

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ayam Kokok Balenggek (AKB) adalah plasma nutfah yang berasal Sumatera Barat, memiliki nilai daya tarik dengan keunikan vokal yang khas. Terdapat tiga jenis tipe ayam penanyi di Indonesia yaitu ternak AKB di Sumatera Barat, ternak ayam Pelung di Jawa Barat dan ternak ayam Bekisar di Jawa Timur. Kekhasan AKB adalah kokoknya yang berlapis-lapis atau “lenggek” yang tidak monoton tetapi tersusun secara berurutan dan ritmis, seolah-olah menyerupai melodi. Semakin banyak “lenggek” yang dapat dibuat, semakin tinggi nilainya di mata penggemar ayam peliharaan dan sering dianggap sebagai simbol status sosial. Nilai budaya dan sosial ekonomi AKB patut dilestarikan serta dikembangkan.

Penerapan inseminasi buatan (IB) untuk pelestarian sangat penting karena dapat mempertahankan materi genetik AKB yang keturunannya terbatas dan unik. Dalam penerapan IB, kriopreservasi semen menjadi alternatif untuk melindungi sperma dari bahaya cekaman pembekuan (*cold shock*). Semen yang beku menjadi representasi keragaman genetik. Sehingga mendukung AKB dalam program pelestarian plasma nutfah varietas unggas lokal di Indonesia.

Kriopreservasi semen ayam adalah salah satu metode bioteknologi reproduksi yang berguna untuk mendukung pelestarian spesies ayam lokal. Upaya kriopreservasi dapat dilakukan pada AKB dengan membekukan semen yang akan mempertahankan kualitas semen. Dampak dari pembekuan semen terhadap organel sel spermatozoa yang permanen, yaitu perubahan dalam fluiditas membran dan gangguan aktivitas enzimatis. Selama pembekuan dan *thawing*, spermatozoa akan mengalami cekaman dingin (*chold shock*) karena perubahan tekanan osmotik dan suhu. Akibat dari cekaman pembekuan dapat menyebabkan spermatozoa men-

jadi kurang motil dan tahan (Sariozkan *et al.*, 2009). Penambahan pengencer semen yang mengandung nutrisi, larutan penyangga, bahan anti *cold shock*, antibiotik, dan krioprotektan dapat meminimalisir kerusakan yang terjadi pada sel spermatozoa. Sementara itu, faktor penggunaan *buffer* sangat berpengaruh pada pengenceran semen beku ayam. *Buffer* yang biasanya digunakan, yaitu *Ringer's Lactate* (Danang dkk., 2012). Kemudian beberapa penggunaan *buffer* lain berupa kuning telur, air kelapa, *Beltsville poultry semen extender* (BPSE) dan Etilen glikol (Khaeruddin dkk., 2020).

Ringer's Lactate (RL) adalah larutan steril, bebas pirogen bagi cairan dan pengganti elektrolit dan tidak mengandung agen antimikroba. Laktat dalam RL menyediakan sumber energi pengganti berupa glukosa dan fruktosa untuk spermatozoa (Jones, 1997), sehingga RL dapat mendukung keutuhan membran plasma spermatozoa pada saat kriopreservasi. Aboagla dan Terada (2004) menyatakan bahwa kuning telur dapat meningkatkan kemampuan fertilisasi spermatozoa saat fase transisi lemak terjadi. Khasiat utama kuning telur terutama terdapat pada kandungan lesitin (phosphatidil cholin) yang bersifat membran *coating* untuk tetap mempertahankan konfigurasi normal phospholipid bilayer yang merupakan susunan utama membran sel spermatozoa. Kuning telur juga mengandung fraksi low-density lipoprotein yang bertanggung jawab untuk perlindungan terhadap *cold shock* (Moussa *et al.*, 2002). Penggunaan *Ringer's Lactate* kuning telur menunjukkan manfaat dalam kriopreservasi semen yaitu melindungi membran plasma dan akrosom spermatozoa saat terjadi kejutan dingin (Amirat dkk., 2004). Upaya konservasi AKB sebelumnya telah dilakukan oleh Ananda *et al.* (2023) dengan meninjau penggunaan kuning telur pada pengencer semen cair AKB. Dalam penelitian tersebut

penggunaan RL tunggal memiliki hasil yang lebih baik. Jaswandi *et al.* (2023) dan Husmaini *et al.* (2024) juga telah berupaya mencoba melakukan IB pada AKB menggunakan RL tunggal dengan tingkat fertilitas $50,87 \pm 4,92\%$ dan $73.38 \pm 5.29\%$. Penggunaan RL telah terbukti efektif digunakan pada semen cair pada ayam yang lain seperti yang telah dilakukan pada ayam Kampung (Khaeruddin dkk., 2020), ayam SK Kedu (Telnoni *et al.*, 2021), dan ayam Kampung Broiler (Junaedi, 2017). Sehingga potensi RL dapat ditingkatkan untuk digunakan sebagai *buffer* dalam pembuatan semen beku AKB.

