

Motilitas Spermatozoa Ayam (*Galus varius*) Pada Penyimpanan Dingin Dengan Pengencer Tris, Cytrate, Kuning Telur, Filtrat Jambu Biji (*Psidium guajava*) Dan Buah Tin (*Fikus karika rob*)

Motility Local Rooster Spermatozoa (*Galus varius*) Chilled Using Tris, Cytrate, Egg Yolk Extender With Addition Of Filtrat Guava (*Psidium guajava*) And Tin Fruit (*Fikus karika rob*)

AS Dradjat, Lukman HY, Sumadiasya IWL

Program Study of Animal Production, Faculty of Animal Husbandry, Mataram University.
Jl Majapahit Mataram NTB. E mail: adji.dradjat@yahoo.com

ABSTRACT

The objectives of this study were to evaluate rooster semen preserved using Tris Citrate Egg Yolk-Citrate (TEYC) extender with the addition of Tin fruit and guava filtrate. Semen was collected by using plastic collector placed on cloaca, by using hen as a teaser when rooster mated hen consequently semen would remain in the plastic collector. Fresh semen was evaluated by evaluating volume, smell, color and spermatozoa concentration. Then semen was split into 7 fractions as treatment 1, 2 and 3 were extended 10 times using TEYC with 20%, 25% and 30% egg yolk. Then treatment 4 and 5 were extended using TEYC contain 20% egg yolk with 5 % and 10% guava filtrate. Treatments 6 and 7, were extended using TECY contain 20% egg yolk with Tin fruit filtrate of 5 and 10%. Then preserved and progressive motility was evaluated at 0, 12, 24 and 36 hours following chilling under 4°C. Results showed that ejaculate volume was 0.38 ± 0.14 ml, specific smell, milky white color with concentrations of $511.00 \pm 90.07 \times 10^7$ sperms/ml. The results of progressive motility evaluation of 0, 12, 24 and 36 hours following chilling treatments 1 to 7 were not significantly different ($P > 0,05$). Percentage motility of chilling 0 hours and 36 hours of treatments 1 to 7, were from $86.50 \pm 4.72\%$ to $48.83 \pm 5.15\%$, from $83.83 \pm 7.41\%$ to $47.83 \pm 7.44\%$, from $88.67 \pm 1.86\%$ to $49.33 \pm 9.35\%$, from $83.00 \pm 4.69\%$ to $43.50 \pm 7.77\%$, from $82.67 \pm 6.06\%$, to $46.33 \pm 5.75\%$, from $83.83 \pm 7.41\%$ to $47.83 \pm 7.44\%$, from $88.67 \pm 1.86\%$ to $49.33 \pm 9.35\%$ respectively and the average decreasing progressive motility up to 36 hours was $37.74 \pm 1.64\%$. Finally, it can be concluded that addition egg yolk, guava, and Tin fruit filtrate do not influence the progressive motility of local rooster spermatozoa.

Key words: Extender, motility, rooster, spermatozoa.

PENDAHULUAN

Ayam lokal Lombok adalah percampuran berbagai jenis ayam sehingga variasi genetiknya sangat tinggi. Ayam ini secara turun temurun telah menyesuaikan

diri dengan kondisi lokal yaitu cara pemeliharaan dilepas, mencari makan, sebagai backyard farming, dipelihara secara tradisional dan sambilan dan biaya pemeliharaan juga rendah. Ayam lokal ini mempunyai rasa yang spesifik dan mempunyai penggemar tradisional untuk bahan masakan ayam Taliwang.

Belakangan kebutuhan ayam lokal ini tidak dapat dipenuhi, sehingga pengusaha restoran masakan ayam Taliwang menggunakan ayam petelur jantan, walaupun penggemar konvensional ayam Taliwang masih fanatik dengan rasa daging ayam lokal. Untuk memenuhi keaslian masakan ayam Taliwang diperlukan pengembangan ayam lokal dan pengembangan teknologi, khususnya teknologi perkembang biakan untuk memperbanyak ayam kampung secara cepat. Pengembangan teknologi untuk memperbanyak ayam menggunakan inseminasi buatan bibit ayam lokal jantan yang telah terseleksi untuk inseminasi ayam betina, untuk mengembangkan ayam lokal yang cepat tumbuh dan dengan rasa daging yang spesifik.

