

Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Ayam Dalam Pengencer Glukosa Kuning Telur Fosfat pada Penyimpanan 3-5°C

(*MOTILITY AND VIABILITY SPERMATOZOA OF CHICKEN IN DILUENT GLUCOSE EGG YOLK PHOSPHAT IN STORAGE 3-5°C*)

Dyonesia Dimitri Maya Mayesta¹, I Gusti Ngurah Bagus Trilaksana¹, Wayan Bebas¹

¹Laboratorium Reproduksi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana.
Jl. P.B.Sudirman Denpasar Bali tlp, 0361-223791
Email : ddyonesia@gmail.com

ABSTRAK

Dalam penelitian ini ingin diketahui penambahan glukosa pada pengencer kuning telur fosfat dalam mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3- 5°C. Pada penelitian ini dilakukan penambahan glukosa pada bahan pengencer kuning telur fosfat dengan berbagai konsentrasi yaitu glukosa 0,3 w/v%, 0,6 w/v % dan 1,2 w/v %, serta kontrol yaitu tanpa penambahan glukosa. Pengujian statistik dengan menggunakan *General Linear Model (Multivariate)* menunjukkan bahwa penambahan glukosa secara nyata ($p < 0,05$) dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 3-5°C bila dibandingkan dengan kontrol. Uji lanjutan dengan menggunakan uji Duncan menunjukkan bahwa penambahan glukosa dengan konsentrasi 0,6 w/v % memberikan hasil yang terbaik terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 3-5°C. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan 0,6 w/v % glukosa di dalam pengencer kuning telur fosfat merupakan dosis optimum dalam mempertahankan kualitas semen cair ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5°C. Kesimpulan dari penelitian ini adalah glukosa dapat meningkatkan motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung.

Kata kunci: glukosa, spermatozoa, motilitas dan daya hidup, ayam kampung

PENDAHULUAN

Perkembangan ayam kampung di Indonesia cukup pesat dan telah banyak dipelihara oleh peternak-peternak maupun masyarakat umum sebagai usaha untuk pemanfaatan pekarangan, pemenuhan gizi keluarga serta meningkatkan pendapatan.

Dalam pengembangannya, ditemukan berbagai hambatan untuk meningkatkan produktivitas ayam kampung yang relatif rendah. Dalam pembudidayaan ayam kampung, permasalahan yang sering ditemui adalah penyediaan bibit ayam kampung unggul. Dalam pencarian calon bibit unggul, selain didasarkan dari tampilan luarnya, juga dapat dilakukan dengan konsep pemuliaan ternak, sehingga diperoleh bibit unggul, yang pada gilirannya dapat meningkatkan produktivitas ternak (Darwati, 2000).

Cara praktis yang sering dipergunakan untuk mencapai tujuan tersebut adalah dengan teknik inseminasi buatan atau lebih dikenal dengan sebutan IB yaitu dengan cara memindahkan semen pejantan yang sudah diencerkan dengan pengencer tertentu ke dalam saluran reproduksi betina yang sedang dalam masa produktif secara buatan. Teknik ini sangat ekonomis karena dapat dikerjakan sendiri sehingga lebih menghemat biaya. Semen pejantan yang sudah diencerkan tersebut bisa untuk membuahi lebih banyak betina (Anon, 2008).

Keberhasilan IB pada unggas dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kualitas semen yang digunakan, kebersihan semen yang di tampung dan keterampilan petugas inseminasi buatan. Diantara faktor tersebut yang memegang peran penting dalam menentukan fertilitas telur adalah kualitas semen (Isnaini, 2000). Kualitas semen yang baik untuk IB harus mempunyai nilai minimal 40% spermatozoa yang hidup (Partodihardjo, 1982).

Keberhasilan IB juga dipengaruhi oleh bahan pengencer yang digunakan untuk penyimpanan. Pengencer digunakan untuk meningkatkan volume semen dalam satu kali ejakulasi yang dapat digunakan untuk IB beberapa ekor betina. Pengencer juga dapat berfungsi sebagai penyimpanan untuk beberapa waktu dengan tujuan mempertahankan kualitas spermatozoa agar tetap baik (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994; Hafez, 2000).

