

MOTILITAS SPERMATOZOA LEBAH MADU *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) PADA BERBAGAI TEMPERATUR PENYIMPANAN DALAM MEDIA PENGENCER DENGAN KADAR GLUKOSA YANG BERBEDA

MOTILITY OF HONEYBEE *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae) SPERMATOZOA IN VARIOUS STORAGE TEMPERATURES IN DILUTION MEDIA CONTAINING DIFFERENT GLUCOSE LEVELS

Tarliyah, L.¹⁾, A. Boediono²⁾ dan D. Walujo¹⁾

¹⁾ Jurusan Biologi FMIPA, IPB, Jl. Raya Padjajaran, Bogor

²⁾ Bagian Anatomi, FKH, IPB, Jl. Taman Kencana 3, Bogor

ABSTRACT

Sperm motility is the main problem for honeybees reproduction both in natural and in artificial insemination. Sperm produced only by sexually mature drone. Semen samples were collected from the drone by the massage technique, this consists of massaging the abdomen of drone. The motility is measured at various concentration of glucose and temperatures. The sexually mature drones were observed in 99.06% (213/215) drones with rare hair on back and 76.28% (164/215) with the existence of yellow stripes in black abdomen. The average volumes of semen samples from each drones is 1.11µm . The average length of the sperm is 217.57µm (107.50~412.50µm). The average length of sperm head is 7.52µm (5~10µm). Abnormalities of the sperm can be determined by its flipped tails, broken tails, double tails, and double heads with average of 19.83%, 12.75%, 6.42%, and 2.25% respectively. To conduct the artificial insemination, drones sperm should always be available. For this reason sperm should be preserved in an optimal condition storage temperatures and glucose concentration that containing in dilution media. The highest motility is achieved when the sperm is kept in 0.9% glucose concentration and storage in 5°C temperature. In this condition 0.19x10⁶ sperm/ml can survive up to 36 hours. Moreover, the higher concentration of sperm motility up to 36 hours is achieved when sperm is kept in 5°C temperature with different levels of glucose in dilution media. However statistically interaction between glucose and temperatures levels does not give significant affects.

Key words : drones honeybees, sexually mature, morphology, and motility of sperm.

ABSTRAK

Masalah utama dalam perkawinan ratu lebah baik secara alamiah maupun secara Inseminasi Buatan (IB) dalam usaha meningkatkan populasi dan produktivitas ternak termasuk lebah adalah sperma. Morfologi eksternal lebah jantan dewasa kelamin dalam penelitian ini memiliki jumlah bulu punggung sedang 99,06% (213/215) dan warna abdomen bergaris kuning pada latar belakang warna hitam 76,28% (164/215). Ukuran sperma berkisar antara 107,50~412,50µm (rata-rata 217,57µm) dengan panjang kepala 5~10µm (rata-rata 7.52µm). Abnormalitas sperma sesaat setelah pengoleksian terlihat dengan adanya sperma ekor melipat 19,83%, ekor patah 12,75%, ekor bercabang 6,42%, dan kepala bercabang 2,25%. Pengaruh temperatur penyimpanan (5°C, 27°C dan 37°C) dan kadar glukosa (0%, 0,3%, 0,6%, dan, 0,9%) dalam media pengencer terhadap motilitas sperma diamati dalam rangkaian penelitian ini. Motilitas sperma tertinggi dicapai pada temperatur penyimpanan 5°C dalam media

pengencer dengan kadar glukosa 0,9%. Pada kondisi tersebut sperma masih dapat bertahan hidup (motil) hingga 36 jam setelah pengoleksian dengan konsentrasi sperma motil sebanyak $0,19 \times 10^6$ sperma/ml. Motilitas yang tinggi secara umum dicapai sperma pada temperatur penyimpanan 5°C dalam berbagai tingkat kadar glukosa.

Kata kunci : lebah jantan, dewasa kelamin, morfologi dan motilitas sperma.