Hingga sekarang masalah dalam menyimpan spermatozoa beku semen ayam adalah motilitas dan kesuburan spermatozoa rendah. Penurunan motilitas dan fertilitas spermatozoa ayam beku disebabkan karena gliserol menurunkan motilitas dan kesuburan spermatozoa (Bacon *et al*, 1986; Westfall and Howarth, 1977). Sifat toksik gliserol menurunkan daya hidup spermatozoa (Delee *et al*, 1991) dan menurunkan motilitas spermatozoa. Dilaporkan bahwa motilitas *frozen thawed* spermatozoa ayam hanya sekitar 18,9%. (Gliozzy *et al*, 2011). Oleh karena itu penyimpanan spermatozoa untuk keperluan Inseminasi buatan dilakukan dengan penyimpanan dingin semen cair dengan temperatur 4°C.

Untuk itu diperlukan uji bahan pengencer untuk keberhasilan menyimpan semen cair, diperlukan bahan pengencer

yang memenuhi syarat yaitu 1. sebagai media, 2. Sumber energy, 3. Penahan pH, 4. Tekanan osmose yang isotonis. Media utama untuk spermatozoa ayam adalah telur ayam, tetapi masih dibutuhkan sumber energy, penahan perubahan pH, dan tekanan osmose yang isotonis bisa digunakan standart pengencer yang telah digunakan pada ternak yang lain yaitu Tris Cytrate Kuning Telur (TCKT) (Evans, 1989). Anti oksidan filtrat buah tin sudah digunakan dan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa kambing dan filtrate jambu biji dapat meningkatkan motilitas spermatozoa sapi (Zainury *et al*, 2017).

Dari uraian di atas maka dilakukan penelitian semen ayam lokal lombok berupa pengambilan penilaian, pengenceran, penyimpanan dengan media utama Tris Cytrat Kuning Telur (TCKT) dengan tambahan antioksidan filtrat jambu biji dan filtrat buah Tin.

MATERI DAN METODE

Ayam lokal jantan dewasa dan betina masing2 sebanyak 3 ekor digunakan dalam penelitian ini. Ayam dipelihara pada kandang individu, masing masing diberi makan dan minum setiap hari dengan pakan komersial yang dicampur dengan dedak dan jagung giling.

Pembuatan pengencer spermatozoa.

Pengencer Tris Citrate Kuning Telur, standart pengencer untuk spermatozoa domba (Evans 1989) digunakan sebagai pengencer dasar.

Tabel 1. Pengencer Tris Cytrate Kuning Telur(TCKT) (Evans, 1989) untuk penyimpanan beku spermatozoa ayam

No	Bahan (Satuan)	Volume
1	Tris (hydroxymethyl) amino methane (gr)	4,361
2	Glucose (gr)	0,600
3	Citric acid (monohydrate) (gr)	2,388
4	Kuning telur (ml)	20
6	Penicilin (IU)	100,000
7	Streptomycin (mg)	100
8	Air destilasi (ml)	Hingga 100 ml

Pembuatan filtrat buah Tin dan jambu Biji.

Buah Tin (*Fikus karika rob*) dan jambu biji (*Guava*) di ekstrasi dengan cara sebagai berikut. Buah Tin atau jambu biji di blender hingga halus, kemudian ditambahkan aquabides 2 bagian atau volume 1banding 2. dan di sentrifuse selama 5 menit. Selanjutnya bagian atas dilakukan filtrasi dengan 0,42 µm milipore, berikutnya diulang dengan milipore 0,2 µm. Setelah itu dilakukan Pasteurilisasi pada temperature 60°C selama 3 menit.

