

## **PENGARUH LAMA PENYIMPANAN SEMEN DALAM PENGECER SUSU SKIM PADA SUHU 5°C TERHADAP MOTILITAS DAN FERTILITAS SPERMATOZOA AYAM KAMPUNG**

### ***THE EFFECT OF SEMEN STORAGE IN SKIM MILK DILUENTS AT 5°C ON MOTILITY AND FERTILITY OF KAMPUNG ROOSTER***

**Yugys Mangliari\*, Dadang Mulyadi Saleh, Aras Prasetyo Nugroho**  
Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto

\*Email korespondensi: [yugys.mangliari@mhs.unsoed.ac.id](mailto:yugys.mangliari@mhs.unsoed.ac.id)

DOI: <https://doi.org/10.20884/1.angon.2023.5.1.p1-13>

#### **ABSTRAK**

**Latar Belakang.** Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Ternak Terapan dan Teaching and Experimental Farm, Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan semen dalam pengencer susu skim pada suhu 5°C terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ayam Kampung. **Materi dan metode.** Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu semen segar dari 10 ekor ayam Kampung pejantan dengan kisaran umur 1,5- 2 tahun dan 48 ekor ayam niaga petelur dengan umur 83 minggu, susu skim dan aquadest. Perlakuan yang diberikan yaitu P<sub>0</sub>= lama penyimpanan 0 jam, P<sub>1</sub>= lama penyimpanan 1 jam, P<sub>2</sub>= lama penyimpanan 2 jam dan P<sub>3</sub>= lama penyimpanan 3 jam. **Hasil.** Hasil ANAVA menunjukkan lama penyimpanan semen dalam pengencer susu skim pada suhu 5°C berpengaruh tidak nyata (P>0,05) terhadap motilitas spermatozoa, sedangkan pada fertilitas berpengaruh sangat nyata (P<0,01). **Simpulan.** Kesimpulan Lama penyimpanan 1 jam memberikan hasil terbaik dalam mempertahankan nilai motilitas dan nilai fertilitas spermatozoa ayam Kampung.

**Kata kunci:** spermatozoa ayam kampung, lama penyimpanan, susu skim, motilitas, fertilitas

#### **ABSTRACT**

**Background.** The study was conducted at the Laboratory of Applied Livestock Reproductive Physiology and Teaching and Experimental Farm, Jenderal Soedirman University, Purwokerto, This study was conducted to determine the motility and fertility of Kampung rooster spermatozoa stored at 5 °C for 0, 1, 2 and 3 hours. **Materials and methods.** The materials used in this study were fresh semen from 10 Kampung roosters with an age range of 1.5- 2 years and 48 commercial laying hens with an age of 83 weeks, skim milk and aquadest. The treatments were P<sub>0</sub> = 0 hours of storage, P<sub>1</sub> = 1 hour of storage, P<sub>2</sub> = 2 hours of storage and P<sub>3</sub> = 3 hours of storage. **Results.** The results of ANOVA showed that the storage time of semen in skimmed milk diluents at a temperature of 5°C had no significant effect on sperm motility (P>0.05) while on fertility the treatment showed a very significant effect (P<0.01). **Conclusion.** It can be concluded that the storage time of 1 hour gave the best results based on the motility and fertility value of Kampung rooster spermatozoa.

**Keywords:** kampung rooster spermatozoa, storage time, skim milk, motility, fertility

## PENDAHULUAN

Ayam Kampung atau *Gallus domesticus* merupakan salah satu ayam lokal asli Indonesia yang berpengaruh dalam memenuhi kebutuhan masyarakat sebagai sumber pangan sehari-hari dan sebagai tambahan pendapatan. Pola pemeliharaan ayam Kampung relatif mudah karena cepat beradaptasi dengan lingkungan, kebal penyakit yang menyerang dan cuaca yang buruk. Namun demikian ayam Kampung juga memiliki beberapa kelemahan, yaitu produksi rendah, pertumbuhan dewasa kelamin lambat, rendahnya mutu genetik, dan masih memiliki sifat karakteristik mengeram (Ulus *et al.*, 2019). Produktivitas ayam Kampung rendah salah satunya dikarenakan pola pemeliharaannya tidak intensif seperti kawin asal dan dipelihara secara tradisional, seperti ayam Kampung dengan performa unggul dijual oleh pemilik karena memiliki nilai jual tinggi, sedangkan ayam Kampung dengan performa relatif rendah dipertahankan pemeliharaannya.

Upaya untuk mengatasi rendahnya produktivitas ayam Kampung, maka perlu alternatif dalam peningkatan kemampuan reproduksi dan produksi yang efisien melalui campur tangan manusia yaitu metode inseminasi buatan (IB). Nilai kualitas semen sebagai satu penunjang keberhasilan IB. Semen yang baik memiliki kriteria abnormalitas rendah <15%, motilitas >80% dan tingkat daya hidup spermatozoa yang tinggi >80% (Mayesta *et al.*, 2014). Volume semen ayam Kampung dalam satu ejakulasi cukup sedikit namun memiliki konsentrasi yang tinggi. Oleh karena itu, semen perlu diencerkan bertujuan untuk memperbanyak volume semen dan tidak banyak mengalami penurunan persentase secara dratis akibat proses penyimpanan (Nugroho dan Saleh, 2016).

