

Pengaruh Krioprotektan dan Waktu Ekuilibrasi Terhadap Kualitas dan Fertilitas Spermatozoa Itik dan Entog

A.R. SETIOKO, P. SITUMORANG, E. TRIWULANNINGSIH, T. SUGIARTI dan D. A. KUSUMANINGRUM

Balai Penelitian Ternak, PO BOX 221, Bogor 16002, Indonesia

(Diterima dewan redaksi 29 Nopember 2002)

ABSTRACT

SETIOKO, A.R., P. SITUMORANG, E. TRIWULANNINGSIH, T. SUGIARTI dan D.A. KUSUMANINGRUM. 2002. The effect of cryoprotectant and equilibration period on quality and fertility of duck and muscovy sperm. *JITV* 7(4): 237-243.

The study was conducted to evaluate the effect of cryoprotectant and equilibration period on quality and fertility of duck and muscovy spermatozoa. Semen collected from Alabio and muscovy drakes was diluted using three different cryoprotectants: glycerol, DMSO and DMF, thereafter the semen was equilibrated 5°C for 15; 30 and 60 minutes then frozen and stored in liquid nitrogen, designed by factorial 3 x 3. After thawing, semen sample was investigated on the motility and mortality rate. The best cryoprotectant and equilibration period was used in fertilization test. Duration of fertility was calculated from the second day after insemination until the last fertile egg, and the percent of fertility was calculated from the second day until the fourth day after insemination. The use of cryoprotectant significantly affected sperm motility after freezing. The use of glycerol as a cryoprotectant was the lowest ($P < 0.05$) compared to DMSO and DMF. Similarly, duck sperm motility after being frozen with glycerol, DMF and DMSO were 9.02; 21.75, and 32.86%, and for muscovy sperm motility were 11.78; 32.45 and 34.92% respectively. The percentage of live sperm for duck were 23.84; 40.14 and 42.20, while for muscovy were 29.26; 53.06 and 51.80 respectively after being frozen with glycerol, DMF and DMSO. Equilibration period did not affect the percentage of live sperm after freezing. Results of this study showed that duration of fertility of Alabio duck after being inseminated with fresh drake semen was longest compared to that of insemination using fresh muscovy semen, frozen drake semen and frozen muscovy semen (4.96 vs 3.5; 2.4 and 1.5 days respectively). Results from this study clearly indicated that preservation of sperm reduced the quality of spermatozoa. It is suggested that freezing technique of both duck and Muscovy sperm could be conducted using DMF or DMSO as a cryoprotectant with the equilibration period between 15 to 60 minutes.

Key words: Sperm, cryoprotectant, fertility, AI, duck, muscovy

ABSTRAK

SETIOKO, A.R., P. SITUMORANG, E. TRIWULANNINGSIH, T. SUGIARTI dan D.A. KUSUMANINGRUM. 2002. Pengaruh krioprotektan dan waktu ekuilibrasi terhadap kualitas dan fertilitas spermatozoa itik dan entog. *JITV* 7(4): 237-243.

Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengevaluasi pengaruh krioprotektan dan waktu ekuilibrasi terhadap kualitas dan fertilitas spermatozoa itik dan entog. Semen itik Alabio dan entog diencerkan dengan pengencer semen yang mengandung tiga jenis krioprotektan yaitu gliserol, DMSO atau DMF, kemudian diekuilibrasi pada suhu 5°C selama 15; 30 dan 60 menit dan dibekukan di dalam nitrogen cair, dengan rancangan pola faktorial 3 x 3. Contoh semen yang telah dithawing kemudian diuji secara mikroskopis meliputi motilitas dan mortalitas. Krioprotektan dan waktu ekuilibrasi terbaik digunakan untuk uji fertilitas. IB semen beku itik dan entog dilakukan menggunakan itik betina. Lama fertilitas dihitung mulai dari hari kedua setelah inseminasi tunggal sampai telur fertil terakhir, sedangkan persentase fertilitas diukur dari hari ke dua sampai hari ke empat setelah inseminasi. Krioprotektan gliserol menghasilkan daya hidup spermatozoa terendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan DMSO maupun DMF. Motilitas spermatozoa itik sebesar 9,02; 21,75 dan 32,86, untuk entog sebesar 11,78; 32,45 dan 34,92% berturut-turut bila dibekukan dengan menggunakan krioprotektan gliserol, DMSO dan DMF. Persentase spermatozoa hidup untuk itik sebesar 23,84; 40,14 dan 42,20%, sedangkan untuk entog 29,26; 53,06 dan 51,80%. Waktu ekuilibrasi 15; 30 dan 60 menit tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap daya hidup spermatozoa. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa lama fertilitas spermatozoa itik lebih baik dibandingkan dengan sperma entog. Lama fertilitas itik Alabio setelah diinseminasi dengan spermatozoa itik segar paling lama ($P < 0,05$) dibandingkan dengan spermatozoa entog segar, itik beku dan entog beku (4,96 hari vs. 3,5; 2,4; dan 1,25 hari). Hasil penelitian ini secara jelas menunjukkan bahwa perlakuan pembekuan sperma menurunkan kualitas spermatozoa. Dapat disarankan bahwa teknik pembekuan spermatozoa itik maupun entog dilakukan dengan menggunakan bahan krioprotektan DMSO atau DMF dengan waktu ekuilibrasi antara 15 hingga 60 menit.

Kata kunci : Sperma, krioprotektan, fertilitas, IB, itik, entog

PENDAHULUAN

Teknik pengawetan spermatozoa unggas air telah dilakukan di beberapa negara seperti Taiwan, Perancis, Jepang, Cina dan beberapa negara di Eropa Timur, tetapi secara umum hasilnya masih belum memuaskan (SETIOKO, 1981). Salah satu kesulitannya adalah karena bentuk kepala spermatozoa unggas yang seperti sabit, menyebabkan bagian leher mudah patah dalam proses penyimpanan. CHELMONSKA dan DUKTO (1972) menyimpan spermatozoa itik didalam nitrogen cair selama dua sampai empat minggu, setelah diinseminasikan ke itik betina, tidak menghasilkan telur fertil. WATANABE (1961) menyimpan spermatozoa itik setelah diencerkan dengan bahan pengencer yang mengandung kuning telur dan larutan sitrat dan disimpan pada suhu -50°C selama 24 jam dan 48 jam dapat menghasilkan telur fertil masing-masing selama 10 dan 6 hari. TAI *et al.* (1983) melaporkan bahwa teknik pembekuan spermatozoa itik secara cepat dengan menggunakan nitrogen cair telah dapat dilakukan. Motilitas semen beku setelah dicairkan kembali (*thawing*) bervariasi dari 50 sampai 70%, sedangkan fertilitas pada itik Pekin dan Entog pada hari ke 2–4 setelah inseminasi adalah 62,5 dan 18,7%. Namun demikian metode konservasi spermatozoa itik yang digunakan ini tidak dijabarkan lebih jauh. Demikian juga dengan SAKHATSKY *et al.* (1995) yang secara tidak lengkap melaporkan teknologi konservasi spermatozoa angsa pada suhu rendah. ANDREYEV (1987) melaporkan bahwa konservasi spermatozoa itik menghasilkan fertilitas 55–60% dan daya tetas 40–50%, tanpa menguraikan metode preservasi yang digunakan. LUKASZEWICS (1997) meneliti pengaruh penggunaan larutan Avidulant dan Whityp A, krioprotektan (DMF, DMSO, gliserol, 1,2 propanediol), dan rata-rata penurunan suhu $1^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ atau $35^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ turun ke suhu -35 ; -90 ; atau -110°C pada proses pembekuan spermatozoa angsa White Italian. Persentase spermatozoa hidup yang tertinggi (26,3%) diperoleh pada perlakuan bahan pelarut Avidulant, krioprotektan

DMF, dengan rata-rata penurunan suhu $-35^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ turun hingga suhu -110°C .

