

Motilitas Spermatozoa Babi pada Pengencer Kuning Telur Ayam Kampung dengan Penambahan Glukosa yang Disimpan pada Suhu Preservasi

(Motility and Viability of Pig Spermatozoa in Chicken Egg Yolk Diluent with Addition of Glucose Stored at Preservation Temperature)

Wilhelmina Afra Bala¹, Nancy D. F. K. Foeh^{2*}, Cynthia Dewi Gaina²

¹Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana

²Bagian, Reproduksi, Patologi, dan Nutrisi, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana

*Korespondensi Email : nancyfoeh@staf.undana.ac.id

ABSTRACT

Liquid semen is one way of preserving semen which is carried out for short storage purposes at a temperature of preservation. with the help of a diluent. boar semen is different from other ruminant semen, so it needs special handling. Storage of pig semen at cold temperatures can reduce the motility and viability of spermatozoa. The aim of this study was to maintain the quality of pig semen by adding coconut water and native chicken egg yolk diluent with the addition of glucose and stored at a temperature preservation. Boar semen was collected from sexually mature adult boar aged 2 years, the collection was carried out by the massage method. Semen that has been accommodated, is evaluated macroscopically and microscopically to see the quality of the cement, before dilution is carried out. This study was designed with a completely randomized design and factorial pattern with 2 control groups, 4 treatment groups, and 4 replications. The control group consisted of fresh semen without diluent. K0 The treatment groups were P1 (80CW + 20% NCEY + 20 L glucose), P2 (80% CW + 20% NCEY + 40 L glucose), P3 (80% CW + 20% NCEY + 60 L glucose) and P4 (80 % CW + 20% NCEY + 90 L glucose), which was preserved by the water jacket method. Spermatozoa motility and viability were evaluated every 2 hours until the motility value reached 40%. The results showed that P3 was the best combination to preserve cement (32 hours).

Keywords : coconut water; glucose; motility; native chicken egg yolk

PENDAHULUAN

Babi adalah salah satu jenis hewan yang telah dipelihara dan dikembangkan sejak dahulu untuk tujuan memenuhi kebutuhan daging dan protein bagi masyarakat. Peningkatan produksi

ternak babi dan mutu genetik dapat dilaksanakan dengan mengoptimalkan efisiensi reproduksinya, salah satunya melalui metode inseminasi buatan (IB). Teknik IB yang umum

dilakukan adalah dengan semen cair atau semen beku (Pamungkas *et al.*, 2008).

Karakteristik semen babi memiliki perbedaan dengan semen ruminansia, karena spermatozoa semen babi mempunyai komposisi membran plasma yaitu *phosphatidylethanolamine* dan *sphingo-myelin* mencapai 24% dan 14%, sehingga mudah mengalami kejutan dingin (*cold shock*) saat proses preservasi (Paulenz *et al.*, 2002).

Setiap bahan pengencer mempunyai kemampuan yang berbeda dalam mempertahankan semen dengan formulasi yang berbeda-beda. Salah satu bahan dasar pengencer yang mempunyai potensi untuk digunakan adalah kuning telur dan air kelapa. Kuning telur digunakan sebagai bahan pengencer karena kandungan fraksi low-density lipoprotein nya (LDL) (Moussa, *et al.*, 2002).

Kuning telur dapat membantu sperma untuk menahan *cold shock*. Air kelapa sebagai bahan pengencer alami mudah di

dapatkan dan mengandung beberapa karbohidrat sederhana, mineral dan zat-zat lain dalam pengencer yang diperlukan oleh spermatozoa. Selain kuning telur dan air kelapa bahan pengencer yang dapat mempertahankan kualitas semen babi adalah glukosa. Glukosa merupakan salah satu gula sederhana yang biasanya terdapat dalam bahan pengencer (Susilawati, 2017).

