

Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Itik Lokal (*Anas platyrhynchos*) Setelah Penyimpanan Refrigerator dalam Ekstender Dikombinasi Berbagai Konsentrasi Krioprotektan Gliserol

Arie Amelia¹, Dadang Mulyadi Saleh², Hendro Pramono^{1*},
dan Yulia Sistina^{1*}

¹Fakultas Biologi, ²Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman
Kampus Karangwangkal Jl Dr Suparno PO Box 130 Purwokerto 53123
Email: yulia.sistina@unsoed.ac.id

Diterima Nopember 2012 disetujui untuk diterbitkan Januari 2013

Abstract

The economic value of ducks has increased one Day Old Duck in large quantities and short time, effects on artificial insemination technologies improvement. Spermatozoa used for artificial insemination, could be derived from sperm preservation biotechnology, by means to maintain or extend their viability and motility of those spermatozoa. Extenders and cryoprotectant are needed for maintaining sperm motility and viability during storage or preservation. This study aims to assess motility and viability of local ducks spermatozoa after six days storage in 3 different extenders (Ringer's lactate, Tris or PBS) in combination with 5 different concentrations (0, 2, 4, 6, and 8%) of cryoprotectant glycerol. Results showed that sperm motility and viability was very highly significant ($P < 0.01$) different among treatments, extender factor as well as duration storage time also very highly significantly ($P < 0.01$) affected motility and viability of treated sperm. However, glycerol concentration factor was not significant ($P > 0.05$) affected motility and viability of the sperm. The best treatment, resulted in the highest percentage motility and viability of sperm with progressivity score > 1 , was the 8% glycerol in PBS storage for up to 2 days ($75.00 \pm 21.79\%$ and $71.67 \pm 14.43\%$). This protocol could be applied in artificial insemination trial.

Keywords: local ducks, sperm preservation, motility, viability, glycerol

Abstrak

Nilai ekonomi itik lokal yang makin meningkat, meningkatakan permintaan jumlah DOD dalam jangka waktu pendek, efeknya langsung pada pengemabnagan teknologi pembuahan buatan. Spermatozoa yang digunakan ungtuk pembuahan buatan dapat berasal dari bioteknologi penyimpanan gamet, teknologi memelihara atau memperpanjang viabilitas dan motilitas spermatozoa. Ekstender and krioprotektan dibutuhkan untuk memelihara motilitas dan viabilitas spermatozoa selama penyimpanan. Tujuan penelitian untuk menilai motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal setelah penyimpanan 6 hari dalam 3 ekstender berbeda (Ringer's lactate, Tris atau PBS) dikombinasi dengan 5 konsentrasi (0, 2, 4, 6, atau 8%) krioprotektan gliserol berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas dan viabilitas secara sangat nyata ($P < 0.01$) berbeda antar perlakuan, factor ekstender dan faktor lama penyimpanan juga sangat nyata ($P < 0.01$) mempengaruhi motilitas dan viabilitas spermatozoa perlakuan. Namun, factor konsentrasi gliserol tidak nyata ($P > 0.05$) mempengaruhi motilitas dan viabilitas spermatozoa perlakuan. Perlakuan terbaik, menghasilkan persentase motilitas dan viabilitas tertinggi dengan skor progresivitas > 1 , adalah gliserol 8% dalam PBS disimpan 2 hari ($75.00 \pm 21.79\%$ dan $71.67 \pm 14.43\%$). Protokol ini dapat diujicobakan dalam program inseminasi buatan.

Keywords: itik lokal, penyimpanan spermatozoa, motilitas, viabilitas, gliserol

Pendahuluan

Itik lokal (*Anas platyrhynchos*) makin diminati masyarakat, oleh karena itu peningkatan produktivitas dibutuhkan melalui teknik inseminasi buatan untuk mengurangi jumlah

pejantan yang dipelihara. Inseminasi buatan (IB) yaitu memasukkan spermatozoa (dalam semen) ke dalam saluran kelamin betina menggunakan alat (Toelihere, 1993). Spermatozoa yang digunakan untuk IB dapat berasal dari spermatozoa hasil penyimpanan.

