

KUALITAS SEMEN AYAM KAMPUNG PADA DURASI PRESERVASI YANG BERBEDA

KAMPUNG CHICKEN CEMENT QUALITY ON PRESERVATION DURATION DIFFERENT

Ummul Masir¹, Aisyah¹, Subhan Effendi¹, Abd. Latief Toleng², Muhammad Yusuf², Sahiruddin², Masturi²

¹Agribisnis Peternakan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan

²Laboratorium Reproduksi Ternak, Departemen Produksi, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin

Correspondence Author : ummulmasir@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) 7% dalam mempertahankan kualitas spermatozoa yang dipreservasi dengan lama penyimpanan berbeda. Sampel semen dikoleksi dari dua ekor ayam kampung dewasa dilanjutkan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Semen dicampur pada tabung yang sama lalu diencerkan dengan ringer laktat + kuning telur (RLKT) ditambahkan DMSO sebanyak 7%. Semen disimpan pada suhu 5 °C selama 0, 2, 4, 6, dan 24 jam dengan parameter pengamatan meliputi motilitas dan viabilitas, masing-masing pengulangan sebanyak 3 kali. Penelitian didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dan diuji lanjut dengan uji *duncan* pada parameter pengamatan yang berbeda nyata ($P < 0,01$). Hasil memperlihatkan. Pemanfaatan senyawa DMSO sebagai pengencer mampu mempertahankan motilitas spermatozoa yang dipreservasi suhu 5°C hingga penyimpanan 0 jam, namun berada pada siaran yang layak untuk dikriopreservasi hingga penyimpanan 6 jam. Pada studi selanjutnya dibutuhkan pengembangan terkait penggunaan pengencer sebagai krioprotektan dan preservasi spermatozoa Ayam kampung dengan konsentrasi berbeda.

Kata kunci: Ayam Kampung, *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), Motilitas, Spermatozoa, dan Viabilitas.

ABSTRACT

The study aims to effectively determine DMSO 7% for the quality of native chicken's semen stored at different times. To accumulate a large quantity, semen from two chickens was pooled. Semen was collected from mature native chicken then evaluated macroscopically and microscopically. Samples were diluted using extender Ringer lactate + Yolk (RLKT) + DMSO 7%. Subsequently, the aliquot was incubated for 0, 2, 4, dan 24 hours to analyze the effect of the duration of storage in 5 °C. All assays (motility and viability) were conducted immediately after dilution till the end of a time of storage. Data were analyzed using a one-way analysis of variance. The result illustrated that DMSO as a diluent was able to maintain the motility of spermatozoa which were preserved at 5°C for up to 0 hours of storage but were in a broadcast suitable for cryopreservation up to 6 hours of storage. Further studies are needed to develop diluents as cryoprotectants and spermatozoa preservation of free-range chickens with different concentrations.

Key Words: *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), Motility, Native chicken, Sperm, and Viability.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki beberapa jenis ayam lokal seperti ayam kampung (*Gallus domesticus*) dengan bentuk tubuh ramping dan berotot. Bagi masyarakat umum, keberadaan ayam lokal mampu memenuhi kebutuhan daging dan kebutuhan telur. Kecenderungan ayam lokal yang ada di Indonesia memiliki pertumbuhan yang lambat, produksi telur rendah, dan proporsi tubuh lebih kecil daripada ayam ras sehingga dapat menurunkan kualitas genetiknya. Perbaikan mutu genetik dapat dilakukan melalui teknik pemuliaan yaitu mengawinkan ternak betina dengan pejantan unggul yang berada pada garis keturunan berbeda baik secara kawin alam atau inseminasi buatan (IB). Blanco et al (2009) melaporkan bahwa pemanfaatan IB juga berperan pada unggas yang hidup di alam liar dan berhasil diterapkan pada program pembibitan penangkaran unggas terancam punah.