Pengencer perlakuan 1. Tris, citrate, kuning telur (TCKT) yang biasa digunakan pada domba dengan kuning telur 20%. Pengencer perlakuan 2, TCKT dengan kadar kuning telur 25%. Pengencer perlakuan 3, TCKT dengan kadar kuning telur 30% (Gambar 1). Pengencer perlakuan 4, TCKT 20% kuning telur dengan penambahan filtrat buah Tin 5%. Pengencer perlakuan 5, TCKT 20% kuning telur dengan penambahan filtrat buah tin 10 %. Pengencer perlakuan 6, TCKT 20% kuning telur dengan penambahan filtrate jambu biji 5% dan Pengencer perlakuan 7, TCKT 20% kuning telur dengan penambahan filtrate jambu biji 10%.

Pengambilan semen ayam.

Merancang alat penampung spermatozoa ayam yaitu menggunakan tutup filter milipore diberi tali karet yang lentur

diikatkan pada ayam jantan dan plastic tutup milipore tersebut menutupi cloaca ayam jantan. Ayam jantan dilatih untuk mengawini betina dengan dipasang cawan plastic untuk penampung semen setiap pagi, saat ayam jantan tersebut dapat mengawini betina pemancing. Pada saat mengawini betina maka semen ayam jantan dapat terkumpul di alat penampung.

Pemeriksaan kualitas spermatozoa

Kualitas semen ayam yang didapatkan diperiksa untuk dievaluasi terhadap volume (ml), motilitas (%) gerak gelombang. Volume (ml), diukur menggunakan spuit berukuran 1 ml dengan menghisap semen ke dalam spuit sehingga volume dapat terbaca pada spuit tersebut. Gerak gelombang dihitung dibawah mikroskop persentase spermatozoa yang hidup da bergerak. Warna putih susu, susu encer, Volume diukur(ml), Kepadatan hemocytometer

Preservasi dan pemeriksaan spermatozoa

Spermatozoa setelah dievaluasi, berikutnya dua ejakulat dari dua ayam jantan di jadikan satu dan di bagi menjadi 7 tabung. Masing masing diberi pengencer sesuai perlakuan 1 hingga 7. Penyimpanan spemen yang telah diencerkan pada temperatur 4°C, dan motilitas spermatozoa devaluasi setiap 12 jam.

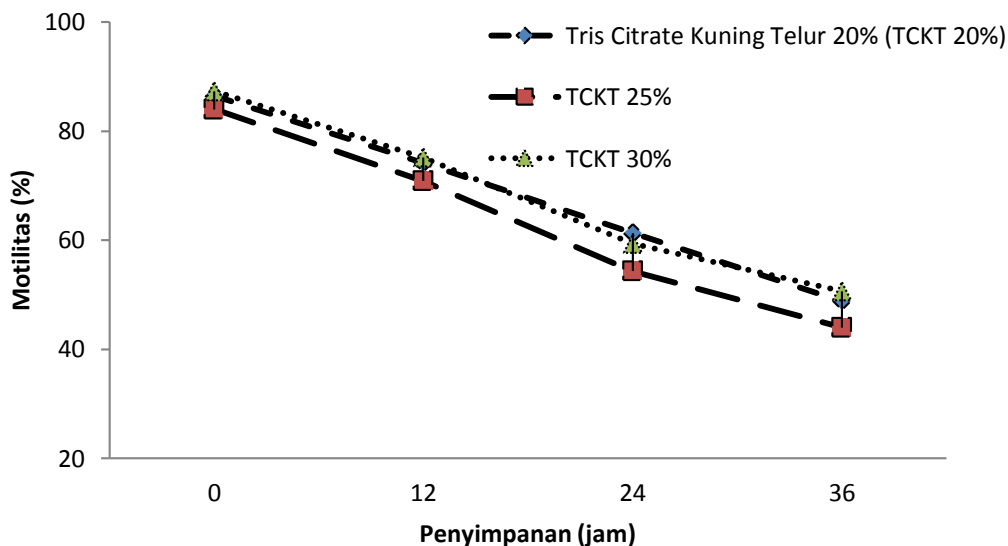
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini seperti yang terlihat pada Tabel 1. menunjukkan volume, bau, warnadan kepadatan (concentration) spermatozoa yang normal. Hasil evaluasi pengambilan semen ayam Volume ($X \pm SD$) 0.38 ± 0.14 ml, bau spesifik, warna putih susu, Konsentrasi sperma/ ml ($X \pm SD$) $511.00 \pm 90.07 \times 10^7$ / ml.

