

Penentuan Konsentrasi Susu Skim Terbaik dalam Pengencer Semen Ayam Kampung Berbahan Dasar Ringer Laktat

*(DETERMINATION OF OPTIMUM SKIM MILK CONCENTRATION IN KAMPUNG
CHICKEN'S SEMEN EXTENDER BASED ON LACTATED RINGERS)*

**Khaeruddin¹, Andi Nurlinda², Nasrul Ardi²,
Abdul Hakim Fattah², Andi Kurnia Armayanti²**

¹Laboratorium Pertanian Terpadu,
Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Muhammadiyah, Sinjai
²Program Studi Peternakan,
Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Muhammadiyah, Sinjai
Jl. Teuku Umar No.8 Kelurahan Biringere
Kecamatan Sinjai Utara Kabupaten Sinjai Sulawesi Selatan
Telp./Faks: 0482-21484, Email: Erukhaeruddin@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk menentukan konsentrasi susu skim yang terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan pada suhu 5°C. Semen dikoleksi dari lima ekor pejantan dengan menggunakan metode pemijatan. Semen yang telah ditampung dibagi ke dalam 5 buah tabung sebagai perlakuan (tanpa pengencer, pengencer dengan level susu skim 0%, 6%, 9% dan 12%), semen cair selanjutnya disimpan pada suhu 5°C. Pengamatan motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa dilakukan setelah disimpan hingga 0, 12, 24, 36 dan 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat signifikan ($P < 0,01$) di antara perlakuan terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa ayam kampung setelah pengenceran selama penyimpanan. Penyimpanan spermatozoa dalam pengencer berkonsentrasi susu skim 6% selama 48 jam menghasilkan motilitas $49,00 \pm 1,30\%$, viabilitas $52,13 \pm 1,53\%$ dan abnormalitas $20,47 \pm 0,47\%$. Penggunaan pengencer ringer laktat dengan konsentrasi susu skim 6% secara umum dapat mempertahankan kualitas spermatozoa lebih baik dari perlakuan lainnya selama penyimpanan.

Kata-kata kunci: susu skim; pengencer; semen; ayam kampung.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the best concentration of skim milk in maintaining the quality of Kampung chicken's spermatozoa during storage at 5 °C. Semen was collected from five roosters which used massage method. Furthermore, semen was divided into five tubes as treatment (no extenders, extenders containing 0%, 6%, 9% and 12% skim milk concentrations), the liquid semen was stored at 5 °C. Observations of motility, viability and abnormalities of spermatozoa were carried out at 0, 12, 24, 36, dan 48 hours. The results showed that there was a very significant difference ($P < 0.01$) among the treatment of motility, viability and abnormalities of Kampung chicken spermatozoa after dilution during storage. Storage of spermatozoa in 6% skim milk concentrate for 48 hours was resulted in motility of $49,00 \pm 1,30\%$, viability of $52,13 \pm 1,53\%$ and abnormalities of $20,47 \pm 0,47\%$. The use of lactated ringer extenders with a concentration of 6% skim milk can generally maintain sperm quality which was better than other treatments during storage.

Key words: skim milk, extender, semen, Kampung chicken.

PENDAHULUAN

Ayam kampung mempunyai peran yang penting bagi kehidupan masyarakat Indonesia sebagai sumber daging, telur dan sebagai tambahan pendapatan terutama di pedesaan. Ayam kampung relatif lebih mudah dipelihara karena telah beradaptasi dengan wilayah Indonesia. Inseminasi buatan (IB) merupakan suatu teknologi yang dapat digunakan untuk meningkatkan populasi ayam kampung. Pengenceran semen untuk IB berfungsi memperbanyak volume semen ayam yang jumlahnya sangat sedikit dalam sekali ejakulasi sehingga dapat meningkatkan rasio perkawinan. Menurut Kharayat *et al.* (2016), secara alami seekor ayam pejantan dapat mengawini 6-10 ekor betina, namun rasio tersebut dapat ditingkatkan hingga empat kali lipat dengan menggunakan teknologi IB.

Zat-zat yang terkandung di dalam bahan pengencer semen harus dapat memenuhi kebutuhan spermatozoa ayam selama penyimpanan. Selain itu, bahan pengencer tersebut sebaiknya murah dan mudah didapatkan. Bahan pengencer yang umum dipakai pada semen ayam lokal adalah Ringer laktat karena kandungannya isotonis dengan semen unggas. Ringer laktat mengandung sejumlah mineral seperti natrium dan kalium yang berperan dalam proses transpor aktif zat-zat melewati membran sel.