Dalam mendukung penerapan IB pada ternak unggas, dibutuhkan ketersediaan spermatozoa dari bibit (pejantan) unggul. Semen bisa dalam bentuk segar (ejakulat) dan beku (*frozen semen*). Proses pembekuan melalui teknik kriopreservasi yang diawali oleh teknik penyimpanan atau equilibrasi. Tahapan ini berarti penyimpanan spermatozoa pada suhu optimal 5°C selama durasi waktu dua jam. Penanganan semen pada proses pengenceran memicu pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menurunkan kualitas semen. Hal ini dapat diminimalkan melalui penambahan anti oksidan dan bahan penambahan krioprotektan seperti DMSO.

Komposisi bahan pengencer yang digunakan berperan dalam melindungi spermatozoa dari cekaman dingin serta sebagai penyangga terhadap perubahan pH pada saat proses penanganan semen. Penggunaan pengencer juga dapat menambah volume dari semen, sehingga kuantitas ternak betina yang ingin di IB juga bertambah sesuai dengan dosis IB yang digunakan. Level penambahan DMSO masih sangat bervariasi, namun level 7%; 10% memperlihatkan motilitas dan tingkat fertilitas terbaik (Junaedi, 2016; Telhoni; 2016). Melalui penambahan DMSO ke dalam pengencer ringer laktat kuning telur berdasarkan durasi equilibrasi beberapa jam, ingin diketahui sejauh mana kualitas spermatozoa yang layak untuk dibekukan. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui efektivitas *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) 7% dalam mempertahankan kualitas spermatozoa yang dipreservasi pada lama penyimpanan berbeda.

METODE PENELITIAN

Jenis ternak yang digunakan adalah ayam kampung dengan pemenuhan kriteria: dewasa kelamin (umur 1,5 tahun); berbadan sehat; dan memiliki bobot tubuh proporsional sebagai ayam pejantan. Ternak dipelihara dalam kandang individu dan dipisahkan dari ternak betina selama masa habituasi dan penampungan semen (dua pekan). Jenis pakan yang diberikan adalah pakan komersial (PT. Japfa Comfeed Indonesia). Pemberian pakan 120 g/ hari dengan waktu pemberian pakan pada pagi dan sore hari, sedangkan pemberian air minum secara *ad libitum*.

Pemeliharaan ternak dilakukan pada usaha peternakan ayam kampung Dahama Farm milik masyarakat. Pengamatan sampel semen dilaksanakan di laboratorium Prosesing semen Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin.

Persiapan bahan pengencer.

Bahan pengencer yang digunakan mengacu pada metode penelitian Junaedi (2016) yaitu RKTL (ringel laktat + Kuning telur) ditambahkan DMSO sebanyak 7% dari total pengencer yang digunakan (Tabel 1).

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer semen Ayam Kampung menggunakan Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 7%.

No	Komposisi	
1	Ringer Laktat (mL)	8,3
2	Kuning Telur (mL)	1
3	DMSO (mL)	0,7
4	Penisilin (IU/ mL)	1000
5	Streptomisin (mg/ mL)	1
6	pH	7
Total (mL)		10

Ringer laktat ditambahkan kuning telur kemudian dihomogenkan sampai benar-benar tercampur sempurna lalu disentrifuge dengan kecepatan 3.000 rpm/ menit selama 10 menit hingga terbentuk natan dan supernatant. Pisahkan supernatant kemudian ditambahkan Tris hingga kadar pH pengencer mencapai nilai 7 (penggunaan Tris maksimal 3% dari total pengencer).

Koleksi dan evaluasi semen ejakulat

Semen ayam kampung dikoleksi menggunakan teknik pengurutan dari dua ekor ternak ayam. Semen yang digunakan berupa *pooled* semen yaitu menggabungkan

semen dari dua ekor ternak ayam kampung ke dalam satu wadah. Semen yang terkumpul kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

Pengamatan makroskopis terdiri dari beberapa pengamatan seperti: Volume; derajat keasaman (pH); Warna; dan konsistensi, sedangkan evaluasi secara mikroskopis meliputi gerakan massa; motilitas, viabilitas, dan konsentrasi (Arifiantini, 2012).

