

## **Lama Penyimpanan Semen Burung Puyuh pada Suhu 29°C dengan Pengencer Fosfat Kuning Telur Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa**

*(LENGHT OF QUAIL SEMEN STORAGE AT 29°C WITH EGG YOLK PHOSPHAT DILUENTS ON MOTILITY AND VIABILITY OF SPERMATOZOA)*

**Priscilla Mariani Sariyono Putri<sup>1</sup>, Made Kota Budiassa<sup>2</sup>, I Wayan Bebas<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>Laboratorium Teknologi Reproduksi Veteriner

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,

Jln. PB. Sudirman, Denpasar, Bali;

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

*E-mail: priscillasariyono@yahoo.com*

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan semen burung puyuh pada suhu 29°C dengan pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan viabilitas Spermatozoa untuk keperluan inseminasi buatan. Syarat keberhasilan pada proses inseminasi buatan adalah motilitas spermatozoa diatas 40% dan viabilitas diatas 45%. Pengamatan motilitas dan viabilitas semen burung puyuh yang disimpan pada suhu 29°C dengan pengencer Fosfat kuning telur dilakukan selama 12 jam dengan interval waktu dua jam pengamatan yakni pada waktu penyimpanan 0, 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 jam. Hasil penelitian ini menunjukkan motilitas dan viabilitas spermatozoa puyuh selama 12 jam pengamatan secara umum mengalami penurunan. Kesimpulannya adalah penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa puyuh ini seiring dengan lama waktu penyimpanan, semakin lama waktu penyimpanan menyebabkan persentase motilitas dan viabilitas spermatozoa yang diperoleh semakin menurun.

Kata kunci : Pengencer fosfat kuning telur, motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, burung puyuh

### **ABSTRAK**

This research was aimed to study the effect of lenght of quail semen storage at 29°C with egg yolk phosphat diluents on motility and viability of spermatozoa for artificial insemination . Terms of the success of the artificial insemination process is above 40 % sperm motility and viability over 45 % . Motility and viability observations of quail semen were kept at 29°C with egg yolk phosphat diluents were done for 12 hours with intervals of two hours of observation that is at storage time 0, 2, 4, 6, 8, 10, and 12 hours. Motility and viability of spermatozoa quail for 12 hours general observation showed a decline. Decrease in motility and viability of spermatozoa quail is in line with long storage lenght , the longer the storage lenght cause the percentage motility and viability of spermatozoa obtained decreases.

Keywords : egg yolk phosphat diluents, motility of spermatozoa, viability of spermatozoa , quail.

## PENDAHULUAN

Burung Puyuh merupakan salah satu jenis unggas dari genus *Coturnix* yang tersebar di seluruh daratan Amerika. Pada tahun 1870, puyuh jepang yang disebut *Japanese quail* (*Coturnix-coturnix japonica*) mulai masuk ke Amerika. Burung puyuh merupakan jenis burung yang tidak dapat terbang dengan ukuran tubuh yang relatif kecil. Burung puyuh memiliki banyak keunikan yaitu pertumbuhan yang cepat sehingga dalam beberapa percobaan di laboratorium sering menggunakan burung puyuh, dewasa kelamin lebih awal yakni pada usia 41 hari, produksi telur yang relatif tinggi mencapai 250-300 butir per tahun, interval generasi dalam waktu singkat yakni puyuh mempunyai kemampuan untuk menghasilkan keturunan sebanyak 3-4 generasi per tahun, dan periode inkubasi relatif cepat (Rachmat *et al.*, 2007).

Produktivitas puyuh jantan dapat diketahui dari performan reproduksinya, antara lain dari kualitas suara, kecemerlangan warna bulu dada, kadar hormon testosteron dalam darah, dan dari kualitas spermatozoanya (Anonim, 2006). Untuk memperbaiki mutu genetik ternak, salah satunya dapat dilakukan dengan cara inseminasi buatan (IB). Inseminasi merupakan suatu teknik peternakan modern yang diterapkan secara efisien pada peternakan yang sudah maju. Inseminasi juga dapat digunakan untuk memaksimalkan penggunaan pejantan, serta mencegah penularan penyakit (Ax *et al.*, 2000). Untuk keperluan inseminasi buatan maka sangat diperlukan kualitas semen yang sangat baik pada saat ditransfer ke betina. Menurut Toelihere (1993), terdapat beberapa faktor yang berperan dalam menentukan kualitas semen. Faktor-faktor tersebut antara lain: kadar pegencer, sifat-sifat fisik dan kimia bahan pengencer (pH, tekanan osmose, elektrolit yang terkandung), cahaya, suhu, dan lama penyimpanan.