Teknologi penyimpanan spermatozoa ditujukan untuk memelihara motilitas dan viabilitas hingga digunakan, membutuhkan ekstender untuk memelihara fungsi spermatozoa hingga dibutuhkan.

Ekstender semen yang baik harus merupakan larutan *isotonis*, bersifat *buffer* (memelihara larutan dari perubahan pH) dan mengandung nutrisi bagi kelangsungan hidup spermatozoa (Depdiknas, 2001). Ekstender yang sering digunakan adalah Ringer laktat, Tris dan PBS. Larutan Ringer laktat mengandung senyawa Na-laktat yang diperlukan untuk memenuhi kebutuhan ion natrium bikarbonat yang berfungsi untuk mempertahankan pH larutan serta mampu mempertahankan tekanan osmotik larutan dan mengurangi abnormalitas spermatozoa (Sastrodihardjo dan Resnawati, 1999). *Tris aminomethan* atau Tris memiliki kelebihan sebagai ekstender karena memiliki kapasitas *buffer* atau penyangga yang baik dan mampu mempertahankan tekanan osmotik karena mengandung garam-garam dan asam amino (Gazali dan Tambing, 2002). *Phosphate Buffered Saline* (PBS) berfungsi untuk mengatur pH dan keseimbangan osmolaritas sel dengan menyediakan air dan ion organik penting (Cytospring, 2012).

Untuk penyimpanan spermatozoa, selain ekstender diperlukan krioprotektan untuk mengurangi kerusakan akibat temperatur rendah, misalnya krioprotektan gliserol. Konsentrasi gliserol yang sudah dilaporkan adalah gliserol 7% pada itik alabio dan entog 7% (Setioko *et al.*, 2000), gliserol 5% dan 7% pada ayam (Sopiyana *et al.*, 2006). Bagaimana konsentrasi gliserol dikombinasi ekstender mampu memelihara kualitas spermatozoa itik lokal paska penyimpanan. Tujuan penelitian ini untuk menilai motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal (*Anas platyrhynchos*) sebelum dan sesudah disimpan selama beberapa hari, dalam temperatur refrigerator, dalam ekstender penyimpanan

dikombinasi dengan berbagai konsentrasi krioprotektan gliserol.

Metode Penelitian

Penelitian eksperimental pola faktorial, tiga faktor, rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap; (1) faktor ekstender, ada tiga taraf, yaitu Ringer laktat (kalsium klorida 0,2 g/1000 ml, *potassium chloride* 0,3 g/1000 ml, *sodium chloride* 0,6 g/1000 ml, sodium laktat 3,1 g/1000 ml), *Tris aminometan* (6,64 g *Tris hydroxymethyl-aminometan*, 3,72g asam sitrat, 2,74g fruktosa, 0,2g ampicilin, 0,2g streptonisin dan 200 ml aquades), dan *Phospat Buffer Saline*/PBS(0,20g KCl, 0,20g KH_2PO_4 , 8g NaCl, 2,16g $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 1 liter H_2O); (2) faktor krioprotektan gliserol, lima taraf konsentrasi gliserol : 0, 2, 4, 6, dan 8 %; (3) faktor lama waktu penyimpanan, tujuh taraf, yaitu 0, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 hari. Spermatozoa diperoleh dari ejakulat dengan metode *massage* atau urut, ejakulat ditampung menggunakan spuit 1 ml, untuk di-*swim-up* dalam ekstender selama 30 menit dalam temperatur ruang sesuai Sistina *et al.* (1993). Ekstender penyimpanan dibuat stok konsentrasi gliserol dua kali konsentrasi perlakuan, dalam ekstender. Pada hari eksperimen, satu volume stok ekstender penyimpanan, ditambah satu volume spermatozoa *swim-up* (1:1), dilabel, untuk diamati motilitas dan viabilitas sebelum dan sesudah disimpan dalam refrigerator (temperatur 5°C). Motilitas dan progresivitas diamati menggunakan mikroskop inverted obyektif 40x, dinilai proporsi spermatozoa bergerak, 0% (tidak ada spermatozoa yang bergerak) hingga 100% (semua spermatozoa bergerak tidak dilihat ada yang diam). Progresivitas motilitas dinilai dengan skoring 0-5 sesuai Sistina *et al.* (1993). Viabilitas spermatozoa sesuai Sistina dan Suryaningsih (2001) dinilai dengan cara dihitung jumlah spermatozoa yang menyerap warna Trypan Blue (spermatozoa mati) dan yang tidak menyerap warna transparan (sebagai spermatozoa hidup), dihitung per slide minimal 200 ekor. Data ditransformasi

ke akar kuadrat lalu ke arcus sinus untuk dianalisis sidik ragam dengan software SPSS versi 17.