Penambahan pengencer bertujuan untuk memperbanyak jumlah volume semen dan mempermudah dalam menginseminasi betina dengan jumlah banyak. Pengencer yang digunakan pada penelitian ini yaitu susu skim dengan modifikasi glukosa. Susu skim salah satu bahan pengencer yang umum digunakan karena fungsinya melindungi spermatozoa dari kejutan dingin yang kandungannya berupa lipoprotein dan lesitin. Kandungan lain didalam susu skim seperti protein yang dimanfaatkan oleh spermatozoa sebagai zat nutrisi dan sumber energi sehingga dapat mempertahankan motilitas tinggi >80% (Budi *et al.*, 2020). Modifikasi penambahan glukosa bertujuan untuk melindungi spermatozoa selama proses penyimpanan pada suhu dingin (5°C) karena terdapat krioprotektan didalamnya (Khaeruddin dan Amir, 2019). Penggunaan pengencer susu skim dan modifikasi glukosa banyak digunakan pemrosesan semen cair dan beku, karena sudah terbukti kandungannya mampu meningkatkan kualitas semen, mempertahankan motilitas tinggi >80% dan fertilitas yang didapatkan tinggi >85% (Saleh *et al.*, 2020).

Penyimpanan semen pada suhu 5°C dapat menekan aktivitas metabolisme spermatozoa sehingga motilitas yang didapat layak untuk IB. Penyimpanan semen segar dan dibiarkan pada temperatur ruangan harus dipakai dalam waktu tidak lebih dari 30- 45 menit (Lubis, 2011), sedangkan semen yang diberi pengencer dan

disimpan pada suhu 5°C harus dipakai tidak lebih dari 6 jam, dikarenakan untuk mempertahankan spermatozoa motil progresif lebih dari 50% (Danang et al., 2012). Penyimpanan terlalu lama dapat menurunkan motilitas dan berpengaruh pada fertilitas, dikarenakan kandungan di dalam pengencer belum mencukupi sumber energi bagi spermatozoa. Selain itu alasan dilakukannya lama penyimpanan semen pada pelaksanaan IB yaitu seperti waktu perjalanan menuju kandang dan banyaknya jumlah ternak yang di IB, sehingga lama penyimpanan dapat sebagai alternatif para inseminator.

Motilitas dan fertilitas merupakan parameter untuk mengetahui berhasil tidaknya semen yang digunakan saat inseminasi buatan pada ayam Kampung. Motilitas spermatozoa merupakan daya gerak progresif spermatozoa dengan penilaian subjektif yang terdiri dari gerak masa yang terbaik sampai yang terburuk. Motilitas merupakan parameter penting motilitas progresif dalam membuahi sel telur (Zen et al., 2020). Salah satu parameter keberhasilan ayam Kampung pejantan adalah fertilitas. Fertilitas merupakan kemampuan spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina dalam membuahi sel telur. Fertilitas merupakan banyaknya jumlah telur fertil dari sejumlah telur yang diinkubasi (Junaedi dan Nurcholis, 2018).

#### **MATERI DAN METODE**

Materi penelitian yang digunakan yaitu 10 ekor ayam Kampung jantan umur 1,5 -2 tahun dan 48 ayam niaga petelur umur 80 minggu. Bahan penelitian yang digunakan yaitu pengencer susu skim dengan modifikasi glukosa dan aquadest. Peralatan yang digunakan yaitu spuit 1 ml, *microtube*, *object glass*, *cover glass*, mikroskop, timbangan digital, gelas ukur, pengaduk, thermometer, kertas aluminium foil, kertas saring, kompor, es batu, tisu, alat hitung, alat tulis, label, tempat pendingin, kompor, panci, *egg tray* dan *egg inspection candler*.

#### **Persiapan**

Persiapan yang dilakukan yaitu dengan mempersiapkan ayam Kampung jantan berumur 1,5-2 tahun sebanyak dan Ayam Niaga Peletur produktif. Ayam Kampung yang dipelihara kemudian akan ditampung semennya, kemudian dilakukan evaluasi semen segar meliputi evaluasi secara makroskopis (volume, warna, aroma, konsistensi dan pH) dan secara mikroskopis (Gerakan massa, konsentrasi dan motilitas individu) yang bertujuan untuk mengetahui kualitas semen segar untuk keperluan IB.

Penampungan semen dilakukan dengan metode *massage* atau pengurutan. Bagian leher ayam sampai bagian pakal ekor di *massage* sampai terangsang, kemudian saat ayam Kampung menunjukkan terangsang ditandai dengan mengangkatnya bagian ekor dan keluar tonjolan atau papillae dari kloaka, apabila ayam Kampung sudah terangsang dilanjutkan dengan jari telunjuk dan ibu jari menekan bagian kloaka sampai terjadi ejakulasi, kemudian semen yang telah keluar segera ditampung menggunakan *microtube*. Semen dari 10 ayam Kampung jantan akan diperiksa perindividu, apabila terdapat semen yang kurang baik maka tidak

digunakan sebagai bahan IB. Setelah diperiksa semen ayam Kampung dicampur dalam satu *microtube* dan diaduk sampai homogen.

### **Pengenceran**

Semen yang telah dikoleksi akan ditambahkan dengan pengencer tujuannya untuk memperbanyak jumlah volume semen dan mempertahankan kualitas semen. Bahan pengencer yang digunakan berupa susu skim dengan penambahan glukosa. Pengencer dilakukan dengan cara sebanyak 5 gram susu skim dilarutkan ke dalam 50 ml larutan aquadest, kemudian dipanaskan menggunakan alat pemanas pada suhu 92-95° C selama 10 menit, setelah itu disaring menggunakan kertas saring dan di dinginkan, kemudian diambil sebanyak 10 ml ditambahkan glukosa sebanyak 50 mM (0,09 gram/ 10 ml) (Khaeruddin dan Amir, 2019). Menurut Lubis (2011) jumlah pengencer yang ditambahkan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah Pengencer} = \frac{\Sigma \text{Volume semen (ml)} \times \text{konsentrasi semen} \times \text{motilitas}}{\text{Konsentrasi semen yang diinginkan}}$$