Glukosa dapat berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler yang berperan dalam melindungi spermatozoa selama proses penyimpanan pada suhu dingin (Rizal *et al.*, 2006). Penyimpanan semen dalam jangka waktu yang lama dapat menurunkan kualitas semen, sehingga penggunaan pengencer diharapkan dapat mempertahankan kualitas semen. Mencermati permasalahan diatas maka, peneliti melakukan penelitian dengan judul "Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Babi pada Pengencer Kuning Telur Ayam Kampung dengan Penambahan Glukosa yang disimpan pada Suhu Preservasi".

MATERI DAN METODE

Prosedur Koleksi dan Evaluasi Semen

Semen segar babi dikoleksi dari perternakan babi di Desa Oesao, Kecamatan Kupang Timur, Kabupaten Kupang. Dengan menggunakan metode pemijatan (*massage*) dengan bantuan *dummy*

sow, pada pejantan babi Landrace (berumur ± 2 tahun), Semen yang ditampung adalah fraksi kedua yang telah disaring fraksi gel seme. Semen babi yang telah ditampung, kemudian segera dievaluasi pada

Laboratorium Reproduksi, Evaluasi semen meliputi evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Proses evaluasi meliputi pemeriksaan secara makroskopik (volume, warna, bau, konsistensi, dan pH) dan pemeriksaan secara mikroskopik (motilitas spermatozoa, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi spermatozoa).

Persiapan Bahan Pengencer

Persiapan bahan pengencer alami, telur ayam kampung yang segar dan baru ditelurkan dibersihkan cangkangnya menggunakan alkohol 70%. Kuning telur dilakukan penggelindingan di atas kertas saring steril pada setiap permukaan kuning telur. Setelah semua putih telur terisap lalu tusuk selaput kuning telurnya dan tampung kuning telur dalam gelas ukur.

Kuning telur yang ditampung pada gelas ukur kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memperkecil molekul-molekul yang terdapat di dalam kuning telur, sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Dilakukan pengukuran Volume air kelapa yang akan ditambahkan kedalam kuning telur ayam kampung, volume air kelapa yang digunakan sebesar 80 mL dan volume kuning telur sebesar 20 mL. persiapan bahan pengencer dilanjutkan dengan menimbang dosis glukosa sebanyak 20 μ L gram, gram, 0,006 gram, dan 0,18 gram,

kemudian dilarutkan kedalam 100 air kelapa dan ditambahkan kedalam masing masing tabung reaksi yang telah disiapkan. Penambahan antibiotic juga dilakukan, antibiotik yang digunakan adalah streptomycin 1.000 IU/ml dan penicillin 1 mg yang diambil menggunakan mikropipet sebesar 10 μ , yang ditambahkan kedalam setiap perlakuan dosis glukosa yang ada. Antibiotik berguna untuk menghindari kontaminasi bakteri pada saat penyimpanan semen.

Prosedur Perlakuan

Perlakuan Penelitian merupakan kombinasi dari dosis glukosa dan bahan pengencer alami. Bahan pengencer alami terdiri dari kuning telur ayam kampung (KT) yang dikombinasikan dengan air kelapa (AK). Pengencer yang telah dibuat, kemudian kedalamnya ditambahkan dosis glukosa yang berbeda sesuai dengan perlakuan, dan antibiotik penilisin dan streptomocin. Perlakuan dalam penelitian disimpan dengan metode *water jacket* pada suhu preservasi (suhu *refrigerator*). Penelitian yang dilakukan menggunakan 1 kelompok perlakuan pengencer sperma yaitu kuning telur ayam kampung, air kelapa dan menggunakan 4 faktor konsentrasi dari glukosa dengan banyaknya ulangan yang dilakukan adalah 4 kali pengulangan.