Beberapa masalah dalam proses penyimpanan semen adalah pengaruh kejutan dingin (*cold shock*) terhadap sel. Penggunaan media pengencer semen yang optimal merupakan upaya untuk mengatasi masalah tersebut. Penambahan maltosa 1,2 g per 100 ml pengencer dalam pengencer semen cair Tris -kuning telur 20% menghasilkan kualitas semen domba Garut lebih baik dibandingkan kontrol (Herdis *et al.*, 2005). Pada penambahan laktosa sebanyak 0,6 g per 100 ml pengencer, Tris (0,6%) merupakan dosis terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa kambing PE yang diberi plasma semen domba

priangan, dan dapat mempertahankan persentase spermatozoa motil sebesar 40% hingga empat hari setelah dipreservasi pada suhu 3-5°C (Souhoka *et al.*, 2009).

Gula baik monosakarida, disakarida maupun polisakarida dapat berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang berperan dalam melindungi spermatozoa selama proses penyimpanan pada suhu dingin (Rizal *et al.*, 2003). Menurut Yildiz *et al.* (2000) fungsi gula dalam larutan pengencer adalah bertindak sebagai krioprotektan, mempertahankan tekanan osmosis larutan pengencer dan sebagai sumber energi bagi spermatozoa selama inkubasi pada proses pembuatan semen. Glukosa sebagai gula monosakarida diharapkan dapat mempertahankan kualitas spermatozoa yang diencerkan dalam pengencer kuning telur fosfat.

Melihat besarnya peranan pengencer terhadap kualitas semen selama penyimpanan, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui penambahan glukosa pada pengencer kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 3-5°C terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung.

METODE PENELITIAN

Pengencer kuning telur fosfat dibuat dengan cara melarutkan 1 tablet buffer fosfat kedalam 100 ml aquadestilata dan dilakukan pasteurisasi diatas kompor listrik selama 10 menit sambil diaduk agar homogen dan selanjutnya didinginkan. Untuk membuat kuning telur dilakukan dengan memecahkan telur dibagian tengah untuk mendapatkan kuning telur yang masih utuh dan terpisah dari putih telurkemudian kuning telur ditempatkan pada gelas beker dan dilakukan tusukan kuning telur agar pecah. Campurkan kuning telur kedalam larutan PBS dengan konsentrasi 20%, tambahkan antibiotik streptomycin kedalam bahan pengencer fosfat kuning telur untuk melindungi spermatozoa dari kontaminasi mikroorganisme (1000 µg/ml bahan pengencer).

Glukosa sebelum ditambahkan kedalam kuning telur fosfat, terlebih dahulu dilakukan penimbangan dengan menggunakan neraca analitik sesuai dengan rancangan. Konsentrasi glukosa 0,3 ^{w/v}% dibuat dengan cara menimbang 0,3 g glukosa lalu dilarutkan dalam 100 ml pengencer kuning telur fosfat. Konsentrasi glukosa 0,6 ^{w/v}% dibuat dengan menimbang 0,6 g glukosa lalu dilarutkan dalam 100 ml pengencer kuning telur fosfat, sedangkan untuk konsentrasi glukosa 1,2 ^{w/v}% dibuat dengan menimbang 1,2 g glukosa lalu dilarutkan dalam 100 ml pengencer kuning telur fosfat.

Penampungan semen ayam kampung dilakukan dengan metode pemijatan atau massage pada bagian punggung ayam. Penampungan sebaiknya dilakukan oleh 2 orang (Suprijatna *et al.*, 2005), satu orang memegang ayam dan lainnya melakukan pengurutan dan penampungan semen. Pada saat pengurutan, tangan membentuk sudut 45° dengan tulang punggung pejantan dan pengurutan dilakukan berulang kali sampai pejantan ereksi maksimal yang ditandai dengan naiknya bulu ekor dan keluarnya papillae dari kloaka. Semen yang keluar ditampung pada cawan petri dan dihindari dari kontaminasi oleh kotoran (Sastrodihardjo dan Resnawati, 1999).

Semen ejakulat dievaluasi untuk mengetahui karakteristiknya apakah layak atau tidak untuk digunakan dalam penelitian ini. Evaluasi semen dilakukan dengan 2 cara yaitu pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan semen secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH. Sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas dan persentase hidup atau mati (Hafez *and* Hafez, 2000).

Semen yang layak digunakan dalam penelitian ini harus memiliki volume > 0,5 ml / ekor, warna putih keruh, bau yang khas, konsistensi kental, gerakan massa +++++, konsentrasi semen > 1,5 M / ml, motilitas > 80%, daya hidup > 85% dan abnormalitas < 14%.