### **Uji Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung**

Motilitas spermatozoa dapat dihitung dengan cara menghomogenkan semen terlebih dahulu kemudian ambil sedikit sampel semen ayam kampung yang sudah dilakukan penyadapan dan ditambahkan pengencer, lalu teteskan teteskan sebanyak 1-2 tetes diatas object glass dan ditutup menggunakan cover glass, selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x agar dapat terlihat gerak individu dari spermatozoa yang diamati. Rumus yang digunakan untuk menghitung motilitas yaitu:

$$\text{Motilitas} = \frac{\Sigma \text{Spermatozoa bergerak progresif}}{\Sigma \text{Spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

### **Inseminasi Buatan**

Semen yang telah diberi pengencer susu skim dan penambahan glukosa akan diinseminasikan ke ayam niaga betina petelur. Inseminasi buatan dilakukan dengan menggunakan semen yang diberi perlakuan P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub>, setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 5 kali dengan setiap unit percobaan yang terdiri 2 ekor ayam niaga petelur sehingga setiap perlakuan dibutuhkan 12 ekor dan terdapat total ayam yang dibutuhkan sebagai 48 ekor. Tahap inseminasi buatan tersebut dilakukan pada pukul 14.00 WIB sebanyak 1 kali dalam seminggu.

### **Koleksi dan Pengamatan Fertilitas**

Koleksi telur dilakukan pada hari ke-2 setelah dilakukannya inseminasi buatan (IB) sampai hari ke-7. Telur- telur yang sudah dikumpulkan dan dibersihkan kemudian diberi label yang tertulis tanggal telur, nomor telur dan ulangan perlakuan. Pengamatan fertilitas dilakukan secara candling pada hari ke-5 setelah di inkubasi. Tanda telur yang fertil apabila dilihat menggunakan alat peneropong atau candler akan terlihat perkembangan embrio di dalam telur tersebut yang bisa seperti sarang

labah, atau terdapat bintik hitam, dan terlihat jelas pembuluh darah merah. Rumus yang digunakan untuk menghitung fertilitas yaitu:

$$\text{Fertilitas (\%)} = \frac{\text{jumlah total telur fertil}}{\text{jumlah total telur}} \times 100$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kualitas Semen Segar

Kualitas semen segar merupakan salah satu parameter penting, maka perlu dilakukan pemeriksaan semen bertujuan mengetahui kelayakan semen sebelum dilakukannya IB. Nugroho dan Saleh (2016), menyatakan bahwa untuk mengetahui kelayakan spermatozoa saat dilaksanakannya penelitian, maka sangat dianjurkan pemeriksaan evaluasi semen segar terlebih dahulu. Pemeriksaan spermatozoa ini dapat secara makroskopis dan mikroskopis. Junaedi *et al.* (2016), menyatakan bahwa evaluasi semen segar secara makroskopis meliputi warna (putih susu atau krem), aroma, volume semen, konsistensi (kekentalan), dan pH atau derajat keasamaan. Evaluasi semen segar secara mikroskopis meliputi gerak massa, konsentrasi, motilitas spermatozoa dan abnormalitas semen. Pemeriksaan secara mikroskopis pada penelitian ini hanya meliputi pengamatan motilitas dan konsentrasi. Kualitas semen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu umur pejantan, performa ayam, dan nutrisi pada pakan yang diberikan.

Tabel 1. Kualitas Semen Segar

Karakteristik semen	Rataan
Makroskopis	
Volume (mL)	0,20 ± 0,12
Warna	Putih susu
Aroma	Khas
Konsistensi	Kental
pH	7,00 ± 0,00
Mikroskopis	
Gerakan massa (sel/mL)	+++
Konsentrasi	300
Motilitas individu (%)	85,80 ± 1,92

Hasil pemeriksaan spermatozoa yang diperoleh dari penampungan semen 10 ekor ayam Kampung pejantan pada pemeriksaan makroskopis diperoleh volume 0,20 ± 0,12 mL, berwarna putih susu, aroma khas, konsistensi kental dan pH 7,0. Hasil evaluasi semen ayam Kampung pada penelitian ini sudah cukup baik dan memenuhi standar yang dapat digunakan untuk tahap selanjutnya. Volume semen pada penelitian ini didapatkan 0,20 ± 0,12 mL, perolehan tersebut lebih rendah dibandingkan pada penelitian Surti dan Astuti. (2021), yaitu dihasilkan 0,29 ± 0,07 mL/ejakulasi. Semen yang telah evaluasi memiliki warna putih seperti susu, beraroma khas yang dapat dicium menggunakan indra penciuman seperti bau spermin dari hewan tersebut, dan berkonsistensi kental yang dapat dilihat menggunakan indra penglihatan. Hal tersebut sesuai dengan hasil Darni. (2021), bahwa bau khas normal pada semen menunjukkan semen tersebut dalam keadaan baik. Semen normal umumnya tidak menimbulkan bau amis atau bau busuk. Konsistensi yang baik harus bertekstur kental tidak cair seperti air, semen cair

seperti air diakibatkan karena asupan nutrisi yang diberikan kurang mencukupi kebutuhan ternak. Semen ayam Kampung pada penelitian ini memperoleh pH > 7,00 hal tersebut sesuai dengan penelitian Hijriyanto et al. (2017), bahwa hasil semen kualitas baik biasanya memiliki pH sesuai atau netral pada semen ayam lokal yaitu 7-7,5.

