

# Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Itik Lokal (*Anas platyrhynchos*) Setelah Penyimpanan dalam Medium Berbeda Dikombinasi Krioprotektan Kuning Telur Berbagai Konsentrasi

Yusni Atifah<sup>1</sup>, Dadang Mulyadi Saleh<sup>2</sup>, Hendro Pramono<sup>1</sup>, dan Yulia Sistina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Biologi, <sup>2</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto  
Kampus Karangwangkal Jl Dr Suparno PO Box 130 Purwokerto 53123  
Email: yuliaunsoed@gmail.com ; yulia.sistina@unsoed.ac.id

Diterima Maret 2013 disetujui untuk diterbitkan Mei 2013

## Abstract

The purpose of this study is to assess motility and viability of domestic duck (*Anas platyrhynchos*) spermatozoa after 6 day storing in preservation medium of different egg yolk cryoprotectant concentration in three different medium Tris, PBS or Ringer lactate. In this experiment, we applied 3 combination of factors as treatments : extender (Tris, PBS or Ringer lactate), egg yolk (EY) concentration (0, 5, 10, 15 or 25%) and storage time (0,1,2,3,4,5,6 days). Spermatozoa was obtained by massage technique, ejaculate then were swup up in the extender, the swup-up sperm then were incubated in preservation medium as each treatments subjected to motility and viability assesment before and after storage at refrigerator temperature (5<sup>0</sup>C). The results showed that sperm motility and viability were highly significantly different ( $P<0.01$ ) among 107 treatments. Extender factor as well as storage duration time were highly significantly different ( $P<0.01$ ) affected the motility and viability of the treated sperm. EY concentration was significantly ( $P<0.05$ ) affected viability, however there were no factor ( $P>0.05$ ) affected motility of the sperm. The best treatment resulted in promising quality having the highest motility of  $46,67 \pm 32,15$  5 motile was from the treatment of 10% EY in PBS stored for 4 days. The best viability result was from the tretament of 25% EY in PBS after 4 days storage resulted in  $50,00 \pm 36,05$  % of viable sperm. In conclusion this protocol could be applied for artificial insemination trial.

**Key words:** Egg yolk; preservation medium; domestic duck spermatozoa; motility; viability

## Abstrak

Tujuan penelitian ini untuk menilai motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal (*Anas platyrhynchos*) setelah penyimpanan 6 hari dalam medium penyimpanan kombinasi berbagai konsentrasi krioprotektan kuning telur (egg yolk /EY) dengan tiga ekstender berbeda Tris, PBS atau Ringer lactat. Penelitian eksperimen ini menerapkan tiga kombianis factor sebagai perlakuan: ekstender (Tris, PBS or Ringer lactate), kuning telur (EY) konsentrasi 0, 5, 10, 15 atau 25% and waktu penyimpanan (0,1,2,3,4,5,6 hari). Spermatozoa diperoleh dengan metode urut, ejakulat atau sperma yang diperoleh di-swup up dalam ekstender, spermatozoa hasil swimp up digunakan untuk perlakuan dalam medium penyimpanan sesuai perlakuan dan dinilai motilitas dan viabilitasnya, sebelum dan sesudah penyimpanan dalam temperatur refrigerator (5<sup>0</sup>C). Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas dan viabilitas spermatozoa sabgat nyata ( $P<0.01$ ) berebda diantara107 perlakuan. Faktor ekstender juga factor lama penyimpanan secara sangat nyata ( $P<0.01$ ) mempengaruhi motilitas dan viabilitas spermatozoa perlakuan. Konsentrasi EY secara nyata ( $P<0.05$ ) mempengaruhi viabilitas, namun tidak nyata ( $P>0.05$ ) menentukan motilitas spermatozoa. Perlakuan terbaik menghasilkan kualitas yang berpotensi yaitu motilitas tertinggi of  $46,67 \pm 32,15$  5 dari 10% EY dalam PBS disimpan selama 4 hari. Viabilitas terbaik dari perlakuan 25% EY dalam PBS pasca 4 hari disimpan, reratanya  $50,00 \pm 36,05$  %. Disimpulkan bahwa spermatozoa penyimpanan perlakuan protokol ini dapat diujicobakan dalam pembuahan buatan atau AI artificial insemination.

