengencer fosfat kuning telur.

PEMBAHASAN

Salah satu proses dalam pelaksanaan inseminasi buatan adalah proses pengenceran dan penyimpanan semen. Dan selama berlangsungnya proses tersebut semen dapat mengalami kejutan dingin (*cold shock*) dan bila dilakukan penyimpanan pada suhu dingin yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran plasma sel sehingga dapat mengakibatkan kematian pada spermatozoa. Selain itu dapat terjadi reaksi antara spermatozoa dengan oksigen yang akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas berupa singlet oksigen (O^{\cdot}) dan selanjutnya radikal bebas akan bereaksi dengan lemak membran spermatozoa yang akan menyebabkan terjadinya kerusakan membran spermatozoa (Sikka, 1996). Untuk mengatasi terjadinya radikal bebas selama proses pengolahan dan penyimpanan semen maka perlu ditambahkan antioksidan. Senyawa antioksidan yang pernah ditambahkan seperti vitamin C pada semen beku sapi (Beconi *et al.*, 1993) dan semen kelinci (Yousef *et al.*, 2003).

Pengaruh positif laktosa yang berperan sebagai substrat sumber energi dan senyawa krioprotektan ekstraseluler. Senyawa lainnya yang memiliki aktifitas antioksidan, yang dapat bertindak melindungi spermatozoa dari serangan radikal bebas adalah senyawa dari golongan karotenoid salah satunya yaitu astaxanthin. Astaxanthin adalah senyawa golongan karotenoid yang banyak dijumpai pada tanaman laut dengan struktur molekul sedemikian rupa sehingga

membuatnya menjadi aktif sebagai antioksidan (Indrawati., 2013). Studi banding antara astaxanthin dan jenis karoten lainnya telah memperlihatkan bahwa astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan 10 kali lebih kuat dari kelompok karoten seperti β - karoten, canthaxanthin, lutein, dan zeaxanthin (Naguib, 2000). Astaxanthin memiliki efektivitas 100-500 kali lebih baik dari vitamin E dalam hal pencegahan peroksidasi lemak secara in vivo (Kurashige, 1990).

Pada penelitian ini penambahan laktosa pada bahan pengencer dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Laktosa sebagai salah satu karbohidrat golongan disakarida terdiri atas dua unit monosakarida, yakni satu unit glukosa dan satu unit galaktosa yang keduanya dapat dimetabolisir oleh spermatozoa melalui glikolisis dan siklus Krebs untuk menghasilkan energi berupa adenosin trifosfat (ATP). Adenosin trifosfat dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai sumber energi dalam proses pergerakan sehingga dapat tetap motil dan sekaligus untuk mempertahankan daya hidupnya. Sperma dalam penelitian ini diamati hingga kemampuan permatozoa untuk bertahan hidup sebesar 40%, karena pengamatan yang efektif dan efisien dilakukan hanya sampai pada waktu spermatozoa yang dipertahankan masih berada pada motilitas layak IB yakni sebesar 40%. Hal ini dilakukan karena daya hidup spermatozoa di luar tubuh sangat rendah dan mudah sekali mengalami kematian dimana pada suhu rendah akan menurunkan metabolisme spermatozoa. Menurut Maxwel dan Salamon (1993) perubahan sangat nyata pada spermatozoa selama penyimpanan dalam bentuk semen cair yaitu penurunan secara bertahap dari motilitas dan integritas morfologi spermatozoa. Menurut (Sexton dan Giesen, 1982; Bootwalla dan Miles, 1992) jika metabolisme spermatozoa menghasilkan asam laktat, maka angka keasaman merupakan salah satu faktor yang dapat menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan laktosa ke dalam pengencer fosfat kuning telur mampu mempertahankan kualitas semen ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5⁰C selama 96 jam dan memberikan perbedaan yang nyata (P<0,05). Pada penelitian ini konsentrasi 0,6 %_v memberikan hasil terbaik. Lama waktu penyimpanan menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P<0.05) terhadap penurunan persentase motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengenceran fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 3 - 5⁰ C.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis maksimal laktosa yang ditambahkan ke dalam bahan pengencer dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap hasil fertilitas telur ayam kampung yang diinseminasi dengan menggunakan semen ayam kampung yang diencerkan dengan fosfat kuning telur dengan penambahan laktosa, yang disimpan pada suhu 3-5⁰C. selain itu dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penambahan laktosa pada semen yang disimpan di dalam straw semen beku (-196⁰C).

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terima kasih kepada bapak drh. Wayan Bebas, M. Kes yang telah bersedia menyediakan ayam kampung untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- FKH UGM., 2008. *Reproduksi dan Konservasi Hewan*. Reproduksi dan Kebidanan. FKH.UGM. Yogyakarta.
- Beconi, M.T., C.R. Francia, N.G. Mora, and M.A. Affranchino. 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology* 40:841-851
- Bootwalla, S.M. and R.D. Miles RD. 1992. Development of diluents for domestic fowl semen. *World's Poultry Sci. J* 48:121-128.
- Darwati. 2000. Produktivitas Ayam Kampung, Pelung dan Resiprokalnya. *Jurnal penelitian IPB*.
- Indrawati, D. 2013. Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Ayam Kampung dengan Penambahan Astaxanthin pada Suhu 3-5⁰C, *IMV*, 2013 2(4) : 445-452
- Kurashige, M.1990. Inhibition of Oxidative Injury of Biological Membranes by Astaxanthin, *Physiological Chemistry and Physics and Medical. NMR*, 22 (1):27-38
- Maxwell, W. M.C. and S. Salamon. 1993. Liquid Storage of Ram Semen: a Review. *J. Reprod. Fertil. Dev.* 3(5):613-638.

- Naguib, Y.M.A. 2000. Antioxidant Activities of Astaxanthin and Related Carotenoids. *Journal of Agricultural Chemicals*, 48:1150-1154
- Purwanti,M., Soriah, I. A, Krisna, R, Wahyuningsih, 2006. Performans Mutu Ayam Buras Pedaging Hasil Persilangan Ayam Peluang Jantan dengan Ayam Lokal Betina. *Jurnal Penyuluhan Pertanian*. Vol. 1 No.1.
- Salisbury, G.W dan N.L. Van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sexton ,T.J. and E.F. Giesen. 1982. Beltsville poultry semen extender holding turkey semen for six hours at 15°C. *J. Poultry Sci.* 61:1202-1208
- Sikka, S. C. 1996. Oxidative Stress and Role of Antioxidant in Normal and Abnormal Sperm Function. *Frontiers in Bioscience* 1, e 78-86 August 1, 1996.
- Thompson KA. 2005. *Comparison of glycerol, other polyols, trehalose, and raffinose to provide a defined cryoprotectant medium for mouse sperm cryopreservation*. *Cryobiology* 37: 46 58
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Yousef, M.I., G.A. Abdallah, and K.I. Kamel. 2003. Effect of ascorbic acid and vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim. Reprod Sci.* 76:99-111.