

## Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Ayam Kampung dengan Penambahan Astaxanthin pada Suhu 3– 5° C

Motility and Vitality of Chicken Spermatozoa with the Addition of Astaxanthin the Temperature of 3-5<sup>0</sup>c.

DEVI INDRAWATI <sup>1)</sup> WAYAN BEBAS <sup>2)</sup> I G. N. B. TRILAKSANA <sup>3)</sup>

1) Mahasiswa FKH Unud, <sup>2), 3)</sup> Lab. Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan,

2) Universitas Udayana, Denpasar, Bali

E-mail : [devy.indrawati@gmail.com](mailto:devy.indrawati@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan astaxanthin pada pengenceran kuning telur fosfat terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5<sup>0</sup>C. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima kelompok perlakuan yaitu : kontrol pengencer (T<sub>1</sub>), pengencer + etanol 0.05% (T<sub>2</sub>), pengencer + astaxanthin 0,001 w/v % (T<sub>3</sub>), pengencer + astaxanthin 0,002 w/v % ( T<sub>4</sub> ), pengencer + astaxanthin 0,004 w/v % ( T<sub>5</sub> ). Sumber semen berasal dari 8 ekor pejantan sehat lalu dihomogenkan dan dilakukan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengenceran dilakukan dengan pengencer fosfat kuning telur dengan konsentrasi kuning telur 10%. Pengenceran dilakukan dengan konsentrasi spermatozoa 150 x 10<sup>6</sup>/ml pengencer. Semen yang telah diencerkan disimpan pada refrigerator dengan suhu 3-5<sup>0</sup>C. Pengamatan dilakukan setiap 12 jam terhadap motilitas progresif dan daya hidup spermatozoa sampai motilitas dibawah 40% dan daya hidup dibawah 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 statistic menggunakan SPSS 17.0 *for windows*. Hasil penelitian menunjukkan penambahan antioksidan astaxanthin menunjukkan pengaruh nyata (p<0,05) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung. Penambahan konsentrasi 0,004 w/v% memberikan hasil terbaik dan lama penyimpanan juga berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa, semakin lama penyimpanan semakin rendah motilitas dan daya hidup spermatozoa.

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

### ABSTRACT

The purpose of this research is to know the effect of astaxanthin addition at egg yolk phosphate dilution to chicken spermatozoa motility and vitality which is stored at 3-5<sup>0</sup>C.

This research use completely randomized design with five group of treatment such as: Diluents control (T<sub>1</sub>), diluents + ethanol etanol 0.05% (T<sub>2</sub>), diluents + astaxanthin 0,001 w/v % (T<sub>3</sub>), diluents + astaxanthin 0,002 w/v % ( T<sub>4</sub> ), diluents + astaxanthin 0,004 w/v % ( T<sub>5</sub> ). The source of the sperm come from 8 male chicken after homogenized and checked. Dilution done with 10% egg yolk phosphate diluents. Diluents consist of 150 x 10<sup>6</sup>/ml spermatozoa. The liquid semen stored in 3-5<sup>0</sup>C refrigerator. The observation were made every 12 hours at progresif motility and vitality of spermatozoa until the motility is under 40% and vitality under 45%. The data analyzed by varian analyze and then tested by statistic test using *General Linear Model (Multivariate)*. The next test should be done if there are any significant difference using Duncantest, statistic count using SPSS 17.0 *for windows*.

The result showed that the addition of astaxanthin antioxidant gave a significant effect (p<0,05) to motality and vitality of chicken spermatozoa. The addition of concentration 0,004 w/v% gave the best result and storage time also have some effect to motality and vitality of chicken spermatozoa, the more time take to storage the lower motality and vitality of chicken spermatozoa.

**Keywords:** astaxanthin, motality, vitality, spermatozoa storgea, local chicken

## PENDAHULUAN

Usaha peternakan ayam kampung telah lama dilakukan oleh masyarakat di Indonesia, terutama di pedesaan. Peranan ayam kampung terutama sebagai penghasil daging dan telur dapat diandalkan sebagai tambahan pendapatan (*cash income*) bagi peternak (Purwanti, *et al.*, 2006). Namun kendala yang dihadapi saat ini adalah masih rendahnya tingkat produksi telur, dan daging jika dibandingkan dengan ayam ras.