Pengenceran semen dilakukan dengan memasukkan semen kedalam bahan pengencer dengan konsentrasi sperma 150 juta/ml. Dalam penelitian ini semen yang telah diencerkan disimpan pada refrigerator dengan suhu 3-5°C untuk dilakukan pengamatan selanjutnya.

Pengamatan terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa dilakukan setiap 12 jam sekali. Pengamatan terhadap motilitas dilakukan dengan menghomogenkan semen terlebih dahulu lalu ditetaskan diatas *object glass* dan ditutup dengan *cover glass* selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop untuk melihat jumlah spermatozoa yang bergerak progresif. Ditentukan secara subjektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Angka yang diberikan antara 0-100% (Toelihere,1993). Sedangkan pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa dilakukan dengan pewarnaan eosin sitrat dengan cara semen diambil dan ditetes 1 tetes pada *object glass* kemudian ditetaskan pewarna eosin sitrat sebanyak 2 tetes selanjutnya dibuat preparat hapusan dan dianginkan sampai kering, kemudian preparat diperiksa dibawah mikroskop untuk menghitung jumlah spermatozoa masih hidup. Sebanyak minimal 200 spermatozoa diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali (Toelihere, 1993)

Data yang dikumpulkan berupa motilitas dan daya hidup spermatozoa yang dilakukan dengan interval waktu 12 jam dimulai saat penyimpanan sampai motilitas 40% dan daya hidup spermatozoa dibawah 45%.

Data yang diperoleh ditabulasikan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance(ANOVA)* selanjutnya dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan *General Linear Model (Multivariate)*. Bila terjadi perbedaan yang bermakna pada perlakuan maka dilakukan uji lanjutan menggunakan *Duncan*. Penghitungan statistik dilakukan dengan menggunakan *SPSS 16.0 for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian motilitas spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat dengan penambahan glukosa yang disimpan pada suhu 3-5°C dapat di lihat pada tabel 1.1 dibawah ini.

Tabel 1.1. Rata-rata ($\bar{x} \pm SD$) motilitas spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat dengan penambahan glukosa yang disimpan pada suhu 3-5°C

Waktu Pengamatan	Motilitas (%)			
	Kontrol	Glukosa	Glukosa	Glukosa
		0,3 w/v%	0,6 w/v%	1,2 w/v%
0 jam	87.00 ± 0.00	87.00 ± 0.00	87.00 ± 0.00	87.00 ± 0.00
12 jam	85.83 ± 0.75	85.50 ± 0.55	85.67 ± 0.52	85.67 ± 0.64
24 jam	83.00 ± 0.89	83.17 ± 0.75	84.67 ± 0.52	84.33 ± 0.52
36 jam	78.83 ± 0.98	80.67 ± 0.81	82.50 ± 0.55	82.33 ± 0.52
48 jam	74.00 ± 0.89	74.50 ± 1.05	75.83 ± 0.75	74.83 ± 0.98
60 jam	69.33 ± 1.21	71.33 ± 0.52	72.17 ± 0.75	71.83 ± 0.75
72 jam	59.33 ± 1.50	64.33 ± 0.82	65.17 ± 0.75	64.83 ± 0.75
84 jam	50.33 ± 0.52	57.33 ± 0.81	58.33 ± 0.57	57.33 ± 1.21
96 jam	38.67 ± 0.82	41.00 ± 1.09	46.83 ± 0.98	45.83 ± 0.75

Uji lanjutan dengan menggunakan *Duncan* menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa dengan perlakuan glukosa 0,6w/v % memberikan hasil terbaik untuk mempertahankan motilitas spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 3-5°C. (Tabel 1.2).

Tabel 1.2. Uji Duncan perlakuan penambahan glukosa terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung

Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
Kontrol	54	69.59			
Glukosa 0.3 w/v %	54		71.64		
Glukosa 1.2 w/v %	54			72.66	
Glukosa 0.6 w/v %	54				73.11

Penurunan motilitas spermatozoa ayam kampung terjadi seiring dengan lamanya waktu pengamatan (Tabel 1.3).