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh krioprotektan dan waktu ekuilibrasi terhadap kualitas dan fertilitas spermatozoa itik dan entog. Diharapkan dalam jangka panjang akan diperoleh standar teknik penyimpanan spermatozoa dan inseminasi pada itik dan entog, baik untuk keperluan penelitian breeding maupun untuk pengembangan secara komersial itik Serati di tingkat peternak

MATERI DAN METODE

Semen itik Alabio dan entog diencerkan dengan pengencer semen yang mengandung tiga jenis krioprotektan yaitu *gliserol*, *dimethylsulfoxide* (DMSO) dan *dimethylformamide* (DMF), kemudian diekuilibrasi pada suhu 5°C selama 15; 30 dan 60 menit dengan rancangan faktorial 3×3 . Bahan pengencer semen terdiri dari kuning telur, glukosa, dan antibiotika serta jenis krioprotektan tertera dalam Tabel 1.

Semen segar yang diperoleh dari dua bangsa itik ditampung dengan metode vagina buatan (TAN, 1980) diuji kualitasnya secara makroskopis yaitu dengan mengukur volume, melihat warna, konsistensi, dan adanya kontaminasi darah atau kotoran. Semen yang terlalu encer atau terkontaminasi tidak digunakan dalam penelitian ini. Semen dikumpulkan berdasarkan bangsa dan disimpan pada suhu 5°C . Setelah itu semen diencerkan dengan tingkat pengenceran 5x untuk semen entog dan 10x untuk semen itik. Tingkat pengenceran semen ditentukan atas dasar daya hidup optimal dari semen beku yang diperoleh pada awal penelitian dengan mempertimbangkan konsentrasi, karena konsentrasi awal semen itik lebih tinggi dibandingkan dengan entog. Semen yang telah diencerkan diekuilibrasi dalam mini straw (0,25 ml) pada suhu 5°C selama 15, 30 dan 60 menit untuk selanjutnya diletakkan di atas uap nitrogen cair (pada suhu -110 s.d. -120°C) selama empat menit kemudian dimasukkan ke dalam nitrogen cair.

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer semen dengan menggunakan tiga jenis krioprotektan

Bahan pengencer dan krioprotektan	Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
Gliserol (ml)	0,70	-	-
DMSO (ml)	-	0,70	-
DMF (ml)	-	-	0,70
Glukosa (gr)	0,57	0,57	0,57
Kuning telur (ml)	1,50	1,50	1,50
H ₂ O (ml)	7,80	7,80	7,80
Penstrep (ml)	0,10	0,10	0,10
<i>TOTAL (ml)</i>	<i>10,00</i>	<i>10,00</i>	<i>10,00</i>

Setelah beberapa hari disimpan, straw dithawing pada suhu 35⁰C selama 30 detik untuk diuji daya hidupnya meliputi persen motilitas dan persen sperma hidup dengan metoda pengecatan negrosin-eosin.

Hasil terbaik dari penelitian diatas digunakan untuk produksi semen beku yang akan dipakai dalam uji fertilitas, sebagai pembanding juga dilakukan inseminasi menggunakan semen segar dari dua bangsa itik. Masing-masing sebanyak 24 ekor itik Alabio betina digunakan untuk uji fertilitas. Semen yang telah dibekukan dan dithawing pada suhu 35⁰C selama 30 detik diinseminasikan kedalam alat reproduksi betina dengan dosis 0,25 ml. Inseminasi dilakukan secara langsung yaitu dengan memasukkan *straw* ke dalam *insemination gun* sapi yang dimodifikasi. *Straw* didalam *sheet* IB dimasukkan kedalam vagina itik betina sedalam kurang lebih 2 cm setelah vagina dikeluarkan dengan menekan kloaka bagian bawah. *Straw* ditarik keluar setelah tekanan dibagian bawah kloaka dilepaskan. Itik yang telah diinseminasi dikembalikan ke kandang individu secara perlahan untuk menghindari adanya regurgitasi.

Telur yang dihasilkan dikumpulkan setiap hari, diberi tanggal dan identifikasi nomor betina. Telur-telur tersebut segera ditempatkan pada rak telur dengan bagian tumpul diatas, kemudian difumigasi selama 20 menit (fumigant yang digunakan: 7,1 g KMnO4 dan 10,6 ml formalin per meter kubik). Telur disimpan pada suhu kamar selama tujuh hari, kemudian dimasukkan dalam mesin tetas dengan suhu 37,8⁰C dan kelembaban relatif diset pada 70%. Pemutaran telur diset setiap jam. Setelah tujuh hari dalam inkubator, telur-telur tersebut diteropong untuk melihat telur yang fertil dan lama fertilitas.