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi yang diiringi semakin pesatnya perkembangan penduduk menuntut terpenuhinya kebutuhan baik berupa pangan maupun kebutuhan lainnya. Madu sebagai produk utama kegiatan perlembahan banyak digunakan untuk berbagai keperluan, yang hingga saat ini negara kita belum mampu memenuhi kebutuhan madu walaupun untuk dalam negeri. *Apis mellifera* L. merupakan jenis lebah madu yang berasal dari Eropa dan merupakan jenis unggul yang dapat beradaptasi dengan baik di lingkungan Indonesia (Anonymous, 1990 dalam Soeminta, 1995).

Masalah utama dalam perkawinan ratu adalah jumlah populasi jantan (Fert, 1997). Dalam perkawinan secara inseminasi buatan (IB), jantan harus tersedia terlebih dahulu karena tidak semua jantan yang tersedia telah dewasa kelamin.

Peranan teknologi IB adalah menunjang tujuan peningkatan populasi dan produktivitas ternak termasuk lebah. Untuk itu program IB harus ditunjang oleh daya fertilitas optimum spermatozoa (sperma) yang dapat dipreservasi atau diawetkan untuk beberapa lama sesudah penampungan.

Salah satu aspek biologi yang sangat penting dalam mempelajari kehidupan jantan sebagai penerus keturunan adalah sperma. Pengetahuan mengenai usaha koleksi dan preservasi sperma untuk dapat tetap hidup dalam jangka waktu yang relatif lama merupakan program yang dibutuhkan sebagai penunjang teknik IB. Sperma dapat hidup dan memanfaatkan zat gula media pengencer yang penting sebagai energi. Setelah beberapa tes dilakukan diperoleh media terbaik yang dapat digunakan sebagai pengencer sperma lebah yang dikenal dengan nama "Kiev" (Ruttner, 1976). Modifikasi media pengencer "Kiev" dengan penetapan kadar glukosa yang berbeda dimaksudkan untuk mengetahui sampai sejauh mana glukosa sebagai sumber energi mempengaruhi motilitas sperma lebah jika disimpan pada temperatur berbeda. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui lebah madu jantan (*A. mellifera* L.) dewasa kelamin dan motilitas sperma hasil pemijitan pada berbagai temperatur penyimpanan dalam media pengencer dengan kadar glukosa yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dari Bulan Mei sampai Bulan Desember 1998 di Unit Pelaksana Pengembangan Perlebahan (UP3) Regaloh Pati, Jawa Tengah dan Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sperma lebah jantan *A. mellifera* milik UP3 Regaloh Pati, Jawa Tengah, Pusat Perlebahan Nasional (Pusbahnas) Parungpanjang dan peternak lebah di Semplak Bogor, Jawa Barat.

Pemanenan Jantan

Pejantan diambil dari koloni yang dipilih secara acak dari peternak berdasarkan ketersediaan jantan dalam koloni. Mengacu pada Harbo (1993) seleksi koloni dilakukan berdasarkan adanya telur pada sisiran jantan yang dihasilkan betina ratu, kepadatan betina pekerja, dan produksi madu.

Pemanenan Sperma

Pemanenan sperma diawali dengan pengamatan morfologi jantan yang meliputi banyaknya bulu punggung dan warna abdomen. Jantan dipijit (massage) pada bagian abdomen hingga seluruh bagian penis keluar. Pipa kapiler yang dihubungkan dengan spuit (3ml) terdapat pada siring dan telah diisi modifikasi media pengencer sperma "Kiev" , disentuh pada permukaan sperma yang akan diambil. Sperma hasil pemanenan dikoleksi dalam tabung koleksi sesuai dengan kadar glukosa dalam media pengencer (0%, 0,3%, 0,6%, dan 0,9%) dan disimpan pada temperatur berbeda (5°C, 27°C dan 37°C). Koleksi semen hasil pemanenan dari beberapa ekor lebah diencerkan dengan menambahkan media pengencer hingga volume mencapai 3500µl. Perkiraan konsentrasi total sperma setelah pengenceran dari volume $\pm 1\mu\text{l}$ per lebah sekitar 5×10^6 sperma/ml.