Tabel 1.3. Uji Duncan waktu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung

waktu	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
96 jam	24	43.04								
84 jam	24		55.83							
72 jam	24			63.41						
60 jam	24				71.16					
48 jam	24					74.79				
36 jam	24						81.08			
24 jam	24							83.79		
12 jam	24								85.66	
0 jam	24									87.00

Hasil penelitian daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat dengan penambahan glukosa yang disimpan pada suhu 3-5°C dapat di lihat pada tabel 1.4 dibawah ini.

Tabel 1.4. Rata-rata ($\bar{x} \pm SD$) daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat dengan penambahan glukosa yang disimpan pada suhu 3-5°C

Waktu Pengamatan	Daya Hidup (%)			
	Kontrol	Glukosa	Glukosa	Glukosa
		0,3 ^{w/v} %	0,6 ^{w/v} %	1,2 ^{w/v} %
0 jam	89.00 ± 0.00	89.00 ± 0.00	89.00 ± 0.00	89.00 ± 0.00
12 jam	88.50 ± 0.55	88.33 ± 0.52	88.50 ± 0.55	88.50 ± 0.55
24 jam	87.33 ± 0.52	87.33 ± 0.52	87.67 ± 0.52	87.33 ± 0.82
36 jam	84.17 ± 1.33	84.33 ± 0.52	84.67 ± 0.52	84.50 ± 0.55
48 jam	78.50 ± 1.38	79.67 ± 0.82	79.67 ± 0.52	79.00 ± 0.89
60 jam	70.83 ± 0.98	73.00 ± 1.09	74.17 ± 0.75	73.67 ± 0.52
72 jam	60.33 ± 0.52	67.33 ± 0.52	68.17 ± 0.75	68.50 ± 0.55
84 jam	53.00 ± 0.63	61.50 ± 0.55	64.50 ± 1.22	63.67 ± 0.52
96 jam	41.83 ± 2.40	46.67 ± 1.03	53.00 ± 0.89	51.83 ± 0.75

Uji lanjutan dengan menggunakan *Duncan* menunjukkan bahwa daya hidup spermatozoa dengan perlakuan glukosa 0,6^{w/v} % memberikan hasil terbaik untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu 3-5°C. (Tabel 1.5).

Tabel 1.5. Uji *Duncan* perlakuan penambahan glukosa terhadap daya hidup spermatozoa ayam kampung

Perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
Kontrol	54	72.61			
Glukosa 0.3 ^{w/v} %	54		75.24		
Glukosa 1.2 ^{w/v} %	54			76.22	
Glukosa 0.6 ^{w/v} %	54				76.59

Penurunan daya hidup spermatozoa ayam kampung terjadi seiring dengan lamanya waktu pengamatan (Tabel 1.6).

Tabel 1.6. Uji Duncan waktu pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa ayam kampung

waktu	N	Subset								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
96 jam	24	48.33								
84 jam	24		60.66							
72 jam	24			66.08						
60 jam	24				72.91					
48 jam	24					79.20				
36 jam	24						84.41			
24 jam	24							87.41		
12 jam	24								88.45	
0 jam	24									89.00

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan glukosa secara nyata ($p < 0,05$) dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung pada pengencer kuning telur fosfat yang disimpan pada suhu $3-5^{\circ}\text{C}$ bila dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan oleh pengaruh positif glukosa yang berperan sebagai senyawa krioprotektan ekstraseluler dalam mencegah terjadinya kejutan dingin.

Uji lanjutan dengan menggunakan uji Duncan menunjukkan bahwa penambahan $0,6^{\text{w}}/\text{v}$ % glukosa di dalam pengencer kuning telur fosfat merupakan dosis optimum dalam mempertahankan kualitas semen cair ayam kampung yang disimpan pada suhu $3-5^{\circ}\text{C}$. Hal ini sama dengan hasil penelitian Souhoka *et al.*, (2009) bahwa perlakuan 0,6% mampu mempertahankan persentase spermatozoa kambing peranakan Etawah motil hingga 40% selama empat hari. Pada konsentrasi glukosa $0,3^{\text{w}}/\text{v}$ % terjadi penurunan terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa, hal ini kemungkinan disebabkan karena senyawa krioprotektan ekstraseluler pada konsentrasi tersebut belum mencukupi untuk mencegah terjadinya kejutan dingin. Sedangkan pada konsentrasi glukosa $1,2^{\text{w}}/\text{v}$ % juga terjadi penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa, hal ini diduga karena penambahan senyawa krioprotektan ekstraseluler dalam jumlah banyak dapat mengakibatkan meningkatnya tekanan osmotik larutan pengencer dan kurang dapat diadaptasi dengan baik oleh spermatozoa sehingga berakibat buruk terhadap berlangsungnya proses metabolisme spermatozoa. Hal ini akan mengganggu berlangsungnya proses- proses biokimia secara normal di dalam sel, yang pada akhirnya akan menurunkan daya hidup spermatozoa itu sendiri selama penyimpanan. Fenomena ini mendukung hasil penelitian Rizal *et al.*, (2003) yang melaporkan bahwa