Semen diteteskan di atas kaca preparate kemudian diamati secara subjektif di bawah mikroskop cahaya dengan skor penilaian terhadap gelombang massa yakni: sangat baik (+++); baik (++); kurang (+); tidak ada gelombang. Penentuan motilitas spermatozoa dinilai secara subjektif dengan perbandingan Semen dan NaCl fisiologi yaitu 1:8. Pengamatan dilakukan pada lima lapang pandang dalam satuan persentasi. Penentuan viabilitas spermatozoa menggunakan pewarna eosin melalui metode preparate ulas. Pengamatan dilakukan sebanyak 10 lapang pandang atau pada 200 sel di bawah mikroskop perbesaran 40x10. Spermatozoa yang tidak berwarna dikategorikan hidup, sedangkan yang berwarna tidak hidup.

Pada perhitungan konsentrasi, terlebih dahulu semen diencerkan sebanyak 500 kali (2 μ L semen dengan 998 μ L NaCl 3%). Penghitungan menggunakan kamar hitung *Neubauer* (faktor koreksi 5 kotak hitung). Semen dimasukkan ke dalam tiga tabung berbeda berdasarkan durasi preservasi (T1= 0 jam; T2= 2 jam; T3= 4 jam; T3= 24 jam) pada suhu 5 °C. Semen kemudian dilarutkan menggunakan pengencer RCTL DMSO 7% dengan dosis spermatozoa 50×10^6 per 0,25 mL.

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) berdasarkan durasi preservasi (0 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam dan 24 jam) dan tiga kali ulangan. Presentasi motilitas, dan viabilitas spermatozoa dianalisis menggunakan sidik ragam dan jika ditemukan adanya perbedaan nyata, maka dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1995). Data yang diperoleh diolah menggunakan program SPSS versi 23.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik semen ayam kampung yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 2. Semen ditampung dari dua ekor pejantan ayam kampung sesegera mungkin dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Volume semen yang diperoleh adalah 0,3 – 0,4 mL, sama dengan yang dilaporkan oleh Danang

et al (2012) yakni sebanyak 0,3 mL, dan lebih tinggi dari hasil penelitian oleh Junaedi, dkk (2016) yaitu 0,2 mL. Perbedaan volume semen tiap individu dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan ternak dipelihara.

Warna dari semen berwarna putih susu dengan konsistensi yang kental sebagai interpretasi konsentrasi sel pada satu kali penampungan. Semen diencerkan sebanyak 200 kali, sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 2360 juta/ mL. Nilai tersebut lebih rendah dari hasil penelitian Junaedi, dkk (2016) dan Danang *et al* (2012) masing-masing sebesar 3.126 Juta/ mL dan 3130 juta/ mL. Pengukuran konsentrasi dibutuhkan untuk menentukan dosis IB yang akan digunakan pada tiap satu kemasan straw.

Secara mikroskopis, motilitas dan viabilitas semen segar ayam kampung pada penelitian masing-masing sebesar 84% dan 94%. Presentasi motilitas dikatakan normal jika berada di atas 70% (Dumpala *et al*, 2006). Nilai viabilitas lebih tinggi dari presentasi motilitas karena jumlah spermatozoa yang hidup tidak semuanya bergerak progresif (Kostaman dan Utama, 2006).

Tabel 2. Karakteristik semen segar ayam kampung

No	Karakteristik Semen	Rataan ± SEM
Makroskopis		
1	Volume (mL)	0,3 - 0,4
2	pH	6,75
3	Warna	Putih susu
4	Konsistensi	Kental
Mikroskopis		
1	Gerakan Massa	+++
2	Motilitas Spermatozoa (%)	84
3	Viabilitas Spermatozoa (%)	94
4	Konsentrasi Spermatozoa (juta/ mL)	2360 x 10 ⁶

Penilaian semen ayam kampung pada penelitian ini dilakukan sesaat setelah penampungan (segar) dan setelah equilibrasi atau penyimpanan pada suhu 5 °C dalam durasi waktu berbeda. Blanco, *et al.* (2021) melaporkan bahwa penyimpanan semen pada suhu 5 °C merupakan suhu yang optimal untuk mempertahankan kualitas spermatozoa ternak ayam.

