

Pengencer Kuning Telur Berbagai Jenis Unggas Mampu Mencegah Abnormalitas dan Kerusakan Membran Spermatozoa Ayam Pelung

(EGG YOLK DILUENT OF VARIOUS TYPES OF POULTRY CAPABLE OF REDUCING ABNORMALITIES AND DEMAGE TO SPERMATOZOA MEMBRANE OF PELUNG FOWL)

Dewa Ngakan Gede Surya Teja¹, Wayan Bebas², I Gusti Ngurah Bagus Trilakasana²

¹Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan,

²Laboratorium Reproduksi Veteriner,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl.P.B. Sudirman Denpasar Bali, Telp: 0361-223791

e-mail: suryateja796@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengencer kuning telur berbagai jenis unggas yang mampu mencegah abnormalitas dan kerusakan membran spermatozoa ayam pelung yang disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam. Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 8 kali sehingga jumlah sampel yang digunakan adalah 24 sampel. Perlakuan terdiri dari T1 (semen yang diencerkan dengan fosfat kuning telur bebek), T2 (semen yang diencerkan dengan fosfat kuning telur ayam ras), T3 (semen yang diencerkan dengan fosfat kuning telur puyuh). Variabel yang diamati adalah abnormalitas dan membran plasma utuh spermatozoa ayam pelung. Hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa semen yang diencerkan dengan ketiga jenis kuning berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap abnormalitas dan membran plasma utuh spermatozoa ayam pelung. Uji lanjutan menggunakan uji Duncan menunjukkan pengencer fosfat kuning telur bebek merupakan pengencer terbaik dalam mencegah abnormalitas dan kerusakan membran plasma spermatozoa ayam pelung yang disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam.

Kata kunci: Ayam pelung; abnormalitas; membran plasma spermatozoa; kuning telur

ABSTRACT

A study was conducted to determine the effect of egg yolk diluent of various types of poultry capable of reducing abnormalities and damage to spermatozoa membrane of pelung fowl kept at 4°C for 48 hours. This study used 3 treatments and each treatment was repeated as much as 8 times so that the number of samples used was 24 samples. The treatment consisted of T1 (semen diluted with duck egg yolk phosphate), T2 (semen diluted with egg yolk phosphate), T3 (semen diluted with quail egg yolk phosphate). The observed variables were abnormalities and intact plasma membranes of spermatozoa. Statistically that the semen diluted with three egg yolk phosphate diluents had significant effect ($P < 0,05$) on the abnormality and plasma membrane of pelung fowl spermatozoa. Further test using the Duncan test showed the duck egg yolk phosphate diluent was the best diluent in reducing abnormality and damage to plasma membrane of pelung fowl stored at 4°C for 48 hours.

Keywords: Pelung fowl; abnormality; plasma membrane spermatozoa; egg yolks

PENDAHULUAN

Ayam pelung adalah ras ayam lokal unggul dari daerah Cianjur, Jawa Barat. Bobot badan ayam pelung jantan dewasa dapat mencapai 4,002 kg, sedangkan ayam betina 2,904 kg (Iskandar dan Triana, 2007). Daryono *et al.* (2010) menyatakan bahwa ayam pelung memiliki postur tinggi besar, memiliki leher yang panjang dan kaki yang kokoh. Selain memiliki ukuran yang besar, ayam pelung juga dijuluki sebagai ayam penyanyi karena memiliki karakter suara yang bagus, berirama, dan sangat khas. Iskandar (2006), menambahkan bahwa seleksi pada ayam pelung yaitu sebagai ayam penyanyi dan proses seleksi pada ayam pelung dilakukan berdasarkan sifat-sifat khas yang ada pada ayam pelung, yaitu suara kokok yang merdu.

Upaya pengembangbiakan ternak ayam pada umumnya masih menggunakan cara konvensional, yaitu melalui perkawinan secara alam. Campur tangan oleh manusia dalam hal sistem perkawinan ini masih sangat minim sehingga efisiensi produksi sangat rendah dan memberikan peluang terjadinya *inbreeding* yang relatif tinggi.

