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

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

Lea Tarliyah[1], Arief Boediono[2], dan Djoko Walujo[1]

[1]Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Padjajaran Bogor 16144 INDONESIA, Tel. (62-251)328837, 323081 Pes. 207;Telefax. 328837 E-mail; bio-ipb@mipabogor.net.id atau dupakbio@mipabogor.net.id

[2]Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Jl. Taman Kencana 1, Bogor 16151 INDONESIA

ABSTRAK

Media Veteriner. 1999. 6(4): 15-20.

Masalah utama dalam perkawinan ratu lebah baik secara alamiah maupun secara Inseminasi Buatan (IB) adalah sperma. Penelitian ini diawali dengan pengamatan morfologi eksternal lebah jantan yang kemungkinan berkorelasi dengan umur dan kedewasaan lebah jantan. Pengamatan morfologi meliputi banyaknya bulu punggung dan warna abdomen. Pemanenan sperma dilakukan dengan cara pemijitan jantan pada bagian abdomen hingga penis dan bentukan semen terlihat. Semen dipanen berdasarkan modifikasi media pengencer sperma "Kiev", kemudian dilakukan penghitungan volume semen, abnormalitas sperma, dan pengamatan pergerakan sperma. Pengaruh suhu penyimpanan (5 °C, 27 °C dan 37 °C) dan kadar glukosa (0%, 0,3%, 0,6%, dan 0,9%) dalam media pengencer terhadap pergerakan sperma diamati dalam rangkaian penelitian ini. 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). Jantan dewasa kelamin akan menghasilkan semen yang mengandung sperma matang dengan warna krem kekuningan dan berbeda dari mukus yang berwarna putih. Volume rata-rata semen dari setiap lebah adalah 1,11 µl. Ukuran sperma berkisar antara 107,50-412,50 µm (rata-rata 217,57 µm) dengan panjang kepala 5-10µm (rata-rata 7,52 µm). Abnormalitas sperma sesaat setelah pengoleksian berupa sperma ekor melipat 19,83%, ekor patah 12,75%, ekor bercabang 6,42%, dan kepala bercabang 2,25%. Pergerakan sperma tertinggi dicapai pada suhu penyimpanan 5 °C dalam media pengencer dengan kadar glukosa 0,9%. Sperma masih dapat bertahan hingga 36 jam setelah pengoleksian dengan konsentrasi sperma motil sebanyak $0{,}19 \times 10^6$ sperma/ml. Pergerakan yang tinggi secara umum dicapai sperma pada suhu penyimpanan 5 °C dalam berbagai tingkat kadar glukosa.

Kata-kata kunci: lebah jantan, morfologi dan pergerakan sperma, suhu penyimpanan sperma, glukosa

ABSTRACT

Media Veteriner. 1999. 6(4): 15-20.

Sperm motility is the main problem for honeybee's reproduction both in natural and in artificial insemination. Sperm produced only by sexually mature drone. Drone with high semen volumes can be seen by the external morphology like hairy in back and the existence of yellow stripes on their black abdomen. Semen samples were collected from the drone by the massage technique; these consist of massaging the abdomen of drone. This massage proceeded until penis and semen cream to yellow color, was produced. Semen taken out with spuit (3 ml) that contain a modification dilution media called "Kiev". Semen samples were collected; volume, abnormalities and motility were measured. The sexually mature drones were observed in 99.06% (213/215) drones with rare hair in back and 76.28% (164/215) with existence of the yellow stripes in the black abdomen. The color of sperm is yellowish white, which is different from mucous that is white. The average volume of semen samples from each drone is 1.11 µl. The average length of sperm is 217.57 µm (107.50-412.50 µm). The average length of sperm is 7,52 µm (5-10µm). It's flipped tails, broken tails, double tails, and double heads with an average of 19.83%, 12.75%, 6.42%, and 2,25% respectively can determine abnormalities of the sperm. To conduct the artificial insemination, drone sperm should always be available. For this reason sperm should be preserved in an optimal condition storage temperature (5 °C, 27 °C and 37 °C) and glucose concentration (0%, 0,3%, 0,6%, and 0,9%) containing in the dilution media. This condition can be affecting the sperm motility. The highest motility is achieved when the sperm is kept in 0,9% glucose concentration and storage in 5 °C temperature. In this condition 0.19×10^6 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 concentration and temperature levels does not give significant affects.