Parameter yang diukur dalam uji fertilitas adalah lama fertilitas dan persentase fertilitas. Lama fertilitas dihitung mulai dari hari kedua setelah inseminasi

tunggul sampai telur fertil terakhir didapatkan. Rata-rata persentase fertilitas dihitung dari jumlah telur fertil dibagi dengan jumlah telur yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daya hidup spermatozoa

Rata-rata persentase motilitas spermatozoa itik Alabio dan entog setelah pembekuan dengan menggunakan krioprotektan gliserol, DMSO, dan DMF dengan waktu ekuilibrisasi 15, 30 dan 60 menit disajikan pada Tabel 2.

Penggunaan krioprotektan dalam pembekuan spermatozoa itik maupun entog memberikan pengaruh yang sangat nyata (P<0,01) pada motilitas spermatozoa. Penggunaan gliserol sebagai krioprotektan pada pembekuan spermatozoa itik menghasilkan motilitas spermatozoa terendah (P<0,05) sedangkan DMF menghasilkan motilitas tertinggi (P<0,05) yaitu berturut-turut untuk gliserol, DMSO dan DMF sebesar 9,02 vs 21,75 vs 32,86%. Pembekuan spermatozoa entog menggunakan krioprotektan gliserol juga menghasilkan motilitas spermatozoa terendah (P<0,05) dibandingkan dengan kedua krioprotektan lain, sedangkan krioprotektan DMF dan DMSO tidak berbeda nyata. Waktu ekuilibrisasi 15, 30 dan 60 menit tidak menghasilkan perbedaan yang nyata (P>0,05) terhadap motilitas spermatozoa (Table 2). Tidak dijumpai adanya interaksi antara krioprotektan dan waktu ekuilibrisasi terhadap motilitas spermatozoa. Hasil penelitian TAI *et al.* (1983) menunjukkan bahwa motilitas sperma segar itik Pekin sebesar 95% (+++) dan motilitas sperma setelah *thawing* kembali adalah sebesar 75% (+++) dengan menggunakan krioprotektan

Tabel 2. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa itik Alabio dan entog setelah dibekukan dengan menggunakan tiga jenis krioprotektan dan tiga waktu ekuilibrisasi

Bangsa	Waktu ekuilibrisasi	Krioprotektan			Rata-rata
		Gliserol	DMSO	DMF	
Itik	15	9,52	27,71	27,65	21,67
	30	8,35	23,29	36,18	22,61
	60	9,18	14,24	23,76	19,39
	Rata-rata	9,02 ^c	21,75 ^b	32,86 ^a	-
Entog	15	7,71	31,47	33,82	24,33
	30	13,24	33,24	36,18	27,54
	60	14,41	32,65	34,76	27,28
	Rata-rata	11,78 ^b	32,45 ^a	34,92 ^a	-

^{a,b,c} Superskrip berbeda pada kolom dan baris yang sama berbeda nyata (P<0,05)

gliserol. Selain itu juga dilaporkan bahwa motilitas sperma entog segar dan setelah thawing masing-masing 95% (+++) dan 50% (++) . Daya hidup spermatozoa segar yang diperoleh dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan yang didapatkan TAI *et al.* (1985) yaitu 83,6% (+++) untuk itik dan 82,7% (++) untuk entog, perbedaan daya hidup yang diperoleh mungkin disebabkan faktor-faktor seperti perbedaan umur, pengaruh individual hewan, berat badan, kondisi bangsa ternak, frekuensi penampungan dan metoda penampungan (GAZALI, 2001), iklim dan pakan yang secara langsung berhubungan dengan kualitas sperma. Pembekuan spermatozoa baik pada itik maupun entog menyebabkan penurunan daya hidup spermatozoa dan penurunannya sangat dipengaruhi oleh krioprotektan yang digunakan. Daya hidup spermatozoa itik yang didapatkan dalam penelitian ini jauh lebih rendah dari yang didapatkan TAI *et al.* (1983) yang mencapai 75% untuk itik Pekin, sedangkan untuk entog tidak jauh berbeda, hal ini terjadi selain karena perbedaan breed itik (lokal vs Pekin) mungkin juga disebabkan oleh perbedaan dalam teknik pembekuan.

