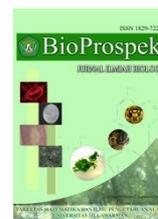




# Bioprospek

<https://fmipa.unmul.ac.id/jurnal/index/Bioprospek>



## MORFOLOGI DAN MORFOMETRIK SPERMATOZOA AYAM NUNUKAN

Fikri Ardhani<sup>1</sup>, I Made Urip Raharja<sup>2</sup>, Byrta Mbincar Boangmanalu<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman  
Jl. Paser balengkong Kampus Gunung Kelua Samarinda Kalimantan Timur 75129

### INFO ARTIKEL

Terkirim 27 Juni 2015  
Diterima 29 Agustus 2015  
Online 20 September 2015

Keywords.  
Morphology  
Morphometric  
Spermatozoa  
Nunukan rooster

### ABSTRACT

The fertility of a rooster is not only influenced by motility, viability and DNA integrity of the spermatozoa but it is determined by the morphological integrity of the spermatozoa. This study objectives to determine the morphological and morphometric spermatozoa of nunukan rooster, one of Indonesian germplasm. Rooster's cement was collected using dorso-abdominal massage method. The cement was stained with a combination of eosin Nigrosin. The stained cement was used to observe the morphology and measurement of the main parameters. The morphological was evaluated using a microscope with a magnification of 100x as many as 100 spermatozoa. The spermatozoa morphometric were analyzed using the Raster Image program and its were identified the head dimension, the head length and width, the mid-piece length, the tail length, and the ratio of the head and tail. A nunukan rooster spermatozoon in average has total length of  $86.724 \pm 12.496 \mu\text{m}$  with a head length, the mid-piece length, the tail length is  $12.766 \pm 2.307 \mu\text{m}$ ,  $4.220 \pm 1.127 \mu\text{m}$ , and  $75.738 \pm 9.061 \mu\text{m}$ , respectively, while the head width is  $1.391 \pm 0.244 \mu\text{m}$ , and the the head: the tail ratio is 1: 5.9. The morphologically normal percentage is  $80.50 \pm 9.40 \%$ . In conclusion, the characteristics spermatozoa of nunukan rooster due to morphology, morphometric, and morphologically normal percentage aspects are within the range of other types of rooster in many previous studies.

### 1. Pendahuluan

Ayam nunukan adalah salah satu ternak plasma nutfah yang dimiliki Indonesia. Melalui Keputusan Menteri Pertanian RI No. 2848/Kpts/LB.430/8/2012

ayam nunukan telah ditetapkan sebagai plasma nutfah

Kalimantan Timur yang merupakan aset yang sangat penting karena menjadi bahan mentah dalam program pemuliaan untuk merakit jenis-jenis unggul yang sangat penting dalam penyediaan kebutuhan manusia (Nataamijaya, 2010).

Korespondensi: fikri\_ardhani@faperta.unmul.ac.id  
bioprospek@fmipa.unmul.ac.id

Ayam nunukan mempunyai karakteristik dan keunggulan genetik tersendiri yang sangat potensi dilestarikan dan dikembangkan. Karakteristik dari ayam nunukan antara lain jantan dan betina memiliki bulu coklat sebagai warna dasar, pola warna bulu yang polos, kerlip bulu keemasan, corak bulu polos. Karakteristik lain dari ayam nunukan adalah lambatnya pertumbuhan bulu pada sayap dan ekornya, yang sangat sedikit/sangat pendek atau bahkan tidak tumbuh sama sekali (Sartika dkk, 2006). Bobot ayam nunukan yang asli dapat mencapai 4 sampai 5 kg; 20-30% lebih berat dari ayam lokal lainnya, dan produksi telur ayam betina dapat mencapai 182 butir pertahun dengan berat telur 47,5 gram (Wafiatiningsih dkk., 2005).

Namun demikian, dalam pemeliharaan konvensional yang tidak memiliki program breeding yang baik, seringkali terjadi jumlah pejantan yang sangat terbatas sehingga proporsinya menjadi tidak berimbang dibandingkan dengan jumlah betinanya. Hal ini pada akhirnya dapat mengakibatkan penurunan produktivitas ayam nunukan secara keseluruhan. Meskipun kontribusi pejantan (*sire*) dalam produktivitas ternak hanya sebatas pada sperma, namun ketersediaan akan materi regeneratif dari pejantan berupa sperma tersebut sangat dibutuhkan.

