

Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Burung Puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) dalam Pengencer Fosfat Kuning Telur pada Suhu 4°C

(*MOTILITY AND VIABILITY SPERMATOZOA JAPANESE QUAIL (COTURNIX COTURNIX JAPONICA) ON EGG YOLK- PHOSPHATE DILUENT AT TEMPERATURE 4°C*)

Arista Novi Sandra¹, Wayan Bebas², I Gusti Ngurah Bagus Trilaksana²

1. Mahasiswa Pendidikan Profesi Dokter Hewan
2. Laboratorium Reproduksi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman, Denpasar Bali; Telp/Fax: (0361) 223791
Email aristasandra1109005026@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama waktu penyimpanan semen burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) dalam pengencer fosfat kuning telur pada suhu 4°C sampai motilitas $\geq 40\%$ dan viabilitas $\geq 45\%$. Penelitian ini menggunakan 30 ekor burung puyuh jantan sehat, umur kurang lebih 6 minggu sebagai sumber semen lalu diencerkan dengan pengencer fosfat kuning telur dengan konsentrasi 50 juta sel per mililiter pengencer. Semen yang telah diencerkan disimpan pada suhu 4°C lalu dilakukan pengamatan setiap 4 jam untuk mengetahui motilitas progresif dan viabilitas spermatozoa. Data yang diperoleh ditabulasikan selanjutnya dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian diperoleh persentase motilitas spermatozoa burung puyuh dalam pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C selama 32 jam sebesar $41,8 \pm 3,56$. Persentase daya hidup spermatozoa dalam pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C selama 32 jam sebesar $57 \pm 3,56$.

Kata kunci: Spermatozoa burung puyuh, motilitas, viabilitas, fosfat kuning telur

ABSTRACT

This research aims to determine the time of quail cement (*Coturnix coturnix japonica*) in phosphate diluent of egg yolk at 4°C until $\geq 40\%$ of motility and $\geq 45\%$ of viability. It used 30 healthy male quail, aged of approximately 6 weeks as the source of cement and then it was diluted using phosphate of egg yolk with the concentration of 50 million cells per milliliter diluent. The cement which had been diluted was then stored at 4°C and observed every 4 hours to determine the progressive motility and viability of the spermatozoa. The data were then descriptively analyzed and tabulated. The results confirmed the percentage of spermatozoa motility of quail in phosphate diluent of the egg yolk as stored at 4°C for 32 hours was 41.8 ± 3.56 . Whereas the percentage of spermatozoa vitality in phosphate diluent of the egg yolk stored at 4°C for 32 hours was 57 ± 3.56 .

Keywords: Spermatozoa of quail, motility, viability, phosphate of egg yolk

PENDAHULUAN

Di Indonesia perkembangan budidaya burung puyuh sudah semakin pesat. Baik sebagai usaha komersil maupun usaha sampingan. Jumlah populasi puyuh pada tahun 2010 diperkirakan mencapai 25 juta ekor, dengan pemelihara terbanyak terdapat di Provinsi Jawa Tengah (60.4%), Jawa Timur (23,1%) dan di wilayah Sumatera Barat (11,7%) (Ditjennak, 2010). Dalam upaya meningkatkan produktivitas ternak, secara berkesinambungan dilakukan seleksi untuk mendapatkan ternak yang mempunyai produktivitas yang tinggi. Salah satu cara untuk meningkatkan produktivitas ternak adalah dengan menerapkan teknologi reproduksi seperti inseminasi buatan (IB).

Dalam menunjang penerapan teknologi IB kualitas semen yang baik harus tetap tersedia secara berkesinambungan. Untuk itu perlu dilakukan pengenceran semen dengan bahan pengencer yang sederhana, mudah dibuat tetapi menjamin kualitas semen selama penyimpanan. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kualitas semen antara lain kadar pengencer, sifat-sifat fisik dan kimia bahan pengencer (pH, tekanan osmosis, elektrolit yang terkandung), cahaya, suhu, dan lama penyimpanan (Toelihere, 1985).