Untuk mengatasi kendala ini perlu dilakukan perbaikan mutu genetik ayam kampung dengan ayam kampung terseleksi yang memiliki mutu genetik yang tinggi baik dari segi produksi telur dan pertumbuhan. Untuk pencapaian itu perlu ditunjang dengan penerapan teknologi inseminasi buatan (IB). Keberhasilan IB pada unggas dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain ketersediaan semen setiap saat dengan kualitas yang baik. Untuk itu semen perlu diencerkan dan disimpan pada suhu dingin (3-5°C) agar kualitas semen tetap terjaga.

Selama penyimpanan semen pada suhu 3-5°C spermatozoa mengalami serangan radikal bebas (oksidan) yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel, oleh karena dalam proses penyimpanan semen perlu ditambahkan suatu bahan yang dapat menanggulangi radikal bebas yaitu yaitu antioksidan kedalam pengencer (Siswanto, 1989).

Astaxanthin adalah senyawa golongan karotenoid yang banyak dijumpai pada tanaman laut dengan struktur molekul sedemikian rupa sehingga membuatnya menjadi aktif sebagai antioksidan. Studi banding antara astaxanthin dan jenis karoten lainnya telah memperlihatkan bahwa astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan 10 kali lebih kuat dari kelompok karoten seperti  $\beta$ -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). Percobaan dengan penambahan  $\beta$ -karoten dengan konsentrasi 0,002% pada pengencer Tris mampu mempertahankan kualitas semen domba Garut selama penyimpanana pada suhu dingin (Rizal, 2005).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilaksanakan penelitian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui penambahan Astaxanthin pada bahan pengencer yang disimpan pada suhu 3-5°C dalam mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 8 ekor ayam kampung jantan, umur 8 bulan sebagai sumber semen dan sebelum dilakukan penampungan semen dilakukan adaptasi selama 2 minggu. Selama penelitian ayam dikurung dengan sangkar ayam 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 ke-8 pejantan dikumpulkan kemudian dihomogenkan dan dilakukan pemeriksaan baik secara makroskopis (volume, pH, bau, konsistensi) dan mikroskopis (gerakan massa, gerakan individu, dan konsentrasi). Setelah kualitas semen diketahui lalu semen diencerkan dengan pengencer kuning telur fosfat dengan dengan konsentrasi  $150 \times 10^6$  / ml, sesuai dengan rancangan percobaan. (T<sub>1</sub>) : sebagai kontrol menggunakan bahan pengencer kuning telur fosfat tanpa astaxanthin. Kelompok I (T<sub>2</sub>) : sebagai kontrol etanol menggunakan bahan pengencer kuning telur fosfat + etanol 0,05%. (T<sub>3</sub>) : menggunakan bahan pengencer kuning telur fosfat + astaxanthin 0,001 w/v %. (T<sub>4</sub>) : menggunakan bahan pengencer kuning telur fosfat + astaxanthin 0,002 w/v %. (T<sub>5</sub>) : menggunakan bahan pengencer kuning telur fosfat + astaxanthin 0,004 w/v %. Tiap kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kemudian semen yang telah diencerkan disimpan dalam refrigerator suhu 3-5°C 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 (37°C) lalu tutup dengan cover gelas dan amati dibawah mikroskop gerakan motilitas spermatozoa yang abergerak 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 biarkan beberapa menit dan dibuat preparat ulas. Segera dianginkan dan lakukan pemeriksaan dibawah mikroskop dengan pembesaran 450x. Spermatozoa yang mati akan terlihat berwarna merah sedangkan spermatozoa yang hidup akan tidak terwarnai (transparan). Lakukan penghitungan sebanyak 200 spermatozoa dan hitung prosentase 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