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

PENDAHULUAN

Kemajuan teknologi yang diiringi dengan pesatnya pertambahan penduduk menuntut terpenuhinya kebutuhan pangan dan kebutuhan lainnya. Madu sebagai produk utama kegiatan perlebahan banyak digunakan untuk berbagai keperluan. *Apis mellifera* L. merupakan jenis lebah madu Eropa dan jenis unggul yang dapat beradaptasi 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. Dalam teknologi IB pada lebah, perhatian lebih banyak ditujukan pada keadaan betina ratu dan jumlah dan mutu semen. Pengumpulan semen yang berkualitas sebenarnya jauh lebih sulit dari teknik IB itu sendiri. Pengetahuan tentang pengumpulan dan penyimpanan 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 uji 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 bervariasi dimaksudkan untuk mengetahui sampai sejauh mana glukosa sebagai sumber energi mempengaruhi pergerakan sperma lebah jika disimpan pada suhu berbagai suhu.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui morfologi fisik lebah madu jantan (*A. mellifera* L.) yang telah dewasa kelamin dan pergerakan sperma hasil pemijitan pada berbagai suhu penyimpanan dalam media pengencer dengan kadar glukosa yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Asal Lebah

Lebah jantan *A. mellifera* L. yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Unit Pelaksana Pengembangan Perlebahan (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. Seleksi koloni dilakukan berdasarkan adanya telur pada sisiran jantan yang dihasilkan betina ratu, kepadatan betina pekerja, dan produksi madu (Harbo, 1993).

Pemanenan Sperma dan Pergerakan 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 alat suntik (3ml) terdapat pada tabung suntik dan telah diisi modifikasi media pengencer sperma "Kiev" disentuhkan pada permukaan sperma yang akan diambil. Sperma hasil pemanenan dikumpulkan dalam tabung pengumpul sesuai dengan kadar glukosa dalam media pengencer (0%, 0,3%, 0,6%, dan 0,9%) dan disimpan pada suhu berbeda (5 °C, 27 °C dan 37 °C). Pengumpulan semen hasil pemanenan dari beberapa ekor lebah diencerkan dengan menambahkan media pengencer hingga volume mencapai 3.500 µl. Perkiraan kandungan total sperma setelah pengenceran dari volume ± 1µl per lebah sekitar 5×10^6 sel sperma.

Pengamatan Morfologi dan Pergerakan 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 mikroskopik 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 pergerakan sperma pada suhu penyimpanan dan media pengencer dengan kadar glukosa yang berbeda dilakukan di bawah mikroskop selama 36 jam dengan selang waktu pengamatan enam jam. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah sperma motil pada 10 bidang pandang dengan dua kali ulangan setiap perlakuan pada selang pengamatan yang telah ditetapkan.

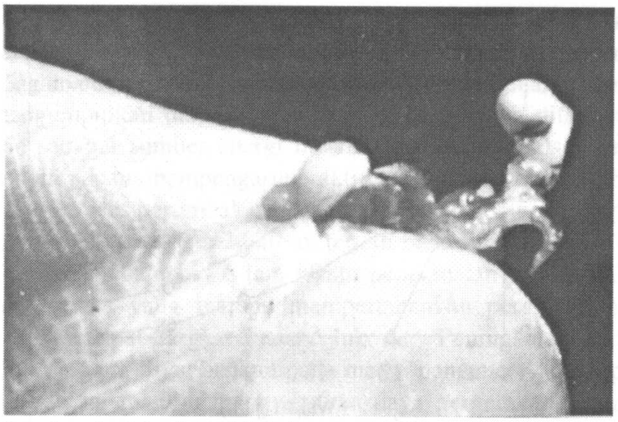
Pengujian terhadap interaksi antara perlakuan kadar glukosa dan suhu penyimpanan dilakukan dengan Uji Duncan pada selang kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada satu koloni, ratu yang mulai lemah (tua) akan menghasilkan jantan yang berlimpah untuk mengimbangi calon ratu yang akan segera lahir. Pada saat ratu siap kawin, jantan yang dewasa kelamin juga cukup tersedia. Jantan dihasilkan 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 suhu dan kelembaban (Gojmerac, 1983). Hasil pengamatan morfologi lebah jantan yang dipijit terlihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Ciri morfologi eksternal lebah jantan