Hal yang perlu diperhatikan dalam keperluan inseminasi buatan yakni salah satunya adalah suhu penyimpanan yang baik agar dapat menghasilkan semen yang baik dengan motilitas diatas 40% dan viabilitas diatas 45%. Suhu dan lama penyimpanan semen burung puyuh dapat berpengaruh terhadap motilitas dan viabilitas untuk kepentingan inseminasi buatan.

Penulisan artikel ini bertujuan untuk mengetahui lama penyimpanan semen burung puyuh pada suhu 29°C dengan pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa.

### METODE PENELITIAN

Peneliti menggunakan 30 ekor burung puyuh jantan dengan umur  $\geq 6$  minggu sebagai sumber semen. Peralatan yang digunakan antara lain: *object glass*, *cover glass*, *pipet pasteur*, tabung *Eppendorf* 1 cc, mikroskop binokular, tisu, kapas, timbangan analitik, *beker glass*, *haemocytometer*, spatula, cawan petri, kertas, spuit, gelas ukur, refrigerator, *counting chamber*. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: pakan puyuh produksi pabrik, NaCl 3%, semen puyuh, aquabidestilata, dan pewarna eosin negrosin. Penampungan semen puyuh dilakukan dengan menggunakan teknik *massage* atau pemijatan sesuai dengan yang disampaikan oleh Burrows dan Quinn (1937). Pemeriksaan persentase motilitas spermatozoa yaitu dengan cara mengambil semen yang telah diencerkan menggunakan spuit dan diletakkan pada *object glass* kemudian ditutup dengan *cover glass* dan diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x.

Penentuan persentase hidup spermatozo dilakukan dengan metode pewarnaan eosin negrosin. Satu tetes sperma yang telah diencerkan, diletakkan pada *object glass* kemudian ditambah dengan cairan pewarna eosin negrosin lalu homogenkan. Selanjutnya dibuat preparat ulas. Lalu amati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Spermatozoa yang mati akan menyerap zat warna merah karena permeabilitas dinding selnya telah melemah, sehingga zat warna eosin negrosin akan masuk kedalam sel dan menyebabkan warna merah sampai kedalam sel terutama pada bagian ujung kepala dan yang hidup akan tetap berwarna transparan pada bagian dalam selnya (Tolihere, 1993). Penghitungan presentasi hidup spermatozoa dapat dihitung dengan rumus Evans dan Maxwell (1987):

$$\text{Persentase hidup spermatozoa (\%)} = \frac{\sum \text{spermatozoa hidup}}{\sum \text{total spermatozoa}} \times 100\%$$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil evaluasi semen puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) secara makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 1

**Tabel 1** Hasil Evaluasi Semen Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Faktor Pengamatan		Hasil Pengamatan
Makroskopis:	Volume	0,56 ml/pool
	Rataan Volume per ekor	0,018ml
	Warna	Krem
	Ph	7,06
	Konsistensi	Kental
	Bau	Khas
Mikroskopis:	Gerakan Massa	++
	Motilitas Progresif	86,4%
	Konsentrasi	$55 \times 10^7$
	Abnormalitas	7,4%
	Viabilitas	91,6%

Dari hasil evaluasi semen secara makroskopis dapat dilihat bahwa rata-rata volume semen puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) adalah 0,018 ml. Chelmonska *et al.*, (2008) melaporkan bahwa satu spesies puyuh memiliki volume ejakulat rata-rata 0,0125-0,02ml. Lesmono (2015) juga melaporkan bahwa volume semen burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) adalah  $\pm 0,02$ ml. Watson (1978) menyatakan bahwa volume semen yang dihasilkan tergantung dari bangsa, umur, ukuran badan, nutrisi pakan, frekuensi penampungan dan berbagai faktor lain. Selanjutnya hasil penelitian Sexton *et al.*, (1978) menunjukkan bahwa kuantitas dan kualitas semen dipengaruhi oleh kandungan protein dan energi pakan.

Semen yang didapatkan mempunyai konsistensi yang kental, warna krem tidak tembus cahaya dan berbau khas (amis). Warna semen hasil evaluasi adalah krem dengan konsistensi kental dan konsentrasi  $55 \times 10^7$ /ml. Lesmono (2015) melaporkan bahwa semen puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) memiliki konsentrasi  $\pm 57,2 \times 10^7$  dengan konsistensi kental, warna krem dan bau yang khas.