Susu skim dapat menjadi zat nutrisi tambahan untuk spermatozoa jika ditambahkan ke dalam pengencer semen. Hal ini karena susu skim mengandung protein dan sumber energi yang dapat digunakan untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa selama penyimpanan. Penggunaan air susu sebagai pengencer semen telah banyak dilaporkan penggunaannya pada spermatozoa mamalia. Pemberian pengencer susu skim hingga 15% mampu menekan laju penurunan spermatozoa sapi simmental selama dua hari (Widjaya, 2011). Semen beku domba dalam pengencer susu yang mengandung *cholesterol-loaded cyclodextrin* (CLC) menghasilkan lebih banyak spermatozoa motil dengan akrosom yang utuh dibandingkan pengencer kuning telur (Salmon *et al.*, 2017). Sementara itu, menurut Fu *et al.* (2017) suplementasi susu skim layak digunakan sebagai pengganti *bovine serum albumin* (BSA) dalam pengencer semen babi.

Penelitian mengenai penggunaan pengencer susu belum banyak dilaporkan pada semen

ayam-ayam lokal Indonesia sehingga penelitian ini bertujuan untuk menentukan level susu skim yang terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan suhu 5°C.

METODE PENELITIAN

Pemeliharaan Ayam Pejantan

Semen diperoleh dari lima ekor ayam kampung yang dipelihara dalam kandang individu berukuran 40 x 50 x 70 cm. Ayam kampung diberi pakan ayam ras petelur sebanyak 150 g/ekor/hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Pembuatan Pengencer

Pengencer dibuat dengan mencampurkan susu skim (Tropicana Slim, PT Nutrifood Indonesia, Bekasi, Indonesia) dengan ringer laktat (Ringer Lactate, PT. Widatra Bhakti, Pasuruan, Indonesia). Persentase susu skim yang digunakan adalah 0% , 6%, 9% dan 12%. Masing-masing pengencer ditambahkan penisilin 1000 IU/mL dan streptomisin 1 mg/mL. Tingkat keasaman atau pH pengencer disesuaikan dengan pH semen ayam menggunakan *tris hydroxymethyl aminomethane*.

Koleksi Semen

Koleksi semen menggunakan metode pemijatan yang dilakukan tiga kali dalam seminggu. Proses koleksi melibatkan dua orang, salah seorang bertugas memijat semen pada pangkal kloaka ayam dan yang lainnya menampung semen menggunakan spuit.

Evaluasi Semen

Semen segar yang telah dikoleksi selanjutnya dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis di laboratorium. Evaluasi makroskopis meliputi volume, pH, konsistensi, dan warna semen. Evaluasi mikroskopis meliputi gerakan massa yang diamati menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 10x10 kali, dengan penilaiannya adalah sangat baik (+++), baik (++), cukup baik (+), dan buruk (0). Motilitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40 kali. Persentase motilitas dinilai secara subjektif dengan membandingkan spermatozoa hidup bergerak ke depan (progresif) dengan yang

tidak progresif. Penilaian yang diberikan dari angka 0% (mati semua) hingga 100% (motil semua). Persentase spermatozoa hidup (viabilitas) dilakukan dengan menggunakan pewarna eosin-negrosin, preparat ulas dihangatkan pada *heating table* selama 10-15 detik, selanjutnya dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40 kali terhadap 10 lapang pandang. Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan *Neubauer chamber* dengan pengencer NaCl 3%. Persentase abnormalitas spermatozoa; diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 40 kali.

Pengenceran, Penyimpanan dan Evaluasi Semen Cair

Semen dibagi ke dalam lima buah tabung (tanpa pengencer, pengencer dengan level susu skim 0%, 6%, 8% dan 12%), perbandingan semen dan pengencer yang digunakan adalah 1:5. Semen cair selanjutnya disimpan pada suhu 5 °C. Pengamatan motilitas, viabilitas dan abnormalitas dilakukan pada jam ke-0, 12, 24, 36 dan jam ke-48.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima perlakuan (pengencer) dan lima kali ulangan (koleksi semen). Jika ditemukan adanya pengaruh perlakuan yang signifikan maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar Ayam Kampung