Pengamatan Morfologi dan Motilitas sperma

Pengamatan morfologi meliputi bentuk, ukuran dan abnormalitas sperma. Penilaian semen berdasarkan jumlah sel sperma bentuk abnormal dilakukan dengan cara menghitung semua sel sperma dalam satu bidang pandang mikroskopis sampai mendapatkan 100 sel, terdiri dari sperma normal dan abnormal (Partodihardjo, 1992). Dalam penelitian ini penilaian semen berdasarkan penghitungan jumlah sperma dilakukan 12 kali ulangan. Uji

motilitas sperma pada temperatur penyimpanan dan media pengencer dengan kadar glukosa yang berbeda dilakukan di bawah mikroskop selama 36 jam dengan interval waktu pengamatan 6 jam. Pengujian terhadap interaksi antara perlakuan kadar glukosa dan temperatur penyimpanan dilakukan dengan uji Duncan pada selang kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada suatu koloni dimana ratu yang mulai lemah (tua) maka ia akan memproduksi jantan yang berlimpah untuk mengimbangi calon ratu yang akan segera lahir, sehingga pada saat ratu siap kawin, jantan yang dewasa kelamin juga cukup tersedia. Jantan diproduksi selama nektar berlimpah (musim bunga) dan produksinya akan terhenti saat musim paceklik. Hal ini berkaitan dengan iklim yang berpengaruh terhadap ketersediaan pakan karena penyerbukan dipengaruhi oleh temperatur dan kelembaban (Gojmerac, 1983). Hasil pengamatan morfologi lebah jantan yang dipijit terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Ciri morfologi eksternal lebah jantan dewasa kelamin

Ciri morfologi	Jumlah lebah penghasil sperma (%) (n = 215)
Banyaknya bulu punggung (Sedang)	213 (99,06)
Warna abdomen (Hitam garis kuning)	164 (76,28)
Keadaan abdomen pasca pemijitan (Mengeras)	133 (61,86)
Warna kornua (Kuning sampai oranye)	186 (86,51)

Dengan ciri-ciri yang didapat tersebut diperkirakan jantan yang mengandung sperma matang berumur 12-20 hari setelah lahir. Mengacu pada Kurennoi (1953) dalam Fert (1997) bahwa sperma bermigrasi ke testis pada umur 3 hari dan berakhir pada hari ke-6. Mindt (1961) dalam Ruttner (1976) mengemukakan bahwa migrasi sperma tidak dimulai hingga 2-3 hari setelah lahir.

Semen dapat dibedakan dari mukus yang berwarna putih homogen. Semen berwarna kuning dengan struktur berbentuk bulatan dan berada di atas mukus. Kandungan sperma yang tinggi menyebabkan warnanya lebih gelap dengan kekentalan yang cukup tinggi. Ruttner (1976) mengemukakan bahwa kualitas semen yang baik untuk IB adalah berwarna

krem kekuningan dan tidak bercampur dengan mukus yang diperoleh melalui teknik pemijitan. Hal ini dapat dibedakan melalui pengeluaran secara pemijitan hanya dari jantan sekurang-kurangnya berumur 12 hari. Pada penelitian ini dari 1060 ekor lebah madu jantan *A. mellifera* yang dipijit terdapat 215 ekor mengandung sperma matang dengan volume sperma berada pada kisaran 0,80-1,30 μ l (rata-rata 1,11 μ l). Menurut Woyke (1985) volume semen dari satu jantan berada pada kisaran 1,00-1,25 μ l. Konsentrasi rata-rata sperma yang diperoleh dari setiap lebah adalah 4, 32x10⁶ sperma/ml. Sedangkan rata-rata sperma motil yang diperoleh dari setiap lebah jantan adalah 0,64x10⁶ sperma/ml.