Tabel 3. Kualitas semen ayam kampung terhadap lama penyimpanan pada suhu 5 °C.

Parameter	Lama penyimpanan (jam)				
	0	2	4	6	24
Motilitas (%)	82,5 ±1,5 ^a	78 ±2,59 ^b	69,5 ±5,5 ^b	65 ±4,33 ^c	43 ±2,6 ^d
Viabilitas (%)	94 ±0,5 ^a	83 ±0,5 ^b	79,5 ±3,5 ^c	74,5 ±0,5 ^d	46 ±2,5 ^e

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,01$).

Tabel 3 menunjukkan presentasi motilitas spermatozoa setelah diencerkan dan diequilibrasi pada suhu 5 °C mengalami penurunan seiring bertambahnya masa penyimpanan. Motilitas spermatozoa pada penyimpanan 2 dan 4 jam berada pada taraf yang sama, sedangkan pada durasi 6 jam mengalami penurunan yang berbeda nyata hingga 24 jam ($P < 0,01$). Meski demikian, nilai motilitas hingga 6 jam penyimpanan masih layak untuk dilanjutkan ke tahap kriopreservasi. Penurunan motilitas disebabkan oleh perubahan suhu, tekanan osmotik dan menurunnya kadar adenosin triposfat (ATP). Marcel *et al.* (2021) melaporkan adanya interaksi antara suhu dan lama penyimpanan terhadap motilitas, plasma membran, acrosom, dan integritas DNA spermatozoa ayam. Penurunan presentasi motilitas juga dapat menurunkan aktivitas mitokondria sel, namun dapat diperlambat melalui penyimpanan suhu 5 °C.

Pemanfaatan DMSO 7% sebagai zat tambahan dalam pengencer memberikan nilai viabilitas terbaik pada lama penyimpanan 0 jam, kemudian mengalami penurunan berbeda nyata ($P < 0,01$) pada 2, 4, 6, dan 24 jam setelahnya. Nilai tersebut berada pada kisaran normal sesuai dengan penelitian Junaedi (2016) melaporkan presentasi viabilitas ayam kampung setelah equilibrasi 2 jam sebesar 78,89%.

Penurunan presentasi viabilitas dipengaruhi oleh suhu dan durasi penyimpanan. Sel yang diequilibrasi pada suhu 5°C menyebabkan terjadinya cold shock serta terbentuknya kristal es yang menembus plasma membran. Penilaian viabilitas menunjukkan kondisi membran plasma sel spermatozoa. Kuning telur dalam hal ini sebagai pengencer primer memberikan perlindungan terhadap membran plasma melalui kandungan kolesterol yang menyerupai struktur membran plasma, sehingga memberikan perlindungan ganda terhadap perubahan suhu di luar sel (Botham dan Mayes, 2009). Selanjutnya, penambahan DMSO menembus masuk ke dalam sel, menggantikan air dalam sel, dan mencegah terjadinya kristal-kristal es intraseluler (Andrey *et al.* 2007). Keberhasilan DMSO sebagai bahan pengencer dan krioprotektan

dilaporkan layak digunakan pada rentang konsentrasi 7% (Junaedi, dkk 2016) dan 10% (Telmino, 2016), dan pada itik sebesar 10% (Han *et al.* 2005). Hal tersebut perlu menjadi perhatian, karena kelebihan konsentrasi krioprotektan dalam media pengencer dapat bersifat toksik dan terhadap sel lain yang masih hidup dan berpengaruh terhadap presentasi viabilitas Yulnawati dan Setiadi (2005). Pemanfaatan DMSO pada semen unggas memperlihatkan daya toleransi yang baik terhadap jenis krioprotektan berbeda.

