

KUALITAS SPERMATOZOA AYAM PERANAKAN SENTUL DALAM PENGECER RINGER LAKTAT KUNING TELUR DENGAN BERBAGAI MONOSAKARIDA

Quality of Sentul Crossbreed Chicken Spermatozoa in Ringer Lactate-Egg Yolk Diluents Supplemented with Various Monosaccharide

Khaeruddin^{1*}, Raden Iis Arifiantini², Cece Sumantri³, dan Sri Darwati³

¹Program Studi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

³Laboratorium Lapangan Pemuliaan Unggas Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, Bogor

*Corresponding author: erukhaeruddin@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menguji daya simpan semen ayam peranakan sentul di dalam bahan pengencer ringer laktat kuning telur dengan penambahan berbagai monosakarida. Semen dikoleksi dari tiga ekor pejantan dengan menggunakan metode pemijatan. Segera setelah penampungan, semen dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Semen yang menunjukkan motilitas >70% masing-masing dibagi dalam empat tabung. Tiap semen diencerkan dengan ringer laktat kuning telur glukosa (RLKTG), ringer laktat kuning telur fruktosa (RLKTF), ringer laktat kuning telur xilosa (RLKTX), dan ringer laktat kuning telur manosa (RLKTM). Semen disimpan di dalam refrigerator (5° C) selama enam puluh jam dan dievaluasi tiap dua belas jam terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($P>0,05$) di antara pengencer terhadap kualitas spermatozoa setelah pengenceran dan selama penyimpanan. Kualitas semen menurun selama penyimpanan dan pada penyimpanan jam ke-60, motilitas dan viabilitas spermatozoa masing-masing berada pada rentang $48,33\pm 2,56$ sampai dengan $55,42\pm 2,26\%$ dan $58,59\pm 2,87$ sampai dengan $64,83\pm 2,42\%$. Kesimpulan penelitian ini adalah glukosa, fruktosa, xilosa, dan manosa dapat digunakan sebagai sumber energi semen ayam jantan selama penyimpanan.

Kata kunci: ayam peranakan sentul, monosakarida, pengencer, spermatozoa

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the preservation of sentul crossbreed chicken semen in ringer lactate egg yolk diluent supplemented with various monosaccharide. Semen was collected from three roosters using massage method. Immediately after collection, the semen was evaluated macroscopically and microscopically. Semen with more than 70% motility was divided into four tubes. Each of them diluted with ringer lactate egg yolk glucose (RLEYG), ringer lactate egg yolk fructose (RLEYF), ringer lactate egg yolk xylose (RLEYX) and ringer lactate egg yolk mannose (RLEYM). Semen was stored in refrigerator (5° C) for sixty hours and evaluated every twelve hours for spermatozoa motility and viability. Results showed that no significant difference ($P>0.05$) among diluents used on spermatozoa quality parameters after dilution and during preservation. Semen quality decrease during storage and at sixty hours of storage, the motility and viability of spermatozoa ranging from 48.33 ± 2.56 to $55.42\pm 2.26\%$ and 58.59 ± 2.87 to $64.83\pm 2.42\%$, respectively. This research conclude that glucose, fructose, xylose and mannose can be used as energy source for roosters semen during preservation.

Key words: sentul crossbreed chicken, monosaccharide, diluents, spermatozoa

PENDAHULUAN

Ayam lokal yang dipelihara peternak umumnya dikembangkan secara alami melalui perkawinan alam. Pada perkawinan alam ini satu jantan hanya bisa mengawini 3-6 ekor betina dengan kualitas semen yang berbeda. Oleh karena itu, perlu dilakukan teknologi inseminasi buatan (IB) untuk meningkatkan produktivitas ayam lokal jantan dengan cara mengoptimalkan jantan dalam mengawini betina.

Salah satu faktor yang dapat menentukan keberhasilan IB pada ayam adalah kualitas semen yang diinseminasikan. Kualitas semen tersebut bergantung pada kualitas semen saat penyimpanan (preservasi) yang meliputi suhu penyimpanan, bahan pengencer yang digunakan, dan sumber energi untuk spermatozoa selama preservasi. Sumber energi yang dapat digunakan secara luas pada spermatozoa adalah karbohidrat sederhana.

Karbohidrat sederhana seperti monosakarida lebih efektif dalam mempertahankan motilitas spermatozoa dibandingkan disakarida. Salah satu contoh

monosakarida yang biasa ditambahkan pada pengencer semen adalah glukosa dan fruktosa. Jika dibandingkan dengan semen sapi dan domba, semen ayam mengandung sedikit fruktosa sehingga diperlukan penambahan dari luar (Garner dan Hafez, 2000).