Rata-rata persentase hidup spermatozoa sperma itik Alabio dan entog setelah dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol, DMSO, dan DMF dengan waktu ekuilibrase 15, 30 dan 60 menit disajikan pada Tabel 3.

Persentase spermatozoa yang hidup setelah dibekukan baik pada bangsa itik maupun entog secara nyata dipengaruhi ($P < 0,05$) oleh jenis krioprotektan

yang digunakan. Krioprotektan gliserol menghasilkan spermatozoa hidup terendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan DMSO dan DMF (23,84 vs 40,14 vs 42,19%) untuk itik dan 29,26 vs 53,09 vs 51,80% untuk entog, sedangkan penggunaan DMSO dan DMF tidak menghasilkan perbedaan yang nyata. Waktu ekuilibrase berpengaruh tidak nyata terhadap persentase sperma yang hidup setelah dibekukan yaitu 38,41; 35,88; 31,88% pada itik dan 42,00; 47,31; 44,8% pada entog berturut-turut bila diekuilibrase selama 15; 30 dan 60 menit. Penelitian pada itik dan entog tentang persentase spermatozoa yang hidup belum pernah dilaporkan, namun penelitian yang sama pada angsa dilaporkan oleh LUKASZEWICZ (1997). Selanjutnya dikatakan bahwa penggunaan krioprotektan DMSO dan DMF memberikan persentase spermatozoa hidup yang lebih baik dibandingkan dengan gliserol.

Fertilitas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fertilitas spermatozoa itik lebih baik ($P < 0,05$) apabila dibandingkan dengan spermatozoa entog. Tidak dijumpai adanya interaksi antara spermatozoa dari kedua bangsa dan proses pembekuan. Rata-rata lama fertilitas itik Alabio yang diinseminasi dengan sperma entog beku, itik beku, entog segar dan itik segar adalah 1,25; 2,37; 3,50 dan 4,96 hari (Tabel 4).

Tabel 3. Rata-rata persentase hidup sperma itik Alabio dan entog setelah dibekukan dengan menggunakan tiga jenis krioprotektan dan tiga waktu ekuilibrase

Bangsa	Waktu ekuilibrase	Krioprotektan			Rata-rata
		Gliserol	DMSO	DMF	
Itik	15	23,00	46,88	45,35	38,41
	30	24,82	40,00	42,82	35,88
	60	23,71	33,53	38,42	31,88
	Rata-rata	23,84 ^b	40,14 ^a	42,19 ^a	–
Entog	15	24,41	52,06	49,53	42,00
	30	34,06	54,35	53,53	47,31
	60	29,29	52,76	52,35	44,80
	Rata-rata	29,26 ^b	53,09 ^a	51,80 ^a	–

^{a,b} Superskrip berbeda pada kolom dan baris yang sama berbeda sangat nyata ($P < 0,01$)

Tabel 4. Lama fertilitas itik Alabio setelah inseminasi tunggal dengan semen entog dan itik, segar dan beku

Uraian	Jenis sperma yang diinseminasikan			
	Beku		Segar	
	Entog	Itik	Entog	Itik
Jumlah itik Alabio	24	24	24	24
Total lama fertilitas (hari)	30	57	84	119
Rata-rata (hari)	1,25 ^a	2,37 ^a	3,50 ^b	4,96 ^c
Standar deviasi	1,39	2,02	2,36	2,35

^{abc} Superskrip berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($P < 0,05$)