Hasil pengamatan spermatozoa ayam Kampung secara makroskopis mendapatkan hasil motilitas  $85,00 \pm 1,92\%$ , konsentrasi 300 juta/mL dan gerakan massa +++ . Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Zen et al. (2020), bahwa hasil rata-rata tertinggi motilitas pada 10 ekor ayam Kampung sebanyak 86,33%. Motilitas individu spermatozoa ayam Kampung pada umumnya menunjukkan hasil yang baik yaitu 80-95%. Akan tetapi lebih kecil dibandingkan hasil dari Kusumawati et al. (2020), bahwa presentase motilitas spermatozoa ayam Kampung mendapatkan hasil  $99,00 \pm 0,01\%$ . Hal yang mempengaruhi tinggi rendahnya hasil motilitas spermatozoa yaitu faktor genetik ternak pejantan dan penilaian secara subyektif oleh seorang pengamat pada proses pemeriksaan. Konsentrasi spermatozoa ayam Kampung didapatkan 300 juta/ mL dengan gerakan massa yang baik +++ . Hasil tersebut lebih rendah dibandingkan dengan pendapat Junaedi et al. (2016), bahwa hasil konsentrasi spermatozoa ayam Kampung yang didapatkan yaitu 3126 juta/mL dengan gerakan massa +++ yang tergolong sangat baik. Pemeriksaan pada gerakan massa menunjukkan hasil yang sangat baik (+++), saat diamati dibawah mikroskop membentuk gumpalan atau gelombang awan.

### **Pengaruh Penyimpanan Semen dalam Pengencer Susu Skim Terhadap Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung**

Motilitas spermatozoa merupakan daya gerak spermatozoa motil progresif yang dapat membuahi ovum. Daya gerak motil progresif sangatlah penting, apabila spermatozoa yang tidak baik atau tidak motil maka keberhasilan dalam membuahi sel telur kecil atau tidak terbuahi. Haryuni et al. (2020) bahwa kemampuan spermatozoa dalam pergerakan secara progresif menuju ovum (sel telur) sangat mempengaruhi menentukan terjadinya proses pembuahan. Pengamatan motilitas menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Hasil penelitian motilitas semen ayam Kampung terdapat pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil Rataan dan Standar Deviasi Motilitas (%) Spermatozoa Ayam Kampung**

No	Perlakuan	$\bar{x} \pm Sd$
1	P <sub>0</sub>	85,33±4,96
2	P <sub>1</sub>	87,00±3,94
3	P <sub>2</sub>	84,50±4,96
4	P <sub>3</sub>	83,16±2,13

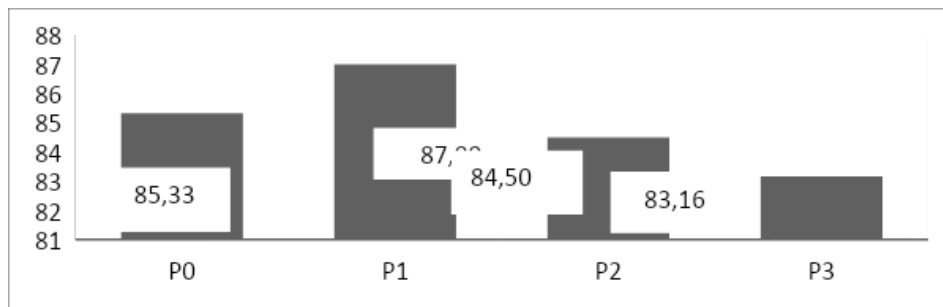
Keterangan: P<sub>0</sub> = lama pe nyimpanan 0 jam; P<sub>1</sub>= lama penyimpanan 1 jam; P<sub>2</sub>= lama penyimpanan 2 jam; P<sub>3</sub> = lama penyimpanan 3 jam.

Hasil dari pengamatan motilitas pada lama penyimpanan semen pada suhu 5°C yang diberi pengencer susu skim dengan waktu simpan 0 jam, 1 jam, 2 jam dan 3 jam dapat dilihat pada tabel 2. Hasil rata-ran setiap perlakuan P0, P1, P2 dan P3 adalah 85,33±4,96%, 87,00±3,94%, 84,50±4,96% dan 83,16±2,13%. Lama penyimpanan semen yang diberi pengencer susu skim menunjukkan hasil yang baik lebih dari 80%, diduga kandungan yang ada pada susu skim terkandung zat lipoprotein dan glukosa yang dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa dan dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin karena proses penyimpanan suhu dingin. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Khaeruddin et al. (2020), bahwa selama proses penyimpanan, spermatozoa dapat bertahan hidup karena memetabolisme karbohidrat (laktosa) yang didapatkan dari pengencer susu skim. Proses metabolisme karbohidrat menghasilkan adenosin triphosphate (ATP) yang diperlukan untuk mempertahankan aktivitas transpor aktif oleh membran sel spermatozoa. Saleh et al. (2022), menyatakan semen ayam yang diberi pengencer susu skim dapat mempertahankan nilai motilitas baik hingga 8 jam.

Tabel 2. menunjukkan bahwa dalam penyimpanan suhu 5°C motilitas tertinggi terdapat pada perlakuan P1= 87,00±3,94% pemberian pengencer susu skim dapat mempertahankan motilitas spermatozoa yang disimpan pada suhu dingin 4-5°C. Hal tersebut karena kandungan didalam susu skim seperti kasein dapat melindungi semen dari kejutan dingin pada proses penyimpanan. Rilandana et al. (2021), menyatakan bahwa kandungan glukosa didalam susu skim berguna sebagai sumber energi pengganti fruktosa pada plasma spermatozoa yang dibutuhkan untuk beraktivitas selama masa penyimpanan, sehingga kualitas semen dapat dipertahankan. Woli et al. (2015), menyatakan penambahan laktosa yang terkandung dalam pengencer susu skim mampu melindungi membrane sel spermatozoa selama proses lama penyimpanan pada suhu dingin 3-5°C dan akibat serangan radikal bebas, sehingga pada membrane sel tetap dalam keadaan utuh, kemudian motilitas dan daya fertilitas dapat dipertahankan dalam keadaan baik.