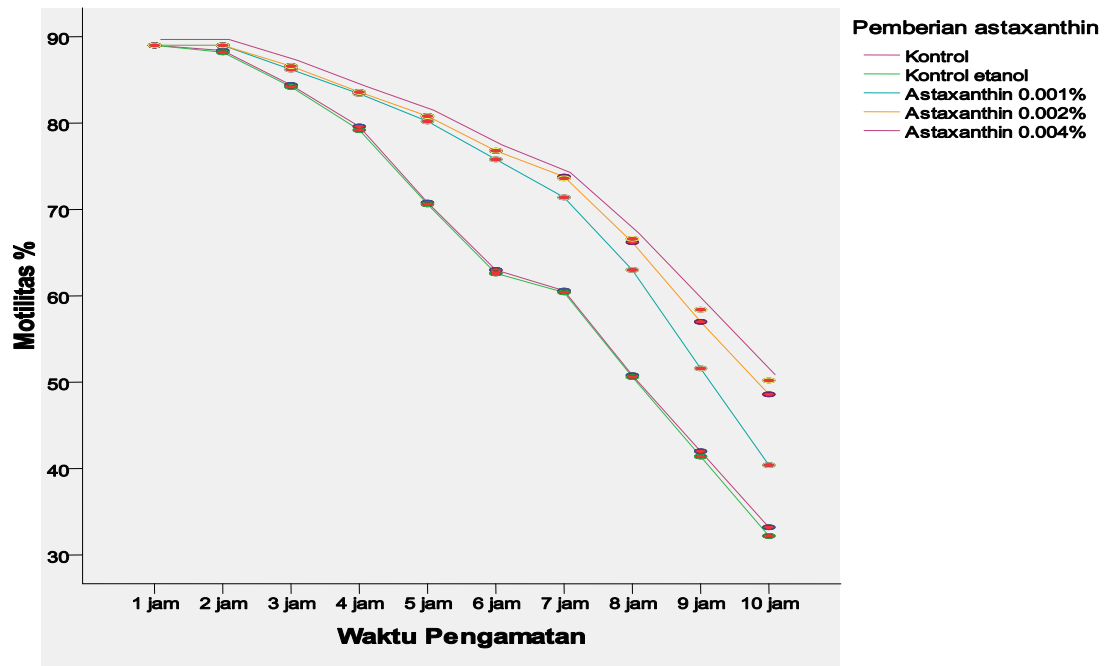
Hasil penelitian motilitas spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5<sup>0</sup> C dengan penambahan astaxanthin pada bahan pengencer kuning telur fosfat dapat dilihat pada table 4.1

Tabel 4.1 Rata-rata ( $\bar{x} \pm SD$ ) motilitas spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5<sup>0</sup> C dengan penambahan astaxanthin pada bahan pengencer kuning telur fosfat.

Waktu Pengamatan	Motilitas ( $\bar{x} \pm SD$ ) (%)				
	Kontrol	Kontrol Etanol	Astaxanthin 0,001	Astaxanthin 0,002	Astaxanthin 0,004
0 jam	89,00 ± 0,00	89,00 ± 0,00	89,00 ± 0,00	89,00 ± 0,00	89,00 ± 0,00
12 jam	88,40 ± 0,55	88,20 ± 0,45	89,00 ± 0,00	89,00 ± 0,00	89,00 ± 0,00
24 jam	84,40 ± 0,90	84,20 ± 0,45	86,20 ± 0,45	86,60 ± 0,56	86,60 ± 0,56
36 jam	79,60 ± 0,56	79,20 ± 0,45	83,40 ± 0,56	83,60 ± 0,56	83,60 ± 0,56
48 jam	70,80 ± 0,84	70,60 ± 0,55	80,20 ± 0,84	80,80 ± 0,45	80,80 ± 0,45
60 jam	63,00 ± 1,23	62,60 ± 0,55	75,80 ± 0,45	76,80 ± 0,45	76,80 ± 0,45
72 jam	60,60 ± 0,55	60,40 ± 0,55	71,40 ± 1,14	73,80 ± 0,45	73,60 ± 0,55
84 jam	50,80 ± 1,31	50,60 ± 0,90	63,00 ± 1,88	66,20 ± 0,84	66,60 ± 0,55
96 jam	42,00 ± 1,23	41,40 ± 0,55	51,60 ± 1,52	57,00 ± 1,00	58,40 ± 0,55
108 jam	33,20 ± 1,65	32,20 ± 0,45	40,40 ± 1,52	48,60 ± 1,52	50,20 ± 0,84

Hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa penambahan astaxanthin dan waktu pengamatan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung Uji lanjutan dengan *Duncan* menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa dengan perlakuan astaxanthin 0,004  $\bar{x} \pm SD$  memberikan hasil terbaik untuk mempertahankan motilitas spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5<sup>0</sup> C pada bahan pengencer fosfat kuning telur.