Penyimpanan dalam bentuk cair dan beku spermatozoa ayam telah dilaporkan sejak th 86 (Larry *et al*, 1986), tetapi hingga sekarang kesuburan hasil penyimpanan beku motilitas dan viabilitas spermatozoa berkurang lebih dari 50% (Lemoine *etal*, 2011). Penyimpanan spermatozoa ayam pada penelitian ini menggunakan penyimpanan dingin (4°C), Pada penyimpanan dalam bentuk cair motilitas dan viabilitas hanya turun 10-15% dan pada

penyimpanan dingin 65% atau 2 per 3 spermatozoa mengalami respons reaksi akrosoma (Lemoine *etal*, 2011). Reaksi akrosoma adalah perubahan apada kepala spermatozoa dalam rangka meningkatkan kapasitasnya untuk membuahi seltelur.

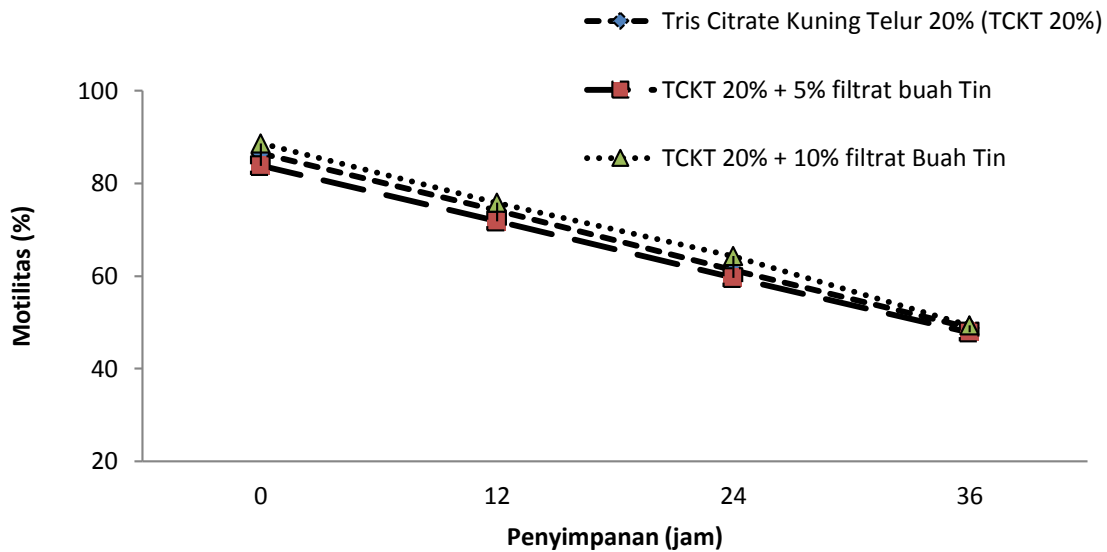
Hasil eksplorasi pengencer pada penyimpanan dingin (4°C) spermatozoa ayam pada penelitian ini yang terbaik yaitu menggunakan pengencer tris, citrate, kuning telur yang biasa digunakan pada domba dengan kadar kuning telur mencapai 20% dianding dengan pengencer dengan kadar kuning telur 25% dan 30% (Gambar 1). Tidak dipungkiri bahwa media yang terbaik untuk spermatozoa ayang adalah kuning telurnya, namun diperlukan hanya 20 % pada media tris citrate kuning telur (TCKT).