**Kata kunci:** Kuning telur, medium penyimpanan, spermatozoa itik lokal, motilitas, viabilitas

## Pendahuluan

Itik lokal (*Anas platyrhynchos*) yang merupakan jenis itik yang akrab dengan kehidupan masyarakat, digemari konsumen karena kualitas daging dan telurnya yang bagus, sehingga mendorong peningkatan produksi itik lokal. Produktivitas itik lokal sangat erat kaitannya dengan sistem perkawinan itik. Pejantan itik lokal sekali ejakulasi bisa menghasilkan ejakulat yang banyak yaitu 0,3 – 1,5 ml (Toelihere, 1981) atau 0,5-1 ml (Rose, 1997). Sperma atau ejakulat bisa digunakan untuk mengawini beberapa betina. Sperma bisa ditampung dan disimpan sehingga sewaktu-waktu bisa digunakan untuk mengawini betina lain dengan teknik inseminasi buatan (IB) (Campbell *et al.*, 2003). Teknik IB bisa menggunakan sperma hasil penyimpanan beku (*frozen semen*) maupun cair (*chilled semen*) (Sahashi *et al.*, 2011).

Untuk mempertahankan kualitas sperma selama penyimpanan dibutuhkan medium penyimpanan semen yang mendukung kehidupan spermatozoa di luar tubuh induk serta dibutuhkan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock* akibat perubahan temperatur penyimpanan. Spermatozoa untuk dipreservasi atau diawetkan untuk beberapa lama sesudah penampungan, perlu dicampur dengan ekstender atau larutan pengencer dan dikombinasi dengan krioprotektan untuk menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa selama preservasinya. Krioprotektan dibutuhkan spermatozoa di luar tubuh untuk melindungi dari temperatur dingin penyimpanan (Salisbury dan Vandemark, 1985). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal (*Anas platyrhynchos*) selama penyimpanan dalam berbagai medium penyimpanan kombinasi krioprotektan kuning telur (EY) berbagai konsentrasi dengan tiga ekstender berbeda.

## Materi dan Metode

Penelitian eksperimental pola faktorial dengan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap, tiga faktor (1) ekstender tiga taraf yaitu Ringer laktat/RL (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/T* (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  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 8g NaCl, 2,16g  $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dalam 1 liter  $\text{H}_2\text{O}$ ). (2) krioprotektan kuning telur (EY) lima taraf konsentrasi (0, 5, 10, 15, atau 25 %). (3) lama waktu penyimpanan dengan tujuh taraf (0, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6) hari. Krioprotektan EY dibuat segar pada hari penelitian, dibuat stok EY 40% dalam ekstender. Semen itik diperoleh dengan metode pengurutan, ejakulat yang keluar ditampung dalam spuit, untuk kemudian *diswimp-up* dalam ekstender. *Swim-up* dilakukan dalam temperatur ruang selama  $\pm 30$  menit (Sistina *et al.*, 1993). *Swim-up* spermatozoa digunakan untuk perlakuan, ditambahkan stok EY sesuai perlakuan dalam medium penyimpanan yaitu 0, 5, 10, 15 atau 25% EY dalam ekstender. Semua perlakuan diberi label, disimpan dalam refrigerator, untuk pengamatan motilitas dan viabilitas sebelum dan sesudah preservasi. Penilaian persentase dan progresivitas motilitas (diskor 0-5 sesuai Sistina *et al.*, 1993) menggunakan mikroskop inverted dan viabilitas spermatozoa, setelah pewarnaan Trypan blue 1% selama  $\pm 10$  menit lalu difiksasi dengan 4% paraformaldehid, menggunakan mikroskop cahaya. Data dianalisis dengan Anova program SPSS ver18 setelah transformasi ke akar persen kuadrat lalu arc sin.