Rataan volume semen ayam kampung pada penelitian ini $0,12 \pm 0,03$ mL hampir sama dengan yang didapatkan pada ayam buras oleh Murcahyana *et al.* (2016) yaitu 0,19 mL. Tingkat keasaman (pH) semen yang dihasilkan tergolong netral (7), sesuai pH semen ayam kampung yang didapatkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Murcahyana *et al.*, 2016; Wiyanti *et al.*, 2013; Danang *et al.*, 2012). Semen segar yang dihasilkan berwarna putih susu dengan konsistensi kental, hal ini menandakan kualitas spermatozoa baik. Konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini adalah $2,94 \pm 0,33$ milyar/ml dengan jumlah spermatozoa setiap ejakulasi 379 juta sel. Hasil ini hampir sama dengan yang didapatkan oleh Murcahyana *et al.*

(2012) yaitu 2,46 milyar/mL, bahkan lebih tinggi dari yang didapatkan Lubis (2011) yaitu 1,6 milyar/ml. Gerakan massa spermatozoa yang dihasilkan tergolong sangat baik (+++). Spermatozoa memiliki gelombang massa yang tebal dan cepat berpindah tempat (Arifiantini, 2012).

Spermatozoa yang dihasilkan mempunyai motilitas rata-rata $80,33 \pm 7,79\%$ lebih tinggi dari yang dilaporkan oleh Lubis (2011), Danang (2012) dan Wiyanti *et al.* (2013) yaitu 77%. Namun hampir sama dengan yang didapatkan oleh Indrawati *et al.* (2013) dan Murcahyana *et al.* (2016) yang masing-masing mendapatkan 89% dan 83,7%. Viabilitas spermatozoa yang diperoleh pada penelitian ini yaitu $95,34 \pm 2,03\%$ lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yaitu 83,87% (Lubis, 2011) dan 85,3% (Murcahyana *et al.*, 2016).

Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung

Penggunaan berbagai pengencer menghasilkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan. Penggunaan pengencer Ringer laktat dengan konsentrasi susu skim 6% menghasilkan motilitas spermatozoa paling tinggi selama penyimpanan hingga 48 jam (Tabel 2).

Suplementasi susu skim dengan konsentrasi 6%, 9% dan 12% dalam Ringer laktat mampu mempertahankan motilitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan hingga 48 jam dibandingkan tanpa susu skim. Hal ini diduga karena adanya kandungan protein kasein dan laktosa pada susu skim yang dapat melindungi spermatozoa selama penyimpanan.

Secara alami pada semen terdapat protein pengikat (*binder*) yang memiliki fungsi tertentu. Menurut Manjunath (2012) protein *binder of sperm* (BSP) dapat merugikan spermatozoa selama penyimpanan, hal ini karena protein BSP dapat merusak spermatozoa dengan melepaskan senyawa lipid pada membran sel spermatozoa. Sementara itu keberadaan kasein pada pengencer susu mampu berinteraksi dengan BSP sehingga dapat menurunkan daya ikat BSP dan mencegah kehilangan senyawa lipid pada membran sel spermatozoa.

Keberadaan laktosa pada susu skim diduga menjadi sumber energi untuk pergerakan spermatozoa selama penyimpanan. Aktivitas pergerakan (motilitas) spermatozoa memerlukan energi yang berasal dari perubahan *adenosine triphosphate* menjadi *adenosine diphosphate* dan

Tabel 1. Karakteristik semen segar ayam kampung

Parameter	Rataan \pm SEM
Volume semen (mL)	0,12 \pm 0,03
Warna semen	Putih susu
Kekentalan semen	Kental
pH semen	7,00 \pm 0,00
Konsentrasi spermatozoa per mL ($\times 10^9$)	2,94 \pm 0,33
Konsentrasi spermatozoa per ejakulat ($\times 10^8$)	3,79 \pm 1,09
Gerakan massa spermatozoa	+++
Motilitas spermatozoa (%)	80,33 \pm 7,79
Viabilitas spermatozoa (%)	95,34 \pm 2,03

Tabel 2. Motilitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan dengan berbagai level susu skim dalam pengencer semen berbasis Ringer laktat