Mengingat status reproduksi hewan jantan merupakan salah satu faktor penting dalam menunjang keberhasilan penerapan teknologi reproduksi dalam perkembangbiakan ayam nunukan, maka sebagai langkah awal karakteristik spermatozoa perlu diteliti. Karakteristik spermatozoa merupakan suatu hal yang sangat penting untuk mengidentifikasi suatu individu pejantan dan mempunyai nilai di dalam penggunaan kajian reproduksi. Di samping adanya pemeriksaan kualitas semen terhadap konsentrasi, motilitas, viabilitas, kemampuan penetrasi serta kapasitas untuk mengikat oosit; morfologi spermatozoa merupakan salah satu indikator penting dalam penentuan kualitas spermatozoa.

Peneilitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi kualitas spermatozoa melalui pendiskripsian tentang morfologi dan morfometrik spermatozoa ayam nunukan. Hasil yang diperoleh dapat dijadikan bahan pelengkap utama data potensi reproduksi ayam nunukan yang dapat digunakan untuk memperbaiki dan meningkatkan daya produksi dan reproduksi ayam nunukan dan dalam melaksanakan program inseminasi buatan (IB) maupun in vitro fertilisasi (IVF) sebagai sarana program konservasi plasma nutfah Indonesia.

## 2. Metode Penelitian

### *Hewan Penelitian*

Penelitian ini menggunakan lima ekor ayam nunukan jantan dewasa dengan berat badan 3-4 kg per ekor, umur 30-35 minggu. Ayam ditempatkan pada kandang individual berukuran 50x50x75 cm<sup>3</sup> lalu kandang tersebut ditempatkan pada kandang besar dengan ukuran 1x2 m<sup>2</sup>. Pemberian pakan komersial dilakukan dua kali per hari sebanyak 100-150 g/hari. Air minum diberikan secara ad libitum. Program vaksinasi, pemberian obat cacing dan vitamin dilakukan secara berkala. Pencahayaan selama 12 jam/hari.

### *Penampungan Semen*

Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan metode masase (pemijatan atau pengurutan) pada bagian dorso abdominal secara halus dari bagian punggung sampai pangkal ekor dan kloaka hingga ayam jantan terangsang yang ditunjukkan dengan ekor terangkat. Pemijatan dilakukan dengan tekanan tertentu sehingga keluar cairan putih dari kloaka dan ditampung menggunakan tabung berskala. Sebelum dilakukan koleksi semen, bagian sekitar kloaka dibersihkan dengan kertas tisu yang telah dibasahi dengan NaCl fisiologis. Koleksi semen dilakukan dengan interval 2 hari sekali pada pukul 09.00-10.00 WITA selama 3 minggu berturut-turut.

### *Pembuatan Preparat Ulas Semen Segar*

Pembuatan preparat ulas dilakukan dengan menggunakan 3 kaca objek untuk tiap sampelnya. Semen segar dicampurkan dengan larutan NaCl fisiologis dengan perbandingan 1:4 pada kaca objek pertama. Salah satu sisi ujung kaca objek kedua disinggungkan pada larutan semen dan diulas tipis pada kaca objek ketiga kemudian dikeringudarkan.

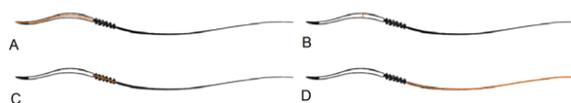
### *Pembuatan Preparat Ulas Semen Segar*

Pembuatan preparat ulas dilakukan dengan menggunakan 3 kaca objek untuk tiap sampelnya. Semen segar dicampurkan dengan larutan NaCl fisiologis dengan perbandingan 1:4 pada kaca objek pertama. Salah satu sisi ujung kaca objek kedua disinggungkan pada larutan semen dan diulas tipis pada kaca objek ketiga kemudian dikeringudarkan.

