

## Pengaruh Penambahan Kuning Telur Berbagai Jenis Unggas dalam Pengencer Dasar Air Kelapa Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Limousin Pada Penyimpanan Suhu 4-5°C

### *Effect of Addition Egg Yolk of Various Poultry in the Coconut Water Base Diluent on the Motility of Limousin Bull Spermatozoa at 4-5°C Temperature Storage*

Asti Wulansari\*, Nur Ducha

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Surabaya

\* e-mail: astiwulansari@mhs.unesa.ac.id

#### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan jenis kuning telur unggas terbaik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan pada suhu 4-5°C dalam pengencer dasar air kelapa. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas 5 perlakuan dan 4 pengulangan. Perlakuan tersebut yaitu KP (CEPD), KN (air kelapa tanpa kuning telur), PA (air kelapa + kuning telur ayam ras 20%), PB (air kelapa + kuning telur ayam kampung 20%) dan PC (air kelapa + kuning telur itik 20%). Data dianalisis menggunakan uji Anova satu arah dan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan jenis kuning telur itik mampu mempertahankan spermatozoa sapi Limousin dengan persentase motilitas spermatozoa sebesar  $60,00\% \pm 0,73$ ,  $60,00\% \pm 0,84$ ,  $58,13\% \pm 0,73$ ,  $55,63\% \pm 0,83$ , dan  $51,88\% \pm 1,37$  setelah 4 hari penyimpanan pada suhu 4-5°C. Berdasarkan data yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa penambahan kuning telur itik dapat mempertahankan motilitas terbaik spermatozoa sapi Limousin pada suhu penyimpanan 4-5°C.

**Kata kunci:** kuning telur unggas; pengencer dasar air kelapa; sapi Limousin; motilitas spermatozoa.

#### ABSTRACT

This research aim was to obtain the best poultry egg yolk in maintaining the motility of Limousin bull spermatozoa during storage at 4-5°C in the coconut water base diluent. This was a true experimental research with Completely Randomized Design (RAL) which was composed of 5 treatments and 4 replications. The treatments were KP (CEPD), KN (coconut water without egg yolk), PA (coconut water + chicken race egg yolk 20%), PB (coconut water + chicken egg yolk 20%) and PC (coconut water + duck egg yolk 20%). The data gained were analyzed using one-way ANOVA test and Duncan test. The result showed that the best type of poultry egg yolk in the coconut water base diluent was the duck egg yolk which was able to maintain the motility of Limousin bull spermatozoa with percentage motilities were  $60.00\% \pm 0.73$ ,  $60.00\% \pm 0.84$ ,  $58.13\% \pm 0.73$ ,  $55.63\% \pm 0.83$ , and  $51.88\% \pm 1.37$  after 4 days storage at temperature 4-5°C. Based on the data gained, it can be conclude that the addition duck egg can maintain the best motility of Limousin bull spermatozoa at 4-5°C temperature storage.

**Key words:** egg yolk of various poultry; coconut water base diluent; Limousin bull; sperm motility.

#### PENDAHULUAN

Penyimpanan semen dilakukan pada suhu rendah yaitu pada suhu 4° sampai 5°C atau disebut dengan semen cair. Penyimpanan semen pada suhu *refrigerator* yaitu pada suhu 4° sampai 5°C merupakan teknik penyimpanan alternatif yang dapat digunakan khususnya pada daerah-daerah yang memiliki keterbatasan adanya nitrogen cair (Ducha dkk., 2012).

Penyimpanan spermatozoa pada suhu rendah selain mengakibatkan terjadinya *cold shock* akan

terjadi pembentukan kristal es akibat proses pengeluaran air secara intraseluler yang dapat menyebabkan kerusakan sel spermatozoa (Setiono dkk., 2015). Oleh karena itu untuk meminimalkan perubahan struktur sel spermatozoa saat penyimpanan, maka dibutuhkan suatu media yang disebut pengencer.