## Hasil dan Pembahasan

Sperma segar itik lokal (*Anas platyrhynchos*) dinilai kualitasnya sebelum digunakan sebagai sampel penelitian dan hanya semen dengan kualitas baik sesuai kriteria Affandy *et al* (2004) yang

digunakan untuk penelitian. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa itik lokal dalam medium penyimpanan setelah 6 hari dalam temperatur refrigerator, rerata motilitasnya bervariasi, tertinggi 5% motil dari perlakuan 10 dan 15% EY PBS (Tabel 1). Rerata motilitas spermatozoa tertinggi sebelum penyimpanan diperoleh dari perlakuan 10% EY PBS (100% motil), menurun ke 88% setelah satu hari disimpan, lalu penyimpanan 2, 3, 4, 5, dan 6 hari penyimpanan, menjadi 80, 60, 46, 36, dan 5 %, berturut-turut yang terbukti secara statistik sangat nyata ( $P<0,01$ ) motilitas spermatozoa perlakuan menurun (Tabel 1). Faktor ekstender dan faktor lama penyimpanan sama-sama secara sangat nyata ( $P<0,01$ ) mempengaruhi nilai persentase motilitas spermatozoa itik lokal perlakuan penyimpanan. Interaksi ekstender dengan lama penyimpanan berpengaruh secara sangat nyata ( $P<0,01$ ), namun interaksi EY dengan ekstender atau dengan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ). Pengamatan motilitas dilengkapi dengan pengamatan progresivitas motilitas, hasilnya bahwa ekstender T, RL, dan

PBS skor progresivitas dari skor 4 (gerak ke depan lurus cepat) sebelum penyimpanan (hari ke-nol) menjadi menurun namun masih memberikan skor lebih besar dari satu (gerak maju atau berpindah tempat) setelah penyimpanan. Setelah disimpan dua hari, skor progresivitasnya skor 2 (maju ke depan lintasan lingkaran) atau 3 (maju ke depan lintasan kurva). Hari ke enam penyimpanan skor progresivitasnya satu. Hasil analisis progresivitas membuktikan bahwa secara sendiri-sendiri, faktor ekstender atau lama penyimpanan dan interaksi medium dan laam penyimpanan secara sangat nyata ( $P<0,01$ ) mempengaruhi progresivitas motilitas. Faktor EY secara sendiri, interaksi EY secara nyata ( $P<0,05$ ) mempengaruhi progresivitas motilitas spermatozoa perlakuan. Uji lanjut membuktikan bahwa RL dan PBS T dan PBS berbeda sangat nyata ( $P<0,01$ ) dengan PBS, T & RL berbeda nyata ( $P<0,05$ ). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstender terbaik yang memelihara motilitas spermatozoa itik lokal penyimpanan refrigerator hingga enam hari adalah ekstender PBS.

Tabel 1. Rataan ( $\pm$ SD) persentase motilitas spermatozoa itik lokal (*Anas platyrhynchos*) selama preservasi dalam refrigerator 5° C dalam medium penyimpanan kombinasi konsentrasi kuning telur (EY) dengan ekstender ringer laktat (RL) atau *tris aminomethan* (T), atau *Phospat Buffer Saline* (PBS).

Table 1. Average percentage ( $\pm$ SD) of sperm motility of local duct (*Anas platyrhynchos*) during preservation at refrigerator 5° C temperature in preservation medium of egg yolk (EY) combined with extender of ringer laktat (RL) or *tris aminomethan* (T), or *Phospat Buffer Saline* (PBS).

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	
0%EYKT	96,67 $\pm$ 2,89	76,67 5,77	$\pm$ 60,00 0,00	$\pm$ 33,33 5,77	$\pm$ 8,33 14,43	$\pm$ 5,00 8,66	$\pm$ 0,00 0,00	$\pm$
5%EYT	90,00 $\pm$ 10,00	50,00 26,46	$\pm$ 38,33 33,29	$\pm$ 31,66 12,58	$\pm$ 13,33 23,09	$\pm$ 13,33 23,09	$\pm$ 0,00 0,00	$\pm$
10%EYT	86,67 $\pm$ 11,55	53,33 32,15	$\pm$ 46,66 20,82	$\pm$ 40,00 0,00	$\pm$ 10,00 17,32	$\pm$ 13,33 23,09	$\pm$ 0,00 0,00	$\pm$
15%EYT	86,67 $\pm$ 11,55	53,33 32,15	$\pm$ 50,00 26,46	$\pm$ 40,00 10,00	$\pm$ 13,33 23,09	$\pm$ 13,33 23,09	$\pm$ 1,67 2,89	$\pm$
25%EYT	93,33 $\pm$ 5,77	53,33 27,54	$\pm$ 40,00 20,00	$\pm$ 36,67 11,55	$\pm$ 13,33 23,09	$\pm$ 13,33 23,09	$\pm$ 0,33 0,58	$\pm$
0%KPBS	100,00	68,33	$\pm$ 51,67	$\pm$ 38,33	$\pm$ 23,33	$\pm$ 0,00	$\pm$ 0,00	$\pm$