Pewarnaan yang digunakan adalah menggunakan kombinasi eosin nigrosin menurut Lukaszewicz et al. (2008); satu bagian 4% eosin (4 g eosin dilarutkan dalam 96 ml 2,9% sodium sitrat dan tiga bagian 8% nigrosin (8 g nigrosin dilarutkan dalam 92 ml 2,9% sodium sitrat). Sediaan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 100x. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap warna sedangkan yang mati akan menyerap warna.

### *Analisis Spermatozoa*

Analisis morfologi spermatozoa dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus optical Co.Ltd yang dihubungkan dengan camera OptiLab Advance+ yang tersambung juga dengan monitor. Morfometri spermatozoa dilakukan dengan cara analisis gambar dengan menggunakan bantuan software Image Raster, satu pixel pada gambar memiliki panjang sebesar 0,489  $\mu\text{m}$  untuk perbesaran 10x100.



Gambar 1. Aspek penghitungan morfometri spermatozoa. Keterangan gambar : A) panjang kepala, B) lebar kepala, C) panjang bagian tengah, D) panjang ekor. (Sumber : Jamieson, 2007).

Pengamatan dan pengukuran dilakukan terhadap 100 spermatozoa/sampel. Pengukuran ini meliputi panjang kepala, lebar kepala, panjang bagian tengah dan panjang ekor (Gambar 1). Selanjutnya dihitung rasio antara panjang kepala dan panjang ekor.

Persentase spermatozoa normal merupakan perbandingan antara jumlah spermatozoa normal terhadap jumlah total spermatozoa. Perhitungan dilakukan dengan menghitung 200 spermatozoa pada 10-20 lapang pandang yang berbeda. Persentase spermatozoa normal diperoleh dengan rumus.

$$\text{Persentase spermatozoa normal} = \frac{\text{jumlah spermatozoa normal}}{\text{jumlah total spermatozoa}} \times 100\%$$

### *Analisis Data*

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksploratif. Data dianalisa secara deskriptif dan konfirmatif dengan variabel yang diukur adalah rata-rata yang didapat dari setiap variabel yang diukur. Hasil yang didapatkan disajikan dengan rata-rata $\pm$ standar deviasi.

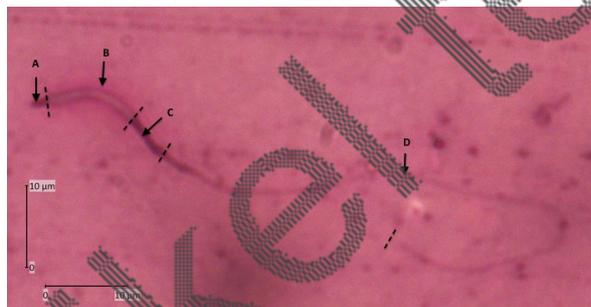
## **3. Hasil dan Pembahasan**

Spermatozoa ayam nunukan secara umum memiliki bagian-bagian yang sama dengan spermatozoa ternak mamalia yang lain namun bentuk spermatozoa pada kelompok unggas berbeda. Spermatozoa unggas termasuk ayam nunukan memiliki kepala silindris dengan titik akrosom pada bagian ujungnya, bagian tengah yang pendek dan ekor yang lebih panjang.

Morfologi spermatozoa ditunjukkan pada Gambar 2. Dalam gambar ini juga ditunjukkan reaksi sperma yang mati dan sperma yang hidup, dimana sperma yang telah mati akan menyerap warna sedangkan yang masih hidup tidak menyerap warna eosin (Lukaszewicz et al., 2008).

Spermatozoa ayam nunukan memiliki kepala sedikit melengkung yang terdiri dari akrosom dan nukleus. Kepala spermatozoa ayam lebih sederhana karena kantung akrosom tidak sampai segmen ekuatorial seperti halnya spermatozoa mamalia (Etches 1996).

Kepala spermatozoa memiliki panjang  $12,766 \pm 2,307 \mu\text{m}$  dan mengandung nukelus atau intisel yang terdiri atas materi genetik. Bagian kepala spermatozoa terdiri atas akrosom dengan panjang  $1,911 \pm 0,455 \mu\text{m}$  dan nucleus dengan panjang  $10,850 \pm 1,798 \mu\text{m}$ . Akrosom berasal dari badan golgi spermatogonia dan terdiri atas tudung akrosom dan punggung akrosom (Etches, 1996). Akrosom mengandung enzim yang dibutuhkan oleh spermatozoa pada saat fertilisasi, antara lain proakrosin, hialuronidase, zoana lisin esterase dan asam hidrolase (Etches, 1996; Jamieson, 2007).