penambahan 120 mM laktosa di dalam pengencer Tris menghasilkan semen beku domba Garut dengan kualitas yang nyata lebih rendah dibandingkan dengan penambahan 60 mM.

Disamping glukosa sebagai krioprotektan ekstraseluler, glukosa juga dapat berfungsi sebagai sumber energi cadangan bagi spermatozoa. Dimana dalam proses penyimpanan pada suhu dingin (3-5°C), proses metabolisme spermatozoa akan tetap berlangsung meskipun terjadi penurunan metabolisme. Sehingga spermatozoa akan selalu membutuhkan energi untuk dapat bermetabolisme selama proses penyimpanan. Hal tersebut menyebabkan lama waktu penyimpanan berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Dalam penelitian ini diperoleh hasil bahwa waktu pengamatan memberikan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung. Semakin lama waktu penyimpanan akan menyebabkan terjadinya penurunan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Hal ini disebabkan karena motilitas dan daya hidup spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa *adenosin tri phosphat* (ATP) hasil metabolisme.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan glukosa pada pengencer fosfat kuning telur memberikan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 3-5°C dan penambahan glukosa dengan konsentrasi 0,6 % merupakan dosis optimum.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap fertilitas telur ayam kampung yang diinseminasikan dengan semen yang disimpan pada suhu 3-5°C dengan penambahan glukosa pada pengencer kuning telur fosfat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2008. Mengenal Lebih Dekat Beternak Tiktok. Balai Pembibitan Ternak Dan Hijauan Makanan Ternak Branggahan. Kediri.
- Darwati. 2000. Produktivitas Ayam Kampung, Pelung dan Resiprokalnya. Jurnal penelitian IPB.

- Yildiz, C, Kaya,A, Aksoy,M,Tekeli, T. 2000.Influence of Sugar Supplementation of the Extender on Motility, Viability and Acrosomal Integrity of Dog Spermatozoa During Freezing. *Theriogenology*: 54 - 579
- Hardijanto, S, Hardjopranto. 1994.Surabaya:Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. : 47 – 51.
- Herdis, Toelihere, MR, Toelihere, Supriatna, I, Purwantara,B, Adikara, RTS. 2005. Optimalisasi Kualitas Semen Cair Domba Garut (*Ovis aries*) melalui Penambahan Maltosa ke dalam Pengencer Semen Tris Kuning Telur. *MKH*. 21(2).
- Isnaini, N. 2000. Kualitas Semen Ayam Arab dalam Pengencer NaCl Fisiologis dan Ringer's pada Suhu Kamar. *Habitat* 11 : 113.
- Partodihardjo, S. 1982. Ilmu Reproduksi Hewan.Jakarta : Cetakan I. Mutiara.
- Rizal, M, Toelihere, MR, Yusuf, TL, Purwantara, B, Situmorang, P 2003. Kriopreservasi Semen Domba Garut dalam Pengencer Tris dengan Konsentrasi Laktosa yang berbeda. *Media Kedokteran Hewan*. 19 (2) : 79-83.
- Sastrodihardjo, MS, Resnawati,MS.1999. Inseminasi Buatan Ayam Buras. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Souhoka, DF, Matatula, MJ, Mesang-Nalley, WM, Rizal, M. 2009. Laktosa Mempertahankan Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah yang Dipreservasi dengan Plasma Semen Domba Priangan. *J Vet*. 10 (3) : 135-142
- Suprijatna, E., U. Atmomarsono dan R. Kartasudjana. 2005. Jakarta : Ilmu Dasar Tenak Unggas. Cetakan 1. Penebar Swadaya.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. CV Angkasa. Bandung.
- Hafez, E.S.E. 2000.Preservation and Cryopreservation of Gametes and Embryos. Di dalam: Hafez E.S.E, Hafez B (ed). *Reproduction in Farm Animals*. Ed ke-7. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins : 431- 442.