Ukuran sperma beragam pada setiap jenis serangga. Bentuk sperma lebah seperti benang yang sangat tipis dengan panjang kira-kira 250 μ m dan berdiameter 0,50 μ m. Kepala dengan panjang kira-kira 10 μ m terdiri dari inti yang mengandung nukleus dimana terdapat gen-gen khusus yang akan diturunkan oleh jantan (Dade, 1985). Pada penelitian ini hasil pengamatan pada *A. mellifera* panjang sperma yang terukur berkisar antara 107,50-412,50 μ m (rata-rata 217,56 μ m), dan panjang kepala berkisar antara 5-10 μ m (rata-rata 7,52 μ m).

Abnormalitas sperma adalah penyimpangan morfologi dari kerangka normal sperma.. Ragam morfologi sperma lebah yang didapatkan dalam penelitian ini terlihat pada Tabel 2.

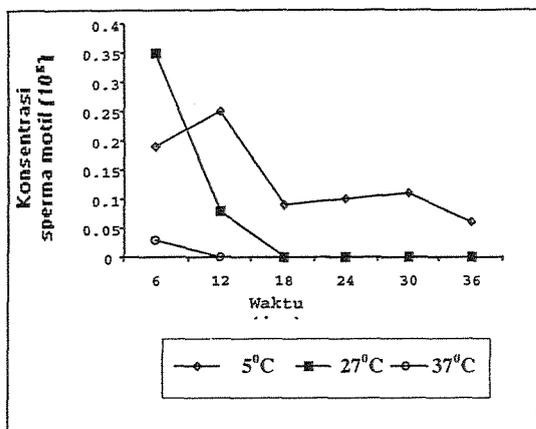
Tabel 2. Morfologi sperma

Morfologi sperma	Persentase sperma (ekor, n=1200)
Normal	705 (58,75)
Abnormal : Ekor melipat	238 (18,83)
Ekor patah	153 (12,75)
Ekor bercabang	77 (6,42)
Kepala bercabang	27 (2,25)

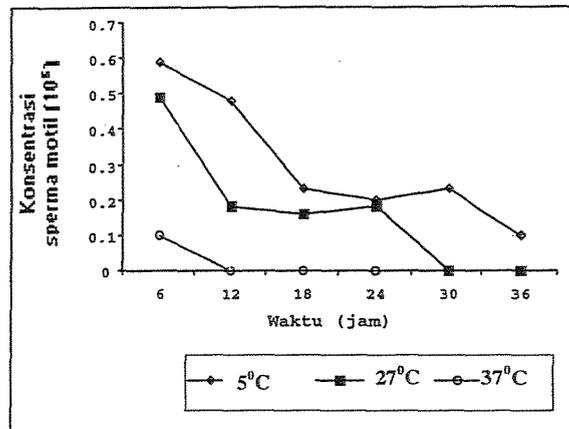
Berdasarkan hasil pengamatan motilitas sperma lebah pada berbagai konsentrasi glukosa dalam media pengencer (modifikasi larutan "Kiev") dan temperatur yang berbeda didapatkan grafik rasio motilitas sperma yang disajikan pada Gambar 1, 2, 3, dan 4.

Kadar glukosa 0% dalam media pengencer, diperoleh konsentrasi sperma motil tertinggi hingga 36 jam pengamatan adalah sperma yang disimpan pada temperatur 5°C yaitu sebanyak 0,06x10⁶ sperma/ml (Gambar 1). Sedangkan pada temperatur 27°C dapat bertahan 12 jam waktu pengamatan sebanyak 0,08x10⁶ sperma/ml. Pada temperatur penyimpanan 37°C sperma motil hanya dapat bertahan hingga waktu pengamatan 6 jam sebanyak