Rata-rata lama fertilitas kelompok spermatozoa itik beku sedikit lebih tinggi, yaitu 2,37 hari dibandingkan dengan spermatozoa entog beku 1,25 hari, namun tidak ada perbedaan yang nyata antara kedua kelompok tersebut. Namun demikian pada kelompok spermatozoa segar tampak ada perbedaan yang nyata antara entog dan itik, dimana lama fertilitas spermatozoa entog lebih rendah ($P < 0,05$) dibandingkan dengan pada itik. Lama fertilitas itik Alabio setelah diinseminasi dengan spermatozoa itik Alabio segar paling lama ($P < 0,05$) apabila dibandingkan dengan sperma entog segar, itik beku dan entog beku (4,96 hari vs 3,50 dan 2,37 vs 1,25 hari). Ada perbedaan yang nyata pada lama fertilitas itik Alabio yang diinseminasi dengan spermatozoa entog segar dibandingkan dengan entog beku, dimana fertilitas entog segar lebih lama ($P < 0,05$) dibandingkan dengan itik beku. Demikian pula dengan kelompok spermatozoa itik beku dan itik segar, dimana spermatozoa itik segar menghasilkan lama fertilitas

4,96 hari secara nyata lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa itik beku 2,37 hari.

Rata-rata fertilitas pada kelompok spermatozoa entog beku hanya mencapai hari ke lima, berturut fertilitas mulai hari ke dua sampai ke lima sebesar 42; 23; 24 dan 5% (Tabel 5). Dari tabel tersebut diperoleh rata-rata persentase fertilitas hari ke dua hingga ke empat adalah 32,26%. Pada kelompok spermatozoa itik beku fertilitasnya mencapai hari ke tujuh, yaitu 75; 60; 68; 20; 10; dan 10%. Rata-rata persentase fertilitas pada hari ke dua hingga hari keempat sebesar 67,27%. Pada kelompok spermatozoa entog segar, fertilitas mencapai hari ke tujuh yaitu berturut mulai hari ke dua sampai ke delapan sebesar 83; 79; 82; 67; 57; 20 dan 25%, sedangkan rata-rata fertilitas pada hari kedua hingga ke empat mencapai 85% (Tabel 6). Demikian pula dengan kelompok spermatozoa itik segar, fertilitas mencapai hari ke delapan yaitu 78; 100; 88; 78; 67; 63 dan 42%. Rata-rata persentase fertilitas spermatozoa itik segar pada hari ke dua hingga hari ke empat adalah 89%.

Tabel 5. Fertilitas itik Alabio yang diinseminasi dengan semen beku itik dan entog

Nomor Itik Alabio	Jumlah hari setelah inseminasi semen entog							Nomor Itik Alabio	Jumlah hari setelah inseminasi semen itik						
	2	3	4	5	6	7	8		2	3	4	5	6	7	8
1	o	o	x	o	o	o	o	1	-	x	o	o	o	o	o
2	x	o	o	o	o	o	o	2	x	x	-	o	o	o	o
3	o	o	o	o	o	-	o	3	-	-	o	-	o	o	o
4	o	o	o	o	o	o	o	4	-	-	x	x	x	x	o
5	o	o	o	o	o	o	o	5	x	-	x	-	-	-	-
6	o	o	o	o	o	o	o	6	x	x	x	o	o	o	o
7	o	o	o	o	o	o	o	7	o	o	o	o	o	o	o
8	o	o	o	o	o	o	o	8	o	o	o	o	o	o	o
9	o	o	o	o	o	-	o	9	x	x	x	o	o	o	-
10	o	o	o	o	o	o	o	10	-	o	x	x	o	o	o
11	-	o	-	x	o	o	o	11	o	o	-	o	o	o	o
12	x	o	o	o	o	o	o	12	x	o	o	o	o	o	o
13	-	x	o	-	-	o	o	13	x	x	x	x	x	o	x
14	x	x	x	-	o	o	o	14	-	o	-	o	o	-	o
15	-	o	o	o	o	o	-	15	x	x	x	o	-	o	o
16	x	o	-	o	o	o	o	16	x	o	o	-	o	-	o
17	x	x	x	o	o	o	-	17	-	x	x	o	o	o	-
18	x	x	x	o	o	o	o	18	-	x	-	o	o	o	o
19	-	-	-	-	-	-	-	19	o	-	-	-	-	-	-
20	o	-	x	o	o	o	x	20	x	x	x	o	o	o	o
21	x	o	o	o	o	o	o	21	-	x	x	x	o	x	o
22	x	o	x	o	o	o	o	22	x	o	x	o	o	o	o
23	-	o	o	o	o	o	o	23	x	x	x	o	o	o	o
24	x	x	o	o	o	-	-	24	x	x	x	o	o	o	o
Jumlah telur	19	22	21	21	22	20	20	Jumlah telur	16	20	19	20	21	20	20
Jumlah telur fertil	9	5	6	1	0	0	1	Jumlah telur fertil	12	12	13	4	2	2	1
% fertilitas	42	23	24	5	0	0	5	% fertilitas	75	60	68	20	10	10	0
Jumlah telur 2-4 hari		62						Jumlah telur 2-4 hari		55					
Jumlah telur fertil 2-4 hari		20						Jumlah telur fertil 2-4 hari		37					
% fertilitas 2-4 hari		32,26						% fertilitas 2-4 hari		67,27					