Menurut Ridwan dan Rusdin (2008), untuk mengatasi kendala tersebut, salah satu alternatif yang dapat dilakukan dengan penerapan bioteknologi dalam bidang reproduksi ternak dengan melakukan konservasi semen dan penerapan teknologi inseminasi buatan (IB). Teknik IB memiliki beberapa tahapan pada prosesnya salah satu diantaranya evaluasi semen, yaitu pemeriksaan secara makroskopik dan mikroskopik. Pemeriksaan makroskopik meliputi pemeriksaan volume, bau, warna, konsistensi, dan pH sedangkan pemeriksaan mikroskopik meliputi pemeriksaan gerakan massa, konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa, spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa (Toelihere, 1993).

Pengencer digunakan untuk meningkatkan volume semen dalam satu kali ejakulasi yang dapat digunakan untuk IB beberapa ekor betina. Pengencer juga berfungsi sebagai penyimpanan untuk beberapa waktu dengan tujuan mempertahankan kualitas spermatozoa agar tetap baik (Hafez dan Hafez, 2013). Kuning telur dapat membantu sperma untuk menahan *cold shock* (Amirat *et al.*, 2004). Karena kuning telur memiliki kandungan fraksi *low density lipoprotein* (LDL) (Moussa *et al.*, 2002). LDL dapat berinteraksi secara spesifik dengan protein plasma semen dan kapasitas pengikatannya sangat tinggi (Manjunath dan Thérien, 2002).

Indonesia mempunyai sumber kuning telur yang berlimpah dari berbagai jenis unggas seperti puyuh, ayam ras, ayam kampung, bebek dan entok yang menarik untuk diteliti sebagai bahan dasar pengencer semen ayam pelung. Kuning telur dari berbagai jenis unggas ini

mengandung komponen dasar yang hampir sama, tetapi kandungan asam lemak dan fosfolipidnya yang berbeda. Kuning telur bebek mengandung lebih banyak *monounsaturated fatty acids* (MUPA) dibandingkan kuning telur ayam, dan puyuh. Kuning telur bebek mengandung lebih banyak *phosphotidylinositol* (PI) dibandingkan ayam dan puyuh (Bathgate *et al.*, 2006).

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 ekor ayam pelung, semen segar ayam pelung, eosin negrosinsitrat, PBS (phosfat buffer saline), NaCl 3%, Natrium sitrat, fruktosa, alkohol 70%, telur bebek, telur ayam ras, dan telur puyuh yang masih segar, streptomisin, dan penisilin. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, *object glass*, *cover glass*, cawan petri, *beker glass*, spuit tuberculin 1 cc, *tabung erlenmeyer*, gelas ukur, dan *haemocytometer thoma*, pipet pasteur, pH meter, kompor listrik, tabung reaksi, tabung eppendorf, gunting bedah, rak tabung reaksi, timbangan analitik, dan refrigerator.

Penelitian diawali dengan adaptasi hewan coba terhadap lingkungan dan operator (penampung semen) selama 2 minggu. Setelah itu mulai dilatih mengeluarkan semen dengan metode pemijatan, sekali sehari sampai memberikan respon yang ditandai dengan keluarnya semen (Toelihere, 1993). Cara *massages* pada dasarnya diawali dengan pengurutan pada bagian punggung ayam untuk merangsang birahi ayam pelung jantan. Pemijatan dilakukan berulang kali sampai ayam merespon rangsangan tersebut. Respon terhadap rangsangan ini dapat dilihat dari mukosa pada bagian kloaka yang menjadi lebih merah dan selalu membuka sehingga jelas adanya tonjolan organ *erected copulatory*.

Semen yang telah ditampung diletakkan dalam *waterbath* suhu 37°C dan pengencer dengan berbagai jenis kuning telur juga diletakkan dalam *waterbath* suhu 37°C, ini bertujuan untuk menyamakan suhu pengencer dengan suhu semen lalu setelah itu masukan semen ke dalam bahan pengencer.