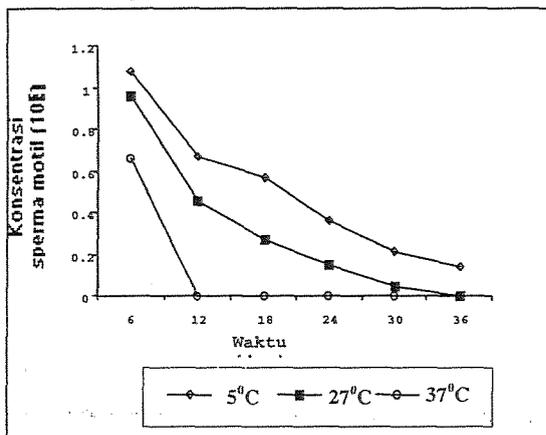
0,03x10⁶ sperma/ml. Konsentrasi sperma motil mengalami penurunan hingga sperma motil tidak teramati. Hal ini terjadi pada temperatur penyimpanan 27°C dan 37°C. Temperatur penyimpanan tersebut mempengaruhi aktivitas enzim yang terdapat dalam sperma. Keadaan ini terlihat dari penurunan konsentrasi sperma yang mampu mempertahankan motilitasnya. Aktivitas enzim pada temperatur 5°C akan terhambat.



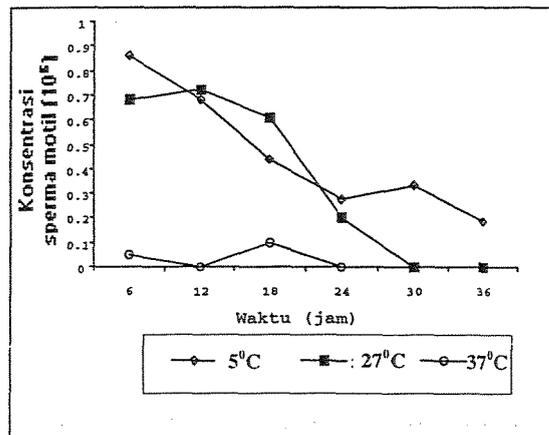
Gambar 1. Grafik rasio konsentrasi sperma motil pada kadar glukosa 0%



Gambar 2. Grafik rasio konsentrasi sperma motil pada kadar glukosa 0,3%



Gambar 3. Grafik rasio konsentrasi sperma motil pada kadar glukosa 0,6%



Gambar 4. Grafik rasio konsentrasi sperma motil pada kadar glukosa 0,9%

Pada Gambar 2 dengan kadar glukosa 0,3% diperoleh konsentrasi sperma motil tertinggi yang teramati terjadi pada temperatur penyimpanan 5°C yaitu sebanyak 0,10x10⁶ sperma/ml, yang dapat bertahan hingga 36 jam. Sedangkan pada dua temperatur lain (27°C dan 37°C) masing-masing bertahan hingga 24 jam sebanyak 0,18x10⁶ sperma/ml dan 6 jam sebanyak 0,10x10⁶ sperma/ml.

Kadar glukosa 0,6% diperoleh konsentrasi sperma motil yang teramati pada temperatur penyimpanan 5°C yaitu sebanyak $0,14 \times 10^6$ sperma/ml dan dapat bertahan hingga 36 jam (Gambar 3). Sedangkan konsentrasi sperma yang dapat bertahan pada temperatur penyimpanan 27°C dan 37°C masing-masing hanya dapat bertahan hingga 24 jam sebanyak $0,05 \times 10^6$ sperma/ml dan 6 jam sebanyak $0,66 \times 10^6$ sperma/ml.

Konsentrasi sperma motil tertinggi yang teramati pada temperatur penyimpanan 5°C sebanyak $0,19 \times 10^6$ sperma/ml dicapai pada kadar glukosa 0,9% (Gambar 4) dan dapat bertahan hingga 36 jam. Konsentrasi sperma motil pada temperatur penyimpanan 27°C dapat bertahan hingga 24 jam sebanyak $0,20 \times 10^6$ sperma/ml. Sedangkan pada temperatur 37°C dapat bertahan hingga 18 jam yaitu sebanyak $0,10 \times 10^6$ sperma/ml.