Ciri morfologi	Jumlah lebah penghasil sperma (%)
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)

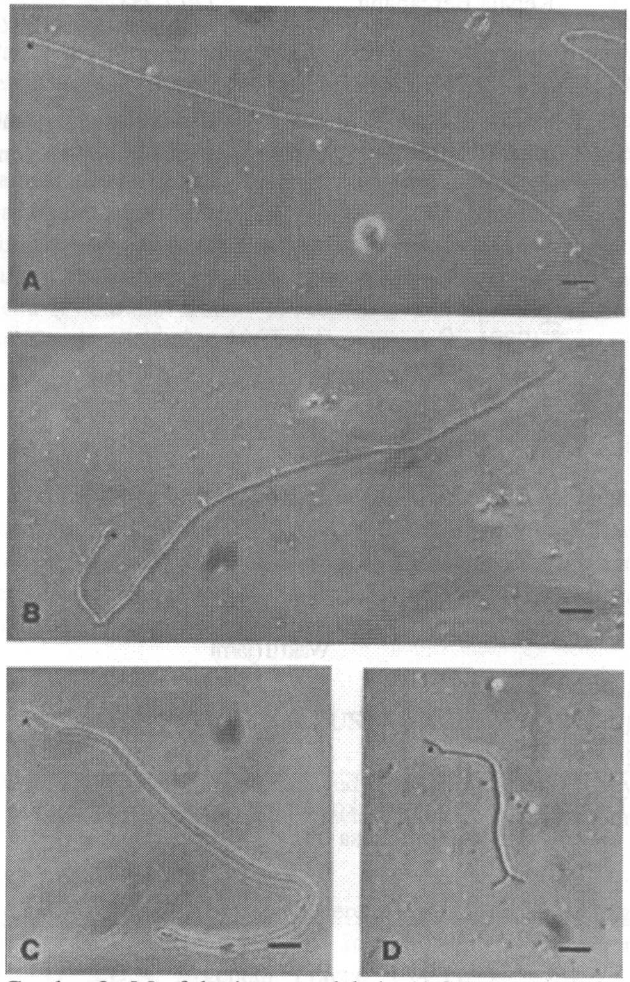


Gambar 1. Morfologi lebah yang dipijit

Semen berwarna kuning dengan struktur berbentuk bulatan dan berada di atas mukus yang berwarna putih homogen (Gambar 1). 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 (Gambar 1). Dalam penelitian ini dari 1.060 ekor lebah madu jantan *A. mellifera* yang dipijit terdapat 215 ekor mengandung sperma matang dengan volume sperma berada pada kisaran 0,80-1,30 µl (rataan 1,11 µl). sedangkan Woyke (1985) melaporkan bahwa volume semen dari satu jantan berada pada kisaran 1,00-1,25 µl.

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

Abnormalitas sperma adalah penyimpangan morfologi dari kerangka normal sperma. Perbandingan morfologi sperma lebah terlihat pada Gambar 2 (b, c dan d). Ragam morfologi sperma lebah yang didapatkan dalam penelitian ini terlihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Morfologi sperma lebah: A) Sperma normal, B) Sperma dengan ekor patah, C) Sperma dengan ekor melipat, D) Sperma dengan ekor bercabang. Keterangan: *kepala sperma; bar = 20 µm