Semen yang telah diencerkan lalu disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam. Selama penyimpanan setiap 12 jam dilakukan penghomogenan semen dengan penggoyangan secara perlahan bertujuan agar komponen pengencer dan spermatozoa tidak mengendap. Evaluasi semen dilakukan secara mikroskopis yaitu untuk mengetahui abnormalitas dan juga membran plasma utuh dari spermatozoa yang sudah diencerkan dan disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam. Persentase MPU spermatozoa dievaluasi dengan metode *hypoosmotic swelling* (HOS)

test (Zamfirescu *et al.*, 2001). Komposisi larutan hipoosmotik terdiri atas 0,9 g fruktosa + 0,49 g natrium sitrat yang dilarutkan dengan akuabidestilata hingga mencapai volume 100 ml (100 mOsm/Kg). Sebanyak 20 ml larutan hipoosmotik ditambahkan dengan 0,2 ml semen dan dicampur hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Preparat ulas tipis dibuat pada *object glass* kemudian evaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 400X terhadap minimum 200 spermatozoa. Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor lurus (Casper *et al.*, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan semen secara makroskopis dan mikroskopis diperoleh data sebagai berikut:

Tabel 1. Kualitas Semen Segar Ayam Pelung dari Dua Ekor Pejantan

| Kualitas Semen Ayam Pelung | |
|----------------------------|----------|
| Pemeriksaan Makroskopis | |
| Volume (ml) | 0,49 |
| Warna | Putih |
| pH | 7,4 |
| Bau | Spesifik |
| Konsistensi | Kental |
| Pemeriksaan Mikroskopis | |
| Gerakan Massa | +++ |
| Motilitas Progresif (%) | 88 P |
| Konsentrasi (10^6) | 3.575 |
| Sperma Hidup (%) | 94 |
| Abnormalitas (%) | 9 |
| Membran Plasma Utuh (%) | 90 |

Keterangan: +++ = Gerakan gelombang massa sangat baik

P = Gerakan individu sperma maju dan cepat

Hasil penelitian semen ayam pelung yang diencerkan dengan bahan pengencer kuning telur ayam ras, bebek dan puyuh terhadap tingkat abnormalitas dan membrane plasma utuh yang disimpang pada suhu 4°C selama 48 jam dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Abnormalitas dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Ayam Pelung yang Diencerkan dengan Bahan Pengencer Berbagai Jenis Kuning Telur

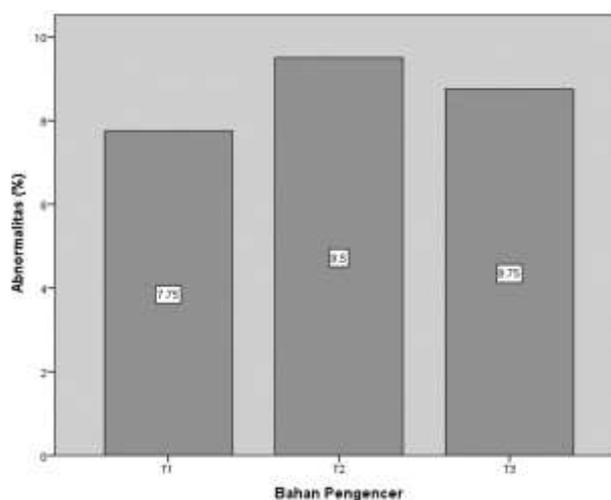
| Parameter | Perlakuan | | |
|-------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | T1 | T2 | T3 |
| Abnormalitas (%) | 7,75 ± 0,463 ^a | 9,50 ± 0,926 ^b | 8,75 ± 0,886 ^b |
| Membran Plasma Utuh (%) | 75,75 ± 0,707 ^a | 69,50 ± 0,926 ^b | 72,38 ± 1,188 ^c |