x telur fertil; o telur infertil; - tidak bertelur

Tabel 6. Fertilitas itik Alabio yang diinseminasi dengan semen segar itik dan entog

Nomor Itik Alabio	Jumlah hari setelah inseminasi semen entog							Nomor Itik Alabio	Jumlah hari setelah inseminasi semen itik						
	2	3	4	5	6	7	8		2	3	4	5	6	7	8
1	x	x	x	o	o	o	o	1	x	x	x	x	x	o	o
2	x	x	x	x	x	x	x	2	x	x	x	x	o	o	o
3	-	x	x	x	x	o	o	3	x	x	x	x	o	x	o
4	x	x	x	o	x	o	o	4	x	x	x	-	o	x	x
5	x	x	x	x	o	o	o	5	x	x	x	x	-	o	o
6	x	-	x	x	x	o	-	6	x	x	-	x	x	-	x
8	x	x	x	o	o	o	o	7	x	x	x	x	x	x	o
9	x	x	x	x	x	x	o	8	x	x	o	o	o	o	o
11	-	-	-	-	-	-	x	9	x	x	x	x	-	x	o
12	x	x	x	o	o	o	o	10	-	x	x	-	x	o	o
13	x	x	x	x	-	-	o	11	x	x	x	x	x	x	o
13	-	-	x	x	o	x	-	12	x	x	x	o	o	o	o
14	o	-	-	-	-	-	-	13	o	x	x	x	-	x	x
15	x	x	-	x	x	x	o	14	-	-	o	x	x	x	x
15	-	-	o	-	-	-	-	15	o	x	-	o	-	x	-
16	x	-	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-	-	-	-
17	x	-	-	x	-	-	-	17	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	18	o	x	-	x	x	-	x
19	x	o	o	-	-	o	-	19	x	x	-	x	x	-	o
20	-	o	x	x	o	o	-	20	-	-	x	-	x	-	x
21	x	x	x	x	x	-	-	21	-	x	-	x	-	x	x
22	x	-	-	-	-	-	-	22	x	x	x	-	x	-	-
23	-	o	o	o	-	o	-	23	x	x	x	x	x	x	x
24	-	-	x	-	o	o	-	24	o	-	-	o	-	-	-
Jumlah telur	16	14	17	15	14	15	12	Jumlah telur	18	19	16	18	16	16	19
Jumlah telur fertil	15	11	14	10	8	3	3	Jumlah telur fertil	14	19	14	14	11	10	8
% fertilitas	83	79	82	67	57	20	25	% fertilitas	78	100	88	78	67	63	42
Jumlah telur 2-4 hari		47						Jumlah telur 2-4 hari		53					
Jumlah telur fertil 2-4 hari		40						Jumlah telur fertil 2-4 hari		47					
% fertilitas 2-4 hari		85						% fertilitas 2-4 hari		89					

x= telur fertil, o = telur infertil; - = tidak bertelur

Dari Tabel 5 dan 6 dijumpai beberapa ekor itik tidak menghasilkan telur fertil, keadaan ini kemungkinan disebabkan karena produksi telur yang menurun atau sebab lain seperti kesalahan dalam inseminasi. Cara inseminasi yang tidak baik akan menyebabkan regurgitasi semen, sehingga spermatozoa tidak dapat masuk ke saluran reproduksi dan mengakibatkan tidak ada proses fertilisasi. Produksi telur yang tiba-tiba turun disebabkan penanganan itik yang kurang baik selama inseminasi menyebabkan rendahnya angka fertilitas.