Hasil dan Pembahasan

Kualitas ejakulat sebelum digunakan sebagai sampel dinilai, dan hanya ejakulat dengan kualitas baik, sesuai kriteria Toelihere (1993) dan Partodihardjo (1992) yang digunakan. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa itik lokal dalam ekstender penyimpanan dikombinasi gliserol selama penyimpanan hingga 6 hari, diperoleh rerata motilitas spermatozoa antar perlakuan bervariasi, tertinggi (10%) setelah 6 hari disimpan dalam gliserol 2% dalam PBS (Tabel 1). Setelah disimpan, motilitas spermatozoa secara sangat nyata ($P<0,01$) menurun, rerata tertinggi diperoleh dari perlakuan gliserol 8% dalam PBS, penyimpanan satu hari motilitasnya menurun ke 86%, lalu penyimpanan 2, 3, 4, 5, dan 6 hari penyimpanan,

menjadi 75, 60, 49, 28, dan 6 %, berturut-turut (Tabel 1).

Hasil pengamatan progresivitas menunjukkan bahwa ekstender Tris, Ringer laktat, dan PBS dari skor 4 hari ke-nol penyimpanan, menurun dan yang skor progresivitas masih memberikan skor lebih besar dari satu yaitu ekstender Tris dan RL, ekstender PBS skor progresivitas pasca penyimpanan adalah satu. Progresivitas motilitas skor lebih besar dari satu (skor 2 atau 3) diperoleh hanya hingga hari ke 2 penyimpanan. Hari ke enam penyimpanan skor progresivitasnya satu. Hasil analisis membuktikan bahwa ekstender berinteraksi secara nyata ($P<0,05$) dengan gliserol dan juga antara gliserol dan lama hari penyimpanan juga berbeda nyata ($P<0,05$). Skor progresivitas motilitas dapat melengkapi informasi persentase motilitas spermatozoa.

Tabel 1. Rerata (\pm SD) Persentase Motilitas Spermatozoa Itik Lokal (*Anas platyrhynchos*) Sebelum dan Sesudah Penyimpanan hingga 6 hari Dalam Ekstender Penyimpanan Ringer Laktat (RL), Tris Amenomethan (Tris), atau Phosphate Buffer Salin (PBS) Dikombinasi Krioprotektan Gliserol Konsentrasi 0-8%.

Table 1. Average (\pm SD) Percentage Motility of Local Duck (*Anas platyrhynchos*) Spermatozoa Before and After Storage In Preservation Extender of Lactate Ringer (RL), Trishydroxyaminomethane (Tris), or Phosphate Buffer Saline (PBS) in Combination With Cryoprotectant Glycerol at Concentration Of 0% to 8% Stored up to 6 days.