Keterangan:

Nilai dengan huruf yang berbeda kearah baris menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$)

Nilai dengan huruf yang sama kearah baris menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

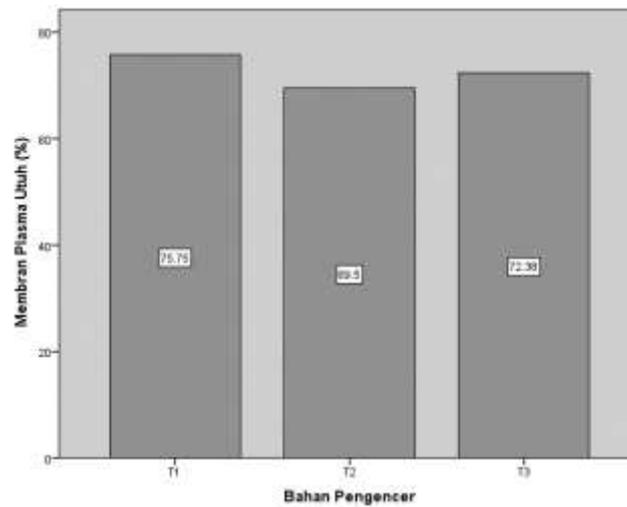
Pengujian lebih lanjut dengan menggunakan uji *Duncan* terhadap abnormalitas spermatozoa ayam pelung menunjukkan bahwa pengencer yang menggunakan fosfat kuning telur bebek berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan bahan pengencer fosfat kuning telur puyuh dan kuning telur ayam ras. Sedangkan semen yang diencerkan dengan fosfat kuning telur puyuh tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan pengencer fosfat kuning telur ayam ras. Grafik mengenai abnormalitas spermatozoa ayam pelung pada ketiga fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 1. Grafik Abnormalitas Spermatozoa Ayam Pelung yang Diencerkan dengan Tiga Jenis Kuning Telur

Pengujian lebih lanjut dengan menggunakan uji *Duncan* terhadap membran plasma utuh spermatozoa ayam pelung menunjukkan bahwa semen yang diencerkan dengan fosfat kuning telur ayam ras berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan semen yang diencerkan dengan fosfat

kuning telur puyuh dan semen yang diencerkan dengan fosfat kuning telur puyuh berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan pengencer fosfat kuning telur bebek. Grafik membran plasma utuh spermatozoa ayam pelung pada pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 2. Grafik Membran Plasma Utuh Spermatozoa Ayam Pelung yang Diencerkan dengan Tiga Jenis Kuning Telur

Soeparna *et al.*, (2005) menyatakan bahwa volume ejakulat dari seekor ayam pelung jantan yaitu 0,48 ml/ejakulat maka dari itu hasil yang didapatkan sesuai dengan rata-rata volume ejakulat dari ayam pelung. Garner dan Hafez (1993), melaporkan bahwa ayam memiliki volume ejakulat rata-rata 0,2-0,5 ml. Menurut Toelihere (1993), kualitas semen yang layak digunakan dalam percobaan harus memenuhi persyaratan yaitu gerakan massa ++ atau +++, motilitas lebih dari 70% dan spermatozoa normal lebih besar dari 85%. Soeparna *et al.*, (2005), menambahkan bahwa semen ayam pelung berwarna putih dan konsistensi kental, memiliki nilai motilitas sperma yaitu 78,52%. Oleh karena itu semen yang telah dievaluasi dapat dikatakan layak untuk diproses lebih lanjut.

Menurut USDA (2007), jika dibandingkan nilai gizi per 100 gram antara telur bebek, burung puyuh, dan ayam ternyata telur bebek mempunyai nilai gizi yang lebih baik sedangkan telur burung puyuh lebih baik jika dibandingkan dengan telur ayam. Telur bebek mempunyai kandungan lemak dan kolesterol yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan telur burung puyuh dan telur ayam, dan telur burung puyuh kandungan kolesterol dan lemaknya lebih tinggi dari telur ayam.