LP ^a (jam)	Level susu skim				
	TP ^b	0%	6%	9%	12%
(%).....				
0	73,80 \pm 3,25 ^a	80,80 \pm 1,16 ^a	92,80 \pm 1,36 ^b	79,80 \pm 4,89 ^a	75,25 \pm 1,85 ^a
12	54,80 \pm 3,45 ^a	66,66 \pm 3,03 ^b	79,00 \pm 3,08 ^c	66,20 \pm 2,90 ^b	68,60 \pm 2,64 ^b
24	43,00 \pm 3,13 ^a	44,44 \pm 3,19 ^a	71,20 \pm 3,93 ^c	60,00 \pm 2,00 ^b	60,40 \pm 3,04 ^b
36	34,60 \pm 3,49 ^a	24,00 \pm 2,41 ^a	62,00 \pm 3,18 ^c	50,20 \pm 3,06 ^b	43,60 \pm 1,63 ^b
48	9,20 \pm 1,02 ^a	10,20 \pm 0,86 ^a	49,00 \pm 1,30 ^d	41,60 \pm 2,04 ^c	17,60 \pm 1,21 ^b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menyatakan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). ^aLP: lama penyimpanan ^bTP: tanpa pengencer.

adenosine monophosphate (Garner dan Hafez, 2000).

Penggunaan konsentrasi susu skim 12% ke dalam pengencer secara nyata menunjukkan motilitas spermatozoa yang rendah pada penyimpanan 48 jam (Tabel 2) jika dibandingkan dengan 6% dan 9%. Hal ini kemungkinan karena konsentrasi susu skim 12% terlalu tinggi, sehingga menyebabkan kematian pada spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Songsasen *et al.* (2002) yang menyatakan bahwa konsentrasi susu skim yang terlalu tinggi dapat menyebabkan hipertonisitas pada pengencer. Dalam suasana seperti itu spermatozoa mengeluarkan air dari dalam sel dan menurunkan motilitas serta viabilitasnya.

Hasil penelitian ini sejalan dengan laporan beberapa penelitian sebelumnya seperti Puglesi *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa penggunaan pengencer susu skim menghasilkan motilitas dan vitalitas atau *vigour* spermatozoa lebih tinggi selama penyimpanan jika diban-

dingkan dalam pengencer kuning telur. Namula *et al.* (2014), menyatakan bahwa suplementasi susu skim bubuk ke dalam pengencer dapat mempertahankan motilitas spermatozoa hingga penyimpanan selama empat minggu.

Kualitas semen cair selama penyimpanan pada penelitian ini cukup baik hal ini terbukti dengan motilitas spermatozoa pada jam ke-48 sebesar 49,00 \pm 1,30% untuk perlakuan Ringer laktat dan susu skim 6%. Hasil ini lebih tinggi dari yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Danang *et al.* (2012) yang menemukan bahwa motilitas spermatozoa ayam kampung pada bahan pengencer Ringer laktat pada suhu 4 °C selama 30 jam adalah 25,5%. Hasil lainnya adalah motilitas 62,00 \pm 3,18% didapatkan selama penyimpanan 36 jam dalam pengencer Ringer laktat dan susu skim 6%, lebih tinggi dari yang dilaporkan Nugroho dan Saleh (2016) yaitu 47,92% dalam pengencer Ringer laktat dan putih telur pada jam yang sama.

Viabilitas Spermatozoa Ayam Kampung

Perlakuan jenis pengencer berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap viabilitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan hingga 48 jam (Tabel 3). Hasil pengamatan pada jam ke-0, 12, 24, 36, dan 48, menunjukkan viabilitas tertinggi terdapat pada pengencer dengan level susu skim 6%, sedangkan hasil terendah terlihat pada perlakuan tanpa pengencer dan pada pengencer tanpa susu skim. Hal ini karena kandungan protein kasein pada susu skim diduga dapat melindungi dari kerusakan membran plasma sel spermatozoa yang diakibatkan oleh adanya protein pengikat (*binder*) dalam semen ayam seperti halnya pada semen sapi pada penelitian sebelumnya. Menurut Lusignan *et al.* (2011), protein BSP adalah komponen utama seminal plasma sapi yang berinteraksi dengan protein susu, interaksi ini penting untuk perlindungan spermatozoa selama penyimpanan.

Selain itu, bahan pengencer Ringer laktat dan susu skim yang digunakan pada penelitian ini cukup baik karena susu skim mengandung laktosa yang berfungsi sebagai sumber energi bagi spermatozoa sedangkan Ringer laktat merupakan larutan yang tekanan osmosisnya hampir sama dengan tekanan osmosis semen ayam dan penambahan tris membantu mempertahankan pH semen selama penyimpanan. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Siudzińska dan Łukasiewicz (2008) bahwa pengencer semen yang baik adalah pengencer yang mengandung sumber energi untuk spermatozoa serta dapat mempertahankan pH dan osmolaritas yang sama dengan kondisi semen.