Perlakuan	Waktu Penyimpanan						
	0 Hari	1 Hari	2 Hari	3 Hari	4 Hari	5 Hari	6 Hari
KRL	100.00 ± 0.00	71.67 ± 18.92	55.00 ± 21.79	23.33 ± 25.17	8.33 ± 7.64	3.33 ± 2.89	0.00 ± 0.00
2GRL	88.33 ± 2.88	75.00 ± 18.03	61.67 ± 27.54	26.67 ± 10.41	11.67 ± 10.41	3.33 ± 2.89	0.00 ± 0.00
4GRL	86.67 ± 5.77	76.67 ± 15.28	61.67 ± 28.43	26.67 ± 14.43	15.00 ± 13.23	6.67 ± 5.77	0.33 ± 5.77
6GRL	78.33 ± 7.64	73.33 ± 17.56	56.67 ± 27.54	18.33 ± 11.55	10.00 ± 8.66	3.33 ± 2.89	0.00 ± 0.00
8GRL	73.33 ± 5.77	65.00 ± 8.66	51.67 ± 23.09	20.00 ± 10.00	8.33 ± 7.64	1.00 ± 1.73	0.00 ± 0.00
KTRIS	96.67 ± 2.87	76.67 ± 5.77	60.00 ± 0.00	33.33 ± 5.77	8.33 ± 14.43	5.00 ± 8.66	0.00 ± 0.00
2GTRIS	93.33 ± 11.55	58.33 ± 24.66	48.33 ± 24.66	23.33 ± 20.21	10.00 ± 17.32	6.67 ± 11.55	0.00 ± 0.00
4GTRIS	90.00 ± 0.00	46.67 ± 28.87	38.33 ± 27.53	25.00 ± 21.79	13.33 ± 23.09	8.33 ± 14.43	0.00 ± 0.00
6GTRIS	90.00 ± 0.00	38.33 ± 31.75	43.33 ± 18.93	26.67 ± 16.07	11.67 ± 20.21	6.67 ± 11.55	0.00 ± 0.00
8GTRIS	76.67 ± 5.77	36.67 ± 28.87	35.00 ± 3.41	18.33 ± 23.01	10.00 ± 17.32	5.00 ± 8.66	0.00 ± 0.00
KPBS	100.00 ± 0.00	78.33 ± 12.58	65.00 ± 22.91	38.33 ± 22.55	28.33 ± 25.66	11.67 ± 10.41	5.00 ± 5.00
2GPBS	96.67 ± 2.89	78.33 ± 14.43	65.00 ± 18.03	45.00 ± 22.91	33.33 ± 30.55	18.33 ± 17.56	10.00 ± 8.66
4GPBS	95.00 ± 5.00	81.67 ± 7.64	66.67 ± 15.28	55.00 ± 30.41	43.67 ± 37.29	26.67 ± 23.09	5.00 ± 5.00
6GPBS	96.67 ± 2.89	71.67 ± 2.89	60.00 ± 13.23	50.00 ± 30.41	42.00 ± 35.59	23.33 ± 20.82	3.33 ± 2.89
8GPBS	98.33 ± 2.89	86.67 ± 10.41	75.00 ± 21.79	60.00 ± 39.05	49.33 ± 40.20	28.33 ± 24.66	6.67 ± 5.77

Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa menunjukkan bahwa setelah penyimpanan, rerata viabilitasnya menurun seiring data motilitas dan progresivitas. Viabilitas tertinggi setelah 6 hari penyimpanan yaitu 11% dari perlakuan gliserol 8% dalam PBS (Tabel 2). Viabilitas spermatozoa tertinggi pasca penyimpanan 1, 3, 4, dan 5 hari yaitu berturut-turut 85%, 58%, 43%, dan 27% dari perlakuan ekstender penyimpanan yang sama yaitu gliserol 8% dalam PBS dan tertinggi setelah dua hari penyimpanan yaitu 73% dari perlakuan gliserol 4% dan 6% dalam Ringer laktat sedikit lebih tinggi dari perlakuan gliserol 8% dalam PBS = 71.00% (Tabel 2). Hasil analisis data viabilitas

membuktikan bahwa perlakuan secara sangat nyata ($P < 0,01$) mempengaruhi viabilitas spermatozoa. Faktor ekstender dan lama waktu penyimpanan secara sangat nyata ($P < 0,01$) menentukan viabilitas. Interaksi ekstender dan waktu penyimpanan nyata ($P < 0,05$) menentukan viabilitas, serta konsentrasi krioprotektan gliserol juga interaksi antara ekstender dan gliserol tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

Hasil analisis korelasi antara data motilitas dan viabilitas sangat erat (nilai koefisien korelasi Pearson 0,95), artinya spermatozoa yang nampak motil berarti juga viabil, atau spermatozoa yang diam tidak motil berarti tidak viabil.

Tabel 2. Rerata (\pm SD) Persentase Viabilitas Spermatozoa Itik Lokal (*Anas platyrhynchos*) Sebelum dan Sesudah Penyimpanan hingga 6 hari Dalam Ekstender Penyimpanan Ringer Laktat (RL), Trishidroksiaminometan (Tris), atau Phosphate Buffer Saline (PBS) Dikombinasi Krioprotektan Gliserol Konsentrasi 0-8 %.