Nilai rata-ran motilitas terendah pada perlakuan P3 = 83,16±2,13%. Hal tersebut diduga karena semakin lama semen disimpan akan terus mengalami penurunan, sehingga motilitas yang didapatkan akan terus menurun. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Danang et al. (2012), spermatozoa yang mengalami penurunan pada proses penyimpanan akan mempengaruhi aktivitas metabolisme sehingga terjadi kerusakan pada membrane sel. Kerusakan membrane sel menyebabkan terganggunya pasokan energi dan pada akhirnya motilitas yang didapatkan menurun. Aerawata et al. (2021), menyatakan spermatozoa mati berubah menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup. Hal tersebut sependapat dengan Bebas et al. (2016), bahwa keberadaan spermatozoa toksik yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan terlalu lama menyebabkan tingginya kadar radikal bebas yang mengakibatkan rusaknya keutuhan membrane plasma.

Hasil dari analisis variansi (ANOVA) dapat disimpulkan bahwa lama penyimpanan semen dalam pengencer susu skim pada suhu 5°C yang telah dilakukan menunjukkan pengaruh tidak nyata ( $P>0,05$ ) terhadap persentase motilitas spermatozoa ayam Kampung. Hipotesis pada motilitas ditolak karena didapatkan hasil berpengaruh tidak nyata. Hal ini menunjukkan bahwa lama penyimpanan semen pada pengencer susu skim pada suhu 5°C menghasilkan nilai motilitas yang relatif sama. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa blok periode penampungan semen menunjukkan pengaruh tidak nyata ( $P>0,05$ ) terhadap motilitas spermatozoa ayam Kampung.



Gambar 1. Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung

Hal tersebut diduga penyimpanan semen menghasilkan nilai motilitas tidak jauh berbeda karena rentan waktu penyimpanan yang terlalu dekat, sehingga menunjukkan nilai motilitas yang tidak signifikan. Aktivitas pergerakan spermatozoa memungkinkan terjadi proses kapasitasi, walaupun tidak signifikan motilitas yang didapatkan tetap naik pada lama penyimpanan 1 jam. Proses kapasitasi dapat terjadi dengan minimal waktu 1-2 jam. Hal tersebut sama dengan waktu terjadinya kapasitasi pada spermatozoa domba antara 1- 1,5 jam (Wattimena, 2006), pada spermatozoa sapi sekitar 0- 4 jam (Iqbal dan Hunter, 1995). Menurut Yuniar et al. (2021), bahwa penambahan pengencer susu skim pada lama penyimpanan pada suhu 5°C menunjukkan pengaruhnya masing- masing perlakuan sehingga tidak memberikan pengaruh bersama secara nyata terhadap motilitas spermatozoa ayam Kampung. Motilitas spermatozoa sampai 3 jam masih layak untuk diinseminasikan (83,1%).

### **Pengaruh Penyimpanan Semen dalam Pengencer Susu Skim Terhadap Fertilitas Spermatozoa Ayam Kampung**

Fertilitas merupakan kemampuan spermatozoa dalam saluran reproduksi betina dalam membuahi sel telur dalam waktu tertentu. Terjadinya proses fertilitas setelah penggabungan inti sel sperma dengan inti sel ovum yang kemudian terbentuknya zigot. Sperma akan melalui beberapa saluran didalam ovum, spermatozoa baik yang memiliki gerakan progresif lurus kedepan kemungkinan besar lolos dalam proses seleksi yang terjadi didalam ovum. Nilai motilitas yang didapatkan dapat mempengaruhi keberhasilan pada fertilitas. Faktor lain yang dapat mempengaruhi keberhasilan fertilitas menurut (Wiyanti et al., 2013) yaitu pada penampungan



semen, proses lama penyimpanan, kandungan pada pengencer semen, kesuburan ayam betina, dan keterampilan inseminator.

Pengamatan fertilitas dilakukan dengan cara telur yang sudah dikoleksi dan di masukan kedalam mesin tetas selama 5 hari, kemudian dilakukan candling dengan alat candler yang bertujuan untuk mengetahui telur tersebut sudah fertil atau tidak fertil. Tanda terjadinya proses pembuahan ditandai dengan adanya embrio pada telur yang terlihat seperti sarang berwarna merah. Hal tersebut sesuai dengan Helendra et al. (2011), bahwa pada hari ke 6 inkubasi telur ayam dilakukan pengamatan fertillitas dengan cara candling, jika terjadi perkembangan pada embrio akan terlihat pergerakan dan garis merah seperti sarang laba- laba yaitu pembuluh darah dari bakal ayam. Terdapat 4 perlakuan yang dilakukan pada fertilitas spermatozoa ayam Kampung yaitu yaitu P<sub>0</sub> : lama penyimpanan 0 jam; P<sub>1</sub>: lama penyimpanan 1 jam; P<sub>2</sub>: lama penyimpanan 2 jam; P<sub>3</sub>: lama penyimpanan 3 jam. Hasil penelitian fertilitas semen ayam Kampung dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Rataan dan Standar Deviasi Fertilitas Spermatozoa Ayam Kampung

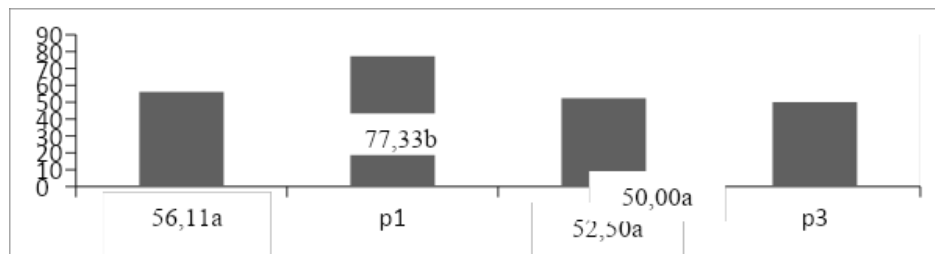
No	Perlakuan	$\bar{x} \pm Sd$
1	P <sub>0</sub>	56,11 ± 6,26 <sup>a</sup>
2	P <sub>1</sub>	77,33 ± 5,96 <sup>b</sup>
3	P <sub>2</sub>	52,50 ± 15,41 <sup>a</sup>
4	P <sub>3</sub>	50,00 ± 12,43 <sup>a</sup>

Keterangan : P<sub>0</sub> = lama penyimpanan 0 jam; P<sub>1</sub>= lama penyimpanan 1 jam; P<sub>2</sub>= lama penyimpanan 2 jam; P<sub>3</sub> = lama penyimpanan 3 jam. Notasi menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji lanjut BNJ 5%.