Tabel 1. Pemberian perlakuan

Perlakuan	Ejakulat	Konstentrasi Pengencer			Water Jacket
		Air kelapa	Kuning Telur	Glukosa	
K0		-	-	-	✓
K1		80%	20%	0	✓
P1	Semen	80%	20%	20 μ L	✓
P2		80%	20%	30 μ L	✓
P3		80%	20%	60 μ L	✓
P4		80%	20%	90 μ L	✓

Analisis Data

Hasil evaluasi makroskopis dan mikroskopis semen segar kemudian dianalisis secara deskriptif. Data evaluasi semen cair dianalisis menggunakan *Analysis of*

Variance (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan nyata ($p < 0.05$) pada perlakuan, maka akan dilakukan uji lanjutan dengan uji Duncan untuk membandingkan hasil terhadap tiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Pedoman evaluasi kualitas semen berdasar pada persatuan *theriology minimal* dari karakteristik kualitas semen yang dilihat melalui klasifikasi pada evaluasi semen, baik dilihat secara makroskopis maupun mikroskopis (Susilawati, 2017). Pada penelitian yang dilakukan rata-rata volume semen babi adalah $213,75 \pm 18,9$ (kisaran volume semen 150-250 mL). Pengamatan secara langsung, warna semen segar yang dilihat pada penelitian ini adalah putih-keruh, memiliki bau yaitu bau khas semen dan konsistensi semen yang encer. Foeh *et al.*, (2022) pada hasil pengamatan semen segar babi Landrace memiliki hasil yang sama, dimana warna semen adalah putih-keruh dengan hasil pengamatan

konsistensi semen adalah encer. Nilai pH pada penelitian menunjukkan hasil rata-rata $7,2 \pm 0,12$ dengan kisaran pH 7.0-7.6.

Evaluasi mikroskopis adalah uji kualitas semen yang menggunakan mikroskop. Uji mikroskopis ini terdiri dari, uji motilitas progresif, konsentrasi spermatozoa, viabilitas spermatozoa, dan evaluasi morfologi atau abnormalitas spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan Neubauer Chamber dengan melakukan perhitungan pada 5 kotak kamar hitung yang diamati pada mikroskop. Pada penelitian ini diperoleh konsentrasi $235,555 \pm 7,24 \times 10^6$ (sel/mL), motilitas $77,38 \pm 1,31\%$, perhitungan presentase hidup dan mati

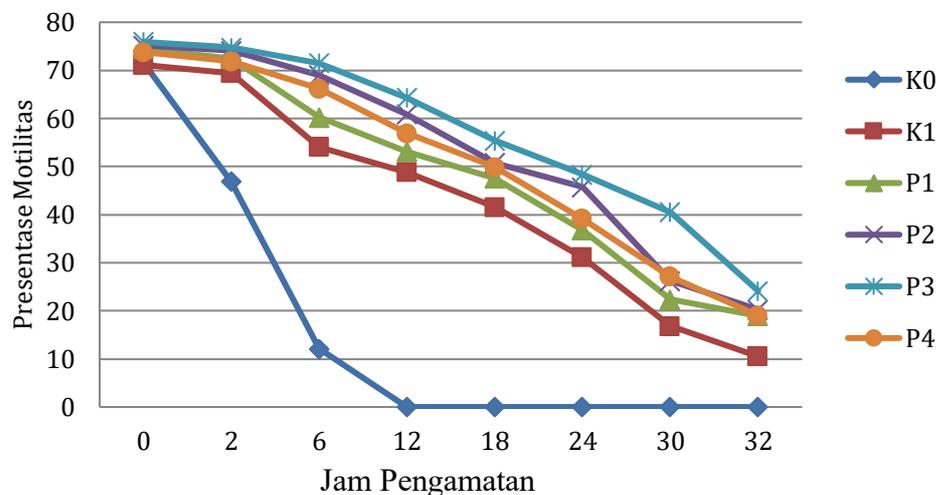
spermatozoa (viabilitas) memiliki presentase $83,955 \pm 1,14\%$, spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna karena membran dari sel spermatozoa masih berfungsi, sedangkan spermatozoa yang mati dapat menyerap warna karena membran sel spermatozoa tidak berfungsi. Hasil evaluasi diperoleh presentase abnormalitas sebesar $9,53 \pm 0,75\%$.