Gambar 2. Morfologi spermatozoa ayam nunukan dengan pengecatan eosin nigrosin. Akrosom (A), Nukleus (B), Bagian Tengah (C), dan Bagian ekor (D)

Bagian tengah spermatozoa memiliki panjang  $4,220 \pm 1,127 \mu\text{m}$ . Panjang bagian tengah terkait dengan pasokan energi yang lebih besar melalui produksi ATP dalam mitokondria (Cardullo dan Baltz, 1991). Panjang bagian ekor spermatozoa ayam nunukan adalah  $75,738 \pm 9,061 \mu\text{m}$ . Ekor ini berfungsi sebagai alat gerak spermatozoa.

Bagian tengah dan ekor spermatozoa berasal dari mitokondria dan sitoskeleton sel yang menyebabkan spermatozoa menjadi motil.

Tabel 1. Morfometrik komponen utama morfologi spermatozoa ayam nunukan

Bagian Utama	Rata-rata $\mu\text{m}$	SD
Panjang Kepala	12,766	2,307
- Akrosom	1,911	0,455
- Nukleus	10,850	1,798
Lebar Kepala	1,391	0,244
Bagian Tengah	4,220	1,127
Ekor	75,738	9,061
Total	94,724	12,496

Dalam penelitian ini diketahui bahwa ayam nunukan memiliki rataan spermatozoa normal sebesar  $80,50 \pm 9,40\%$ . Hasil ini sedikit lebih rendah dari studi sebelumnya pada jenis ayam yang dipelihara di Indonesia. Hasil penelitian terhadap persentase spermatozoa normal pada ayam arab sebesar  $85,25\%$  (Iskandar dkk, 2006), ayam kampung  $93,8\%$  (Nurfirman, 2001) dan  $84,25\%$  (Iskandar dkk, 2006), serta ayam pelung  $83\%$  (Iskandar dkk, 2006). Persentase spermatozoa dengan morfologi normal yang dibawah rata-rata jenis ayam lainnya ini dapat disebabkan oleh adanya cekaman panas misalnya suhu di sekitar kandang yang dapat mencapai  $33-34^\circ\text{C}$  pada siang hari dan dapat pula disebabkan oleh gangguan pada testis. Asupan pakan yang kurang juga dapat mengakibatkan ayam mengalami defisiensi nutrisi dan berdampak pada terganggunya proses spermatogenesis.

Parameter dalam menentukan fertilitas jantan, selain dari motilitas, viabilitas dan keutuhan DNA, dapat diketahui juga dari persentase spermatozoa dengan morfologi normal (Morrell dan Rodriguez-Martinez, 2009, du Plessis et al., 2014), dengan demikian bahwa semakin tingginya persentase abnormal spermatozoa dapat mempengaruhi tingkat fertilitas ayam. Abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh beberapa faktor antara lain penyakit, stres panas (manajemen pemeliharaan), proses