Selama penyimpanan, spermatozoa kemungkinan dapat bertahan hidup karena memetabolisme karbohidrat (laktosa) yang ada dalam pengencer susu skim. Metabolisme karbohidrat menghasilkan *adenosin triphosphate* (ATP) yang digunakan dalam proses pergerakan (motilitas), selain itu juga digunakan untuk mempertahankan aktivitas transpor aktif pada membran sel spermatozoa (Garner dan Hafez, 2000).

Penggunaan susu skim 12% tidak lebih baik dalam mempertahankan viabilitas spermatozoa yang disimpan selama 36 dan 48 jam jika dibandingkan penggunaan susu skim 9% (P4) (Tabel 2). Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa laporan sebelumnya yang menggunakan pengencer susu skim pada semen mamalia. Pengencer berbahan susu

terbukti efektif untuk semen sapi (Singh *et al.*, 2013) dan semen domba (Kulaksiz *et al.*, 2012), susu skim juga dapat mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa babi (Athurupana dan Funahashi, 2016), sedangkan Widjaya (2011), menyatakan bahwa pemberian pengencer susu skim sampai taraf 15% memberikan hasil yang terbaik sehingga mampu menekan laju penurunan daya tahan spermatozoa sapi simmental yang disimpan selama dua hari pada suhu 5 °C. Menurut Fu *et al.*, (2017), penggunaan susu skim dan BSA dapat mempertahankan motilitas, kadar ATP, aktivitas *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (GADPH) dan potensial membran mitokondria spermatozoa. Penggunaan susu skim dan BSA dalam pengencer menyebabkan fosforilasi protein, asetilasi dan suksilnasi spermatozoa lebih tinggi.

Kualitas semen cair yang dihasilkan pada penelitian ini cukup baik, hal ini terlihat pada jam ke-48 viabilitas mencapai $52,13 \pm 1,53\%$ dalam perlakuan pengencer Ringer laktat dengan level susu skim 6%. Hasil ini lebih tinggi dari hasil penelitian Danang *et al.* (2012) yang melaporkan bahwa viabilitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer Ringer laktat yang disimpan selama 30 jam adalah 47,4%.

Selain itu, Yulnawati dan Setiadi (2005) menjelaskan bahwa spermatozoa yang mati akan menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup sehingga secara umum kualitasnya menjadi menurun. Keberadaan zat yang bersifat toksik, baik yang berasal dari spermatozoa mati maupun yang berasal dari zat yang terkandung dalam pengencer yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat menyebabkan tingginya kadar radikal bebas yang dapat merusak keutuhan membran plasma spermatozoa (Wiyanti *et al.*, 2013).

Penyimpanan semen yang lebih lama akan semakin meningkatkan tingkat kematian spermatozoa karena rusaknya membran plasma yang berakibat pada terganggunya suplai energi spermatozoa sehingga menurunkan motilitas (Wiyanti *et al.*, 2013). Jumlah spermatozoa yang mati dapat memengaruhi spermatozoa yang masih hidup selama proses penyimpanan (Solihati *et al.*, 2006).

Penurunan viabilitas juga dapat disebabkan oleh meningkatnya produksi asam laktat akibat aktivitas metabolisme dan terbentuknya radikal

bebas. Hal ini sesuai dengan pendapat Hammerstedt (1993) yang menyatakan bahwa selain meningkatkan produksi asam laktat pada saat penyimpanan, radikal bebas merupakan hasil proses transpor elektron dari mitokondria yang dapat menyebabkan peroksidasi lemak sehingga mematikan spermatozoa. Radikal bebas memiliki daya rusak tinggi terhadap asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen utama dalam pembentukan fosfolipid membran plasma spermatozoa. Jika membran plasma rusak maka kerusakan akan berlanjut ke internal sel, sehingga dapat menurunkan daya hidup dan motilitas. Membran plasma yang rusak dapat menyebabkan terganggunya metabolisme sehingga produksi ATP sebagai sumber energi berkurang (Wiyanti *et al.*, 2013).

Peningkatan radikal bebas dapat dicegah dengan adanya antioksidan dalam pengencer. Azawi dan Hussein (2013) menya-

takan bahwa radikal bebas sebagian besar dapat dieliminasi dengan adanya antioksidan. Susu skim telah dianggap sebagai antioksidan non-enzimatik karena adanya gugus *sulphydryl* (Bustamante-Filho *et al.*, 2009).

Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kampung

Perlakuan konsentrasi susu skim dalam pengencer memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap abnormalitas spermatozoa ayam kampung (Tabel 3). Penambahan susu skim dalam pengencer Ringer laktat menghasilkan abnormalitas yang lebih rendah selama penyimpanan hingga jam ke-48.

Abnormalitas spermatozoa pada penelitian ini mungkin disebabkan adanya radikal bebas. Abnormalitas yang rendah dihasilkan dalam pengencer yang mengandung susu skim, mungkin karena adanya kandungan anti-

Tabel 3. Viabilitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan dengan berbagai level susu skim dalam pengencer semen

LP (jam) ^a	Level susu skim				
	TP ^b	0%	6%	9%	12%
(%).....				
0	77,86±2,35 ^a	84,52±1,51 ^b	94,87±1,43 ^c	89,09±1,84 ^b	79,26±1,05 ^a
12	59,84±2,64 ^a	75,20±1,87 ^b	85,90±2,40 ^c	73,49±1,52 ^b	72,62±2,24 ^b
24	47,64±1,84 ^a	49,46±1,52 ^a	79,99±2,32 ^c	63,91±2,08 ^b	64,90±2,15 ^b
36	30,16±2,64 ^a	30,46±2,55 ^a	68,91±2,78 ^d	57,06±1,77 ^c	49,28±0,56 ^b
48	13,96±1,23 ^a	15,50±1,20 ^a	52,13±1,53 ^c	49,72±1,18 ^c	22,55±0,99 ^b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menyatakan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). ^aLP: lama penyimpanan ^bTP: tanpa pengencer.

Tabel 4. Abnormalitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan dengan berbagai level susu skim dalam pengencer semen

LP (jam) ^a	Level susu skim				
	TP ^b	0%	6%	9%	12%
(%).....				
0	12,81±1,60 ^a	8,55±0,78 ^b	6,22±0,78 ^{bc}	6,18±0,72 ^{bc}	3,66±0,68 ^c
12	24,99±1,79 ^a	22,67±0,87 ^a	9,96±0,75 ^b	7,94±0,86 ^b	8,06±0,93 ^b
24	31,43±1,14 ^b	42,33±1,64 ^a	13,41±1,01 ^c	10,66±0,63 ^c	10,08±0,73 ^c
36	36,89±1,06 ^b	52,40±2,69 ^a	17,32±0,95 ^c	13,10±0,75 ^{cd}	12,19±0,81 ^d
48	38,47±0,87 ^b	64,79±2,43 ^a	20,47±0,47 ^c	18,91±1,57 ^{cd}	15,18±1,37 ^d

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menyatakan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$). ^aLP: lama penyimpanan, ^bTP: tanpa pengencer.

oksidan pada susu skim. Susu mengandung berbagai vitamin seperti vitamin A dan C. Vitamin ini sebagai antioksidan yang mampu menanggulangi keberadaan radikal bebas atau *radical Oxygen Scavenging* (ROS) yang dihasilkan aktivitas metabolisme, spermatozoa mati, dan yang abnormal. Selama penyimpanan, spermatozoa menghabiskan oksigen dan memetabolisme oksigen, hasil metabolisme tersebut adalah ROS (Agarwal *et al.*, 2003). Akumulasi ROS dapat terjadi selama penyimpanan semen ketika tidak ada antioksidan di dalam pengencer semen. Senyawa ROS menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Michael *et al.*, 2008). Umumnya, antioksidan mencegah kerusakan dengan perantara oksidan oleh radikal bebas atau metabolit reaktif dari antioksidan. Hal ini dapat mengurangi dampak stres oksidatif spermatozoa selama penyimpanan dan meningkatkan kualitas spermatozoa dalam semen cair (Storey, 1997).

Selama penyimpanan, spermatozoa rentan mengalami kerusakan yang disebabkan peroksidasi lipid. Spermatozoa ayam memiliki kadar asam lemak *docosatetraenoic* lebih tinggi dibandingkan spermatozoa unggas lainnya (Surai *et al.*, 2001), sehingga spermatozoa ayam lebih rentan terhadap peroksidasi lipid. Hal ini sejalan dengan pendapat Cerolini *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa membran sel spermatozoa ayam kaya akan asam lemak tak jenuh ganda yang mudah mengalami peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan beberapa kerusakan pada spermatozoa unggas, berupa kerusakan morfologis, penurunan motilitas, dan daya fertil (Long dan Kramer 2003).