Hasil pengamatan fertilitas setiap perlakuan yaitu menunjukkan rata-rata setiap perlakuan adalah P<sub>0</sub>= 56,11±6,26%; P<sub>1</sub>= 77,33±5,96%; P<sub>2</sub>= 52,50±15,41% dan P<sub>3</sub>= 50,00±12,43%. Perbedaan hasil yang didapatkan dari penelitian ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu umur ayam, deposisi semen, jenis bahan pengencer, banyaknya jumlah semen yang di IB dan lama waktu koleksi telur (Medupe et al., 2013). Rataan hasil fertilitas tertinggi didapatkan pada perlakuan P<sub>1</sub> = Lama Penyimpanan 1 jam dengan rata-rata nilai 77,33±5,96%. Hal tersebut diduga terjadinya lonjakan spermatozoa yang kemudian teraktivasi yang menyebabkan kapasitas, spermatozoa menjadi hiperaktif sehingga banyak yang sampai di SST pertama didaerah Uterovaginal Junction kemudian keindufibulum. Menurut Iswati et al. (2017), bahwa pada proses penyimpanan semen 1 jam pada suhu 4-5°C masih banyak terdapat spermatozoa progresif, dikarenakan energi yang tersedia masih banyak dan selain itu spermatozoa menjadi hiperaktif karena pada proses reaksi kromosom membutuhkan waktu minimal 1 jam didalam penyimpanan.

Hasil rata-rata fertilitas relatif rendah terdapat pada perlakuan P<sub>0</sub>, P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub>. Perlakuan P<sub>0</sub> yaitu lama simpan 0 jam menunjukkan hasil rata-rata fertilitas 56,11±6,26%. Hal tersebut kemungkinan spermatozoa belum teraktivasi akibat lama penyimpanan, sehingga semen setelah dilakukan IB pada saat menuju SST belum begitu banyak dan maksimal. Terjadinya proses aktivasi spermatozoa biasanya membutuhkan waktu minimal 1 jam sampai terjadinya kapasitas sehingga spermatozoa hiperaktif. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Soepri (2020), bahwa

waktu minimum terjadinya proses kapasitasi adalah 2 jam pada spermatozoa. Rataan fertilitas perlakuan P2 dan P3 merupakan hasil rata-rata terendah yaitu  $52,50 \pm 15,41\%$  dan  $50,00 \pm 12,43\%$ . Hal tersebut diduga lamanya waktu yang digunakan pada proses penyimpanan, dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Ervandi et al. (2020), menyatakan semakin lama semen disimpan, maka semakin meningkatnya aktivitas spermatozoa, kemudian akan terjadinya peningkatan atau penumpukan asam laktat dan pH semakin menurun. Penumpukan asam laktat yang tinggi akan mempengaruhi ruang gerak spermatozoa dan diduga dapat mengakibatkan kematian pada spermatozoa, kemudian nilai motilitas akan semakin menurun dan mempengaruhi fertilitas. Noviansyah et al. (2017), menyatakan kualitas semen menurun diakibatkan terjadi perubahan fungsi membran sel sehingga terjadi kerusakan membran sel spermatozoa pada saat proses pendinginan.



Gambar 2. Fertilitas spermatozoa ayam Kampung

Hasil analisis variansi (ANOVA) yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menyatakan bahwa perlakuan lama penyimpanan semen dalam pengencer susu skim pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$  yang telah dilakukan berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap persentase fertilitas spermatozoa ayam Kampung. Hasil kemudian dilakukan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) agar dapat mengetahui manakah perlakuan lama penyimpanan semen dalam pengencer susu skim pada suhu dingin  $5^{\circ}\text{C}$  untuk keperluan inseminasi buatan. Hasil Uji lanjut Beda Nyata Jujur menunjukkan bahwa setiap perlakuan lama penyimpanan suhu dingin menghasilkan pengaruh yang berbeda. Perlakuan P<sub>0</sub>, P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub> menunjukkan perbedaan tidak nyata ( $P > 0,05$ ), tetapi P<sub>0</sub> (lama penyimpanan 0 jam) dengan P<sub>1</sub> (lama penyimpanan 1 jam) menunjukkan perbedaan nyata, perlakuan P<sub>1</sub> (lama penyimpanan 1 jam) dengan P<sub>2</sub> (lama penyimpanan 2 jam) perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ), perlakuan P<sub>1</sub> (lama penyimpanan 1 jam) dengan P<sub>3</sub> (lama penyimpanan 3 jam) perbedaan sangat nyata ( $P < 0,01$ ).

Hal tersebut diduga penyimpanan semen pada suhu dingin selama 1 jam dalam mempertahankan hidup spermatozoa yang paling optimal. Lama penyimpanan 1 jam pada spermatozoa yang disimpan pada microtube sudah teraktifasi karena pengencer susu skim dan glukosa mengandung lesitin dan kalsium menyebabkan spermatozoa hiperaktif, sehingga setelah dilakukannya inseminasi spermatozoa akan bergerak hiperaktif ke glandula dan banyak spermatozoa yang sampai di Sperm Storage Tubulus (SST). Hal tersebut sesuai dengan pendapat Thamoos et al. (2014), bahwa kandungan media pengencer yang memiliki konsentrasi kalsium

ekstraseluler tinggi dapat menyebabkan kapasitas sehingga spermatozoa menjadi hiperaktif. Menurut Shari (2021), bahwa kapasitas menyebabkan reaksi akrosom pada bagian kepala dan hiperaktivasi di ekor spermatozoa. Peningkatan konsentrasi ion kalsium akan mempengaruhi aksonem secara langsung yang menyebabkan hiperaktivasi kemudian spermatozoa akan bergerak cepat menuju saluran reproduksi betina.