Pada proses pembuatan semen beku, hal terpenting yang harus ditambahkan ke dalam pengencer adalah krioprotektan. Salah satu krioprotektan yang sering digunakan untuk membekukan sel adalah DMSO (Dimetilsulfoksida). DMSO adalah campuran organosulfur dengan rumus kimia $(CH_3)_2SO$ dan mempunyai berat molekul sebesar 78,13 g/mol sehingga lebih cepat masuk ke dalam sel pada proses pembekuan semen unggas. Senyawa DMSO juga memiliki titik beku yang tinggi yaitu $18,45^\circ C$ yang dapat mencegah pembentukan kristal es. Larutan ini bersifat koligatif untuk menekan titik beku air, sehingga mencegah kristalisasi air dan mencegah kerusakan lebih lanjut yang disebabkan oleh pembentukan es intraselular (Mandumpal *et al.*, 2011). *Cold shock* mengakibatkan kerusakan pada membran sel baik membran plasma dan akrosom, yang sangat berpengaruh terhadap motilitas, menyebabkan sel mengalami abnormal dan akhirnya mati.

Kemampuan krioprotektan DMSO adalah untuk melindungi spermatozoa dengan menghentikan pemindahan air intraselular. DMSO memiliki bobot molekul yang kecil dan tidak toksik pada saat pembekuan (Tai *et al.*, 2001). Pemanfaatan DMSO sebagai krioprotektan membuat membran sel lebih tipis yang bertujuan agar

fusi membran terjadi, sehingga sel siap untuk mengalami stress yang disebabkan oleh kriopreservasi dengan mengurangi hambatan transpor molekul dan membantu pembentukan pori (Notman *et al.*, 2006). Dosis DMSO dalam pengencer semen bervariasi di antara jenis ternak. Dosis optimum DMSO dalam pengencer semen itik sebesar 10% (Han *et al.*, 2005), pada semen beku babi sebesar 6% (Bebas dan Gorda, 2020), ayam White Leghorn, Ovambo, dan Potchefstroom Koekoek sebesar 5% (Makhafola *et al.*, 2009), namun penelitian pada semen beku ayam Kokok Balenggek belum ada.

Penggunaan konsentrasi DMSO 10% dalam penelitian Telnoni (2016) lebih baik dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa ayam SK Kedu dengan pengencer *Ringer's Lactate* Kuning Telur (RL-KT) dan BPSE dibandingkan konsentrasi DMSO 8% dan DMSO 12%. Kemudian pada penelitian Khaeruddin dkk. (2020) melaporkan bahwa konsentrasi DMSO 7% optimal digunakan pada semen cair dan beku ayam Kampung dalam berbagai tingkat konsentrasi etilen glikol. Konsentrasi DMSO 6% menghasilkan motilitas progresif dan membran plasma utuh lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan konsentrasi DMSO 4%, 8%, 10% dengan pengencer kuning telur fosfat pada kualitas semen ayam hutan hijau pasca pencairan (Bebas dan Laksmi, 2014).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa DMSO mampu mempertahankan karakteristik genetik spermatozoa dalam kondisi beku. Oleh karena itu, penelitian ini akan menguji pengaruh konsentrasi DMSO pada kriopreservasi semen beku ayam Kokok Balenggek (AKB) dengan menggunakan pengencer *Ringer's Lactate* Kuning Telur. Mengingat belum adanya kajian terkait penggunaan konsentrasi DMSO pada kualitas semen beku AKB, penelitian ini di-

harapkan dapat berkontribusi dalam upaya pelestarian AKB sebagai plasma nutfah lokal Sumatera Barat.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana kualitas semen AKB yang dikriopreservasi dalam pengencer *Ringer's Lactate* Kuning Telur dengan menggunakan krioprotektan DMSO?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengevaluasi kualitas semen AKB yang dikriopreservasi dalam pengencer *Ringer's Lactate* Kuning Telur menggunakan DMSO sebagai krioprotektan.

1.4 Manfaat Penelitian

Sebagai informasi terkait kualitas semen beku ayam Kokok Balenggek yang dikriopreservasi dalam pengencer *Ringer's Lactate* Kuning Telur menggunakan krioprotektan DMSO, dan sebagai bahan informasi bagi peneliti berikutnya.

1.5 Hipotesis

Penambahan DMSO pada pengencer *Ringer's Lactate* Kuning Telur dapat mempertahankan kualitas semen beku Ayam Kokok Balenggek.