Hasil pengukuran pH puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) pada penelitian ini adalah 7,06. Semen unggas memiliki pH antara 7,0-7,6 derajat keasaman (pH) semen dipengaruhi adanya proses metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerobik. Hasil akhir dari proses metabolisme spermatozoa tersebut berupa asam laktat. Semakin tinggi Asam laktat yang dihasilkan akan menyebabkan peningkatan derajat keasaman atau menurunkan (pH) larutan tersebut (Toelihere, 1993)

Ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya geraknya yang dijadikan patokan paling sederhana dalam penilaian semen untuk inseminasi buatan. Semen yang telah dievaluasi dapat dikatakan layak untuk diproses lebih lanjut hal ini dilihat dari gerakan massa

semen puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) dengan nilai ++, motilitas progresif 86%, abnormalitas 7,4% dan viabilitas 95%. Semen yang baik dan layak digunakan dalam percobaan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu: gerakan massa ++ atau +++, motilitas lebih dari 70% dan spermatozoa normal lebih besar dari 85%. Gerakan massa spermatozoa mencerminkan gerakan individu spermatozoa. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa yang bergerak, maka gerakan massa pun semakin baik (Evans dan Maxwell, 1987).

Rataan motilitas dan viabilitas spermatozoa burung puyuh pada penyimpanan suhu 29°C selama 12 jam adalah sebagai berikut:

**Tabel 2.** Rataan Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Burung Puyuh pada penyimpanan suhu 29°C

Lama Simpan	Motilitas X±SD	Viabilitas X±SD
0 jam	86,4±0,89	91,6±1,14
2 Jam	84,6±1,67	89,8±1,48
4 Jam	81±1	85,4±2,60
6 Jam	70,8±4,43	81±3,56
8 Jam	60,6±3,84	74,4±3,50
10 Jam	54±4,30	64±3,39
12 Jam	41,8±4,30	55±2,23

Motilitas spermatozoa puyuh selama 12 jam pengamatan secara umum menunjukkan penurunan. Penurunan motilitas spermatozoa puyuh ini seiring dengan lama waktu penyimpanan, semakin lama waktu penyimpanan menyebabkan persentase motilitas spermatozoa yang diperoleh semakin menurun.

Menurut Solihati *et al.*, (2006) semakin lama waktu penyimpanan menyebabkan motilitas spermatozoa terus mengalami penurunan karena persediaan energi semakin terbatas. Selama penyimpanan, spermatozoa tetap melakukan aktivitas seperti pergerakan dan metabolisme. Semakin lama waktu penyimpanan menyebabkan tingkat penurunan pH juga semakin besar karena selama penyimpanan proses metabolisme spermatozoa terus berlangsung baik secara aerob maupun anaerob. Toelihere (1993) menyatakan bahwa metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob menghasilkan asam laktat yang tertimbun dan menurunkan pH semen yang akhirnya menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Kadar asam laktat yang cukup tinggi akan menghambat aktivitas metabolisme spermatozoa dan juga merupakan racun bagi spermatozoa. Motilitas yang tinggi pada awal penelitian terjadi karena tersedianya sumber energi yang dibutuhkan, dimana motilitas sel spermatozoa berhubungan erat dengan proses metabolisme spermatozoa. Metabolisme bertujuan untuk

menghasilkan ATP dan ADP yang dipergunakan untuk motilitas sel spermatozoa. Bila persediaan fosfat organik dalam ATP habis, maka kontraksi fibril sel spermatozoa akan berhenti sehingga motilitas juga berhenti.

Motilitas spermatozoa juga dipengaruhi oleh temperatur lingkungan (Ax *et al.*, 2000). Pada penelitian ini spermatozoa disimpan pada suhu 29°C, akibatnya motilitas individu pada semen yang telah diencerkan mengalami penurunan. Penurunan ini dapat disebabkan oleh penurunan suhu mulai dari dalam tubuh hewan jantan menuju suhu lingkungan dimana semen diproses (29°C). Keadaan ini dapat mengakibatkan terjadinya *shock* pada sel-sel spermatozoa sehingga motilitas individu menurun.

Evans dan Maxwell (1987) menyatakan bahwa penurunan temperatur akan menurunkan metabolisme spermatozoa yang berakibat pada menurunnya produksi energy yang dapat dipergunakan sebagai energi mekanik (pergerakan) atau sebagai energi kimiawi (biosintesis). Selanjutnya Sexton (1978) menyatakan bahwa suhu penyimpanan yang ideal untuk menghasilkan fertilitas spermatozoa yang baik adalah 2,5°C. Makin tinggi suhu penyimpanan mengakibatkan metabolisme spermatozoa berlangsung lebih cepat sehingga sumber energi yang digunakan semakin cepat habis. Habisnya nutrien dan terjadinya penurunan pH akibat peningkatan kadar asam laktat akan menyebabkan kematian spermatozoa. Solihati *et al.*, (2008) menyatakan bahwa, motilitas yang harus dimiliki sebelum IB adalah sebesar 40 %. Hasil motilitas spermatozoa puyuh menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa yang layak untuk diinseminasi dapat dicapai selama 12 jam dengan rata-rata motilitas 41,8%. Menurut Susilawati dan Hernawati (1992) pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi viabilitas spermatozoa sehingga berpengaruh terhadap motilitas dan daya fertilitas.