Macam-macam jenis bahan pengencer yaitu pengencer anorganik, organik dan pengencer gabungan antar keduanya. Pengencer organik salah satunya yaitu air kelapa (Yohana dkk., 2014).

Air kelapa dapat digunakan sebagai bahan pengencer alternatif yang mampu memberikan nutrisi dan zat pendukung lainnya bagi kehidupan spermatozoa (Rasad dkk., 2009). Pada temperatur rendah air kelapa tidak dapat melindungi spermatozoa. Hal ini dikarenakan air kelapa hanya bersifat sebagai penyangga sehingga perlu ditambahkan bahan-bahan lain yang mampu mempertahankan serta melindungi sel spermatozoa terhadap penurunan suhu dingin secara tiba-tiba yaitu dengan menambahkan kuning telur (Anggraeny dkk., 2004).

Penggunaan kuning telur dari berbagai macam jenis unggas dapat digunakan dalam pengencer, namun pada kandungan masing-masing jenis kuning telur yaitu ayam ras, ayam kampung dan itik memiliki perbedaan. Lipoprotein dan lesitin yang terkandung dalam kuning telur mampu mempertahankan dan menjaga intensitas sel spermatozoa dan selubung lipoprotein terhadap penurunan suhu dingin secara tiba-tiba serta menstabilkan membran plasma, sehingga kombinasi kedua bahan pengencer tersebut memiliki kemampuan dalam mempertahankan motilitas spermatozoa karena terkandung bahan yang dibutuhkan oleh spermatozoa (Anwar dkk., 2014).

Tujuan dilakukan penelitian adalah untuk mendapatkan jenis kuning telur unggas terbaik dalam mempertahankan motilitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan pada suhu 4-5°C pada pengencer dasar air kelapa.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian ekperimental dengan metode penelitian RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang terdiri dari lima perlakuan yaitu KP (CEPD), KN (air kelapa tanpa kuning telur), PA (air kelapa + kuning telur ayam ras 20%), PB (air kelapa + kuning telur ayam kampung 20%) dan PC (air kelapa + kuning telur itik 20%) dengan empat kali ulangan.

Semen segar diperoleh dari pejantan sapi Limousin berumur 4 tahun. Penampungan semen segar menggunakan metode *Artificial vagina* (AV) yang dilakukan di *Teaching Farm*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Gresik. Tahap selanjutnya yaitu evaluasi semen segar sapi Limousin meliputi pH, warna, bau, volume, konsentrasi, konsistensi, motilitas massa dan motilitas individu.

Pembuatan pengencer dasar air kelapa dengan penambahan kuning telur menggunakan air kelapa yang berasal dari air kelapa hijau (*Cocuc nucifera*) varietas viridis yang masih muda, kemudian ditambahkan penisilin dan streptomisin

lalu dihomogenkan. Pengencer dasar air kelapa tersebut diukur pH, kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan *milipore membrane*. Setelah itu pengencer dasar air kelapa disuplementasi dengan kuning telur dari berbagai macam unggas yaitu kuning telur ayam ras, ayam kampung dan itik sebesar 20%. Kuning telur dan pengencer air kelapa kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Pengencer air kelapa yang telah ditambahkan berbagai macam kuning telur unggas disimpan di dalam *refrigerator* dengan suhu 4-5°C selama 3-4 hari untuk mendapatkan supernatan yang digunakan sebagai pengencer.

Proses pengenceran semen dilakukan pada suhu 37°C dalam *water bath* dengan rumus sebagai berikut:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan:

V1= volume semen segar sapi ( $\mu$ l)

M1=konsentrasi semen segar yang diperoleh ( $n \times 10^6$ )

V2= volume pengencer yang akan dibuat ( $\mu$ l)

M2=satuan konsentrasi semen sapi ( $25 \times 10^6$ )

Pengamatan Motilitas Spermatozoa Sapi Limousin dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 x 10. Pengamatan dilakukan oleh dua orang dengan mengestimasi persentase motilitas untuk mengetahui pergerakan spermatozoa yang progresif.