Beberapa penelitian terkait penambahan jenis karbohidrat pada bahan pengencer semen telah dilakukan sebelumnya, namun kebanyakan di antara penelitian tersebut masih diaplikasikan pada semen mamalia. Hasil penelitian tersebut di antaranya adalah penambahan glukosa pada semen domba garut dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa hingga 0,34%, (Rizal *et al.*, 2006). Pengencer tris glukosa dapat mempertahankan kualitas spermatozoa rusa Timor hingga penyimpanan 60 jam, sedangkan Tris fruktosa hanya 36 jam (Siswanto, 2006). Fruktosa dapat melindungi spermatozoa tikus pada penyimpanan 4° C lebih baik dibandingkan tanpa fruktosa (Sariözkan *et al.*, 2012). Yildiz *et al.* (2000) melaporkan motilitas spermatozoa anjing setelah pembekuan lebih tinggi dengan penambahan xilosa dan fruktosa.

Pengencer semen ayam di Indonesia yang sederhana telah banyak diteliti, seperti cairan infus. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ringer laktat lebih baik dibandingkan cairan infus yang lain. Hasil penelitian Solihati *et al.* (2006) menunjukkan fertilitas spermatozoa ayam buras dengan bahan pengencer ringer laktat lebih tinggi dibandingkan dengan pengencer NaCl fisiologis 0,9% dan ringer dekstrosa.

Penelitian mengenai preservasi spermatozoa ayam hasil silangan sangat jarang dilakukan, demikian pula dengan penggunaan karbohidrat sederhana (glukosa, fruktosa, xilosa, dan manosa) terhadap spermatozoa ayam belum diteliti pada ayam lokal di Indonesia, sehingga penelitian ini bertujuan mencari jenis karbohidrat terbaik dalam pengencer semen ringer laktat kuning telur yang dapat mempertahankan kualitas spermatozoa ayam peranakan sentul selama penyimpanan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan dalam pengembangan teknologi IB pada ayam di Indonesia.

MATERI DAN METODE

Sumber semen berasal dari tiga ekor ayam peranakan sentul berumur 1 tahun. Semen yang menunjukkan motilitas spermatozoa lebih dari 70% dengan konsentrasi spermatozoa minimal 2500×10^6 digunakan dalam penelitian ini. Semen dibagi ke dalam empat tabung masing-masing diencerkan menggunakan pengencer ringer laktat kuning telur (RLKT) yang disuplementasi glukosa (RLKTG), fruktosa (RLKTF), xilosa (RLKTX), atau manosa (RLKTM). Semen cair selanjutnya disimpan dalam refrigerator (5° C). Pengamatan kualitas semen cair dilakukan terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa pada jam ke-0, 12, 24, 36, 48, dan 60 dengan 12 kali ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik semen segar ayam peranakan sentul disajikan pada Tabel 1. Volume semen cenderung lebih rendah dari penelitian sebelumnya yaitu 0,3 ml pada semen ayam sentul (Soeparna *et al.*, 2005). Motilitas dan viabilitas spermatozoa pada penelitian ini lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yaitu masing-masing 71,95 dan 88% pada spermatozoa ayam sentul (Soeparna *et al.*, 2005; Iskandar, 2007). Konsentrasi spermatozoa hasil penelitian ini hampir sama dengan yang dilaporkan sebelumnya pada ayam sentul yaitu antara $2,15$ milyar ml^{-1} (Iskandar, 2007) sampai dengan $3,03$ milyar ml^{-1} (Soeparna *et al.*, 2005).

Motilitas spermatozoa ayam peranakan sentul pada berbagai monosakarida (Tabel 2) tidak menunjukkan perbedaan ($P>0,05$). Hasil ini dapat diartikan bahwa keempat monosakarida yang digunakan pada penelitian ini dapat dimanfaatkan dengan baik oleh spermatozoa. Hasil ini berbeda dengan laporan Gómez-Fernández *et al.* (2012), yang melaporkan bahwa motilitas spermatozoa babi yang disimpan selama 150 menit dengan penambahan fruktosa lebih rendah

dibandingkan dengan glukosa. Namun penelitian ini sejalan dengan Naing *et al.* (2010) yang melaporkan penggunaan glukosa dan fruktosa tidak menunjukkan perbedaan motilitas pada spermatozoa kambing.