Penggunaan pengencer dengan penambahan susu skim berbahan dasar Ringer laktat menghasilkan abnormalitas spermatozoa lebih rendah yaitu $3,66 \pm 0,68\%$ sampai dengan $6,22 \pm 0,78\%$ pada jam ke-0. Hasil ini hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Nugroho dan Saleh (2016) bahwa penggunaan pengencer Ringer laktat menghasilkan abnormalitas spermatozoa ayam kampung sebesar 8,50% selama satu jam penyimpanan.

Bentuk abnormalitas yang ditemukan pada penelitian ini umumnya tergolong abnormalitas sekunder berupa ekor spermatozoa yang melingkar dan ekor patah. Menurut Feradis (2010), abnormalitas sekunder terjadi di luar tubuli seminiferi selama ejakulasi karena pemanasan atau pendinginan yang berlebih atau terkontaminasi air, urin dan antiseptik.

SIMPULAN

Penggunaan pengencer Ringer laktat dengan dengan konsentrasi 6% merupakan pengencer optimal dalam mempertahankan kualitas spermatozoa ayam kampung selama penyimpanan hingga 48 jam pada suhu 5 °C.

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh penggunaan pengencer Ringer laktat dengan susu skim 6% terhadap fertilitas spermatozoa ayam kampung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Direktorat Jenderal Kelembagaan Ilmu Pengetahuan, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan bantuan berupa 10 buah mikroskop dan peralatan lainnya kepada Laboratorium Pertanian Terpadu Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Muhammadiyah Sinjai melalui Program Pembinaan Perguruan Tinggi Swasta (PP-PTS) tahun 2015 dan saat ini mikroskop tersebut telah digunakan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 79: 829–843.
- Arifiantini RI. 2012. *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*. Bogor. IPB Press. Hlm. 50.
- Athurupana R, Funahashi H. 2016. Milk supplements in a glycerol freezing extender enhanced cryosurvival of boar spermatozoa. *Asian Pac J Reprod* 5(1) :58-62.
- Azawi OI, Hussein EK. 2013. Effect of vitamin C or E supplementation to tris diluent on the semen quality of Awassi rams preserved at 5 °C. *Vet Res Forum* 4(3): 157-160.
- Bustamante-Filho IC, Pederzoli CD, Sgaravatti AM, Gregory RM, Dutra-Filho CS, Jobim MIM, Mattos RC. 2009. Skim milk-egg yolk based semen extender compensates for nonenzymatic antioxidant activity loss