Data hasil pengamatan motilitas berupa data persentase. Data ditransformasi terlebih dahulu ke dalam *arcsin*, setelah itu hasil transformasi diuji dengan uji normalitas Kolmogrof - Sminov. Jika data terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji parametrik ANOVA. Data selanjutnya dilakukan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan.

## HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh data rata-rata motilitas spermatozoa sapi Limousin dalam pengencer dasar air kelapa dengan penambahan kuning telur berbagai jenis unggas pada penyimpanan 4-5°C yang disajikan pada Tabel 1.

Perubahan rata-rata motilitas spermatozoa selama proses penyimpanan pada suhu 4-5°C disajikan dalam bentuk grafik seperti pada Gambar 1.

Berasarkan data pada Tabel 1 dan grafik pada Gambar 1, rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi Limousin mengalami perubahan dari pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4. Pada hari ke-0 dapat diketahui bahwa persentase motilitas tertinggi pada perlakuan pengencer air

kelapa + kuning telur itik 20% dan CEPD yaitu sebesar 60,00% dan 63,33%. Data rata-rata persentase motilitas terendah terdapat pada perlakuan air kelapa tanpa kuning telur yaitu sebesar 48,75%.

Pada hari ke-1 dapat diketahui bahwa persentase motilitas tertinggi pada perlakuan pengencer air kelapa + kuning telur itik 20% dan CEPD yaitu sebesar 60,00% dan 63,75%. Data rata-rata persentase motilitas terendah terdapat pada perlakuan air kelapa tanpa kuning telur yaitu sebesar 45,00%.

Pada hari ke-2 dapat diketahui bahwa persentase motilitas tertinggi pada perlakuan pengencer air kelapa + kuning telur itik 20% dan CEPD yaitu sebesar 58,13% dan 55,00%. Data rata-rata persentase motilitas terendah terdapat pada

perlakuan air kelapa tanpa kuning telur yaitu sebesar 41,88%.

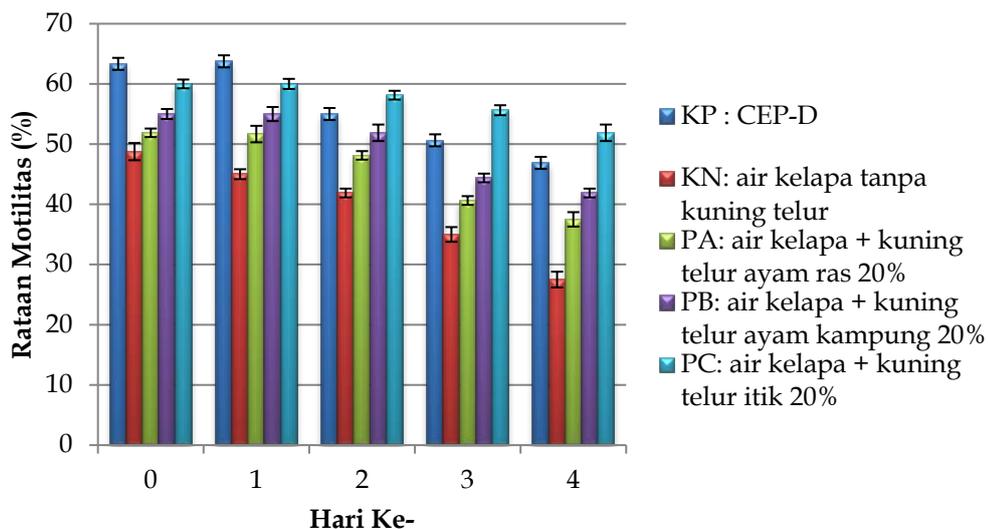
Pada hari ke-3 dapat diketahui bahwa persentase motilitas tertinggi pada perlakuan pengencer air kelapa + kuning telur itik 20% dan CEPD yaitu sebesar 55,63% dan 50,63%. Data rata-rata persentase motilitas terendah terdapat pada perlakuan air kelapa tanpa kuning telur yaitu sebesar 35,00%.