Evaluasi Semen Cair

Motilitas spermatozoa pasca pengenceran

Motilitas atau daya gerak spermatozoa secara progresif dapat digunakan sebagai salah satu

standar untuk melihat, apakah spermatozoa memiliki ukuran kesanggupan untuk dapat melewati saluran reproduksi betina dan dapat membuahi sel telur pada saat kawin. Evaluasi semen juga penting untuk mengamati fungsi dari kelenjar asesoris dalam menghasilkan seminal plasma. Penilaian kualitas spermatozoa akan dilakukan hingga motilitas dari spermatozoa mencapai 40%. Hasil penelitian yang ditunjukkan pada grafik dibawah ini, bahwa proses penyimpanan mempengaruhi penurunan viabilitas spermatozoa pada semen cair babi.



Gambar 1. Grafik Penurunan Motilitas Spermatozoa (%)

Perlakuan P3 memiliki hasil rata rata motilitas yang paling baik dari perlakuan lainnya. Data pada grafik (Gambar 1) juga menunjukkan bahwa pada tiap konsentrasi perlakuan, memiliki hasil yang berbeda pada setiap perlakuannya,

dimana kelompok perlakuan P3 pada grafik menunjukkan hasil yang paling baik. Perbedaan hasil pada setiap perlakuan bergantung pada dosis glukosa yang diberikan.

Kombinasi dosis glukosa yang berbeda pada setiap

perlakuan memiliki pengaruh terhadap rataan motilitas yang didapat selama pengujian. Dosis glukosa 60 μ L (P3), merupakan dosis glukosa optimum yang mempertahankan kualitas spermatozoa dalam penyimpanan dalam waktu yang lama. Hasil pengujian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Mayesta et al., (2014) yang menyatakan 0,6w/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.

Penurunan motilitas disebabkan oleh kejutan dingin (*cold shock*) yang dialami oleh spermatozoa sebagai akibat dari rusaknya membran plasma dari spermatozoa. Kerusakan pada membran plasma diakibatkan oleh perubahan struktur dan fungsi dari organel pada spermatozoa, perubahan struktur organel berkaitan dengan perubahan fosfolipid penyusun membran plasma dari bentuk cair menjadi gel (Ortiz et al., 2021).

Pada penelitian lainnya mengatakan penyimpanan semen

dalam waktu lama mengakibatkan penimbunan asam laktat yang menyebabkan pH semen menurun dan menciptakan kondisi asam bagi spermatozoa yang dapat mempercepat penurunan motilitas serta viabilitas spermatozoa (Sumardani et al., 2008; Mata Hine et al., 2014). Glukosa yang ditambahkan pada penelitian ini, berfungsi sebagai cadangan energi untuk spermatozoa, yang dimana energi bagi spermatozoa juga didapatkan pada air kelapa yang ditambahkan kedalam kuning telur ayam kampung. Glukosa dan fruktosa yang berupa monosakarida ($C_6H_{12}O_6$) akan lebih mudah diolah dalam sel spermatozoa menjadi energi, pada saat metabolisme spermatozoa pada suhu preservasi (Mukminat et al., 2014).

Motilitas spermatozoa pada waktu penyimpanan 24 jam

Penilaian hasil penelitian menggunakan analisis data ANOVA pada 24 jam penyimpanan semen cair, berdasarkan uji lanjutan pada penelitian yaitu Uji Duncan pada (Tabel 2).

