

Pengaruh Waktu Thawing terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Buras

(The Effect of Thawing Time on The Quality of Native Chicken Spermatozoa)

Siska Milanda, Abdul Hakim Fattah*

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sinjai

Jl. Teuku Umar No. 8 Biringere Sinjai Utara

*Email Koresponden: hakimfattah71@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu thawing terhadap kualitas spermatozoa ayam buras. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 taraf perlakuan dan 5 kali ulangan. Adapun perlakuan yang digunakan yaitu P1 = waktu thawing 20 detik, P2 = waktu thawing 30 detik, P3 = waktu thawing 40 detik, P4 = waktu thawing 50 detik, P5 = waktu thawing 60 detik. Semen yang telah diencerkan untuk dikemas dalam 5 ministraw 0,25 ml, kemudian diekuilibrasikan selama 2 jam. Setelah ekuilibrasikan dilanjutkan dengan proses pembekuan (*pre-freezing*). Kemudian straw disimpan dalam kontainer N2 cair (-196°C) selama 24 jam. Semen beku dicairkan kembali (*thawing*) dengan air hangat bersuhu 37°C sesuai perlakuan. Parameter yang diamati yaitu motilitas dan *recovery rate* spermatozoa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu thawing tidak terdapat pengaruh yang nyata ($P>0.05$) terhadap motilitas dan *recovery rate* spermatozoa. Disimpulkan bahwa waktu thawing 20 hingga 60 detik dapat diterapkan pada semen beku ayam buras.

Kata Kunci: Ayam buras, spermatozoa, waktu thawing

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect of thawing time on the quality of native chicken spermatozoa. The research design used in this study was a completely randomized design (CRD) with 5 treatment levels and 5 replications. The treatments used were P1 = thawing time of 20 seconds, P2 = thawing time of 30 seconds, P3 = thawing time of 40 seconds, P4 = thawing time of 50 seconds, P5 = thawing time of 60 seconds. Semen that has been diluted to be packed in 5 ministraw 0.25 ml, then equilibrated for 2 hours. After equilibration, proceed with the freezing process (*pre-freezing*). Then the straws were stored in a liquid N2 container (-196°C) for 24 hours. frozen semen was thawed again with warm water at 37°C according to the treatment. Parameters observed were sperm motility and recovery rate. The results of this study showed that thawing time had no significant effect ($P>0.05$) on sperm motility and recovery rate. It was concluded that the thawing time of 20 to 60 seconds can be applied to frozen native chicken semen.

Keywords: Native chicken, spermatozoa, thawing time

PENDAHULUAN

Ayam buras merupakan ayam lokal asli Indonesia yang memiliki peranan penting bagi kehidupan masyarakat khususnya di pedesaan karena dijadikan sebagai sumber telur, daging, serta tambahan pendapatan. Saat ini ayam buras cukup berpotensi untuk dikembangkan karena sangat penting dalam pemenuhan gizi masyarakat. Sebagai unggas yang dilindungi, ayam buras perlu dijaga kelestariannya demi menjaga kemurnian ayam lokal khas Indonesia. Untuk menjaga kelestarian ayam lokal tersebut maka perlu dilakukan pembekuan semen.

Pembekuan semen adalah cara yang umum digunakan untuk memperpanjang daya hidup spermatozoa. Sedangkan menurut Susilawati (2013) pembekuan semen adalah kegiatan hidup sel tanpa mematikan fungsi sel, reaksi metaboliknya berhenti. Adapun cara penyimpanan semen dalam kondisi beku (nitrogen cair) atau kondisi dingin (*refrigerator*). Semen yang disimpan dalam

kondisi beku memungkinkan penggunaan semen dalam jangka waktu yang lama sedangkan semen hasil pendinginan mempunyai daya tahan yang relatif rendah (Suyadi, 2001).

Semen beku memiliki keunggulan yaitu dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang, tetapi juga mempunyai kelemahan yaitu kualitas semen setelah pembekuan dapat menurun. Penurunan kualitas sangat tinggi sekitar 50% spermatozoa akan mati selama pembekuan dan spermatozoa yang bertahan hidup umumnya mempunyai fertilitas yang rendah (Lessard *et al.*, 2000). Permasalahan utama dari semen beku yaitu rendahnya kualitas semen setelah dilakukan *thawing*.