Pada hari ke-4 dapat diketahui bahwa persentase motilitas tertinggi pada perlakuan pengencer air kelapa + kuning telur itik 20% dan CEPD yaitu sebesar 51,88% dan 46,88%. Data rata-rata persentase motilitas terendah terdapat pada perlakuan air kelapa tanpa kuning telur yaitu sebesar 27,50%.

**Tabel 1.** Rata-rata persentase motilitas  $\pm$  standar deviasi spermatozoa sapi Limousin dengan penambahan kuning telur berbagai jenis unggas dalam pengencer dasar air kelapa.

Perlakuan	Rata-rata motilitas selama penyimpanan (%) $\pm$ standar deviasi				
	H0	H1	H2	H3	H4
KP	63,33 <sup>e</sup> $\pm$ 1,41	63,75 <sup>e</sup> $\pm$ 0,86	55,00 <sup>d</sup> $\pm$ 0,72	50,63 <sup>d</sup> $\pm$ 1,36	46,88 <sup>d</sup> $\pm$ 0,72
KN	48,75 <sup>a</sup> $\pm$ 1,43	45,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,83	41,88 <sup>a</sup> $\pm$ 0,73	35,00 <sup>a</sup> $\pm$ 1,22	27,50 <sup>a</sup> $\pm$ 1,31
PA	51,88 <sup>b</sup> $\pm$ 0,71	51,67 <sup>b</sup> $\pm$ 1,37	48,13 <sup>b</sup> $\pm$ 0,71	40,63 <sup>b</sup> $\pm$ 0,73	37,50 <sup>b</sup> $\pm$ 1,20
PB	55,00 <sup>c</sup> $\pm$ 0,83	55,00 <sup>c</sup> $\pm$ 1,17	51,88 <sup>c</sup> $\pm$ 1,37	44,38 <sup>c</sup> $\pm$ 0,72	41,88 <sup>c</sup> $\pm$ 0,73
PC	60,00 <sup>d</sup> $\pm$ 0,73	60,00 <sup>d</sup> $\pm$ 0,84	58,13 <sup>e</sup> $\pm$ 0,73	55,63 <sup>e</sup> $\pm$ 0,83	51,88 <sup>e</sup> $\pm$ 1,37

Keterangan : notasi yang berbeda (a,b,c,d,e) pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap motilitas spermatozoa. H0= hari ke-0, H2= hari ke-2, dst, KP= CEPD, KN= air kelapa tanpa kuning telur, PA= air kelapa + kuning telur ayam ras 20%, PB= air kelapa + kuning telur ayam kampung 20%, PC= air kelapa + kuning telur itik 20%.



**Gambar 1.** Grafik persentase motilitas  $\pm$  standar deviasi spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan suhu 4-5°C.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji Duncan ( $\alpha=0,05$ ) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada setiap perlakuan. Hal ini disebabkan adanya perbedaan penambahan kuning telur unggas yang berbeda-beda. Pada perlakuan dengan pengencer CEPD sebagai kontrol positif dan pengencer air kelapa + kuning telur itik 20% menunjukkan nilai motilitas terbaik pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4. Penggunaan kuning telur dalam pengencer dikarenakan pada kuning telur termasuk dalam krioprotektan ekstraseluler serta mengandung lesitin dan lipoprotein yang berfungsi melindungi dan mempertahankan integritas selubung lipoprotein penyusun membran spermatozoa. Hal ini disebabkan memiliki makromolekul yang besar yang tidak dapat menembus membran (Ervandi dkk., 2013). Keberadaan kuning telur dalam pengencer mampu menstabilkan sifat semipermeabel membran serta berperan aktif dalam perlindungan sel yang akan berpengaruh positif terhadap motilitas spermatozoa (Anwar dkk., 2014).