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	
	±0,00	20,21	16,07	22,55	25,17	0,00	0,00	
5%EYPBS	98,33 ± 2,89	78,33 ± 7,64	63,33 ± 15,28	56,67 ± 23,09	46,67 ± 36,17	30,00 ± 26,46	3,67 ± 5,50	
10%EYPBS	100,00 ± 0,00	88,33 ± 7,64	80,00 ± 8,66	60,00 ± 17,32	<b>46,67 ± 32,15</b>	36,67 ± 32,14	5,00 ± 5,00	
15%EYPBS	100,00 ± 0,00	78,33 ± 16,07	66,67 ± 11,55	51,67 ± 22,55	36,67 ± 25,17	30,00 ± 26,46	5,00 ± 5,00	
25%EYPBS	100,00 ± 0,00	83,33 ± 7,64	73,33 ± 11,55	56,67 ± 15,26	41,67 ± 23,63	33,33 ± 28,57	3,67 ± 5,51	
0%KRL	98,33 ± 2,89	76,67 ± 23,09	55,00 ± 27,83	23,33 ± 11,55	7,00 ± 5,20	3,33 ± 2,87	0,00 ± 0,00	
5%EYRL	96,67 ± 5,77	86,67 ± 14,43	61,67 ± 7,64	31,67 ± 2,89	4,33 ± 1,15	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
10%EYRL	96,67 ± 5,77	89,33 ± 16,77	70,00 ± 10,00	46,67 ± 5,77	10,00 ± 5,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
15%EYRL	100,00 ± 0,00	96,67 ± 5,77	76,67 ± 5,77	43,33 ± 5,77	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	
25%EYRL	95,00 ± 5,00	93,33 ± 11,55	75,00 ± 13,22	48,33 ± 16,07	6,67 ± 2,89	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	

Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa setelah pewarnaan *Trypan blue* menunjukkan bahwa setelah penyimpanan, rerata viabilitas spermatozoa menurun, paralel dengan data penurunan motilitas dan progresivitas motilitas. Viabilitas dapat dipelihara hingga 6 hari sebanyak 10% populasi spermatozoa perlakuan, data untuk konsentrasi EY 10%, 15% dan 25% ekstender PBS (Tabel 2). Spermatozoa perlakuan medium penyimpanan 25% EY ekstender RL pasca penyimpanan 1, 2 dan 3 hari menunjukkan berturut-turut 93%, 83%, 70% viabil. Setelah 4 hari penyimpanan, tertinggi viabilitasnya yaitu 50 % dari perlakuan 25% EY ekstender PBS (Tabel 2). Setelah 5, dan 6 hari penyimpanan, nilai viabilitas tertinggi yaitu 40 % dan 10%, berturut-turut dari perlakuan 15%EYPBS (Tabel 2). Hasil analisis membuktikan bahwa secara sendiri faktor ekstender, EY dan lama penyimpanan secara sangat nyata ( $P<0,01$ ) menentukan, namun tidak ada interaksi ( $P>0,05$ ) antara ekstender dengan EY dan lama penyimpanan. Hasil analisis membuktikan bahwa ada korelasi erat (koefisien korelasi Pearson=0,92) antara motilitas dan

viabilitas. Berarti spermatozoa yang nampak motil berarti juga viabil, atau spermatozoa yang diam tidak motil tidak viabil atau mati. Hasil uji lanjut membuktikan bahwa RL dan PBS, juga T dan PBS berbeda sangat nyata ( $P<0,01$ ), RL dan T tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) menentukan viabilitas, jadi ekstender terbaik adalah PBS.

Ekstender PBS terbukti paling baik memelihara motilitas dan viabilitas spermatozoa perlakuan penyimpanan. Hasil ini tidak sesuai laporan sebelumnya bahwa ekstender Tris baik memelihara spermatozoa sapi (Pratiwi *et al*, 2007). Hasil penelitian ini mengkonfirmasi laporan Philips (1939) menggunakan sperma cair yang disimpan 5°C dalam ekstender PBS yang ditambah dengan kuning telur mampu mempertahankan motilitas dan fertilitas spermatozoa sapi, Schafer dan Holzmann (2000) menggunakan metode *transmigration and Spermac<sup>TM</sup>* untuk spermatozoa epididimis kucing menggunakan ekstender PBS menghasilkan nilai transmigrasi (pergerakan) spermatozoa kucing yang lebih baik dibanding dalam ekstender lain (medium *sodium chloride*), juga.