Tabel 1. Karakteristik semen segar ayam peranakan sentul (rerata \pm SEM)

Parameter	Rerata \pm SEM
Volume semen (ml/ejakulat)	0,16 \pm 0,02
Warna semen	Putih susu
Konsistensi semen	Kental
pH semen	7,03 \pm 0,02
Gerakan massa spermatozoa	2,45 \pm 0,08
Motilitas spermatozoa (%)	82,09 \pm 1,27
Viabilitas spermatozoa (%)	91,47 \pm 1,05
Konsentrasi spermatozoa (milyar/ml)	2,81 \pm 0,11
Konsentrasi spermatozoa per ejakulat (milyar)	0,45 \pm 0,09
Abnormalitas spermatozoa (%)	6,24 \pm 1,20
Tekanan osmotik semen (mOsmol/kg)	275

Motilitas spermatozoa pada jam ke-48 dengan penambahan manosa lebih tinggi dari penelitian sebelumnya pada spermatozoa kuda seperti yang dilaporkan King *et al.* (2006) dengan penambahan manosa menghasilkan motilitas 42,8%, namun lebih tinggi dari penambahan fruktosa yakni 8,33-20% (Hemo dan Arifiantini, 2010). Motilitas spermatozoa selama penyimpanan 60 jam pada penelitian ini tidak berbeda antara penambahan glukosa dengan fruktosa. Hal ini sejalan dengan penelitian Ponglowhapan *et al.* (2004) pada spermatozoa anjing yang disimpan selama 3 hari (60 jam) tidak berbeda antara penambahan 10 mM fruktosa dan glukosa ke dalam pengencer semen.

Semen ayam pada penelitian ini disimpan dalam keadaan anaerob. Hal ini sesuai dengan pendapat Lorenz (1959) bahwa untuk semen ayam, glukosa, fruktosa, dan manosa dapat digunakan dan diglikolisis lebih cepat dalam suasana anaerob. Pada kondisi anaerob, metabolisme glukosa, fruktosa, atau manosa akan menghasilkan asam laktat. Metabolisme ini menghasilkan *adenosine triphosphate* (ATP) yang digunakan dalam proses pergerakan (motilitas) dan mempertahankan aktivitas transpor aktif pada membran sel spermatozoa (Garner dan Hafez, 2000). Hasil penelitian Rigau *et al.* (2001) pada spermatozoa anjing menyatakan bahwa fruktosa berpengaruh terhadap pergerakan motilitas progresif (lurus ke depan) sedangkan glukosa berpengaruh terhadap gerakan bergetar.

Viabilitas spermatozoa pada penelitian ini juga tidak berbeda ($P>0,05$) pada berbagai monosakarida yang digunakan. Penyimpanan semen cair selama 60 jam menghasilkan viabilitas spermatozoa antara 58,59-64,83% (Tabel 3). Hasil ini sejalan dengan penelitian Fernández-Santos (2007) bahwa penggunaan manosa, glukosa, dan fruktosa tidak menghasilkan perbedaan viabilitas spermatozoa rusa setelah *thawing*, dan didukung oleh laporan Yildiz *et al.* (2000) yang menyatakan bahwa tidak ada perbedaan antara persentase motilitas spermatozoa anjing dengan penambahan glukosa, fruktosa, dan xilosa setelah pengenceran, ekuilibrisasi, dan *thawing*.

Tabel 2. Persentase motilitas spermatozoa ayam peranakan sentul selama penyimpanan dengan berbagai pengencer (rerata±SEM)

Waktu penyimpanan (jam)	Perlakuan			
	RLKTG	RLKTF	RLKTX	RLKTM
	(%)			
0	81,67±1,98 ^a	81,67±1,98 ^a	81,67±1,98 ^a	81,67±1,98 ^a
12	73,75±2,23 ^b	74,58±1,68 ^b	72,08±1,89 ^b	69,17±2,29 ^b
24	67,08±1,89 ^c	70,00±1,95 ^c	67,08±2,34 ^b	63,75±3,26 ^b
36	62,92±1,79 ^{cd}	64,17±2,21 ^{cd}	63,75±2,89 ^b	61,25±3,15 ^c
48	60,42±2,2 ^{6d}	59,17±2,03 ^d	58,33±3,22 ^c	53,33±2,63 ^d
60	55,42±2,26 ^e	55,00±2,22 ^e	52,50±3,05 ^d	48,33±2,56 ^e

