

**Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Puyuh (*Coturnix Coturnix Japonica*) yang Disimpan Selama 24 Jam pada Suhu 4°C dengan Penambahan *Bovine Serum Albumin* pada Pengencer Fosfat Kuning Telur**

*MOTILITY AND VIABILITY OF QUAIL (COTURNIX COTURNIX JAPONICA) SPERMATOZOA STORED FOR 24 HOURS AT 4°C WITH THE ADDITION OF BOVINE SERUM ALBUMIN IN EGG YOLK PHOSPHATE DILUENT*

**Elyas Herybertus Tani Bina<sup>1</sup>, Wayan Bebas<sup>2</sup>, Made Kota Budiassa<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan,

<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jln. PB. Sudirman, Denpasar, Bali;

Tlp. (0361) 223791, Faks. (0361) 701808.

*E-mail*: pujutpuput@gmail.com

**ABSTRAK**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan *Bovine Serum Albumin* (*BSA*) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa puyuh yang disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam. Penelitian ini menggunakan 30 ekor burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) yang berumur 8 minggu. Penampungan semen menggunakan metode pemijatan kemudian diencerkan dengan pengencer kuning telur fosfat yang ditambahkan *BSA* dengan berbagai konsentrasi masing-masing : 0 w/v % (sebagai kontrol), 1,5 w/v %, 2 w/v %, dan 2,5 w/v %. Setelah pengenceran, semen disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dan dilakukan pengamatan terhadap motilitas dan daya hidupnya. Hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi *BSA* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Uji lanjutan menggunakan uji Duncan menunjukkan penambahan 2 w/v % *BSA* memberikan hasil yang optimal dalam mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa burung puyuh yang disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam.

Kata kunci : *BSA*, spermatozoa puyuh, motilitas, daya hidup

**ABSTRACT**

The purpose of this study was to determine the effect of Bovine Serum Albumin (*BSA*) on motility and viability of quail spermatozoa stored at 4°C for 24 hours. This study used 30 quails (*Coturnix Coturnix japonica*) were 8 weeks old. Semen was collected by massage method then diluted with egg yolk phosphate dilution added with various concentrations of *BSA* (0 w/v % as control, 1,5 w/v %, 2 w/v % and 2,5 w/v %) and stored at 4°C. Examination on motility and viability were done after 24 hours of stored. Statistically the concentration of *BSA* showed significant difference ( $P < 0,05$ ) on motility and viability of spermatozoa. Further tests using Duncan test showed the addition of 2 w/v % *BSA* provides optimal results in maintaining the motility and viability of quail spermatozoa stored at 4°C for 24 hours.

Keywords : *BSA*, quail spermatozoa, motility, viability

## PENDAHULUAN

Puyuh merupakan salah satu jenis unggas dari famili *phasianidae* dan genus *Coturnix*. Puyuh jepang (*Coturnix coturnix japonica*) mulai dikenal dan dipelihara di Indonesia pada akhir tahun 1979 (Menegristek, 2008). Semakin meluas dan meningkatnya perkembangan budidaya burung puyuh di Indonesia antara lain disebabkan karena meningkatnya kesadaran masyarakat atas kebutuhan protein hewani, serta diterapkannya teknologi modern pemeliharaan unggas (Siregar *et al.*, 2007).

Salah satu cara untuk meningkatkan produktifitas ternak adalah dengan memperkenalkan dan menerapkan teknologi reproduksi seperti inseminasi buatan. Menurut Toelihere (1985) terdapat beberapa faktor yang dapat menentukan kualitas semen. Faktor-faktor tersebut antara lain kadar pengencer, sifat fisik dan kimiawi bahan pengencer, cahaya, suhu dan lamanya penyimpanan.

Penyimpanan semen dengan metode pendinginan pada suhu 4°C dapat menghambat aktivitas metabolisme baik fisik maupun kimia dalam kecepatan yang rendah sehingga dapat mempertahankan daya fertilitas yang optimal (Partodihardjo, 1982). Long (2006) menjelaskan pada proses pendinginan juga digunakan zat krioprotektan yang berfungsi melindungi spermatozoa dari pengaruh dingin yang berlebihan. Kejutan dingin (*Cold Shock*) dapat menyebabkan kerusakan pada fosfolipid membran spermatozoa dan mengakibatkan kematian spermatozoa (Parks dan Graham, 1992; Bebas *et al.*, 2016). Untuk mengatasi hal itu perlu dilakukan penambahan krioprotektan kedalam pengencer semen.