Grafik motilitas spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat dengan penambahan astaxanthin yang disimpan pada suhu 3-5<sup>0</sup>C disajikan pada gambar 4.1 dibawah ini



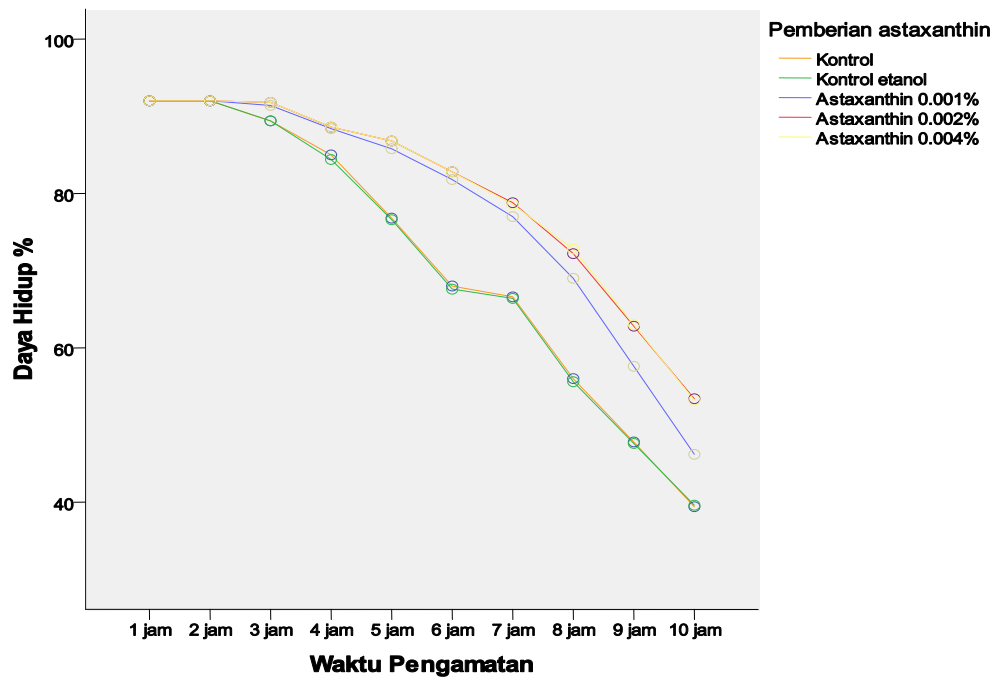
Gambar 4.1 Grafik motilitas spermatozoa ayam kampung

Hasil penelitian daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu  $3-5^{\circ}\text{C}$  dengan penambahan astaxanthin pada bahan pengencer fosfat kuning telur dapat dilihat pada table 4.2. Hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa penambahan astaxanthin dan waktu pengamatan memberikan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu  $3-5^{\circ}\text{C}$  pada bahan pengencer fosfat kuning telur. Uji lanjutan dengan *Duncan* menunjukkan bahwa daya hidup spermatozoa dengan perlakuan astaxanthin 0,004  $\text{w/v}\%$  memberikan hasil terbaik untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu  $3-5^{\circ}\text{C}$  pada bahan pengencer fosfat kuning telur. Penurunan daya hidup spermatozoa ayam kampung terjadi sejalan dengan lamanya waktu pengamatan.

Tabel 4.2 Rata-rata ( $\bar{x} \pm SD$ ) daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu  $3-5^{\circ}C$  dengan penambahan astaxanthin pada bahan pengencer fosfat kuning telur.

Waktu Pengamatan	Daya Hidup ( $^w/v$ %)				
	Kontrol	Kontrol Etanol	Astaxanthin 0,001	Astaxanthin 0,002	Astaxanthin 0,004
0 jam	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00
12 jam	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00	92,00 $\pm$ 0,00
24 jam	89,40 $\pm$ 0,90	89,40 $\pm$ 0,55	91,40 $\pm$ 0,55	91,80 $\pm$ 0,84	91,80 $\pm$ 0,84
36 jam	85,00 $\pm$ 1,23	84,40 $\pm$ 0,55	88,40 $\pm$ 0,55	88,60 $\pm$ 0,55	88,60 $\pm$ 0,55
48 jam	76,80 $\pm$ 0,84	76,60 $\pm$ 0,55	85,80 $\pm$ 1,10	86,80 $\pm$ 0,45	86,80 $\pm$ 0,45
60 jam	68,00 $\pm$ 1,23	67,60 $\pm$ 0,55	81,80 $\pm$ 0,45	82,80 $\pm$ 0,45	82,80 $\pm$ 0,45
72 jam	66,60 $\pm$ 0,55	66,40 $\pm$ 0,55	77,00 $\pm$ 1,00	78,80 $\pm$ 0,45	78,60 $\pm$ 0,55
84 jam	56,00 $\pm$ 1,00	55,60 $\pm$ 0,90	69,00 $\pm$ 1,88	72,20 $\pm$ 0,84	72,80 $\pm$ 0,45
96 jam	47,80 $\pm$ 1,65	47,60 $\pm$ 0,90	57,60 $\pm$ 1,52	62,80 $\pm$ 1,31	63,00 $\pm$ 1,00
108 jam	39,40 $\pm$ 3,21	39,60 $\pm$ 0,90	46,20 $\pm$ 1,65	53,40 $\pm$ 1,82	53,20 $\pm$ 1,79