Penggunaan bahan pengencer fosfat kuning telur untuk keperluan IB jangka panjang selama penyimpanan berfungsi sebagai sumber energi bagi *spermatozoa*, sebagai agen pelindung terjadinya kejutan dingin (*cold shock*), sebagai penyangga (*buffer*) bila terjadinya perubahan pH, untuk mempertahankan tekanan osmotik, memperbanyak volume, keseimbangan elektrolit, dan mencegah pertumbuhan kuman dan bakteri. Pengenceran semen adalah upaya untuk memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai batas waktu penyimpanan tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau di atas titik beku (Situmorang, 2002).

Penggunaan pengencer fosfat kuning telur untuk pengencer berbagai semen unggas telah banyak digunakan seperti untuk mengencer semen ayam kampung (Mayedesta *et al.*, 2014), ayam hutan hijau (Bebas dan Laksmi, 2015), Djanuar (1985) menyatakan kualitas spermatozoa akan mempengaruhi fertilitas. Dalam usaha untuk mempertahankan daya fertilitas yang optimal dilakukanlah penyimpanan semen pada suhu 4°C dengan maksud menghambat aktivitas metabolisme baik secara fisik dan kimia dalam kecepatan yang rendah. Menurut Saili *et al.*, (2009) pada metode pendinginan digunakan zat krioprotektan yang berfungsi melindungi spermatozoa dari pengaruh dingin yang berlebihan. Parks dan Graham (1992) melaporkan bahwa kejutan dingin atau *cold shock* dapat menyebabkan kerusakan pada fosfolipid membran spermatozoa sedangkan menurut Rizal *et al.*, (2008) metabolisme dapat

berlangsung dengan baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh, sehingga mampu mengatur lalu lintas masuk dan keluar dari sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Sastrodihardjo dan Resnawati (1999) menyatakan bahwa semen layak digunakan untuk teknik IB bila memenuhi syarat persentase viabilitas 45% dan motilitas individu diatas 40 %. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu penyimpanan semen burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) dalam pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C sampai motilitas $\geq 40\%$ dan viabilitas $\geq 45\%$.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 30 ekor burung puyuh umur 6 minggu sebagai sumber semen. Selama penelitian burung puyuh diberi pakan komersial (Japfa Comfeed Indonesia) dengan pemberian air secara *ad libitum*. Penampungan semen dilakukan dengan metode *massage* seperti yang telah digambarkan oleh Toelihere (1993). Semen hasil penampungan dari setiap individu dijadikan satu dalam *fool* semen lalu dilakukan evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, bau, dan kekentalan, sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi gerakan massa, gerakan individu, konsentrasi, daya hidup dan abnormalitas (Toelihere, 1993).

Pengenceran semen dilakukan menggunakan pengencer fosfat kuning telur dengan konsentrasi kuning telur 20%. Pengenceran semen dilakukan dengan konsentrasi spermatozoa 50 juta sel per ml pengencer. Semen yang telah diencerkan kemudian dibagi menjadi 5 bagian masing masing dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* sebagai ulangan. Semen kemudian disimpan pada suhu 4°C dan dilakukan pengamatan terhadap motilitas progresif dan viabilitasnya setiap 4 jam. Pemeriksaan motilitas progresif dilakukan dengan menaksir sperma yang bergerak maju dalam satu lapang pandang dalam satuan prosen, dilakukan pada tiga lapang pandang. Pemeriksaan viabilitas dilakukan dengan pengecatan eosin negrosin sitrat. Sperma yang mati akan menyerap warna dan terwarnai merah, sedangkan yang masih hidup akan kelihatan transparan (Toelihere, 1993). Pengamatan akan dihentikan apabila motiulitas progresif mencapai $\geq 40\%$ dan viabilitas mencapai $\geq 45\%$. Data hasil pengamatan dilakukan tabulasi dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari evaluasi terhadap semen segar burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) secara makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil evaluasi semen segar secara makroskopis dan mikroskopis