Kuning telur itik mengandung lebih banyak *monounsaturated fatty acids* (MUPA) dan *phosphatidylinositol* (PI) yang lebih banyak dibandingkan kuning telur ayam. Selain itu, kandungan lemak dan kadar kolesterol pada kuning telur itik lebih tinggi jika dibandingkan dengan kuning telur ayam (Bebas dkk., 2016). Kandungan kolesterol pada kuning telur berperan penting sebagai agen paling efektif melindungi spermatozoa dari *cold shock* akibat perubahan suhu dari suhu tubuh ke suhu ruang kemudian penyimpanan pada suhu dingin (Aboagla dkk., 2004).

Kandungan kolesterol pada kuning telur itik berperan sebagai agen paling efektif melindungi spermatozoa dari *cold shock*. Spermatozoa yang memiliki kandungan kolesterol yang lebih tinggi dan derajat asam lemak tak jenuh lebih rendah cenderung lebih resisten terhadap pengaruh cekaman dingin karena memiliki struktur membran plasma yang lebih kompak. Hal ini dikarenakan kolesterol memiliki peran dalam mempertahankan fluiditas membran (Rizal dan Herdis, 2010).

Kolesterol merupakan komponen lipid membran yang mempunyai satu gugus hidroksil dari satu ikatan rangkap pada cincin steroid dengan delapan rantai atom karbon. Kolesterol sangat penting bagi spermatozoa dalam mempertahankan fluiditas atau sifat kecairan membran, semakin banyak kandungan kolesterol pada membran akan membuat membran semakin bersifat cair sebaliknya semakin sedikit kandungan

kolesterol pada membran akan menyebabkan spermatozoa semakin mudah mengalami kerusakan. Terbukti adanya kolerasi yang kuat antara kandungan kolesterol membran dengan tingkat keutuhan membran spermatozoa (Flesch and Gadella, 2000).

Pengencer CEPD mengandung ion elektrolit, sumber energi berupa fruktosa, dan antibiotik. Selain itu, pada pengencer CEPD juga terdapat penambahan kuning telur sebanyak 20% yang berfungsi sebagai pelindung spermatozoa (Ducha, 2018).

Hasil uji Duncan ( $\alpha=0,05$ ), pengujian motilitas spermatozoa sapi Limousin pada pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4 yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan pengencer air kelapa tanpa kuning telur berbeda nyata pada semua perlakuan. Perlakuan pengencer air kelapa tanpa kuning telur memiliki nilai rata-rata motilitas terendah dibandingkan dengan perlakuan pengencer air kelapa dengan penambahan kuning telur.

Hasil uji Duncan ( $\alpha=0,05$ ), pengujian motilitas spermatozoa sapi Limousin pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4 pada Tabel 1 menunjukkan perlakuan pengencer air kelapa tanpa kuning telur berbeda nyata pada semua perlakuan. Perlakuan pengencer air kelapa tanpa kuning telur memiliki nilai rata-rata motilitas terendah dibandingkan dengan perlakuan pengencer air kelapa dengan penambahan kuning telur. Air kelapa hanya berfungsi sebagai penyangga sehingga kurang mampu melindungi sel spermatozoa dari keadaan kejutan suhu secara tiba-tiba (Anggraeny dkk., 2004).

Berdasarkan data yang diperoleh dapat diketahui rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi Limousin mengalami penurunan dari pengamatan hari ke-0 sampai hari ke-4. Penurunan motilitas disebabkan karena lamanya waktu penyimpanan. Semakin lama waktu penyimpanan, maka persediaan energi akan semakin terbatas sehingga menyebabkan motilitas menjadi menurun (Kurniawan dkk., 2013). Penurunan kualitas spermatozoa terjadi akibat proses metabolisme spermatozoa yang menyebabkan elektrolit larutan menjadi tidak seimbang dan cadangan makanan berkurang (Sulmartiwi dkk., 2011).