*Bovine Serum Albumin* merupakan krioprotektan ekstraseluler yang mempunyai peran penting untuk melindungi integritas membran sel selama proses penyimpanan pada suhu dingin (Ijaz dan Ducharme, 1995; Wahana *et al.*, 2014). *BSA* mempunyai kandungan asam amino sebanyak 20 macam dan berat molekul 66kDA. Dengan penambahan *BSA* pada bahan pengencer kandungan asam amino atau plasma protein pada semen yang telah diencerkan diharapkan dapat mensubstitusi penurunan konsentrasi berbagai bahan yang terdapat dalam plasma sehingga dapat menjaga stabilitas membran sel spermatozoa. Wahana *et al.*, (2014) melaporkan bahwa penambahan *BSA* 2 w/v % pada pengencer fosfat kuning telur dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang disimpan pada suhu 4°C. Adnani *et al.*, (2012) juga melaporkan bahwa penambahan *BSA* 1 w/v % pada pengencer fosfat kuning telur dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing lokal kintamani yang disimpan pada suhu 4°C.

Berdasarkan pertimbangan diatas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan berbagai konsentrasi *BSA* pada pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa burung puyuh yang disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam.

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) sebanyak 30 ekor yang berumur 8 minggu sebagai sumber semen. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: pakan burung puyuh produksi pabrik (Japfa Comfeed Indonesia), diberi makan 22-23gram per-ekor per-hari dan diberi minum *ad libitum*, NaCl 3%, semen burung puyuh, kuning telur ayam kampung, kanamycin, alkohol 70%, *BSA* (Sigma), aquabidestilata, *phospat buffer saline* (*PBS*, Sigma), pewarna Eosin Negrosin Sitrat. Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain : *object glass*, *cover glass*, pipet pasteur, tabung *Eppendorf 1 cc*, aluminium foil, kompor listrik, mikroskop binokular, tisu, kapas, timbangan analitik, *beker glass*, *haemocytometer*, spatula, cawan petri, spuit, gelas ukur, *refrigerator* dan *counting chamber*.

Penelitian diawali dengan adaptasi hewan coba terhadap lingkungan dan operator (penampung semen) selama 1 minggu. Semen ditampung sesuai dengan prosedur yang disampaikan oleh Lake (1996). Burung puyuh dipegang pada bagian sayap dan paha kemudian busa dikeluarkan dari glandula kloaka. Daerah kloaka dibersihkan dengan kertas tisu dan dilakukan pemijatan yang lembut pada regio lumbar kearah ekor.

Evaluasi semen dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis (Toelihere, 1993). Pemeriksaan makroskopis meliputi: volume, warna, kekentalan dan derajat keasaman (pH). Pemeriksaan mikroskopis meliputi: gerakan (motilitas spermatozoa), konsentrasi spermatozoa, spermatozoa hidup atau mati dan abnormalitas spermatozoa.

Pengencer kuning telur fosfat dibuat dengan cara: memasukan 1 tablet *buffer fosfat* kedalam 100ml aquabidestilata kemudian dipasteurisasi diatas kompor listrik sampai larut sempurna, lalu didinginkan. Telur dipecahkan pada bagian tengahnya dan bagian putih telurnya dibuang. Untuk mendapatkan kuning telur yang bebas dari putih telur maka dilakukan penggelindingan kuning telur pada kertas saring steril kemudian kuning telur ditempatkan pada gelas beker dan dilakukan penusukan pada kuning telur agar kuning telur pecah. Setelah itu, kuning telur dicampurkan kedalam larutan PBS dengan konsentrasi 10%. Antibiotik kanamycin ditambahkan kedalam bahan pengencer fosfat kuning telur. Pencampuran *BSA* 1,5 w/v % dengan pengencer fosfat kuning telur dilakukan dengan

menambahkan 1,5mg *BSA* kedalam 100ml pengencer fosfat kuning telur. Untuk pecampuran pengencer fosfat kuning telur dengan *BSA* 2 w/v % dan 2,5% masing masing ditambahkan 2 mg dan 2,5 mg kedalam 100 ml pengencer fosfat kuning telur.