Hasil persentase pada pengamatan fertilitas lama penyimpanan 1 jam menunjukkan hasil 77,33%. Setelah dilakukan inseminasi, spermatozoa akan bergerak dan berakumulasi didalam SST pertama di Uterovaginal Junction. Menurut Ridwan dan Rusdin (2008), bahwa spermatozoa yang telah dideposisikan kemudian akan menempati Uterovaginal Junction, yang dimana spermatozoa mendapatkan nutrisi dan dapat mempertahankan kemampuan fertilitasnya ditempat tersebut. Spermatozoa dapat bertahan didalam uterovaginal selama 7 hari sampai terjadinya proses fertilisasi. Menurut Kismiati (1999), lamanya spermatozoa dalam bertahan hidup di dalam saluran reproduksi betina mencapai 21 hari. Organ reproduksi betina akan menjalankan tugasnya setelah spermatozoa berakumulasi didalam Uterovaginal Junction.

Perlakuan P2 (lama penyimpanan 2 jam) dan P3 (lama penyimpanan 3 jam) semakin menurun diakibatkan pada proses lama penyimpanan terlalu lama spermatozoa sudah teracuni oleh asam laktat, CO<sub>2</sub> dan air pada leher spermatozoa menyebabkan cold shock sehingga banyak spermatozoa yang mati. Akibatnya tidak banyak spermatozoa yang bisa sampai menuju SST didalam infundibulum saluran reproduksi betina. Hal tersebut sesuai dengan Lubis (2011), bahwa asam laktat saat penyimpanan akan semakin banyak dan pH menurun, sehingga pergerakan spermatozoa menjadi teracuni dan menyebabkan toksik, kemudian mempengaruhi spermatozoa lain yang menyebabkan kerusakan yang mengakibatkan pada proses menuju saluran reproduksi betina tidak maksimal. Menurut Susilawati (2011), cold shock dapat terjadi karena stress oksidatif akibat terbentuknya Reactive Oxygen Species (ROS) selama proses pendinginan dapat menyebabkan nilai fertilitas menurun.

## **KESIMPULAN**

Lama penyimpanan semen (0 jam, 1 jam, 2 jam dan 3 jam) dalam pengencer susu skim pada suhu 5°C menunjukkan hasil motilitas yang relatif sama. Hasil fertilitas terbaik pada perlakuan P<sub>1</sub> yaitu lama penyimpanan 1 jam dengan hasil sangat signifikan 77,33%.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Aerawata, I. W. G., W. Bebas dan T. G. O. 2021. Motility and viability spermatozoa of Cemani rooster in phosphate skim milk extender stored at room temperature. *Indonesia Medicus Veterinus*. 10(1): 94-104.
- Bebas, W dan D. N. D. I. Laksmi. 2015. Viabilitas Spermatozoa Ayam Hutan Hijau Dalam Pengencer Pospfat Kuning Ditambah Laktosa Pada Penyimpanan 5°C. *Jurnal Veteriner* 16(1): 62-67.
- Budi, J. A., W. Bebas dan D. N. D. I. Laksmi. 2020. Daya Simpan Semen Ayam Cemani Dalam Pengencer Susu Skim Fosfat Pada Suhu 4°C Berdasarkan Motilitas dan