Grafik daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat dengan penambahan astaxanthin yang disimpan pada suhu  $3-5^{\circ}C$  disajikan pada gambar 4.2 dibawah ini



Gambar 4.2. Grafik daya hidup spermatozoa ayam kampung

## Pembahasan

Salah satu proses dalam pelaksanaan inseminasi buatan adalah proses pengenceran dan penyimpanan semen dan selama proses ini berlangsung akan terjadi reaksi antara spermatozoa dengan oksigen yang akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas berupa singlet oksigen ( $O^{\cdot}$ ) dan selanjutnya radikal bebas akan beraksi dengan lemak membran spermatozoa yang akan menyebabkan terjadinya kerusakan membran spermatozoa (Sikka, 1996). Untuk mengatasi adanya radikal bebas selama proses pengolahan dan penyimpanan semen maka didalam bahan pengencer perlu ditambahkan antioksidan (Siswanto, 1989). Senyawa antioksidan yang pernah ditambahkan seperti vitamin C pada semen beku sapi (Beconi *et al.*, 1993) dan semen kelinci (Yousef *et al.*, 2003). Vitamin E dan butylated hydroxytoluene (BHT) pada semen beku domba *st. croix* (Feradis, 1999).

Pada penelitian ini penambahan astaxanthin pada bahan pengencer dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Semakin tinggi dosis astaxanthin maka motilitas dan daya hidup semakin tinggi. Waktu penyimpanan spermatozoa juga berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup. Penurunan motilitas dan daya hidup sejalan dengan lamanya penyimpanan. Hal ini disebabkan karena penyimpanan dilakukan pada suhu dingin ( $3-5^{\circ}C$ ) dan pada suhu ini metabolisme spermatozoa masih tetap berlangsung, sehingga reaksi oksidasi juga akan tetap berlangsung. Konsentrasi astaxanthin  $0,004 \text{ }^w/v \%$  dalam penelitian ini memberikan motilitas dan daya hidup yang terbaik. Hal ini dikarenakan pemberian antioksidan yang tepat memberikan hasil yang maksimal untuk mencegah peroksidasi lemak dengan cara memutus atau mencegah reaksi rantai peroksidasi lipida pada membran plasma sel, sehingga mampu mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma selama proses pengenceran semen. Membran plasma yang utuh akan menyebabkan proses metabolisme dapat berjalan dengan baik, sehingga produksi energi berupa ATP tidak terganggu yang berakibat dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa (Rizal, 2005).

### SIMPULAN

Pemberian antioksidan astaxanthin pada pengenceran kuning telur fosfat memberikan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu  $3-5^{\circ}$  C. Pada penelitian ini konsentrasi  $0,004 \text{ } \mu\text{g}/\text{v}\%$  memberikan hasil terbaik. Lama penyimpanan berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa, semakin lama penyimpanan semakin rendah motilitas dan daya hidup spermatozoa.

### SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis maksimal astaxanthin yang ditambahkan kedalam bahan pengencer dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap daya fertilitas dan daya tetas telur.

### DAFTAR PUSTAKA

- 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
- Feradis. 1999. penggunaan antioksidan dalam penenceran semen beku dan metode sinkronisasi estrus pada program inseminasi buatan domba St. Croix. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Kurashige, M. 1990. *Inhibition of Oxidative Injury of Biological Membranes by Astaxanthin*, *Physiological Chemistry and Physics and Medical*. NMR, 22 (1):27-38.
- Naguib, Y.M.A. 2000. *Antioxidant Activities of Astaxanthin and Related Carotenoids*. Journal of Agricultural Chemicals, 48:1150-1154
- Rizal, Muhammad. 2005. Efektivitas Berbagai Konsentrasi  $\beta$ -karoten Terhadap Kualitas Semen Beku Domba Garut. Ambon : Fakultas Pertanian Universitas Pattimura Ambon.
- 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.
- Siswanto. 1989. Inseminasi Buatan Pada Unggas. Swadaya Peternakan Indonesia 50. Hal : 20-22
- 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.
- 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.