Pengenceran semen dilakukan dengan memasukan semen ke dalam bahan pengencer. Menurut Toelihere (1993), jumlah pengencer yang digunakan ditentukan berdasarkan persamaan :

$$\frac{\text{vol semen} \times \text{motilitas} \times \text{konsentrasi}}{10 \times 10^6} = \text{volume semen}$$

Semen yang telah diencerkan disimpan dalam refrigerator bersuhu 4°C kemudian dilakukan evaluasi terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa setelah 24 jam. Motilitas spermatozoa diamati dengan melihat pergerakan spermatozoa yang progresif. Daya hidup diamati dengan menggunakan pengecatan *Eosin Negrosin Sitrata*. Spermatozoa yang hidup akan terlihat bening sedangkan yang mati akan berwarna merah (Toelihere, 1993).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas dan daya hidup spermatozoa akibat penambahan berbagai konsentrasi *BSA* yang disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dapat dilihat pada tabel 1.1.

Tabel 1.1 Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Burung Puyuh pada Bahan Pengencer Fosfat Kuning Telur dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi *BSA* yang Disimpan pada Suhu 4°C Selama 24 jam.

Parameter	Perlakuan			
	T0	T1	T2	T3
Motilitas (%)	32,67 ± 4,274 <sup>a</sup>	69,00 ± 4,050 <sup>b</sup>	71,83 ± 2,714 <sup>b</sup>	45,00 ± 5,292 <sup>c</sup>
Daya Hidup (%)	56,33 ± 6,713 <sup>a</sup>	81,17 ± 2,927 <sup>b</sup>	84,67 ± 3,445 <sup>b</sup>	72,33 ± 3,724 <sup>c</sup>
Ulangan	6	6	6	6

Keterangan : huruf yang sama ke arah baris menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata (P>0,05)

- T0 : tanpa penambahan *BSA*
- T1 : penambahan *BSA* 1,5 w/v %
- T2 : penambahan *BSA* 2 w/v %
- T3 : penambahan *BSA* 2,5 w/v %

Berdasarkan hasil pada tabel 1.1 rata-rata motilitas spermatozoa pada perlakuan T0, T1, T2 dan T3 masing-masing 32,67 ± 4,274%, 69,00 ± 4,050%, 71,83 ± 2,714% dan 45,00 ± 5,292%. Daya hidup spermatozoa pada perlakuan T0, T1, T2 dan T3 masing-masing 56,33 ± 6,713%, 81,17 ± 2,927%, 84,67 ± 3,445%, 72,33 ± 3,724%. Uji statistik menunjukkan bahwa

perbedaan konsentrasi *BSA* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa burung puyuh. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan, penambahan *BSA* 2 w/v % pada pengencer fosfat kuning telur menunjukkan rata-rata motilitas dan daya hidup spermatozoa paling tinggi diantara berbagai perlakuan namun penambahan *BSA* 2 w/v % tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan penambahan *BSA* 1,5 w/v %. Rata-rata motilitas dan daya hidup spermatozoa pada penambahan *BSA* 1,5 w/v % nyata lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan penambahan *BSA* 2,5 w/v % dan kontrol. Hal itu disebabkan pada konsentrasi 2 w/v % dan 1,5 w/v % *BSA* mampu berperan sebagai krioprotektan yang berfungsi untuk melindungi spermatozoa dari pengaruh *cold shock*. Menurut Ijaz dan Ducharme (1995) *Bovine Serum Albumin* merupakan krioprotektan ekstraseluler yang mempunyai peran penting untuk melindungi integritas membran sel selama proses penyimpanan pada suhu dingin.

Motilitas dan daya hidup spermatozoa pada penambahan *BSA* 2,5 w/v % nyata lebih besar dibandingkan dengan kontrol disebabkan pada kontrol tidak digunakan *BSA* sehingga tidak ada krioprotektan yang melindungi spermatozoa dari pengaruh *cold shock*. Motilitas dan daya hidup spermatozoa pada pengencer fosfat kuning telur dengan penambahan *BSA* 2,5 w/v % nyata lebih kecil dibandingkan dengan penambahan *BSA* 2 w/v % dan 1,5 w/v %. Hal itu disebabkan penambahan *BSA* dalam jumlah yang banyak akan menyebabkan perubahan tekanan osmosis pengencer sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada fungsi membran sel spermatozoa. Menurut Mayesta *et al.*, (2014) penambahan krioprotektan ekstraseluler dalam jumlah yang banyak dapat mengakibatkan meningkatnya tekanan osmosis larutan pengencer yang tidak dapat diadaptasi dengan baik oleh spermatozoa sehingga berakibat buruk terhadap integritas membran sel spermatozoa. Pada penelitian ini penambahan *BSA* 2 w/v % dan 1,5 w/v % pada pengencer fosfat kuning telur merupakan konsentrasi yang dapat digunakan untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa burung puyuh.