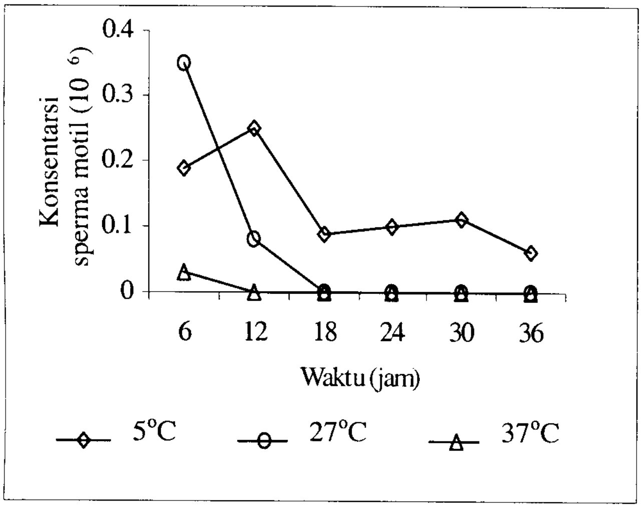
Hasil pengamatan penyimpanan sperma lebah pada berbagai konsentrasi glukosa dalam media pengencer (modifikasi larutan "Kiev") dan suhu yang berbeda disajikan pada grafik rasio konsentrasi sperma motil (Gambar 3a, 3b, 3c, dan 3d). Kadar glukosa 0% dalam media pengencer, diperoleh konsentrasi sperma motil tertinggi hingga 36 jam pengamatan dan disimpan pada suhu lima derajat Celcius dengan jumlah $0,06 \times 10^6$ sperma/ml (Gambar 3a). Sedangkan

Tabel 2. Abnormalitas sperma

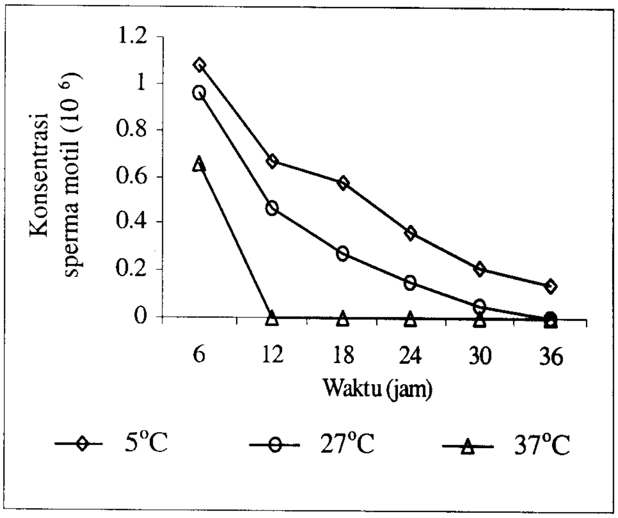
Morfologi sperma	Persentase sperma (ekor, n=1200)
Normal	705 (58,75)
Abnormal :	
Ekor melipat	238 (18,83)
Ekor Patah	153 (12,75)
Ekor Bercabang	77 (6,42)
Kepala Bercabang	27 (2,25)

pada suhu 27 °C dapat bertahan 12 jam waktu pengamatan dengan jumlah $0,08x10^6$ sperma/ml. Pada suhu penyimpanan 37 °C sperma motil hanya dapat bertahan hingga waktu pengamatan enam jam pertama dengan jumlah $0,03x10^6$ sperma/ml. Kandungan sperma motil mengalami penurunan hingga sperma motil tidak teramati yang terjadi pada suhu penyimpanan 27 °C dan 37 °C. Suhu penyimpanan tersebut mempengaruhi aktivitas enzim yang terdapat dalam sperma yang terlihat dari penurunan jumlah sperma yang mampu mempertahankan pergerakannya. Aktivitas enzim juga akan terhambat pada suhu lima derajat Celcius.