Pemeriksaan	Variabel	Hasil
Makroskopis :	Volume	0,56 ml/pool
	Rataan Volume per ekor	0,018 ml
	Warna	Krem
	pH	7,06
	Konsistensi	Kental
	Bau	Khas
Mikroskopis :	Gerakan Massa	++
	Motilitas Progresif	86,6 %
	Konsentrasi	55×10^7
	Abnormalitas	7,4 %
	Daya Hidup	92,2 %

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa rata-rata volume semen puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) adalah 0,018 ml. Volume yang diperoleh beberapa peneliti juga memiliki nilai yang hampir sama dengan volume tersebut. 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 adalah $\pm 0,02$ ml. Menurut Everet dan Bean (1982) perbedaan volume dapat disebabkan oleh frekuensi ejakulasi, bangsa ternak, umur, musim, nutrisi, libido dan kondisi ternak itu sendiri.

Warna, konsistensi dan konsentrasi memiliki hubungan yang erat satu sama lain. Semakin kental semen yang dihasilkan maka konsentrasi akan semakin tinggi dan warnanya akan semakin pekat (Sujoko *et al.*, 2009). Warna semen hasil evaluasi adalah krem dengan konsistensi kental dan konsentrasi 55×10^7 /ml. Lesmono (2015) melaporkan bahwa semen puyuh memiliki konsentrasi $\pm 57,2 \times 10^7$ dengan konsistensi kental, warna krem dan bau yang khas.

Derajat keasaman plasma semen sangat menentukan status kehidupan spermatozoa di dalam semen. Semakin tinggi atau semakin rendah pH semen akan menyebabkan spermatozoa lebih cepat mengalami kematian (Sujoko *et al.*, 2009). Hasil pengukuran pH puyuh pada penelitian ini adalah 7,06. Menurut Toelihere (1993) semen unggas memiliki pH antara 7,0-7,6.

Dari tabel 4.1 juga dapat dilihat bahwa semen puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) memiliki gerakan massa ++, motilitas progresif 86,6 %, abnormalitas 7,4% dan daya hidupnya 92,2 %. Menurut Evans dan Maxwell (1987) 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%. Oleh karena itu semen yang telah dievaluasi dapat dikatakan layak untuk diproses lebih lanjut.

Rata-rata dan standar durasi motilitas dan viabilitas spermatozoa burung puyuh yang (*Coturnix coturnix japonica*) dalam pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Rata-rata ($\bar{X} \pm SD$) motilitas dan viabilitas spermatozoa burung puyuh yang disimpan pada suhu 4°C

Pengamatan	Motilitas	Viabilitas
0 jam	86,6 ± 1,34	92,2 ± 2,68
4 jam	83,6 ± 1,81	91,4 ± 2,50
8 jam	80,8 ± 2,58	89,6 ± 1,51
12 jam	70,8 ± 5,71	87,2 ± 1,30
24 jam	56,6 ± 4,82	56,6 ± 4,82
28 jam	48,2 ± 5,63	48,2 ± 5,63
32 jam	41,8 ± 3,56	41,8 ± 3,56

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa seiring bertambahnya waktu maka terjadi penurunan terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa burung puyuh dalam pengencer fosfat kuning telur pada suhu 4°C. 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 dan anaerob. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian pada penyimpanan semen ayam kampung (Indrawati *et al.*, 2013; Mayedesta *et al.*, 2014), pada kalkun (Atmaja *et al.*, 2014), dan pada ayam hutan hijau (Bebas dan Laksmi, 2015) semakin lama penyimpanan mengakibatkan semakin menurunnya motilitas progresif dan daya hidup.

Yulnawati dan Setiadi (2005) menjelaskan bahwa spermatozoa yang mati dan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup sehingga secara umum kualitasnya menjadi menurun. Keberadaan zat yang bersifat toksik baik yang berasal dari spermatozoa yang telah mati maupun yang berasal dari zat yang terkandung dari pengencer yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat menyebabkan tingginya kadar radikal bebas yang dapat merusak keutuhan membran plasma spermatozoa (Bebas *et al.*, 2016).