Gadea (2003) melaporkan bahwa banyak peneliti menambahkan *BSA* ke dalam pengencer untuk mempertahankan agar kualitas semen tetap baik. *BSA* mempunyai kandungan asam amino sebanyak 20 macam dan berat molekul 66kDA. Dengan penambahan *BSA* pada bahan pengencer kandungan asam amino atau plasma protein pada semen yang telah diencerkan diharapkan dapat mensubstitusi penurunan konsentrasi berbagai bahan yang terdapat dalam plasma sehingga dapat menjaga stabilitas membran sel spermatozoa.

## SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa persentase motilitas dan daya hidup spermatozoa burung puyuh yang disimpan selama 24 jam pada suhu 4°C meningkat dengan adanya penambahan BSA pada pengencer fosfat kuning telur. Penambahan 2 w/v % BSA merupakan dosis yang optimal untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa burung puyuh.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui fertilitas telur burung puyuh yang diinseminasi dengan semen yang disimpan pada suhu 4°C dengan penambahan BSA pada pengencer fosfat kuning telur. Disamping itu juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui lama penyimpanan semen dengan penambahan BSA pada pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnani LPDH, Bebas W, Budiasa MK. 2012. Penambahan Bovine Serum Albumin pada Pengencer Kuning Telur terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Anjing. *Indonesia Medicus Veterinus* (4): 519 – 529.
- Bebas W, Pemayun TGO, Damriyasa IM, Mantik-Astawa IN. 2016. Lactose-Astaxanthin Increases Green Jungle Fowl's Sperm Motility and Reduces Sperm DNA Fragmentation During 5°C Storage. *Bali Medical Journal* 4(1): 152-156.
- Gadea, J. 2003. Pig Industry Semen Extender Used in Artificial Insemination of swine. *Spanish journal of Agriculture Research* 1(27): 17-27.
- Ijaz A and Ducharme R. 1995. Effect of various extenders and taurine on survival of stallion sperm cooled to 5°C. *Theriogenology* 44: 1039-1050.
- Lake PE. 1996. Physiology and Biochemistry of Poultry Semen. In: Mc Laren. (Ed) *Advance in Reproductive Physiology*. London: Logos Press. Vol. 1.
- Long, JA. 2006. Avian Semen Cryopreservation: What Are Biological Challenges. *Poultry Science*. 85: 232–236.
- Mayesta DMM, Trilaksana IGNB, Bebas W. 2014. Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Ayam dalam Pengencer Glukosa Kuning Telur Fosfat Pada Penyimpanan 3-5°C. *Indonesia Medicus Veterinus* 3(1): 43-52.
- Menegristek. 2008. Budidaya burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*). <http://www.ristek.go.id>. Tanggal akses 12 Januari 2015.
- Parks JE, Graham JK. 1992. Effect of Cryopreservation Procedure on Sperm Membranes. *Theriogenology* 38: 209-222.
- Partodihardjo S. 1982. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara. Jakarta
- Siregar Z, Wahyuni TH, Chairani. 2007. Pengujian Suplementasi Mineral Esensial dalam Ransum Terhadap Fertilitas, Daya Tetas, Mortalitas dengan Perbandingan Jenis Kelamin Jantan dan Betina Puyuh. *Jurnal Agribisnis Peternakan* 3:1-7.
- Toelihere MR. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.

- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. CV Angkasa. Bandung.
- Wahana AG, Budiasa MK, Bebas W. 2014. Penambahan Bovine Serum Albumin Mempertahankan Motilitas Progresif Spermatozoa Kalkun pada Penyimpanan Suhu 4°C. *Indonesia Medicus Veterinus* 3(4): 317-322.