- Daya Hidup Spermatozoa. *Indonesia Medicus Veterinus* 9(5): 705-715.
- 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. *Journal of Tropical Animal Production* 13(1): 47-57.
- Darni, T. S dan S. Rahadi. Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung dengan Penambahan Vitamin E Dalam Pakan. *JIPHO (Jurnal Ilmiah Peternakan Halu Oleo)* 3(1): 19-22.
- Ervandi, M., W. Ardiansya dan S. Prahara. 2020. Kualitas dan Fertilitas Spermatozoa Sebagai Akibat Pejantan Berbeda. *Jambura Journal of Animal Science* 2(2): 29-37.
- Haryuni, N., A. Lidyawati., B. Khopsoh dan N. Hasanah. 2020. Pengaruh Level Energi Dalam Pakan Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung Secara Mikroskopis. *Jurnal Ilmu Peternakan Terapan* 4(1):7-13.
- Helendra, H., I. Imanidar dan R. Sumarmin. 2011. Fertilitas dan Daya Tetas Telur Ayam Kampung (*Gallus domestica*) Dari Kota Padang. *Eksakta* 1(1): 28-37.
- Hijriyanto, M., Dasrul, dan C. N. Thasmi. 2017. Pengaruh Frekuensi Penampungan Semen terhadap Kualitas Spermatozoa pada Ayam Bangkok. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner* 1(1):46-53.
- Iswati, N. Isnaini dan T. Susilawati. 2017. Fertilitas Spermatozoa Ayam Buras dengan Penambahan Antioksidan Glutathione dalam Pengencer Ringer's Selama Simpan Dingin. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 27(1):107-115.
- Junaedi., R. I. Arifiantini., C. Sumantri dan A. Gunawan. 2016. Penggunaan Dimethyl SULfoxide Sebagai Krioprotektan dalam Pembekuan Semen Ayam Kampung. *Jurnal Veteriner* 17(2): 300-308.
- Junaedi dan Nurcholis. 2018. Kaji Banding Fertilitas dan Periode Fertel Ayam Bangkok dengan Ayam Pelung. *Musamus Journal of Animal Science* 1(1): 10-16.
- Khaeruddin dan M. Amir. 2019. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Glukosa dengan Jenis Extender Terhadap Spermatozoa Ayam Jantan Asli. *Claza Journal of Animal Husbandry* 4(2): 36-43.
- Khaeruddin, K., A. Arismunandar dan N. Nurda. 2020. Karakteristik Semen Ayam Kampung yang Diberi Minyak Hati Ikan Kod Sebagai Feed Supplement. *Musamus Journal of Livestock Science* 3(1): 15-24.
- Kismiati, S. 1999. Fertilitas Telur dan Mortalitas Embrio Ayam Kedu Hitam pada Interval Inseminasi yang Berbeda. Universitas Diponegoro. Semarang. 53 -59.
- Kusumawati, E. D., A. T. N. Krisnaningsih dan A. U. K. Walangara. 2020. Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung dan Ayam Arab dengan Lama Simpan yang Berbeda pada Suhu Ruang. *Jurnal Sains Peternakan* 8(1): 41-56.
- Lubis, T. M. 2011. Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung dalam Pengencer Air Kelapa, NaCl Fisiologis dan Air Kelapa-NaCl Fisiologis pada 25-29° C. *Jurnal Agripet* 11(2): 45-50.
- Mayesta, D. D. M., I. G. N. Trilaksana dan W. Bebas. 2014. Motilitas dan Daya Hidup SPermatozoa Ayam Dalam Pengencer Glukosa Kuning Tulir Fosfat pada Penyimpanan 3-5°C.
- Noviansyah, L. Tjandrakirana dan N. Ducha, 2017. Pengaruh Penambahan Soya dalam Pengencer Dasar Tris-Citris Acid-Fructose (TCF) terhadap Motilitas Spermatozoa Kambing Boer Pasca Pembekuan. *Jurnal Lentera Bio* 6(1):23-26.
- Nugroho, A. P dan D. M. Saleh. 2016. Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kampung dengan Pengencer Ringer Laktat-Putih Telur dan Lama Simpan Pada Suhu 5°C Selama 48 Jam. *Acta Veterinaria Indonesiana* 4(1):35-41.

- Ridwan, R dan R. Rusdin. 2008. Konservasi Semen Ayam Buras Menggunakan Berbagai Pengencer Terhadap Fertilitas dan Periode Fertil Spermatozoa Pasca Inseminasi Buatan. *Agroland: Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian* 15(1): 63-67.
- Rilandana, D., D. M. Saleh dan A. P. Nugroho. 2021. The Effect Of Different Kinds And Time Of Storage At 5°C Temperature On Motility, Viability and Abnormality Of Kampung Rooster Spermatozoa. *ANGON: Journal of Animal Science and Technology*. 3(2): 184-191.
- Saleh, D. M., M. Y. Sumaryadi., A. P. Nugroho dan C. N. Hidayah. 2020. Penggunaan Pengencer Standar Pada Semen Ayam Kampung The Use OF Standard Diluents IN Kampung Rooster Semen. *Prosiding Seminat Teknolohi dan Agribisnis Peternakan VII-Webinar: Prospek Peternakan di Era Normal Baru Pasca Pandemi Covid-19. Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, 27 Juni 2020, ISBM 978-602-52203-2-6.*
- Saleh, D. M., M. Y. Sumaryadi., A. P. Nugroho dan C. N. Hidayah. 2022. Motilitas dan Fertilitas Spermatozoa Ayam Kampung Dalam Pengencer Semen Berbasis Susu Skim. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Agribisnis Peternakan (STAP)* 9: 326-330.
- Shari, A. 2021. Peran Vdac (Voltage Dependent Anion Channel) Terhadap Fungsi Spermatozoa. *Jurnal Kesehatan Bhakti Husada* 7(1): 2-2.
- Soepri, O. Y. 2020. *Manfaat Indogofera sp. Di Bidang Reproduksi Ternak. Buku Ajar Undip Press. Semarang.*
- Suripta, H dan P. Astuti. 2021. Peningkatan Produksi Semen Ayam Kampung Melalui Suplementasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian* 5(2): 194-204.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology. Universitas Brawijaya Press. Malang.*
- Ulus, E., E. D. Kusumawati dan A. T. N. Krisnaningsih. 2019. Pengaruh Pengencer dan Lama Simpan Semen Ayam Kampung pada Suhu Ruang Terhadap Motilitas dan Siabilitas spermatozoa. *Jurnal Sains Peternakan* 7(1): 29-40.
- Wattimena, J. 2006. Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Pola Kapasitasi dan Reaksi Akrosom Spermatozoa Domba In Vitro. *JITV* 11(4): 295-301.
- Wiyanti, D. C., Isnaini, N., & Trisunuwati, P. (2013). Pengaruh Lama Simpan Semen Dalam Pengencer NaCl fisiologis Pada Suhu Kamar Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 7(1): 53-55.
- Woli, S. L., E. D. Kusumawati dan A. T. N. Krisnaningsih. 2017. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ayam Kampung Pada Suhu 5°C Menggunakan Pengencer dan Lama Simpan yang Berbeda. *Jurnal Sains Peternakan* 5(2): 138-144.
- Yuniar, T. U., D. M. Saleh dan S. Mugiyono. 2021. The Effect of Addition of Egg Yolk to Skim Milk Diluent and Storage Time at 5°C on Spermatozoa Quality of Pelung Rooster. *ANGON: Journal of Animal Science and Technology* 3(1):29-46.
- Zen, A. A., Y. S. Ondho dan S. Sutiyono. 2020. Seleksi Pejantan Ayam Kampung Berdasarkan Breeding Value Terhadap Gerak Massa, Abnormalitas dan Motilitas Spermatozoa. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia* 15(3): 339-347.