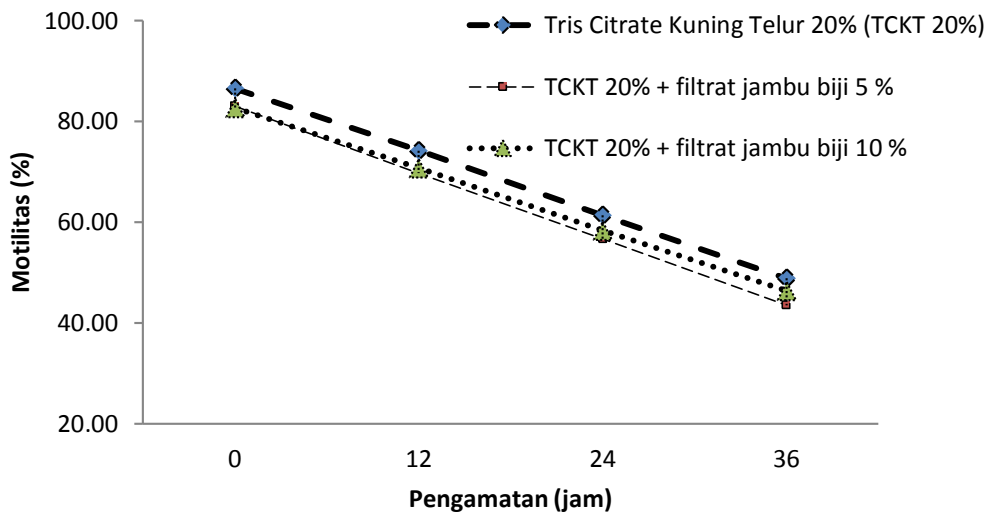
Gambar 1. Motilitas spermatozoa ayam perlakuan 1,2 dan 3 dengan TCKT kadar kuning telur 20%, 25% dan 30%.

Hasil penelitian ini (Gambar 1). penggunaan kuning telur 20%, 25% dan 30% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0.05$), hasil ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya dimana penggunaan kuning telur burung dara sebanyak 20% menghasilkan progresif motilitas yang bagus dibanding kadar yang lebih tinggi (Panahi *et*

al, 2017). Penggunaan kuning telur 20% telah digunakan sebagai standart penggunaan kuning telur sebagai standart bahan pengencer spermatozoa kambing. Kemungkinan penggunaan kuning telur lebih tinggi dari 20% membuat media lebih kental dan dalam penelitian ini tidak meningkatkan progresif motilitasnya.



Gambar 2. Motilitas spermatozoa ayam, perlakuan 1, 4 dan 5 dengan pengencer dasar TCKT, tambahan 5% dan 10% filtrat buah tin.



Gambar 3. Motilitas spermatozoa ayam perlakuan 1, 6 dan 7 dengan pengencer TCKT, tambahan 5% dan 10% filtrat jambu biji.

Hasil penelitian penambahan filtrat buah Tin 5% atau 10% (Gambar 2, Tabel 3) atau filtrat jambu biji 5% dan 10% (Gambar 3) tidak meningkatkan progresif motilitas spermatozoa pada pendinginan 4°C hingga 36 jam. Penggunaan filtrate buah tin dan jambu biji diharapkan dapat meningkatkan

motilitas spermatozoa. Penggunaan buah filtrate buah tin dapat meningkatkan kapasitas untuk integritas membrane dan reaksi (Zainuri *et al*, 2017). Buah buahan yang mengandung vitamin C diharapkan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa, seperti yang telah dilaporkan, bahwa dengan