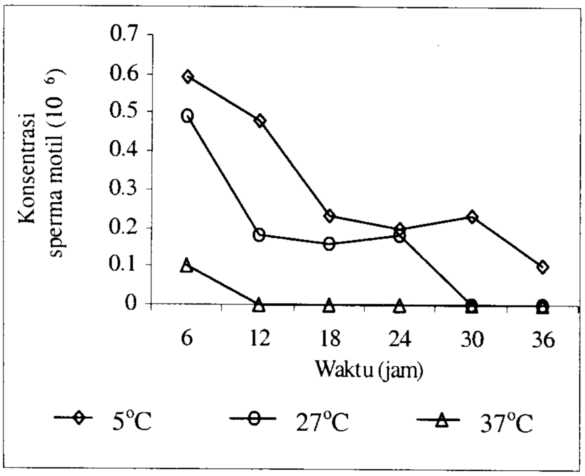
Pada kadar glukosa 0,3% (Gambar 3b) diperoleh kandungan sperma motil tertinggi yang teramati terjadi pada suhu penyimpanan lima derajat Celcius dengan jumlah $0,10x10^6$ sperma/ml dan bertahan hingga 36 jam. Sedangkan pada suhu 27 °C dan 37 °C masing-masing bertahan hingga 30 jam dengan jumlah $0,18x10^6$ sperma/ml dan enam



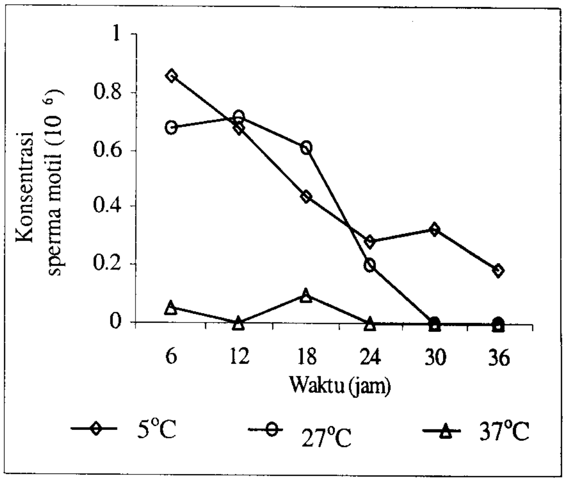
Gambar 3a. Grafik rasio konsentrasi sperma motil pada kadar glukosa 0%



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



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



Gambar 3d. Grafik rasio konsentrasi sperma motil pada kadar glukosa 0,9%

jam dengan jumlah $0,10 \times 10^6$ sperma/ml.

Pada kadar glukosa 0,6% diperoleh kandungan sperma motil yang teramati pada suhu penyimpanan lima derajat Celcius dengan jumlah $0,14 \times 10^6$ spema/ml dan dapat bertahan hingga 36 jam (Gambar 3c). Sedangkan konsentasi sperma yang dapat bertahan pada suhu penyimpanan 27 °C dan 37 °C masing-masing dapat bertahan hingga 30 jam dengan jumlah $0,05 \times 10^6$ sperma/ml dan enam jam dengan jumlah $0,66 \times 10^6$ sperma/ml.

Kandungan sperma motil tertinggi yang teramati pada suhu penyimpanan lima derajat Celcius dengan jumlah $0,19 \times 10^6$ sperma/ml dicapai pada kadar glukosa 0,9% (Gambar 3d) dan dapat bertahan hingga 36 jam. Kandungan sperma motil pada suhu penyimpanan 27 °C dapat bertahan hingga 24 jam sebanyak $0,20 \times 10^6$ sperma/ml. Pada suhu 37 °C dapat bertahan hingga 18 jam dengan jumlah $0,10 \times 10^6$ sperma/ml.

Dari Gambar 3a, 3b, 3c, dan 3d, pergerakan sperma secara umum mengalami penurunan setelah enam jam pertama pengamatan. Hal ini berkaitan dengan kemampuan sperma mengumpulkan dan memanfaatkan glukosa yang ditambahkan sebagai sumber energi melalui proses glikolisis. Suhu penyimpanan mempengaruhi aktivitas enzim yang terlibat dalam proses perombakan energi. Pengaruh suhu penyimpanan terbaik pada penelitian ini terjadi pada lima derajat Celcius karena sampai 36 jam waktu pengamatan masih terdapat sperma yang mampu mempertahankan pergerakannya pada keempat tingkat kadar glukosa. Peningkatan kadar glukosa yang ditambahkan pada media pengencer dalam penelitian ini mampu meningkatkan daya pergerakan sperma pada suhu penyimpanan lima derajat Celcius. Kandungan tertinggi sperma yang mampu mempertahankan pergerakannya adalah pada penyimpanan dengan kadar glukosa dalam media pengencer 0,9% dengan jumlah $0,19 \times 10^6$ sperma/ml.