Purwanti (2006) menyatakan bahwa daya hidup spermatozoa di luar tubuh sangat rendah dan mudah sekali mengalami kematian. Pada suhu rendah akan menurunkan

metabolisme spermatozoa. Selanjutnya menurut Hammerstedt (1993) perubahan sangat nyata pada spermatozoa selama penyimpanan dalam bentuk semen cair yaitu penurunan secara bertahap dari motilitas dan integritas morfologi spermatozoa. Menurut Sexton dan Giesen (1982) jika metabolisme spermatozoa menghasilkan asam laktat, maka angka keasaman merupakan salah satu faktor yang dapat menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Menurut Hammerstedt (1993) selain meningkatkan produksi asam laktat pada saat penyimpanan, radikal bebas merupakan hasil proses transport elektron dari mitokondria yang dapat menyebabkan peroksidasi lemak sehingga mematikan spermatozoa. Radikal bebas memiliki daya rusak yang tinggi terhadap asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen utama dalam pembentukan fosfolipid membran plasma spermatozoa, jika membran plasma rusak maka akan berlanjut pada internal sel sehingga dapat menurunkan daya hidup dan motilitas. Membran plasma yang rusak akan menyebabkan terganggunya metabolisme sehingga produksi ATP sebagai sumber energi berkurang. Motilitas (daya gerak) spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme. Metabolisme akan berlangsung dengan baik apabila membran plasma sel berada dalam keadaan utuh, sehingga mampu mengatur lalu lintas keluar masuk sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme (Bebas *et al.*, 2016). Soler *et al.*, (2003) menambahkan bahwa keutuhan membran plasma sangat diperlukan oleh spermatozoa, karena kerusakan membran plasma akan berpengaruh terhadap proses metabolisme dan berhubungan dengan motilitas serta daya hidup spermatozoa yang dihasilkan.

Berdasarkan persentase motilitas spermatozoa burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) dalam pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C tersebut, semen burung puyuh dapat digunakan untuk IB dalam waktu tidak lebih dari 32 jam setelah penampungan yaitu $41,8 \pm 3,56$. Hal ini sesuai dengan pendapat Sastrodihardjo dan Resnawati (1999) yang menyatakan bahwa semen layak digunakan untuk teknik IB bila memenuhi syarat persentase viabilitas dan motilitas individu di atas 40 %.

Menurut data persentase daya hidup spermatozoa burung puyuh dalam pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 4°C bisa digunakan untuk inseminasi buatan, waktu tidak lebih dari 32 jam setelah penampungan, yaitu $57 \pm 3,56$. Hal ini sesuai dengan pendapat Sastrodihardjo dan Resnawati (1999) yang menyatakan bahwa semen yang layak digunakan untuk teknik inseminasi buatan bila memenuhi syarat persentase di atas 45%. Persentase viabilitas spermatozoa yang menurun seiring dengan bertambahnya lama simpan tersebut, dipengaruhi oleh jumlah nutrisi spermatozoa dalam pengencer ikut mengalami penurunan.