Berbagai jenis fosfat kuning telur unggas yang digunakan sebagai bahan pengencer yaitu fosfat kuning telur bebek, ayam ras dan puyuh menunjukkan bahwa pengencer fosfat kuning telur bebek nyata lebih baik mencegah spermatozoa dari abnormalitas dibandingkan dengan pengencer fosfat kuning telur ayam ras dan fosfat kuning telur puyuh. Kuning telur mengandung fraksi *low density lipoprotein* (LDL) yang bertanggung jawab untuk perlindungan terhadap *cold shock* (Moussa *et al.*, 2002). Efek kejutan dingin dapat dikurangi dengan memberikan substansi di lingkungan sekitar spermatozoa selama proses pendinginan yang bisa melindungi spermatozoa, yaitu lipoprotein dan lesitin. Materi yang mengandung komposisi tersebut adalah kuning telur (Toelihere, 1993). Hal ini berarti LDL yang terkandung di dalam telur bebek lebih tinggi dibandingkan dengan telur ayam ras dan puyuh.

Membran plasma utuh (MPU) spermatozoa ayam pelung pada pengencer fosfat kuning telur bebek lebih baik dibandingkan dengan pengencer fosfat kuning telur ayam ras dan puyuh ini sesuai dengan pernyataan Arifianti *et al.*, (1999) bila spermatozoa terpapar pada medium hipoosmotik, maka air akan mengalir ke dalam spermatozoa sampai tercapai keseimbangan osmotik antara larutan di dalam dan di luar spermatozoa sehingga spermatozoa bengkak. Kebengkakan ini berupa pembengkakan yang mudah dilihat. Peristiwa osmosis pada spermatozoa ini dapat terjadi karena membran plasmanya bersifat semipermeabel dan berfungsi normal. Jadi, spermatozoa yang terpapar pada medium hipoosmotik dan memperlihatkan pembengkakan ekor adalah spermatozoa yang normal. Casper *et al.*, (1995) menambahkan HOS Test dikembangkan untuk melihat kemampuan membran spermatozoa sebagai sarana transport. Sperma dalam larutan hipoosmotik, apabila membran berfungsi dengan baik maka akan terjadi pembengkakan pada membran plasma dan pembengkakan ekor. Hal ini disebabkan karena peranan *low density lipoprotein* (LDL) yang mampu melindungi spermatozoa.

Menurut Toelihere (1993), kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang bekerja mempertahankan dan melindungi selubung protein dari spermatozoa. Jika lipoprotein dan lesitin sudah menyelubungi membran spermatozoa maka membran akan menyerap air dalam lingkungan yang bersifat hipotonis, namun sebaliknya jika lipoprotein dan lesitin tidak secara sempurna menyelubungi membran spermatozoa maka membran tidak akan mampu mempertahankan air yang terdapat di dalam sel spermatozoa sehingga spermatozoa menjadi mati.

Hasil penelitian didapatkan bahwa pengencer fosfat kuning telur bebek merupakan pengencer terbaik yang dapat digunakan untuk mempertahankan abnormalitas dan membran

plasma utuh spermatozoa ayam pelung yang disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Bebas dan Gorda (2016) bahwa pengencer fosfat kuning telur bebek memberikan hasil yang nyata lebih baik terhadap motilitas progresif/MP, abnormal spermatozoa/AS, daya hidup/DH, dan membran plasma utuh/MPU jika dibandingkan dengan pengencer fosfat kuning telur puyuh dan ayam kampung pada semen babi.