Table 2. Average (\pm SD) Percentages of Local Duck (*Anas platyrhynchos*) Sperm Viability Before And After Storage In Preservation Extender of Lactate Ringer (RL), Trishydroxyaminomethane (Tris), or Phosphate Buffer Saline (PBS) in Combination With Cryoprotectant Glycerol at Concentration Of 0 to 8 % Stored up to 6 days

Perlakuan	Waktu Penyimpanan						
	0 Hari	1 Hari	2 Hari	3 Hari	4 Hari	5 Hari	6 Hari
KRL	98.33 ± 2.89	76.67 ± 23.09	68.33 ± 33.29	23.33 ± 11.55	7.00 ± 5.19	3.33 ± 2.89	0.00 ± 0.00
2GRL	100.00 ± 0.00	78.33 ± 24.66	75.00 ± 34.64	26.67 ± 7.64	10.00 ± 5.00	5.67 ± 5.13	1.33 ± 1.53
4GRL	100.00 ± 0.00	81.67 ± 18.93	73.33 ± 28.87	26.67 ± 10.41	12.67 ± 8.74	8.33 ± 7.64	2.33 ± 2.52
6GRL	98.33 ± 2.89	76.67 ± 27.54	73.33 ± 28.87	23.33 ± 11.55	9.00 ± 6.56	3.33 ± 2.89	0.00 ± 0.00
8GRL	91.67 ± 2.87	70.00 ± 17.32	65.00 ± 21.79	23.33 ± 2.89	6.00 ± 3.61	2.67 ± 2.52	0.67 ± 1.15
KTRIS	98.33 ± 2.87	81.67 ± 2.87	33.33 ± 23.09	26.67 ± 20.21	15.00 ± 17.32	6.67 ± 11.55	0.67 ± 1.15
2TRIS	96.67 ± 2.87	83.33 ± 5.77	53.33 ± 15.28	36.67 ± 16.07	16.00 ± 25.12	6.67 ± 11.55	0.67 ± 1.15
4TRIS	93.33 ± 2.89	78.33 ± 14.43	56.67 ± 16.07	43.33 ± 15.28	19.67 ± 30.60	8.33 ± 14.43	1.67 ± 2.89
6GTRIS	93.33 ± 2.89	71.67 ± 16.07	46.67 ± 24.66	31.67 ± 24.66	20.67 ± 25.42	6.67 ± 11.55	1.67 ± 2.89
8GTRIS	93.33 ± 2.89	71.67 ± 12.58	48.33 ± 18.93	30.00 ± 21.79	18.33 ± 23.09	5.00 ± 8.66	1.00 ± 1.73
KPBS	96.67 ± 5.77	71.67 ± 10.41	55.00 ± 13.23	33.33 ± 15.28	15.67 ± 25.42	10.00 ± 17.32	1.67 ± 2.89
2GPBS	96.67 ± 2.89	78.33 ± 10.41	66.67 ± 15.28	50.00 ± 26.46	36.67 ± 27.54	21.67 ± 18.93	3.33 ± 2.89
4GPBS	95.00 ± 5.00	80.00 ± 5.00	66.67 ± 10.41	53.33 ± 24.66	34.33 ± 27.14	25.00 ± 21.79	5.00 ± 5.00
6GPBS	96.67 ± 2.89	83.33 ± 7.64	66.67 ± 15.28	50.00 ± 30.41	35.67 ± 30.11	23.33 ± 20.21	6.67 ± 5.77
8GPBS	100.00 ± 0.00	85.00 ± 13.23	71.67 ± 14.43	58.33 ± 28.87	43.33 ± 33.29	27.33 ± 21.94	11.67 ± 10.41

Ket : RL: ekstender ringer laktat, TRIS: ekstender *tris aminomethan*, PBS: ekstender *Phospat Buffer Saline*, K= tanpa gliserol, 2G: gliserol 2%, 4G: gliserol 4%, 6G: gliserol 6%, 8G: gliserol 8%

Hasil uji lanjut membuktikan bahwa ekstender penyimpanan Ringer Laktat dengan Tris tidak berbeda nyata ($P>0,05$), Ringer Laktat dengan PBS berbeda sangat nyata ($P<0,01$), Tris dengan PBS berbeda sangat nyata ($P<0,01$), artinya ekstender penyimpanan terbaik adalah PBS. Tingginya kemampuan ekstender PBS dalam menjaga pH larutan dimungkinkan akibat kemampuan PBS sebagai penyangga tidak bersifat racun bagi spermatozoa, sesuai argumentasi Medicago (2012) bahwa PBS bersifat isotonic dan non toksik terhadap sel dan memiliki kemampuan untuk mempertahankan osmolaritas.