Berkurangnya jumlah nutrisi spermatozoa disebabkan oleh penggunaan energi untuk aktivitas mekanik (gerak) dan kimiawi (biosintesis).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penyimpanan spermatozoa burung puyuh selama 32 jam dengan pengencer fosfat kuning telur pada suhu 4°C dapat mempertahankan motilitas $\geq 40\%$ dan viabilitas $\geq 45\%$.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui fertilitas dan daya tetas telur puyuh yang diinseminasikan dengan semen yang disimpan pada suhu 4°C selama 32 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Kepala Laboratorium Reproduksi Veteriner FKH Unud yang telah memberikan fasilitas pemakaian Laboratorium serta berbagai pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu serta memberi dukungan atas terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Atmaja WK, Budiasa MK, Bebas W. 2014. Penambahan fruktosa mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang disimpan pada suhu 4°C. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3(4): 318-327.
- Bebas W, Laksmi DNDI. 2015. Viabilitas spermatozoa ayam hutan hijau dalam pengencer fosfat kuning telur ditambah laktosa pada penyimpanan 5°C. *Jurnal Veteriner*. 16(1): 62-67.
- 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°Celsius Storage. *Bali Medical Journal*. 4(1): 152-156,
- Chelmonska BA, Jerysz E, Lukaszewich, Malecki I. 2008. Semen Collection From Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Using a Teaser Female. *Journal of Veterinary Animal Science*. 32(1):19-24.
- Ditjennak. 2010. *Statistik Peternakan Tahun 2010*. Direktorat Jendral Peternakan. Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Djanuar R. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Gajah Mada University.
- Evans G, Maxwell WMC. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of sheep and Goats*. Butterworths. London.
- Everet RW, Bean B. 1982. Environmental Influence on Semen Output. *J Dairy Sci*. 65:1303-1310.

- Hammerstedt RH. 1993. Maintenance of Bioenergetic Balance in Sperm and Prevention of Lipid Peroxidation: A Review of The Effect on Storage Preservation System. *J. Reprod. Fertil. Dev.* 5:675-690.
- Indrawati D, Bebas W, Kota Budiassa M. 2013. Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Ayam Kampung dengan Penambahan Astaxanthin. *Indonesia Medicus Veterinus.* 2(4): 445-452.
- Lesmono DYAL. 2015. Karakteristik Semen Burung Puyuh. (Skripsi). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana.
- Mayedesta DDM, Trilaksana I, Bebas W. 2014. Motilitas dan Daya Hidup Sperma Ayam dalam Pengencer Glukosa Kuning Telur Fosfat pada Penyimpanan 3-5°C. *Indonesia Medicus Veterinus.* 3(1): 318-327.
- Parks JE, Graham JK. 1992. Effect of Cryopreservation Procedure on Sperm Membranes. *Theriogenology.* 38:209-222.
- Purwanti S. 2006. Pengaruh Penggunaan Berbagai Macam Pengencer terhadap Motilitas, pH dan Daya Hidup Spermatozoa Selama Proses Pembuatan Semen Beku Ayam Kampung. (Skripsi). Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rizal M, Herdis M, Surachman, Malley WM. 2008. Pengaruh Plasma Semen Domba Periangian Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawah yang di Simpan Pada Suhu 3-5°C. *Jurnal Ternak dan Veteriner.* 13:23-29.
- Saili TRR, Noor MA, Setiadi SA, Priyono, Boediono A. 2009. Perubahan Viabilitas dan Struktur Subseluler Spermatozoa Domba Setelah Pengereng Bekuan. *Jurnal Veteriner.* 10(4):213:218.
- Sastrodihardjo S, Resnawati H. 1999. *Inseminasi Buatan pada Ayam Buras*. Penerbit Panebar Swadaya, Jakarta. Hal. 21-35.
- Sexton TJ, Giesen EF. 1982. Beltsville poultry semen extenderholdingturkey semen for six hours at 15°C. *J. Poultry Sci.* 61 :1202-1208
- Situmorang P. 2002. Pengaruh jenis dan aras krioproktektan terhadap daya hidup spermatozoa entog. *JITV.* 7: 244-250
- Soler A, Guzman MDP, Garde JJ. 2003. Storage of Red Deer Epididymides for Four Day Sat 5°C: Effects on Sperm Motility, Viability, and Morphology Integrity. *J. Exp. Zool.* 295A: 188-199.
- Sujoko H, Setiadi MA, Boediono. 2009. Seleksi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Jurnal Veteriner.* 10(3):125-132.
- Toelihere MR. (1985). *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Toelihere MR. (1993). *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. CV Angkasa. Bandung.
- Yulnawati, Setiadi MA. 2005. Motilitas dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Epididimis Kucing Selama Penyimpanan Pada Suhu 4°C. <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/MKH-21-3-23.pdf>.