SIMPULAN

Pengencer fosfat kuning telur bebek merupakan pengencer terbaik yang dapat mencegah terjadinya abnormalitas dan mempertahankan membran plasma spermatozoa ayam pelung yang disimpan pada suhu 4°C selama 48 jam.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap semen unggas yang sudah diencerkan dengan fosfat kuning telur bebek, ayam ras dan puyuh terhadap fertilitas spermatozoa pada saat dilakukan inseminasi buatan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen yang telah membimbing dan semua pihak yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirat L, Tainturier D, Jeanneau L, Thorin C, Gérard O, Courtens JL, Anton M. 2004. Bull Semen *in Vitro* Fertility after Cryopreservation Using Egg Yolk LDL: A Comparison with Optidyl, a Commercial Egg Yolk Extender. *Theriogenology* 61(5): 895-907.
- Arifianti RI, Purwantara B, Putra WW. 1999. Pengujian Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Semen Cair Domba Menggunakan Larutan Hipoosmotik. In: Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian Bidang Ilmu Hayat. Bogor, Indonesia, 16 Sept 1999. Pp 290-299.
- Bathgate R, Maxwell WMC, Evans G. 2006. Studies on the Effect of Supplementing Boar Semen Cryopreservation Media with Different Avian Egg Yolk Types on *in Vitro* Post-Thaw Sperm Quality. *Reproduction in Domestic Animal* 41(1): 68-73.
- Bebas W, Gorda W. 2016. Penambahan Astaxanthin pada Pengencer Kuning Telur Berbagai Jenis Unggas Dapat Memproteksi Semen Babi Selama Penyimpanan. *Jurnal Veteriner* 17(4): 484-491.

- Casper RF, Meriano JS, Jarvi KA, Cowan L, Lucato ML. 1996. The Hypo-osmotic Swelling Test for Selection of Viable Sperm for Intracytoplasmic Sperm Injection in Men with Complete Asthenozoospermia. *Fertility and Sterility* 64(5): 972-976.
- Daryono BS, Roosdianto I, Saragih HTS. 2010. Pewarisan Karakter Fenotip Ayam Hasil Persilangan Ayam Pelung dengan Ayam Cemani. *Jurnal Veteriner* 11(4): 257-263.
- Garner DL, Hafez ESE. 1993. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In Hafez ESE. (7th ed) *Reproduction in Farm Animals*. Philadelphia: Lea & Febiger. Pp. 165-187.
- Hafez ESE, Hafez B. 2013. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. United States: Wiley-Blackwell.
- Iskandar S. 2006. Strategi Pengembangan Ayam Lokal. *Wartazoa* 16(4): 190-197.
- Iskandar S, Triana S. 2007. Karakter dan Manfaat Ayam Pelung di Indonesia. *Wartazoa* 17(3): 128-136.
- Manjunath P, Thérien I. 2002. Role of Seminal Plasma Phospholipid-Binding Proteins in Sperm Membrane Lipid Modification that Occurs During Capacitation. *Journal of Reproductive Immunology* 53(1-2): 109-119.
- Moussa M, Marinnet V, Trimeche A, Tainturier D, Anton M. 2002. Low Density Lipoproteins Extracted from Hen Egg Yolk by an Easy Method: Cryoprotective Effect on Frozen-Thawed Bull Semen. *Theriogenology* 57(6): 1695-1706.
- Ridwan R, Rusdin. 2008. Konservasi Semen Ayam Buras Menggunakan Berbagai Pengencer Terhadap Fertilitas dan Periode Fertil dan Spermatozoa Pasca Inseminasi Buatan. *Jurnal Agroland* 15(1): 63-67.
- Soeparna, Hidajat K, Lestari TD. 2005. Penampilan Reproduksi Tiga Jenis Ayam Lokal. In: *Prosiding Lokakarya Nasional Inovasi Teknologi Pengembangan Ayam Lokal*. Jatinangor, Indonesia. Pp 105-113.
- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Bandung: CV Angkasa.
- United States Departement of Agriculture (USDA). 2007. *Nutrient Database for Standard Reference*. RI.
- Zamfirescu S, Ciupina V, Nadolu D. 2001. Utilizarea Testului Hipoosmotic Pentru Evaluarea Integritatii Functionale a Membrane Spermatozoizilor de Berbec Dupa Congelare-decongela. *Bul. SNBC*, 29: 248.