Thawing merupakan pencairan kembali semen beku dengan menggunakan media dan durasi tertentu sebelum dilakukan Inseminasi Buatan. Rodrigues *et al.*, (2005) berpendapat bahwa proses *thawing* pada semen beku dengan waktu selama 60 detik menyebabkan terjadinya beberapa kerusakan pada membran spermatozoa. Sedangkan Ansari *et al.*, (2010) melaporkan bahwa motilitas, viabilitas, dan integritas membran tertinggi yaitu *thawing* pada air selama 30 detik. Pesch and Hoffman (2007), menyarankan untuk keperluan Inseminasi Buatan, sebaiknya *thawing* dilakukan pada air selama 20 detik karena lebih praktis serta semen beku tidak boleh *dithawing* di bawah suhu 15 °C.

Perbedaan kualitas semen beku tersebut menunjukkan bahwa proses *thawing* pada waktu yang berbeda dapat memberikan pengaruh yang berbeda pula pada kualitas semen beku. Berdasarkan uraian tersebut, maka menjadi dasar diadakannya penelitian mengenai pengaruh waktu *thawing* terhadap kualitas spermatozoa ayam buras serta dapat memberi solusi bagi peternak maupun inseminator guna meningkatkan kualitas semen beku sesuai dengan syarat Inseminasi Buatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu *thawing* terhadap kualitas spermatozoa ayam buras

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 taraf perlakuan. Taraf perlakuan yang digunakan yaitu P1 (waktu *thawing* 20 detik), P2 (waktu *thawing* 30 detik), P3 (waktu *thawing* 40 detik), P4 (waktu *thawing* 50 detik) dan P5 (waktu *thawing* 60 detik).

Prosedur Penelitian

Pembuatan Pengencer

Kuning telur ayam 10% ditambahkan ringer laktat 90% (PT. Widatra Bakti), selanjutnya pengencer disentrifius 2000 rpm selama 20 menit, supernatan diambil dan endapan dibuang. Kemudian pengencer ditambahkan krioprotektan *dimethylsulfoxide* (Merck) 7% (Khairuddin *et al.*, 2019). Pengencer juga ditambahkan antibiotik penisilin (PT. Meiji) 1000 IU/ml dan streptomisin (PT. Meiji) 1 ml g/ml (Khairuddin *et al.*, 2019; Khaeruddin dan Srimaharani, 2019).

Koleksi dan Pengenceran Semen

Koleksi atau penampungan semen pada ayam dilakukan dengan menggunakan metode pengurutan (masase). Semen yang telah dikoleksi kemudian ditampung menggunakan spuid 1 ml dan dibawa ke laboratorium. Pengenceran dilakukan satu tahap pada temperatur ruang. Perbandingan semen dan pengencer yaitu 1 : 10. Semen yang telah dilarutkan untuk masing-masing pengencer dikemas dalam 5 minstraw 0,25 mL (IMV, france).

Ekuilibrasi, Prafreezing, dan Pembekuan

Ekuilibrasi dilakukan selama 2 jam dengan menempatkan straw pada temperatur 5°C (Santiago-Moreno *et al.*, 2011). Setelah ekuilibrasi dilanjutkan dengan proses pembekuan (*prafreezing*). Pembekuan dilakukan pada uap nitrogen (N₂) cair, menggunakan kotak *styrofoam*, straw ditempatkan pada rak pembekuan dengan jarak 4 cm dari permukaan N₂ cair, selama 10 menit. Setelah beku, straw disimpan dalam kontainer N₂ cair (-196°C) selama 24 jam (Khairuddin *et al.*, 2019).

Thawing

Untuk mengetahui keberhasilan pembekuan semen, semen beku dicairkan kembali (*thawing*) dengan air hangat bersuhu 37°C selama 20 detik, 30 detik, 40 detik, 50 detik, dan 60 detik. Semen *post thawing* kemudian dievaluasi pada mikroskop cahaya (Boeco, Germany) perbesaran 40 x 16.

Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu motilitas dan *recovery rate* spermatozoa. Penilaian motilitas individu spermatozoa dilakukan sebelum dan setelah *thawing*. Motilitas dinilai secara subyektif dengan persentasi spermatozoa yang bergerak progresif. *Recovery rate* spermatozoa segar dihitung dengan persentase spermatozoa yang pulih setelah pembekuan dengan cara membandingkan motilitas spermatozoa setelah *thawing* dengan motilitas spermatozoa segar.

Analisis Statistik

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 5 kali ulangan. Motilitas dan *recovery rate* dianalisis ragam (ANOVA) menggunakan aplikasi SPSS, jika nilai signifikansi lebih besar dari 0.5 maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Thawing adalah pencairan kembali semen yang telah melalui proses pembekuan. Motilitas spermatozoa ayam mengalami penurunan yang signifikan setelah *thawing*. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berbagai waktu *thawing* tidak berpengaruh nyata ($P>0.05$) terhadap motilitas spermatozoa ayam buras (Tabel 1). Motilitas spermatozoa *post thawing* yang didapatkan dalam penelitian ini berkisar antara 25 % -29 %. Hasil ini hampir sama dengan yang didapatkan oleh Utomo (2014) yaitu 26.25 % dan juga tidak berbeda antar perlakuan waktu *thawing* 30, 45 dan 60 detik pada spermatozoa ayam kampung. Nilai ini juga tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Khaeruddin (2020) yang mendapatkan 29.75 % menggunakan pengencer yang ditambahkan Bovine serum albumin (BSA). Demikian juga tidak berbeda dengan Khaeruddin *et.al* (2020) yaitu 26,86 % menggunakan krioprotektan etilen glikol. Namun lebih rendah yang didapatkan oleh Khaeruddin dan Kurniawan (2020) yaitu 35.00% menggunakan pengencer yang dilengkapi karbohidrat. Hal ini mungkin disebabkan karena pada penelitian ini tidak ditambahkan karbohidrat sehingga menghasilkan motilitas yang relatif lebih rendah.

Tabel 1. Motilitas dan *recovery rate* spermatozoa ayam buras dengan berbagai perlakuan waktu *thawing*

Perlakuan	Motilitas (%)	Recovery Rate (%)
P1	26.00 ± 11.40	29.51 ± 13.11
P2	25.00 ± 10.60	28.71 ± 12.94
P3	29.00 ± 8.21	33.29 ± 10.57
P4	26.00 ± 4.18	29.70 ± 5.70
P5	26.00 ± 10.83	29.83 ± 13.31

Keterangan: P1 : Waktu *thawing* 20 detik, P2 : waktu *thawing* 30 detik, P3 : waktu *thawing* 40 detik P4 : waktu *thawing* 50 detik, P5 : waktu *thawing* 60 detik

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan waktu *thawing* tidak berpengaruh nyata ($P>0.05$) terhadap *Recovery Rate* spermatozoa ayam buras (Tabel 1). Nilai *recovery rate* yang didapat dalam penelitian ini yaitu 28.71 – 33.29 %. Hasil ini lebih rendah dari penelitian sebelumnya dengan waktu *thawing* 30 detik seperti yang didapatkan oleh Khaeruddin *et.al* (2020) yaitu 35.74 % dan Khaeruddin (2020) yaitu 35.40 %.

Menurut Ciptadi (2012) ada hubungan antara kualitas semen segar dengan kualitas semen setelah *thawing*. Semen segar yang berkualitas awalnya sudah jelek umumnya akan berkualitas jelek juga setelah pembekuan dan *thawing*. Hal ini sangat wajar terjadi karena spermatozoa mengalami perjalanan yang sangat berat pada saat proses pembekuan, dimana pada proses ini

terjadi perubahan suhu yang sangat tajam. Perubahan ini memungkinkan terjadinya *cold shock* pada spermatozoa tersebut dan pembentukan kristal-kristal es yang dapat membahayakan kelangsungan hidup dari spermatozoa (Sopiyana *et.al* 2006). Menurut Hezavehei *et al.* (2018), kualitas spermatozoa yang rendah setelah *thawing* dapat disebabkan oleh perubahan suhu yang mendadak, pembentukan es maupun tekanan osmotik.