Menurut Devireddy *et al.* (1999) untuk preservasi spermatozoa tikus metode *rapid freezing* ekstender PBS dikombinasi dengan kuning telur 15% mampu memelihara motilitas dan viabilitas dengan baik, serta Rifka (1997) untuk spermatozoa ikan dengan ekstender PBS juga. Penambahan krioprotektan EY secara sangat nyata ( $P < 0,01$ ) mempengaruhi viabilitas spermatozoa itik lokal, antar konsentrasi EY (5, 10, 15, 25%) sama baiknya.

Hasil ini berbeda dari laporan Pratiwi *et al.* (2007) hanya konsentrasi 10% EY terbaik untuk preservasi spermatozoa sapi. Hasil penelitian ini sesuai laporan Graham *et al.* (2004) pada spermatozoa gajah (*Elephas maximus*) preservasi spermatozoa dengan penambahan kuning telur pada empat medium yang berbeda pada

temperatur 4° C menunjukkan secara nyata ( $P < 0,05$ ) menurunkan viabilitas spermatozoa setelah dua hari preservasi dibandingkan tanpa penambahan kuning telur. Hu *et al.* (2006) melaporkan *Low Density Lipoproteins* kuning telur (LDL) 9% sebagai krioprotektan mampu menjaga motilitas spermatozoa babi setelah pembekuan dan *thawing*.

Argumentasi Toelihere (1993) bahwa kelebihan kuning telur terletak pada lipoprotein dan lesitin yang terkandung di dalamnya yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa. Dengan demikian, EY efektif untuk memelihara motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal pasca preservasi atau penyimpanan refrigerator.

Tabel 2. Rataan ( $\pm$ SD) persentase viabilitas spermatozoa itik lokal (*Anas platyrhynchos*) selama preservasi dalam refrigerator 5° C dalam medium penyimpanan kombinasi konsentrasi kuning telur (EY) dengan ekstender Ringer laktat (RL) atau *tris aminomethan* (T), atau *Phospat Buffer Saline* (PBS).

Table 2. Average percentage ( $\pm$ SD) of local duct (*Anas platyrhynchos*) sperm viability during preservation at refrigerator 5° C temperature in preservation medium of egg yolk (EY) concentration combined with extender of Ringer laktat (RL) or *tris aminomethan* (T), or *Phospat Buffer Saline* (PBS).

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)						
	0	1	2	3	4	5	6
0%EYKT	98,33 ± 2,89	81,67 ± 2,89	33,33 ± 23,09	26,67 ± 20,21	15,00 ± 17,32	6,67 ± 11,55	0,67 ± 1,15
5%EYT	95,00 ± 5,00	70,00 ± 17,32	63,33 ± 15,28	41,67 ± 29,30	22,67 ± 36,67	16,67 ± 28,87	3,33 ± 5,77
10%EYT	95,00 ± 5,00	80,00 ± 10,00	75,00 ± 8,67	51,67 ± 24,66	26,33 ± 42,16	20,00 ± 34,64	6,67 ± 11,55
15%EYT	93,33 ± 5,77	80,00 ± 10,00	70,00 ± 13,29	53,33 ± 27,54	27,67 ± 41,00	20,00 ± 34,64	6,67 ± 11,55
25%EYT	95,00 ± 5,00	76,67 ± 11,55	63,33 ± 15,28	53,33 ± 23,09	24,67 ± 39,26	20,00 ± 34,64	3,33 ± 5,77
0%KPBS	96,67 ± 5,77	71,67 ± 10,41	55,00 ± 13,29	33,33 ± 15,28	15,67 ± 25,42	10,00 ± 17,32	1,67 ± 2,89
5%EYPBS	98,33 ± 2,89	90,00 ± 0,00	76,67 ± 14,43	78,33 ± 7,64	45,00 ± 35,00	36,67 ± 32,15	2,50 ± 3,53
10%EYPBS	98,33 ± 2,89	83,33 ± 5,77	76,67 ± 7,64	63,33 ± 29,30	48,33 ± 33,29	33,33 ± 28,87	10,00 ± 10,0
15%EYPBS	96,67 ± 5,77	86,67 ± 2,87	78,33 ± 7,64	63,33 ± 20,82	48,33 ± 33,29	40,00 ± 36,64	10,00 ± 10,0
25%EYPBS	98,33 ± 2,87	90,00 ± 10,00	80,00 ± 10,00	66,33 ± 25,66	<b>50,00 ± 36,05</b>	36,67 ± 32,15	10,00 ± 10,0
0%KRL	98,33 ± 2,89	76,67 ± 23,09	55,00 ± 27,83	23,33 ± 11,55	7,00 ± 5,20	3,33 ± 2,87	0,00 ± 0,00