Gliserol tidak nyata ($P>0,05$) berbeda antar kelima konsentrasi, membuktikan bahwa dengan atau tanpa gliserol motilitas dan viabilitas spermatozoa pasca penyimpanan tidak dipengaruhi. Hasil ini bertentangan dengan laporan Rizal *et al.* (2003) bahwa gliserol dalam konsentrasi yang tepat akan mengurangi efek negatif pada saat penyimpanan, berupa terjadinya peningkatan konsentrasi elektrolit intraseluler dan terbentuknya kristal es, juga tak sesuai Supriatna dan

Pasaribu (1992) bahwa gliserol baik ikut melindungi membran plasma sel selama kriopreservasi, serta Parks dan Graham (1992) bahwa keutuhan membran plasma sel dilindungi gliserol, memberikan efek yang baik terhadap motilitas maupun viabilitas. Motilitas spermatozoa bergantung pada ATP hasil metabolisme, metabolisme akan berlangsung dengan baik apabila membran plasma sel ada dalam keadaan yang utuh (Park and Graham, 1992; Gazali, 2001). Bagaimana konsentrasi gliserol menentukan efektifitas viabilitas diargumentasikan oleh Toelihere (1993), gliserol akan berdifusi ke dalam sel spermatozoa dan dipakai spermatozoa untuk metabolisme, menggantikan air yang bebas, menurunkan konsentrasi elektrolit intraseluler serta mengurangi daya perusakannya terhadap spermatozoa. Gliserol dapat mencegah kematian spermatozoa karena membuat kristal es yang terbentuk lembut, sehingga viabilitas spermatozoa tetap terjaga, karena membran plasma tidak rusak. Dengan demikian, gliserol yang terbukti efektif untuk kriopreservasi, hasil penelitian ini membuktikan sebaliknya

tidak efektif untuk preservasi atau penyimpanan 6 hari dalam temperatur refrigerator.

Faktor lama penyimpanan terbukti bahwa sangat nyata ($P < 0,01$) menentukan motilitas dan viabilitas, artinya semakin lama waktu penyimpanan semakin menurun motilitas dan viabilitas spermatozoa perlakuan. Selama disimpan spermatozoa diharapkan tetap hidup, bermetabolisme menggunakan substrat dalam ekstender penyimpanan (termasuk gliserol) dan hasil sampah metabolit akan menumpuk seiring lama waktu penyimpanan, dan meracuni spermatozoa sehingga mati. Hasil ini sesuai laporan Fauzi *et al.* (2001) bahwa lama penyimpanan menyebabkan penurunan motilitas karena selama penyimpanan spermatozoa terus hidup dan beraktivitas dengan memanfaatkan energi hasil metabolisme; juga laporan Siudzinska dan Lukaszewicz (2008), semakin lama

penyimpanan akan semakin banyak spermatozoa yang mati yang akan merubah pH menjadi semakin asam dan akibatnya akan mematikan spermatozoa lainnya; juga penelitian Saleh dan Isyanto (2011) bahwa motilitas spermatozoa ayam kate menurun seiring lama penyimpanan. Proses metabolisme spermatozoa akan menghasilkan asam laktat yang semakin tertimbun dan menurunkan pH selama penyimpanan sehingga menyebabkan penurunan motilitas (Toelihere, 1993). Faktor yang mempengaruhi viabilitas semen selama penyimpanan adalah motilitas, konsentrasi spermatozoa, dan pH atau derajat keasaman (Paulenz *et al.*, 2000). Untuk mengetahui faktor efektivitas medium penyimpanan diperlukan data berupa morfologi spermatozoa juga pengukuran pH medium penyimpanan sebelum, selama dan sesudah penyimpanan.