KESIMPULAN

Pemanfaatan senyawa DMSO sebagai pengencer mampu mempertahankan motilitas spermatozoa yang dipreservasi suhu 5°C hingga penyimpanan 0 jam, namun berada pada siaran yang layak untuk dikriopreservasi hingga penyimpanan 6 jam.

Pada studi selanjutnya dibutuhkan pengembangan terkait penggunaan pengencer sebagai krioprotektan dan preservasi spermatozoa Ayam kampung dengan konsentrasi berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada pemberi dana hibah penelitian melalui PNBP Politani Pangkep tahun anggaran 2021 sehingga pelaksanaan kegiatan dapat berjalan sebagaimana mestinya. Kepada laboratorium Semen Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin yang telah memberikan izin untuk pengujian sampel, serta Dahama Farm yang memberi Kerjasama dalam penyediaan sampel semen ayam kampung.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrey A. Gurtovenko, Anwar J. 2007. Modulating the structure and properties of cell membranes: The molecular mechanism of action of dimethyl sulfoxide. *J Phys Chem Bio.* 111:10453-10460.
- Arifiantini, R.I. 2012. Teknik koleksi dan evaluasi semen pada hewan. IPB Press: Bogor.
- Blanco, J.M., Wildt, D.E., Hofle, U., Voelker, W., Donoghue, A.M., 2009. Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species. *Theriogenology* 71, 200–213.
- Blank, M.H., Ruivo, L.P., Novaes, G.A., Lemos, E.C., Losano, J.D.A., Siqueira, A.F.P., Pereira, R.J.G. 2021. Assessing different liquid-storage temperatures for rooster spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 233:
- Botham KM, Mayes PA. 2009. Pengangkutan dan Penyimpanan Lipid. Dalam: Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Ed ke-27. Pendit BU, penerjemah. Jakarta (ID): EGC. Hlm. 225-238.

- Danang DR, Isnaini N, Trisunuwati P. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer ringer's pada suhu 4°C. *J Ternak Tropika* 13(1): 47-57
- Dumpala PR, Parker HM, Daniel MC. 2006. The effect of semen storage temperature and diluent type on the sperm quality index of Broiler breeder semen. *J Poult Sci* 5: 838- 845.
- Han XF, Niu ZY, Liu FZ, Yang CS. 2005. Effects of diluents, cryoprotectants, equilibration time and thawing temperature on cryopreservation of duck semen. *Intl J Poult Sci*. 4(4): 197-201.
- Junaedi, Arifiantini R.I, Sumantri C., Gunawan A. 2016. Penggunaan dimethyl sulfoxide sebagai krioprotektan dalam pembekuan semen ayam kampung. *Jurnal Veteriner* Vol. 17 (2): 300 – 308.
- Junaedi. 2015. Daya tahan pembekuan semen empat genetik ayam lokal pada program kriopreservasi plasma nutfah di Indoneisa. [Thesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kostaman T, Sutama IK. 2006. Studi motilitas dan daya hidup spermatozoa kambing Boer pada pengencer tris sitrat-fruktose. *J Sainvet* 24(1): 58-64.
- Kusumawati, E.D., Woli, S.L., Krisnaningsih, A.T.N., Susanto, W.E., Rahadi, S., Susilawati, T. 2018. Motilitas dan viabilitas spermatozoa ayam kampung pada suhu 5°C menggunakan pengencer dan lama simpan yang berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*. Vol 5 (3): 102-105.
- Steel R.G.D, Torrie J.H. 1995. Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik. Sumantri B penerjemah, Jakarta (ID): Gramedia Pustaka Utama. Hlm. 87-88.
- Telnoni, S.P. 2016. Kriopreservasi Semen Ayam Sk Kedu Dalam Dua Pengencer Dengan Krioprotektan Dimethylsulfoksida. [Tesis: Institut Pertanian Bogor, Bogor].
- Yulnawati, Setiadi MA. 2005. Motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kucing selama penyimpanan pada suhu 4°C. *J Med Vet* 21(3):100-104.