Waktu pengamatan yang dipilih sampai 36 jam karena sampai selang waktu tersebut sebagian besar sperma telah mati pada suhu penyimpanan 27 °C dan 37 °C. Poole dan Taber (1970); Taber dan Blum (1960 *dalam* Sittadewi, 1989) menyatakan bahwa semen dapat disimpan pada suhu titik beku dalam jangka waktu yang relatif lama. Sementara itu Lensky dan Schinder (1967, *dalam* Sittadewi, 1989) membuktikan bahwa keadaan ini memburuk pada suhu di bawah titik beku.

KESIMPULAN

Sperma pada setiap jenis serangga berbeda dalam volume, ukuran dan abnormalitas serta ketahanan terhadap suhu dalam media pengencer dengan kadar glukosa yang berbeda pada penyimpanan *in vitro*. Volume rata-rata sperma yang diperoleh adalah sebanyak 1,11µl per lebah jantan. Kandungan rataan sperma hasil pemijitan dari setiap lebah adalah $4,34 \times 10^6$ sperma/ml dan kandungan rataan sperma yang bergerak dari setiap lebah adalah $0,64 \times 10^6$ sperma/ml. Didapat kandungan sperma yang masih dapat bertahan hidup hingga akhir waktu pengamatan pada suhu penyimpanan 5 °C dengan kadar glukosa yang berbeda. Kandungan tertinggi sperma yang bergerak hingga akhir pengamatan didapat pada penyimpanan dalam media pengencer dengan kadar glukosa 0,9% dengan jumlah $0,19 \times 10^6$ sperma/ml. Sedangkan penyimpanan pada suhu 27 °C dan 37 °C ketahanannya kurang dari 36 jam. Sperma cenderung mengalami penurunan pergerakan setelah enam jam waktu penyimpanan yang terjadi pada berbagai tingkat kadar gukosa. Pada penelitian ini didapatkan bahwa penyimpanan sperma lebah terbaik dalam media modifikasi "Kiev" adalah pada suhu lima derajat Celcius dengan kadar glukosa 0,9%.

Waktu pengamatan yang dipilih sampai 36 jam karena sampai selang waktu tersebut sebagian sperma telah mati pada suhu penyimpanan 27 °C dan 37 °C. Semen dapat disimpan pada suhu titik beku dalam jangka waktu yang relatif lama dan keadaan ini memburuk pada suhu di bawah titik beku (Poole dan Taber, 1970; Taber dan Blum, 1960 dan Lensky dan Schinder, 1967 *dalam* Sittadewi, 1989).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Unit Pelaksana Pengembangan Perlebahan (UP3) Regaloh Pati Jawa Tengah, Pusat Perlebahan Nasional (Pusbahnas) Parungpanjang Bogor dan peternak lebah Semplak Bogor Jawa Barat yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Dade, H.A. 1985. Anatomy and Dissection of the Honeybee. International Bee Research Association. London. 72-73 p.

Fert, G. 1997. Breeding Queens. Production of package bees. Introduction to Instrumental Insemination. O.P.I.D.A. Argentan. France. 13-23 p.

Gojmerac, W.L. 1983. Bees, Beekeeping, Honey and Pollination. AVI Publishing Company Inc. Westport Connecticut. United State. 9-15 p.

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. 540 hal.

Ruttner, F. 1976. The Instrumental Insemination of the Queen Bee. APIMONDIA. International Beekeeping Technology and Economy Institute, Oberursel, German. p. 20-22.

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.