- during equine semen cryopreservation. *Anim Reprod* 6: 392-399.
- Cerolini S, Zainiboni L, Maldjian A, Gliozzi T. 2006. Effect of docosahexaenoic acid and α -tocopherol enrichment in chicken sperm on semen quality, sperm lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Theriogenology* 66: 877-886.
- Danang DR, Isnaini N, Trisunuwati P. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer ringer's pada suhu 4 °C. *Jurnal Ternak Tropika* 13 (1): 47-57.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung. Alfabeta. Hlm. 35.
- Fu J, Li Y, Wang L, Zhen L, Yang Q, Li P, Li X. 2017. Bovine serum albumin and skim-milk improve boar sperm motility by enhancing energy metabolism and protein modifications during liquid storage at 17 °C. *Theriogenology* 102:87-97.
- Garner DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. Di dalam: Hafez ESE, Hafez B. (Ed). *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia. Lipincott Williams and Wilkins. Hlm. 107.
- Hammerstedt RH. 1993. Maintenance of bioenergetic balance in sperm and prevention of lipid peroxidation: A review of the effect on storage preservation system. *J Reprod Fertil Dev* 5: 675-690.
- Indrawati D, Bebas W, Trilaksana IGNB. 2013. Motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung dengan penambahan astaxanthin pada Suhu 3–5° C. *Indonesia Medicus Veterinus* 2(4): 445-452.
- Kharayat NS, Chaudhary GR, Katiyar R, Balmurugan B, Patel M, Uniyal S, Raza M, Mishra GK. 2016. Significance of artificial insemination in poultry. *RRJoVST* 5(1): 1-5.
- Kulaksiz R, Cebi C, Akcay E. 2012. The effect of different extenders on the motility and morphology of ram sperm or stored at 4 °C. *Turk J Vet Anim Sci* 36: 177-182.
- Long JA, Kramer M. 2003. Effect of vitamin E on lipid peroxidation and fertility after artificial insemination with liquid-stored turkey semen. *Poult Sci* 82: 1802-1807.
- Lubis TM. 2011. Motilitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer air kelapa, NaCl fisiologis dan air kelapa-NaCl fisiologis pada 25-29 °C. *Agripet* 11(2): 45-50.
- Lusignan MF, Bergeron A, Lafleur M, Manjunath P. 2011. The major proteins of bovine seminal plasma interact with caseins and whey proteins of milk extender. *Biol Reprod* 85: 457-464.
- Manjunath P. 2012. New insight into the understanding of the mechanism of sperm protection by extender components. *Anim Reprod* 9(4): 809-815.
- Michael AJ, Alexopoulos C, Pontiki EA, Hadjipavlou-Litina DJ, Saratsis P, Ververidis HN, Boscoc CM. 2008. Quality and reactive oxygen species of extended canine semen after vitamin C supplementation. *Theriogenology* 70: 827–835.
- Murcahyana, Susilawati T, Isnaini N. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam larutan natrium klorida fisiologis sebagai bahan pengencer semen terhadap peningkatan kualitas spermatozoa ayam buras pada suhu ruang. *J Ked Hewan* 10(2): 175-180.
- Namula Z, Kodama R, Tanihara F, Morita Y, Sato Y, Wittaray M, Taniguchi M, Otoi T. 2014. Effects of skim-milk supplementation on the quality and penetrating ability of boar semen after long-term preservation at 15 °C. *Acta Vet Hung* 62 (1): 106–116.
- Nugroho AP, Saleh DM. 2016. Motilitas dan abnormalitas spermatozoa ayam kampung dengan pengencer ringer laktat putih telur dan lama simpan pada suhu 5°C selama 48 jam. *Acta Vet Indones* 4 (1):35-41.
- Puglesi G, Carvalho GR, de Rates DM, Ker PG, Matta MP, de Oliveira RR, Silva-Filho JM. 2012. Viability and fertility of cooled equine semen diluted with skimmed milk or glycine egg yolk-based extenders. *R Bras Zootec* 41(12):2411-2417.
- Salmon VM, Castonguay F, Demers-Caron V, Leclerc B, Bailey JL. 2017. Cholesterol-loaded cyclodextrin improves ram sperm cryoresistance in skim milk-extender. *Anim Reprod Sci* 177:1-11.

- Singh VK, Singh AK, Kumar R, Atreja SK. 2013. Development of soya milk extender for semen cryopreservation of Karan Fress (cross-breed cattle). *Cryo Lett* 34:52-61.
- Siudzińska A, Łukaszewicz E. 2008. Effect of Semen Extenders and Storage Time on Sperm Morphology of Four Chicken Breeds. *J Appl Poult Res* 17:101-108.
- Solihati N, Idi R, Setiawan R, Asmara IY, Sujana BI. 2006. Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5 °C terhadap periode fertil dan fertilitas sperma. *J Ilmu Ternak* 6(1):7-11.
- Songsasen N, Yu I, Murton S, Paccamonti DL, Eilts BE, Godke RA, Leibo SP. 2002. Osmotic sensitivity of canine spermatozoa. *Cryobiology* 44: 79-90.
- Storey BT. 1997. Biochemistry of the induction and prevention of lipoperoxidative damage in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 3: 203-213.
- Surai PF, Fujihara N, Speake BK, Brillard JP, Wishart GJ, Sparks NHC. 2001. Polyunsaturated fatty acids, lipid peroxidation and antioxidant protection in avian semen. *Asian-Aust J Anim Sci* 14(7): 1024-1050.
- Wiyanti DB, Isnaini N, Trisunuwati P. 2013. Pengaruh lama simpan semen dalam pengencer NaCl fisiologis pada suhu kamar terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*). *J Ked Hewan* 7(1): 53-55.
- Widjaya N. 2011. Pengaruh pemberian susu skim dengan pengencer tris kuning telur terhadap daya tahan hidup spermatozoa sapi pada suhu penyimpanan 5 °C. *Sains Peternakan* 9(2):72-76.
- Yulnawati, Setiadi MA. 2005. Motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kucing selama penyimpanan pada suhu 4° C. *Majalah Kedokteran Hewan* 21(3): 100-104.