kriopreservasi, perbedaan bangsa dan strain ayam serta musim. Selain itu tingkat abnormalitas juga bisa disebabkan oleh preservasi pasca koleksi dan pewarnaan. Rasio kepala dan ekor dari ayam nunukan adalah 1:5,9; hal ini sesuai dengan Jamieson (2007) yang menyatakan bahwa rasio rasio kepala dan ekor spermatozoa ayam yaitu 1:6. Dimensi sperma terutama difokuskan pada manfaat dari peningkatan ukuran panjang sebagai cara beradaptasi dengan adanya variasi dalam saluran reproduksi betina. Bagian dimensi kepala telah terbukti positif mempengaruhi kesuburan (Samour et al., 1986) dan asumsi umum adalah bahwa ekor sperma akan meningkatkan potensi berenang sperma (Calhim et al, 2011, Humphries et al., 2008). Humphries et al. (2008) menyatakan bahwa meskipun ada sejumlah faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan berenang sperma, rasio kepala dan ekor merupakan pengukuran sederhana untuk menilai kecepatan potensial pergerakan spermatozoa. Kleven et al. (2009) menyatakan bahwa kecepatan berenang dan panjang sperma berkembang secara mandiri sebagai hasil dari kompetisi spermatozoa.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Spermatozoa ayam nunukan memiliki panjang total  $86,724 \pm 12,496 \mu\text{m}$  dengan panjang kepala  $12,766 \pm 2,307 \mu\text{m}$ , panjang bagian tengah  $4,220 \pm 1,127 \mu\text{m}$ , panjang ekor  $69,738 \pm 9,061 \mu\text{m}$ , sedangkan lebar kepala  $1,391 \pm 0,244 \mu\text{m}$ , dan rasio kepala dan ekor adalah 1:5.9.
2. Persentase spermatozoa dengan morfologi normal adalah  $80,50 \pm 9,40\%$ .  
Untuk mengetahui spermatozoa dengan morfologi abnormal sebagai salah satu faktor penyebab penurunan nilai fertilitas perlu dilakukan identifikasi jenis dan penyebab abnormalitas morfologi spermatozoa ayam nunukan.

#### Daftar Pustaka

- Calhim S, Double MC, Margraf N, Birkead TR, Cockburn A. 2011. Maintenance of sperm variation in a highly promiscuous wild bird. *PLoS One* 6:e28809.
- Cardullo Ra, and Baltz Jm.1991. Metabolic Regulation In Mammalian Sperm: Mitochondrial Volume Determines Sperm length and flagellar beat frequency. *Cell Motil Cytoskelet*.
- du Plessis, Lizette and John T. Soley. 2014. Light microscopy of emu (*Dromaius novaehollandiae*) sperm: preparatory technique, morphological features and morphometry. *Theriogenology*. 81(2):203-9.
- Etches, R.J., 1996. *Reproduction in poultry*. 1st Ed. CAB International, Cambridge, UK.
- Humphries S, Evans JP, Simmons LW. 2008. Sperm competition: linking form to function. *BMC Evol Biol*;8:319.
- Iskandar S, Mardalestari R, Hernawati R, Mardiah E, Wahyu E. 2006. Pengaruh jenis konsentrasi krioprotektan dan metode thawing pada kualitas semen beku ayam Arab. *JITV*. 11(1).
- Jamieson, B.G.M. 2007. Avian Spermatozoa : Structure and phylogeny. In Jamieson, B. G. M. (Ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Birds: Part A* Part A ed. (pp. 349-511) Enfield, USA: Science Publishers.
- Kleven O, Fossøy Laskemoen T, Robertson RJ, Rudolfsen G, Lifjeld JT. 2009. Comparative evidence for the swimming speed by sperm competition and female sperm storage duration in passerine birds. *Evolution* 63:2466-73.
- Lukaszewicz, E., Jersey, A., Partyka, A. & Siudzinska, A., 2008. Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. *Res. Vet. Sci*. 85, 583-588.
- Morrell JM, and Rodriguez-Martinez, 2009. Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding: a review. *J The open Andr*. 1:1-9.
- Nataamijaya AG. 2010. Pengembangan potensi ayam lokal untuk menunjang

- peningkatan kesejahteraan petani. J Litbang Pertanian 29 : 131-138.
- Nurfirman. 2001. Efektifitas Medium Beltsville Poultry Semen Extender (BPSE) terhadap Kualitas Semen Cair Ayam Lokal. <http://repository.ipb.ac.id>.
- Samour JH, Smith CA, Moore HD, Markham JA. 1986. Semen collection and spermatozoa characteristics in budgerigars (*Melopsittacus undulates*). Vet Rec;118: 397-9.
- Sartika,T., Sri Sulandari,M.S.A. Zein Dan Sri Paryanti. 2006. Ayam nunukan : Karakter Genetik, Fenotipe Dan Pemanfaatannya. Wartazoa. Vol. 16.No.4
- Wafiatiningsih, Sulistyono dan R.A. Saptati. 2005. Performans dan karakteristik ayam nunukan . Pros. Lokakarya Nasional Inovasi Teknologi Pengembangan Ayam Lokal. Puslitbang Peternakan, Badan Litbang Pertanian dan Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro.

Artikel telah ditinjau