Dari keempat gambar di atas (Gambar 1, 2, 3, dan 4) motilitas sperma secara umum mengalami penurunan setelah 6 jam pertama pengamatan. Hal ini berkaitan dengan kemampuan sperma mengakumulasi dan memanfaatkan sumber energi (glukosa) yang ditambahkan.

Pengamatan dilakukan sampai 36 jam karena sampai selang waktu tersebut sebagian besar sperma telah mati pada temperatur penyimpanan 27°C dan 37°C. Poole dan Taber (1970); Taber dan Blum (1960) dalam Sittadewi (1989) menyatakan bahwa semen dapat disimpan pada temperatur titik beku dalam jangka waktu yang relatif lama. Walaupun demikian secara statistika interaksi antara temperatur dan kadar glukosa yang terdapat dalam media pengencer tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

KESIMPULAN

Sperma pada setiap jenis serangga berbeda dalam volume, ukuran dan abnormalitas serta ketahanan terhadap temperatur dalam media pengencer dengan kadar glukosa yang berbeda pada penyimpanan *in-vitro*. Volume rata-rata sperma yang diperoleh dari setiap lebah jantan adalah 1,11 μ l. Konsentrasi rata-rata sperma hasil pemijitan dari setiap lebah adalah $4,34 \times 10^6$ sel sperma/ml. Sedangkan konsentrasi sperma motil setiap lebah sebanyak $0,64 \times 10^6$ sel sperma/ml. Dari penelitian ini didapatkan konsentrasi sperma yang masih dapat bertahan hidup (motil) hingga akhir waktu penamatan (36 jam) pada temperatur penyimpanan 5°C dengan kadar glukosa yang berbeda. Konsentrasi tertinggi sperma motil hingga akhir pengamatan didapat pada penyimpanan dalam media pengencer dengan kadar glukosa 0,9% yaitu sebanyak $0,19 \times 10^6$ sperma/ml. Sedangkan penyimpanan pada temperatur

27°C dan 37°C ketahanannya kurang dari 36 jam. Sperma cenderung mengalami penurunan motilitas setelah 6 jam waktu penyimpanan yang terjadi pada berbagai tingkat kadar glukosa. Pada penelitian ini didapatkan bahwa penyimpanan sperma lebah terbaik dalam media "Kiev" adalah pada temperatur 5°C dengan kadar glukosa 0,9%.

DAFTAR PUSTAKA

- Dade, H.A. 1985. *Anatomy and Dissection of The Honeybee*. International Bee Research Association. London.
- Fert, G. 1997. *Breeding Queens. Production of package bees*. Introduction to Instrumental Insemination. O.P.I.D.A. Argentan. France.
- Gojmerac, W.L. 1983. *Bees, Beekeeping, Honey and Pollination*. AVI Publishing Company Inc. Westport Connecticut. United State.
- Harbo, J.R. 1993. Worker-bee Crowding Affects Brood Production, Honey Production and Longevity of Honey Bees (Hymenoptera : Apidae). *J. Econ. Entomol.* 86 : 1672-1678.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Fakultas Kedokteran Veteriner Jurusan Reproduksi IPB. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- Ruttner, F. 1976. *The Instrumental Insemination of The Queen Bee*. APIMONDIA. International Beekeeping Technology and Economy Institute, Oberursel, German.
- Sittadewi, H. 1989. Inseminasi Buatan untuk Ratu Lebah. *Duta Rimba. Direktorat Konservasi Sumberdaya Alam PKA*. BPPT. XV : 3-9.
- Soeminta, D.S. 1995. *Pengaruh Pemberian Ransum Makanan Buatan Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Lebah Madu Apis mellifera Linn.* Skripsi. Jurusan Manajemen Hutan Fakultas Kehutanan IPB. Bogor.
- Woyke, J. 1985. Instrumental Insemination of Honey-bee Queens in The Development of Beekeeping. *Anim. Word. Review.* 56 : 40-44.