peningkatan vitamin C dan E pada pengencer dapat meningkatkan progresif motilitas spermatozoa (Amini *et al*, 2015). Penelitian lain dengan penyimpanan pada 4°C dengan anti oksidant (oleic acid) motilitas awal dari 80% setelah disimpan selama 48 jam menjadi 57% dan 41% (Eslami *et al*, 2016). Dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa dosis rendah oleic acid menguntungkan penyimpanan spermatozoa ayam. Anti oksidant yang lain yaitu palmitoleat meningkatkan kualitas spermatozoa ayam dengan penyimpanan dingin (Rad *et al*, 2016).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa menggunakan pengencer TKTC dengan kadar kuning telur 20%, 25% dan 30% tidak menunjukkan perbedaan motilitas spermatozoa ayam. Penggunaan pengencer TKTC dengan kuning telur 20% dengan pemberian filtrate buah Tin 5% dan 10%, filtrate jambu biji 5% dan 10% sebagai sumber antioksidan juga tidak menunjukkan perbedaan motilitas spermatozoa ayam local Lombok.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Alfan Haris A, Baiq Islahun Nauli dan Azhari mahasiswa Fakultas Peternakan Unram, atas bantuan untuk mengambil semen dan evaluasi spermatozoa. Kepada kepala LPPM atas menggunakan dana DIPA BLU Unram Nomor: 1457.W/UN18.L1/PP/2018 untuk pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Amini MR, Kohram H, Zare Shahaneh A, Zhandi M, Sharideh H and Nabi MM. 2015. The effect of different

levelsof vitamin E and vitamin C in modified Bestville extender on rooster post-thawed sperm quality. *Cell Tissue Bank*. 16(4): 587-92.

- Bacon L.D., D. W. Salter, J. V. Motta, L. B. Crittenden, F X. Ogasawara. 1986. Cryopreservation of Chicken Semen of Inbred or Specialized Strains *Poultry Science*, 65 (10):1965–1971.
- DeleeG.J.A. C. Harris, Jr.L. B. Macy .1991. Research Note: The *In Vitro* Responses of Vaginal Tissue and Chicken Spermatozoa to Glycerol. *Poultry Science*, 70 (6): 1441–1443,
- Eslami M, Ghaniei A, Mirzaei Rad. H.2016. Effect of the rooster semen enrichment with oleic acid on the quality of semen during chilled storage. *Poult Sci*. 1;95:1418-24.
- Evans G, 1989. Semen processing on Embryo transfer in Goat and Sheep. *Refreshner course for Veterinarians, Proceedings* 127: 1-5.
- Larry D. Bacon, Donald W., SalterJohn V., MottaLyman B., CrittendenFrank X. and Ogasawara. 1986. Cryopreservation of Chicken Semen of Inbred or Specialized Strains. *Poultry Science*. 1986, 65(10) :1965–1971, <https://doi.org/10.3382/ps.0651965>
- Lemoine M,S.Mignon-Grasteau, I.Grasseau, M.Magistrini,E.Blesbois (2011) Ability of chicken spermatozoa to undergo acrosome reaction after liquid storage or cryopreservation. *Theriogenology*. 2011, [75 \(1\)](#): 122–130.
- Panahi F, Niasari-Naslaji A, Seyedasgari F, Ararooti T, Razavi K and Moosavi-Movaheddi AA. 2017. Supplementation of tris-based extender with plasma egg yolk of six avian species and camel skim milk for chilled preservation of dromedary

- camel semen. *Anim Reprod Sci.* 184:11-19.
- Rad HM, Eslami M and Ghanie A. 2016. Palmitoleate enhances quality of rooster semen during chilled storage. *Amin Reprod Sci.* 165:38-45
- Thele A, Bailiard A, Seigneurin F, Zerjal T, Boichard M and Blesbois E. 2018. Chicken semen cryopreservation and use for restoration of rare genetic resources. *Poult Sci.* WWW.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30165680.
- Westfall F. D., Birkett Howarth, Jr. 1977. Duration of the Antifertility Effect of Glycerol in the Chicken Vagina *Poultry Science.* 56 (3): 924–925.
- Zainuri LA, Lukman HY, Yanuarianto O, Sumadisa IWA dan Rodiah. 2017. Additional freeze drying Fig fruit (*Ficus carica* L) filtrate into Tris egg yolk extender and its effect on sperm membrane integrity and acrosome of Kacang Buck. *Animal Production* 19 (3): 161-166