Tabel 2. Motilitas spermatozoa penyimpanan 24 jam

Perlakuan	Rataan Motilitas (%)
K0 (Semen)	12,31 ^a
K1 (AK80%+KT20%)	50,92 ^b
P1 (AK80%+KT20%+20 μ L)	54,54 ^b
P2 (AK80%+KT20%+30 μ L)	57,46 ^{bc}
P3 (AK80%+KT20%+60 μ L)	63,46 ^c
P4 (AK80%+KT20%+90 μ L)	58,85 ^b

Kelompok perlakuan P3 dengan dosis glukosa 60 μ L memiliki presentase motilitas spermatozoa yang tinggi, dibandingkan pada perlakuan P1, P2 dan P4. Hasil Pengujian menunjukkan bahwa P3 (63,46 \pm 2,69%) memberikan hasil data yang lebih baik dengan perbedaan yang nyata terlihat pada hasil pengujian, dibanding kelompok perlakuan lainnya. Pengujian pada kelompok perlakuan P1 (54,54 \pm 3,37%), P2 (57,46 \pm 3,45%) dan P4 (58,85 \pm 3,12%).

Kelompok perlakuan P2 dan P4 memiliki hasil pengujian yang tidak berebeda secara signifikan. Kelompok perlakuan P1 memiliki rata-rata motilitas yang lebih

rendah jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada data pengujian kelompok control yaitu K0 dan K1, K0 hanya mampu mempertahankan kualitas motilitas spermatozoa hingga jam ke-6 dan K1 mempertahankan kualitas motilitas spermatozoa hingga jam ke-18. Pengujian lanjutan yang tertera pada (Tabel 2) memperlihatkan perbedaan ($p < 0.005$) dimana K0 memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, K1 memiliki perbedaan yang nyata dengan P2, dan P3. Data hasil pengujian P2 dan P3 tidak memiliki perbedaan yang nyata, sedangkan P2 dan P3 berbeda nyata dengan perlakuan P4.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan mengenai motilitas dan daya hidup spermatozoa babi diperoleh kesimpulan sebagai berikut kombinasi pengencer P3 (80% air kelapa +20% kuning telur ayam kampung + 60 μ L Glukosa) merupakan kelompok perlakuan

terbaik dan mampu mempertahankan kualitas motilitas dan viabilitas spermatozoa babi. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut terhadap pemberian sumber karbohidrat lainnya ke dalam jenis pengencer berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Foeh, Nancy, Cynthia Gaina, dan Tarsisius Tophianong. (2022). Kualitas Semen Segar dan Semen Cair Babi Landrace Asal Naioni Kabupaten Kupang dengan Sistem Pemeliharaan Intensif. *Jurnal Kajian Veteriner* 10(1): 61:66.
- Garner, D. L. And Hafez, E. S. E. (2000). Spermatozoa And Seminal Plasma. In: Hafez E. S. E. Editor. *Reproduction In Farm Animals* 7th. Ed. USA: Williams & Wilkins.
- Mayesta, D. D. M., Trilaksana, I. N. B., & Bebas, W. (2014). Motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam

- dalam pengencer glukosa kuning telur fosfat pada penyimpanan 3-5°C. *Indonesia medicus Veterinus* 3(1): 43-52.
- Moussa, M., Martinet, 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.
- Mukminat, A., & Suharyati, S. (2014). Pengaruh Penambahan Berbagai Sumber Karbohidrat pada Pengencer Skim Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 2(2).
- Pamungkas, F. A., Mahmilia, F., & Elieser, S. (2008). Perbandingan karakteristik semen kambing Boer dengan Kacang. Pros. In Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor. Pp: 11-12.
- Paulenz, H., Söderquist, L., Pérez-Pé, R., & Berg, K. A. (2002). Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology* 57(2): 823-836.
- Rizal, M. (2006). Pengaruh penambahan laktosa di dalam pengencer tris terhadap kualitas semen Cair domba Garut. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 31(1): 224-231.
- Sumardani, N. L. G., Budaarsa, K., Putri, T. I., & Puger, A. W. (2019). Umur Memengaruhi volume semen dan motilitas spermatozoa babi landrace di Balai Inseminasi Buatan Baturiti, Tabanan, Bali. *Jurnal Veteriner* 20(3): 324-329.
- Susilawati, T. (2017). *Spermatology Volume 2*. Malang: Universitas Brawijaya Press.