Simpulan

Spermatozoa itik lokal pasca penyimpanan dalam medium berglisierol selama dua hari dalam refrigerator menggunakan ekstender PBS memberikan hasil terbaik dalam memelihara motilitas dan viabilitas. Konsentrasi gliserol 2-8% sama baiknya dalam memelihara motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini terlaksana dengan bantuan berbagai pihak, terimakasih kepada Yusni Atifah, Chelsy Ryrigiyensi, pak Hartono, Virgian, Wigih, Atang, Ma'ruf dan pak Sufiriyanto. Sumber dana LPPM Unsoed kontrak no. Kept 435/UN23/PN.01.00/2012 antara Yulia Sistina dan ketua LPPM Universitas Jenderal Soedirman.

Daftar Pustaka

Cytospring, 2012. *Phosphate Buffered Saline (PBS)*.
<http://www.cytospring.com>.

diakses tanggal 27 Desember 2012.

Depdiknas, 2001. *Teknik Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Modul Program Keahlian Budidaya Ternak. Direktorat Pendidikan. Jakarta.

Fauzi, M.A., W. S. Rachmawati, dan P. Edy. 2001. Pengaruh Aras NaCl Fisiologis dan Lama Penyimpanan pada Suhu Ruang Terhadap Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Entog. *Jurnal Animal Production* 3(2): 45-52.

Gazali, M. 2001. Kriopreservasi Semen Entog dalam Upaya Produksi Itik Serati Menggunakan Teknologi Inseminasi Buatan. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.

Gazali M., dan A. N. Tambing. 2002. Kriopreservasi Sel Spermatozoa. *Jurnal hayati*. 9 (1): 27-32.

- Medicago, 2012. *Phosphate Buffered Saline (PBS)*. <http://www.medicago.se>. diakses tanggal 27 Desember 2012.
- Parks, J.E. and J. K. Graham. 1992. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Journal Theriogenology*. 38 : 202-222.
- Partodiharjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. PT. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Paulenz, H., E. Kommsrud and P.O. Hofmo. 2000. Effect of long-term storage at different temperatures on the quality of liquid boar semen. *Journal Reprod. Dom. Anim.* 35: 83 – 85.
- Rizal, M., M. R. Toelihere, T. L. Yusuf, B. Purwantara dan P. Situmorang. 2003. Kualitas Semen Beku Domba Garut dalam Berbagai Konsentrasi Gliserol. *Jurnal Ilmu Ternak Veteriner*. 7(3) : 194-199.
- Saleh, D. M. dan A. Y. Isyanto. 2011. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas dan Fertilitas Spermatozoa Ayam Kate Lokal. *Cakrawala Galuh* 1 (6) : 1-6.
- Sastrodiharjo, S. dan H. Resnawati. 1999. *Inseminasi Ayam Buras Meningkatkan Produksi Telur Mendukung Pengadaan DOC Unggul*. Penebar Swadaya. Yogyakarta.
- Setioko A. R., P. Situmorang, dan E. Triwulansingsih. 2000. *Pengaruh Diluen, Cryoprotectant, dan Waktu Equilibrisasi Terhadap Kualitas dan Fertilitas Spermatozoa Itik dan Entog*. Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner.
- Sistina, Y., M. Lin, and J. C. Rodger. 1993. Lysophosphatidyl-coline disrupts the acrosome of tammar wallaby (*Macropus eugenii*) spermatozoa. *Journal Mol. Reprod. Dev.* 35: 277-284.
- Sistina, Y dan S. Suryaningsih. 2001. Viabilitas spermatozoa berbagai spesies setelah perlakuan in vitro. *Biosfera* 18(2) : 98-106
- Siudzinska, A., dan Lukaszewicz. 2008. Effect of semen extenders and storage time on sperm morphology of four chicken breeds. *J. Appl. Poul. Res.* 17: 101-108.
- Sopiyana, S., S. Iskandar, T. Susanti dan D. Yogaswara. 2006. *Pengaruh Krioprotektan DMA, DMF Dan Glycerol Pada Proses Pembekuan Semen Ayam Kampung*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Supriatna, I. dan F. H. Pasaribu. 1992. *In Vitro Fertilisasi, Transfer Embrio dan Pembekuan Embrio*. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa. Cetakan Ke-3. Bandung.