^{a, b, c, d, e}Superskrip berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan yang nyata (P<0,05). RLKTG= Ringer laktat kuning telur + glukosa, RLKTF= Ringer laktat kuning telur + fruktosa, RLKTX= Ringer laktat kuning telur + xilosa, RLKTM= Ringer laktat kuning telur + manosa

Tabel3. Persentase viabilitas spermatozoa ayam peranakan sentul selama penyimpanan dengan berbagai pengencer (rerata±SEM)

Waktu penyimpanan (jam)	Jenis pengencer			
	RLKTG	RLKTF	RLKTX	RLKTM
	(%)			
0	90,76±1,36 ^a	90,76±1,36 ^a	90,76±1,36 ^a	90,76±1,36 ^a
12	85,01±2,56 ^a	84,53±1,49 ^b	81,44±1,82 ^b	80,56±1,97 ^b
24	75,86±2,42 ^b	79,63±1,79 ^c	76,57±2,26 ^c	73,96±3,04 ^{bc}
36	71,10±2,28 ^c	73,47±2,12 ^d	73,18±2,54 ^c	71,32±2,80 ^c
48	69,61±2,38 ^d	68,27±2,16 ^d	68,29±2,82 ^d	63,66±2,79 ^d
60	64,83±2,42 ^e	63,91±2,35 ^e	62,17±2,83 ^e	58,59±2,87 ^e

^{a, b, c, d, e}Superskrip berbeda pada kolom yang sama menyatakan perbedaan yang nyata (P<0,05). ^aRLKTG= Ringer laktat kuning telur + glukosa, RLKTF= Ringer laktat kuning telur + fruktosa, RLKTX= Ringer laktat kuning telur + xilosa, RLKTM= Ringer laktat kuning telur + manosa

Kualitas semen cair selama penyimpanan pada penelitian ini cukup baik hal ini terbukti dengan motilitas spermatozoa pada jam ke-60 sebesar 48,33-55,42% dan viabilitas spermatozoa sebesar 58,59-64,83%. Daya tahan spermatozoa ayam telah diteliti sebelumnya oleh Saleh dan Isyanto (2011) yang menemukan bahwa motilitas ayam kate lokal dalam pengencer ringer laktat pada penyimpanan 5° C selama 3 jam hanya dapat bertahan hingga 60%. Demikian juga pada semen ayam kampung dalam pengencer NaCl fisiologis pada suhu 4° C selama 30 jam hanya menunjukkan motilitas 25,5% dan viabilitas 47,4% (Danang *et al.*, 2012). Al-Daraji (2011) melaporkan bahwa motilitas spermatozoa ayam petelur putih dalam pengencer *Lake* selama penyimpanan 48 jam hanya 25,8%.

Tingginya kualitas semen cair ayam pada penelitian ini diduga karena komposisi pengencer dan monosakarida yang digunakan sudah menunjang daya hidup spermatozoa tersebut. Tekanan osmotik pengencer dalam penelitian ini berkisar antara 330-353 mOsmol/kg. Kondisi tersebut tidak terlalu berbeda dengan tekanan osmotik semen ayam pada penelitian ini yaitu 275 mOsmol/kg. Tekanan osmotik pengencer yang digunakan ideal untuk semen ayam sesuai pendapat Donoghue dan Wishart (2000) yaitu antara 250-460 mOsmol/kg. Pada tekanan osmotik tersebut kemampuan fertilitas spermatozoa unggas dapat dipertahankan.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah keempat jenis monosakarida (glukosa, fruktosa, xilosa, dan manosa) dapat digunakan dalam pengencer semen ayam peranakan sentul yang disimpan selama 60 jam.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Daraji, H.J. 2011. Effect of diluent supplementation with different levels of green tea on roosters' semen quality during in vitro storage. **Int. J. Pl. An. and Env. Sci.** 1(3):51-56.

Danang, D.R., N. Isnaini, dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer ringer's pada suhu 4° C. **J. Tern. Trop.** 13(1):47-57.

Donoghue, A.M. and G.J. Wishart. 2000. Storage of poultry semen. **Anim. Reprod. Sci.** 62:213-232.

Fernández-Santos, M.R., F. Martínez-Pastor, V. García-Macías, M.C. Estes, A.J. Soler, P. de Paz, L. Anel, and J.J. Garde. 2007. Extender osmolality and sugar supplementation exert a complex effect on the cryopreservation of iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa. **Theriogenology.** 67:738-753.

Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In **Reproduction in Farm Animals**. Hafez, E.S.E. and B. Hafez (Eds.). 7th ed. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia.

Gómez-Fernández, J., E. Gómez-Izquierdo, C. Tomás, E. Mocé, and E. de Mercado. 2012. Effect of different monosaccharides and disaccharides on boar sperm quality after cryopreservation. **Anim. Reprod. Sci.** 133:109-116.

Hemo, D.M.E. dan R.I. Arifiantini. 2010. Peranan fruktosa dalam pengencer skim terhadap daya tahan hidup spermatozoa kuda (*Equus caballus*). Di dalam **Prosiding Seminar Nasional Peranan Teknologi Reproduksi Hewan dalam Rangka Swasembada Pangan Nasional**. Setiadi, M.A., N.W.K. Karja, Yudi, dan H. Murti (Ed.). Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor:61-64.

Iskandar, S. 2007. Tatalaksana Pemeliharaan Ayam Lokal. Di dalam **Keanekaragaman Sumber Daya Hayati Ayam Lokal Indonesia**. Sulandari, S., M.S.A. Zein, S. Paryanti, T. Sartika, J.H.P. Sidadolog, M. Astuti, T. Widjastuti, E. Sujana, S. Darana, I. Setiawan, D. Garnida, S. Iskandar, D. Zainuddin, T. Herawati, dan I.W.T. Wibawan (Ed). LIPI Press, Bogor.

King, S.S., S.A. Speiser, K.L. Jones, G.A. Apgar, and S.E. Wessels. 2006. Equine spermatozoal motility and fertility associated with the incorporation of D-(+)-mannose into semen extender. **Theriogenology.** 65:1171-1179.

Lorenz, F.W. 1959. Reproduction in domestic fowl. In **Reproduction in Domestic Animal**. Cole, H., P.T. Hand, and Cupps (Eds.). Academic Press, New York.

- Naing, S.W., H. Wahid, K.M. Azam, Y. Rosnina, A.B. Zuki, S. Kazhal, M.M. Bukar, M. Thein, T. Kyaw, and M.M. San. 2010. Effect of sugars on characteristic of Boer goat semen after cryopreservation. **Anim. Reprod. Sci.** 122:23-28.
- Ponglowhapan, S., B. Essén-Gustavsson, and C.L. Forsberg. 2004. Influence of glucose and fructose in the extender during long-term storage of chilled canine semen. **Theriogenology**. 62:1498-1517.
- Rigau, T., M. Farrè, J. Ballester, T. Mogas, A. Peña, and J.E. Rodríguez-Gil. 2001. Effects of glucose and fructose on motility patterns of dog spermatozoa from fresh ejaculates. **Theriogenology**. 56:801-815.
- Rizal, M., Herdis, A. Boediono, A.S. Aku, dan Yulnawati. 2006. Peranan beberapa jenis gula dalam meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. **JITV**, 11(2):123-130.
- Salah, D.M. dan A.Y. Isyanto. 2011. Pengaruh lama penyimpanan terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ayam kate lokal. **Cakrawala Galuh**. 1(6):1-6.
- Sariözkan, S., M.N. Bucak, F. Canturk, S. Özdamar, A. Yay, P.B.Tuncer, S. Özcan, N. Sorgucu, and Y. Caner. 2012. The effects of different sugars on motility, morphology and DNA damage during the liquid storage of rat epididymal sperm at 4° C. **Cryobiology**. 65(2):93-97.
- Siswanto. 2006. Kualitas Semen di Dalam Pengencer Tris dan Natrium Sitrat dengan Berbagai Sumber Karbohidrat dan Level Gliserol pada Proses Kriopreservasi Semen Rusa Timor (*Cervus timorensis*). **Tesis**. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Soeparna, K. Hidajat, dan T.D. Lestari. 2005. Penampilan reproduksi tiga jenis ayam lokal Jawa Barat. Di dalam **Prosiding Lokakarya Nasional Inovasi Teknologi Pengembangan Ayam Lokal**. Puslitbang Peternakan dan Fakultas Peternakan. Semarang:105-159.
- Solihati, N., R. Idi, R. Setiawan, I.Y. Asmara, dan B.I. Sujana. 2006. Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5° C terhadap periode fertil dan fertilitas sperma. **JITV**. 6(1):7-11.
- Yildiz, C., A. Kaya, M. Aksoy, and T. Tekeli. 2000. Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. **Theriogenology**. 54:579-585.