Perlakuan	Lama Penyimpanan (hari)							
	0	1	2	3	4	5	6	
5%EYRL	93,33 ± 2,87	90,00 ± 17,32	63,33 ± 5,77	43,33 ± 20,82	21,67 ± 14,43	6,67 ± 5,77	0,00 ± 0,00	
10%EYRL	98,33 ± 2,89	93,00 ± 11,27	75,00 ± 13,29	50,00 ± 17,32	28,33 ± 20,21	6,67 ± 5,77	0,00 ± 0,00	
15%EYRL	96,67 ± 5,77	91,67 ± 10,41	78,33 ± 7,64	56,67 ± 15,28	33,33 ± 20,82	10,00 ± 10,00	0,00 ± 0,00	
25%EYRL	100,00 ± 0,00	93,33 ± 11,55	83,33 ± 11,55	70,00 ± 26,46	26,67 ± 15,28	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	

Bahwa lama penyimpanan terbukti secara sangat nyata ( $P < 0,01$ ) menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa, semakin lama waktu preservasi semakin menurun nilai motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal. Hasil penurunan kualitas spermatozoa pasca penyimpanan diakibatkan oleh akumulasi asam laktat hasil proses metabolisme sel selama penyimpanan, menghasilkan kondisi medium penyimpanan menjadi asam, bersifat racun, menyebabkan kematian spermatozoa sesuai argumentasi Sugiarti *et al* (2004). Argumentasi Setiadi dan Julizar (2001) bahwa penurunan motilitas spermatozoa pasca preservasi yang lama diakibatkan oleh menurunnya zat makanan dan pengaruh zat toksik hasil sampingan dari proses metabolisme spermatozoa. Argumentasi Rizal *et al.* (2003) bahwa motilitas spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa *adenosin triphosphate* (ATP) hasil dari proses metabolisme sel. Jadi, semakin lama waktu preservasi, ketersediaan makanan dalam medium semakin berkurang, menjadi penyebab menurunnya motilitas dan viabilitas spermatozoa itik lokal. Banyaknya spermatozoa yang mati selama proses preservasi dapat berubah menjadi racun bagi spermatozoa yang masih hidup sesuai Soler *et al* (2003). Oleh karena itu kualitas spermatozoa makin menurun seiring lama waktu penyimpanan. Perlu dilakukan pengamatan morfologi dan penghitungan konsentrasi spermatozoa. Penting juga dilakukan uji coba untuk mengetahui fertilitas spermatozoa itik lokal (*Anas platyrhynchos*) pasca preservasi hasil penelitian ini dalam upaya inseminasi

buatan menggunakan semen cair yang diperoleh penelitian ini.

## Simpulan

Ekstender PBS secara sendiri atau dengan kombinasi berbagai konsentrasi kuning telur yang diujikan (5, 10, 15, dan 25%) terbaik untuk menyimpan spermatozoa itik lokal (*Anas platyrhynchos*) temperatur refrigerator ( $5^{\circ}\text{C}$ ) hingga 6 hari. Semakin lama penyimpanan semakin menurunkan kualitas spermatozoa itik lokal. Untuk dimanfaatkan dalam inseminasi buatan, spermatozoa penyimpanan 3 hari atau 4 hari terbaik diujicoba.

## Ucapan terima kasih

Penelitian ini terlaksana dengan bantuan berbagai pihak, terima kasih kepada Arie Amelia, Chelsy Ryrigiyensi, pak Hartono, Virgian, Wigih, Atang, Ma'ruf, dan pak Sufiriyanto. Sumber dana LPPM Unsoed kontrak antara Yulia Sistina dan Unsoed no. Kept 435/UN23/PN.01.00/2012.