Suhu serta cahaya dapat mempengaruhi viabilitas semen di luar tubuh. viabilitas spermatozoa di luar tubuh sangat rendah dan mudah sekali mengalami kematian. Spermatozoa di dalam tubuh akan relative lebih aman dibandingkan jika berada di luar tubuh. Viabilitas spermatozoa segar unggas pada temperatur kamar hanya dapat bertahan selama 30 menit semenjak diejakulasikan (Isnaini, 2000). Berdasarkan data persentase viabilitas spermatozoa puyuh digunakan untuk IB dalam waktu tidak lebih dari 12 jam setelah penampungan yaitu 55%. Hal ini sesuai dengan pendapat Sastrodihardjo dan Resnawati (1999) yang menyatakan bahwa semen layak digunakan untuk teknik IB bila memenuhi syarat persentase viabilitas diatas 45 %. Persentase viabilitas spermatozoa yang menurun seiring dengan bertambahnya lama simpan tersebut, dipengaruhi oleh jumlah nutrisi

spermatozoa dalam pengencer ikut mengalami penurunan, sehingga viabilitas spermatozoa burung puyuh dalam penelitian mengalami penurunan.

Proses pengenceran semen dapat menyebabkan rusaknya membran plasma serta menurunkan motilitas. Kerusakan membran sel spermatozoa akan berdampak pada membran yang pada awalnya mempunyai sifat semipermeabel tidak lagi mampu menyeleksi keluar masuknya zat, sehingga pada saat dilakukan uji warna eosin-negrosine zat tersebut masuk kedalam plasma. Hal ini mengakibatkan semakin meningkatnya spermatozoa yang menyerap larutan pewarna eosine negrosine sebagai tanda spermatozoa telah mati akibat meningkatnya permeabilitas membran sel (Toelihere,1993).

### **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa motilitas dan viabilitas semen puyuh yang di simpan pada suhu 29°C mengalami penurunan secara bertahap seiring dengan lama simpan dan mempunyai waktu maksimal digunakan untuk inseminasi buatan 12 jam setelah penampungan dengan persentase motilitas sebesar 41,8% dan persentasi viabilitas sebesar 55%.

### **SARAN**

Penyimpanan semen puyuh pada suhu 29°C yang akan dipakai untuk Inseminasi Buatan sebaiknya digunakan tidak lebih dari 12 jam setelah penampungan agar didapatkan hasil yang optimal guna menunjang keberhasilan inseminasi buatan.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tulisan ini.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Anonim, 2006. Omega-6 Fatty acid. ([Http://en.wikipedia.org/wiki/omega-6/fatty/acid](http://en.wikipedia.org/wiki/omega-6/fatty/acid)) Diakses pada 2 April 2015.
- Ax R.L, Dally M, Didion BA, Lenz RW, Love CC, Varner DD, HafezB, Bellin ME, 2000. Artificial Insemination. In: B. Hafez Hafez, E.S.E. (Ed.) *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lippincott Williams Wilkins, Philadelphia
- Burrows, W. H., J. P. Quinn. 1937. The Collection Of Spermatozoa From The Domestic Fowl Turkey. *Poultry Science* 16:19-24.
- Chelmonska, B., A. Jerysz, E. Lukaszewich, I. Malecki. 2008. Semen Collection From Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Using a Teaser Female. *Journal of Veterinary Animal science* 32(1):19-24.

- Evans G, Maxwell WMc. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep Goat*. Sydney : Butterworths.
- Isnani N. 2000. Kualitas Semen ayam Arab dalam pengencer NaCl Fisiologis dan Ringers pada suhu Kamar. *J. Habitat* 11(113):233-237.
- Lesmono DYAL. 2015. Karakteristik Semen Burung Puyuh. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana.
- Rachmat WWG, Piliany, MT Suhartono, W Manulu. 2007. Age Maturity of female Japanese quails fed diets containing katuk leave meal *Sauropus rogyunus*. *Animal Production* 9(2) : 67-72
- Sastrodihardjo S, H Resnawati, 1999. *Inseminasi Buatan Ayam Buras: Meningkatkan produksi Telur mendukung pengadaan DOC Unggul*. Penebar Swadaya, Jakarta
- Sexton TJ, 1978. A new poultry semen extender 3. effect of storage condition on fertilizing capacity semen storage at 5°C. *Poult Sci* 28:283-288.
- Solihati M, Rizal, M Fitriatri. 2006. Kualitas Spermatozoa cauda epididymis sapi peranakan ongol dalam pengencer susu dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5°C. *J Anim Prod* 10(1):22-29.
- Susilawati S. Hernawati T. 1992. Penggunaan pengencer Larutan Buah untuk Penyimpanan semen Domba. *Media Kedokteran Hewan*. (3):3
- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. CV Angkasa. B ung.
- Watson PF. 1978. *Artificial Breeding of Non Domestic Animals*. The Zoological Society of London