KESIMPULAN

Disimpulkan bahwa waktu *thawing* 20 hingga 60 detik tidak berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa ayam buras meliputi motilitas dan *recovery rate* spermatozoa ayam buras. Waktu *thawing* 20 hingga 60 detik dapat dilakukan pada semen beku ayam buras.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansari, M.S., Bushra, A., Rakha & Akher, S. (2010). Effect of straw size and thawing time on quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) semen. *J Reproductive Biology*, 11 (1), 49-54.
- Ciptadi, G. (2012). Bioteknologi Sel Gamet dan Kloning Hewan. Malang: UB Press.
- Hezavehei, M., Sharafi, M., Kouchesfahani, H. M., Henkel, R., Agarwal, A., Esmaeili, V., & Shahverdi, A. (2018). Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches. *Reproductive BioMedicine Online*, 37(3), 327–339.
- Khaeruddin, K., & Srimaharani, S. (2019). Use of old coconut water with various skim concentrations of milk as a diluent for kampung chicken semen. *Chalaza Journal of Animal Husbandry*, 4(1), 24-29.
- Khaeruddin, K. (2020). Pembekuan spermatozoa ayam kampung dengan suplementasi bovine serum albumin dan putih telur dalam pengencer ringer laktat kuning telur. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*, 21(2), 111-122.
- Khaeruddin, K., Junaedi, J., & Hastuti, H. (2020). Cryopreservation of Indonesian native chicken semen by using dimethyl sulfoxide and various level of ethylene glycol as cryoprotectants. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(12), 5718-5722.
- Khaeruddin, K., & Kurniawan, M.E. (2020). Keberhasilan pembekuan semen ayam yang diencerkan dan diperkaya dengan glukosa, trehalosa, sukrosa dan laktosa. *Jurnal Veteriner*, 21(3), 476-484.
- Khairuddin, K., Kurniawan, M.E., & Soman, S. (2019). Cryopreservation of Kampung rooster semen using egg yolk diluent from four types of poultry with different concentrations. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 13(3), 60-65.
- Lessard, C., Parent, S., Leclerc, P., Bailey, J.L., & Sullivan, R. (2000). Cryopreservation alters the levels of the bull sperm surface protein P25b. *J Androl*, 21(2), 700-707.
- Pesch, S., & Hoffman, B. (2007). Cryopreservation of Spermatozoa in Veterinary Medicine. *Journal of Reproduction Endocrinol*, 3(2), 22-48.
- Rodriguez, F. A – Almeida, M., Cuadras, A., Anchondo, S., Romo – Garcia, B. E., Sanchez, J. A., Jimenez, A. D., & Alarcon - Rojo. (2005). Heparin Level Effect on Sperm Capacitation of Fresh an Frozen - Thawed Bovine Semen. Proceedings Vol. 56 . Western Section. American Society of Animal Science. Mexico City.
- Santiago-Moreno, J., Castaño, C., Toledano-Díaz, A., Coloma, M.A., López-Sebastián, A., Prieto, M.T., & Campo, J.L. (2011). Semen cryopre-servation for the creation of a Spanish poultry breeds cryobank: Optimization of freezing rate and equilibration time. *Poult Sci*, 90, 2047–2053.
- Sopiyana, S., Iskandar, S., Susanti, T., & Yogaswara, D. (2006). Pengaruh krioprotektan DMA, DMF dan glycerol pada proses pembekuan semen ayam kampung. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, 702-708.

- Susilawati, T. (2013). Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. Malang: UB Press.
- Suyadi. (2001). Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan semen beku sapi FH post thawing terhadap kualitas sperma post kapasitasasi. *J. Tropical Animal*, 4(1), 85-90.
- Utomo, T. (2014). Pengaruh Lama Thawing terhadap Kualitas Sperma Ayam Kampung yang Dibekukan dalam Nitrogen Cair. Skripsi. Jogjakarta : Universitas Gadjja Mada.