## Daftar Pustaka

- Affandhy, L., D. Pamungkas, Mariyono dan P. Situmorang. 2004. Efisiensi penggunaan semen cair melalui suplementasi mineral Zn dan Vitamin E pada sapi potong: Laporan Penelitian. Loka Penelitian Sapi Potong, Grati, Pasuruan.
- Campbell, J. R., K. L. Campbell, and M. D. Kenealy. 2003. Artificial insemination. In: *Anim. Sci.* 41h Ed. Mc Graw-Hill. New York
- Devireddy, R. V., J. S. David., P. R. Kenneth and C. B. John. 1999.

- Subzero Water Permeability Parameters of Mouse Spermatozoa in the Presence of Extracellular Ice and Cryoprotective Agents. *Biology of Reproduction*. 61 : 764–775
- Graham. L. H., J. Bando., C. Gray and M. M. Buhr. 2004. Liquid Storage of Asian elephant (*Elephas maximus*) Sperm at 4 degrees C. *Anim.Reprod.Sci*. 80:329-340
- Hu, J. H., W. L. Qing., L. Gang., Y. C. Xiao., Y. Hai., S. Z. Shu and Q.W. Li. 2006. The Cryoprotective Effect on Frozen-thawed Boar Semen of Egg Yolk Low Density Lipoproteins. *Asian-Aust. J. Anim. Sci*. 19: 486-494
- Phillips, P. H. 1939. The Preservation of Bull Semen. *J.Biol.Chem*. 130: 415Pratiwi, W. C., L. Affandhy dan P. Situmorang. 2007. Observasi Kualitas Semen Cair Sapi Peranakan Ongole Terhadap Perbedaan Waktu Inkubasi Pada Proses Pemisahan Spermatozoa. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 195-200
- Rifka. 1997. Pengaruh pengenceran Modifikasi Ringer dan PBS terhadap Motilitas Spermatozoa Ikan Beronang (*Sigamus guttatus*). *Tesis*. Program Pasca sarjana IPB, Bogor.
- Rizal, M., M. R. Toelihere., T. L. Yusuf., B. Purwantara dan P. Situmorang. 2003. Kualitas Semen Beku Domba Garut dalam Berbagai Konsentrasi Gliserol. *JITV*. 7(3):194-199.
- Rose, S. P. 1997. *Prinsiples of Poultry Science*. Harper Adem Agricultural College. London. Pp 70-78.
- Sahashi, Y., T. Otsuki, S. Hikagi, M. Nagano, Y. Yamashita, and M. Hishinuma. 2011. Effect of Butylated Hydroxytoluene on Dog Sperm Longevity in Chilling Storage and Cryopreservation. *J. Vet. Med. Sci*. 73(7): 895–899.
- Salisbury, G. W. dan N. L Vandemark. 1985 . *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Diterjemahkan oleh R. Djanuar. Gadjah mada University Press. Pp. 350-371.
- Schafer, S. and A. Holzmann. 2000. The use of transmigration and Spermace stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal Reproduction Science* 59: 201–211
- Setiadi, M. A and Julizar. 2001. Prediksi kesuburan spermatozoa domba melalui uji penembusan lendir estrus. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor : Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Sistina, Y., M. Lin, K. Mate, E.S. Robinson, J.C. Rodger. 1993. The Unique Stability of the Marsupial Sperm Acrosomal Membranes Examined by Unprotected Freeze-Thawing and Treatment with Detergent Triton X-100. *Reprod.Fertil.Dev*. 5: 1-14
- Soler, A. J., M. D. P. Guzman and J. J. Garde. 2003. Storage of red deer epididymides for four days at 5°C: *Effects on Sperm Motility, Viability, and Morphology Integrity*. *J. Exp.Zool*. 295A: 188 – 199.
- Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, R. G. Sianturi dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Penggunaan katalase dalam produksi semen dingin sapi. *Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor, 4 – 5 Agustus. Puslitbang Peternakan, Bogor. hlm. 215 – 220
- Toelihere, M. R. 1981. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Edisi ke 2, Penerbit Angkasa, Bandung. pp. 64-75; 265-269
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa. Bandung