Hasil penelitian ini secara jelas menunjukkan bahwa perlakuan pembekuan spermatozoa dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian TAI *et al.* (1983) yang menyatakan bahwa persentase fertilitas telur itik yang diinseminasikan dengan spermatozoa yang dibekukan secara nyata lebih rendah dari semen segar. Selain itu, spermatozoa entog yang diinseminasikan ke dalam alat reproduksi itik menghasilkan fertilitas yang lebih rendah dibandingkan dengan spermatozoa itik yang diinseminasikan ke dalam alat reproduksi itik. Hal ini dapat dipahami karena entog merupakan unggas air yang berbeda dengan itik, dan bila diinseminasikan kapabilitasnya secara alami

mungkin akan mengalami penurunan. Penelitian TAI *et al.* (1983) juga menunjukkan tendensi yang sama dengan penelitian ini, dimana persentase fertilitas sperma entog secara nyata lebih rendah dibandingkan dengan fertilitas sperma itik bila diinseminasikan ke dalam alat reproduksi itik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa teknik pembekuan spermatozoa itik maupun entog dengan menggunakan krioprotektan DMF maupun DMSO memberikan hasil yang jauh lebih baik dibandingkan dengan gliserol dalam hal motilitas dan persentase hidup spermatozoa setelah dibekukan. Waktu ekuilibrasi tidak berpengaruh nyata terhadap daya hidup spermatozoa. Hasil penelitian ini juga secara jelas menunjukkan bahwa perlakuan pembekuan dapat menurunkan fertilitas spermatozoa, baik lama fertilitas maupun persentase fertilitas. Selain itu, spermatozoa entog yang diinseminasikan ke dalam alat reproduksi itik menghasilkan fertilitas yang lebih rendah

dibandingkan dengan spermatozoa itik yang dinseminasikan ke dalam alat reproduksi itik.

Walaupun teknik pembekuan spermatozoa baik untuk entog maupun itik sudah berhasil dilakukan, namun hasilnya belum memuaskan. Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan daya hidup dan fertilitas spermatozoa baik pada itik maupun entog.

DAFTAR PUSTAKA

- ANDREYEV, V.I. 1987. Peculiarities of drake sperm cryoconservation. *Nauchno tekhnicheskyy tyulleten*. 22: 15-17 (Kharkiv).
- CHELMONSKA, B and M. DUTKO. 1972. Effect of storing poultry semen in a frozen state in liquid nitrogen. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych* 124: 151-155. from *Anim. Breed. Anstr.* 41: 4190.
- GAZALI, M. 2001. Kriopreservasi semen entog dalam upaya produksi itik Serati menggunakan teknologi inseminasi buatan. Thesis. Institut Pertanian Bogor.
- SETIOKO, A.R. 1981. The effect of frequency of collection and semen characteristics on fertility of Pekin drake semen. A thesis for the degree of Master of Science in Agriculture. Department of Animal Science and Production. University of Western Australia.
- TAI, J.J.L.; TAI C., SU YM; HUANG HH; TERADA T., and WATANABE M. 1983. Studies on the cryopreservation of drake semen. *Proceeding of the 5th World Congress on Animal Production, Tokyo*. Vol 2. pp: 183-184.
- TAN, N.S. 1980. The training of drake for semen collection. *Ann. Zootech.* 29 (2): 93-1003.
- SAKHATSKY, N.I., V.I. ANDREYEV and A.B. ARTEMENKO. 1995. Technology of goose sperm low temperature conservation. In *Proceedings 10th European Symposium on waterfowl*. Halle (Saale), Germany, March 26-31, 1955. pp 283-285.
- LUKASZEWICS, E. 1997. Cryopreservation of the White Italian (*Anser anser*) gander semen. *Proceedings 11th European Symposium on Waterfowl*. Nantes (France) September 8 – 10 1997. pp 442 – 448.
- WATANABE, M. 1961. Experimental studies on the artificial insemination of ducks. *Zootechnica e Veterinaria* 12: 119-124.