## SIMPULAN

Simpulan penelitian ini adalah penambahan kuning telur itik dapat mempertahankan motilitas terbaik spermatozoa sapi Limousin pada penyimpanan suhu 4-5°C.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada Dr. Widowati Budijastuti, M.Si, Dra. Nur Kuswanti, M. Sc.St. yang telah membimbing selama penelitian serta Dr. drh. Tri Wahyu Suprayogi, M.Si., Dr. drh. Trilas Sardjito, M.Si., drh. Danar, dan drh. Kukuh selaku pihak Teaching Farm Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla EME, Terada T, 2004. Effects of egg yolk during the freezing experiment of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*. 62: 11601172.
- Anggraeny YN, Lukman A, Ainur R, 2004. Efektivitas Substitusi Pengencer Tris-Sitrat Dan Kolesterol Menggunakan Air Kelapa Dan Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Potong. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Anwar PYS, Ondho, Samsudewa, 2014. Pengaruh Pengencer Ekstrak Air Tebu Dengan Penambahan Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Bali. *Jurnal Peternakan*. 11(2): 48-58.
- Bebas W, Wayan, 2016. Penambahan Astaxanthin pada Pengencer Kuning Telur Berbagai Jenis Unggas Dapat Memproteksi Berbeda Dalam Bahan Pengencer Tris Sitrat Kuning Telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3(2): 61-69.
- Ducha N, Trinil, Aulanni'am, Sri W, Mulyoto P, 2012. Ultrastructure and Fertilizing Ability of Limousin Bull Sperm after Storage in CEP-@ Extender with and Without Egg Yolk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 15(20): 979-985.
- Ducha N, 2018. The Test About Blood Serum Capabilities In Maintaining The Quality of Bull Spermatozoa During Storage in CEP Diluent at Refrigerator Temperature. *Earth and Environmental Science*. 130. 102043.
- Ervandi M., Susilawati T, Wahyuningsih S, 2013. Pengaruh Pengencer Yang Berbeda Terhadap Kualitas Spermatozoa Hasil Sexing Dengan Gradien Albumin (Putih Telur). *JITV*. 18(3): 177-184.
- Flesch FM, Gadella BM, 2000. Dynamics Of the mammalia Sperm Plasma Membrane In The Process Of Fertilization *Biochim Biophys. Acta* 1469: 197-235.
- Kurniawan IY, Basuki, Trinil S, 2013. Penambahan Air Kelapa Dan Gliserol Pada Penyimpanan Sperma Terhadap Motilitas Dan Fertilitas Spermatozoa Ikan Mas (*Cyprinus Carpio L.*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(1): 51-65.
- Rasad SD, LC Simanjuntak. 2009, The Effect of Fructose Addition in Semen Extender on Quality of Separation of Garut Ram Sperm in Several Storage Length. *Animal Production*. 11(3): 196-201.
- Rizal M, Herdis, 2008. *Inseminasi Buatan pada Domba*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Setiono N, Sri S, Purnama ES, 2015. Kualitas Semen Beku Sapi Brahman Dengan Dosis Krioprotektan Gliserol Yang Berbeda Dalam Bahan Pengencer Tris Sitrat Kuning Telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3(2): 61-69.
- Sulmartiwi L, E. Ainurrohmah, Shofy M, 2011. Pengaruh Konsentrasi Air Kelapa Muda dan Madu dalam NaCl Fisiologis terhadap Motilitas dan Lama Hidup Spermatozoa Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 3(1): 67-71.
- Yohana T, Nur D, Rahardjo, 2014. Pengaruh Pengencer Sintetis dan Alami Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman Selama Penyimpanan dalam Suhu Dingin. *Jurnal LenteraBio*. 3(3): 261-265.