

Kaji Banding Kualitas Semen Segar Empat Genetik Ayam Lokal Indonesia

*(COMPARATIVE STUDY ON THE QUALITY OF FRESH SEMEN
OF FOUR GENETIC LOCAL CHICKEN IN INDONESIA)*

Junaedi*, Husnaeni

Bagian Peternakan, Fakultas Pertanian Perikanan dan Peternakan,
Universitas Sembilan belas November, Kolaka,
Jl. Pemuda No. 339, Kolaka, Sulawesi Tenggara, Indonesia 93517
Telp (0405) 2321132; Fax (0405) 2324028
*email: junaedi.peternakan@gmail.com
No. Hp. 082346380689

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji perbandingan kualitas spermatozoa empat rumpun genetik unggas (ayam pelung, ayam nunukan, ayam sentul, dan ayam bangkok). Parameter penelitian ini yaitu konsentrasi spermatozoa, motilitas, viabilitas, volume semen, warna, dan konsistensi. Penelitian di desain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat bangsa ayam lokal dan empat ulangan. Hasil penelitian didapatkan volume semen ayam nunukan $0,32 \pm 0,01$ mL/ejakulasi, ayam bangkok $0,31 \pm 0,01$ mL/ejakulasi, ayam sentul $0,15 \pm 0,02$ mL/ejakulasi dan ayam pelung $0,23 \pm 0,02$ mL/ejakulasi. Warna semen segar berwarna putih (Ayam pelung, ayam nunukan dan ayam sentul) kecuali ayam bangkok memiliki warna semen krem. Ayam pelung memiliki konsentrasi spermatozoa $5.043,33 \pm 51$ juta/mL, ayam nunukan $3.250,22 \pm 45$ juta/mL, ayam sentul $3.002,87 \pm 67$ juta/mL, dan ayam bangkok $3.002,87 \pm 67$ juta/mL. Motilitas spermatozoa ayam pelung $84,69 \pm 1,12\%$, ayam bangkok $82,35 \pm 1,85\%$, ayam nunukan $77,74 \pm 1,57\%$ dan ayam sentul $77,64 \pm 1,65\%$. Viabilitas spermatozoa ayam sentul $90,35 \pm 1,21\%$, ayam bangkok $90,64 \pm 1,16\%$, ayam pelung $89,17 \pm 1,23\%$ dan ayam nunukan $86,29 \pm 1,15\%$. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa motilitas spermatozoa ayam pelung dan ayam bangkok lebih baik dibanding motilitas spermatozoa ayam nunukan dan ayam sentul. Viabilitas spermatozoa ayam sentul dan ayam bangkok lebih tinggi dibandingkan dengan viabilitas spermatozoa ayam pelung dan ayam nunukan.

Kata-kata kunci: ayam lokal, genetik, semen segar

ABSTRACT

This study was conducted to examine the comparison the quality of spermatozoa in four genetic groups of poultry (Pelung chicken, Nunukan chicken, Sentul chicken, and Bangkok chicken). The parameters of this study were the concentration of spermatozoa, motility, viability, semen volume, color, and consistency. The study was designed using a Completely Randomized Design (CRD) with four local chicken nations and four replications. The results showed that the volume of Nunukan chicken semen was 0.32 ± 0.01 mL/ejaculation, Bangkok chicken was 0.31 ± 0.01 mL/ejaculate, Sentul chicken was 0.15 ± 0.02 mL/ejaculate and Pelung chicken was 0.23 ± 0.02 mL/ejaculation. the color of fresh semen is white (Pelung chicken, Nunukan chicken and Sentul chicken) except chicken Bangkok has the color of cream semen. Pelung chicken has a concentration of spermatozoa $5,043.33 \pm 51$ million/mL, Nunukan chicken $3,250.22 \pm 45$ million/mL, Sentul chicken $3,002.87 \pm 67$ million/mL, and Bangkok chicken $3,002.87 \pm 67$ million/mL. Motility of Pelung chicken $84.69 \pm 1.12\%$, Bangkok chicken $82.35 \pm 1.85\%$, Nunukan chicken $77.74 \pm 1.57\%$ and Sentul chicken $77.64 \pm 1.65\%$. Viability spermatozoa of Sentul chicken was $90.35 \pm 1.21\%$, Bangkok chicken was

90.64 ± 1.16%, Pelung chicken was 89.17 ± 1.23% and Nunukan chicken was 86.29 ± 1.15%. It can be concluded that the motility spermatozoa of Pelung chicken and Bangkok chicken is better than the spermatozoa motility of Nunukan chicken and Sentul chicken. The viability of Sentul chicken and Bangkok chicken was higher compared to the viability semen of chicken Pelung and chicken Nunukan.

Keywords: local chicken, genetic, fresh semen

PENDAHULUAN

Unggas merupakan ternak yang sangat umum dijumpai di Indonesia dan telah terbukti mempunyai potensi yang tinggi sebagai penghasil daging dan telur. Mengingat keanekaragaman hayati ternak unggas cukup besar, terbuka peluang untuk melakukan pemuliaan jenis ternak tersebut sehingga dapat dihasilkan ras baru (*proven breed*) yang produktivitasnya lebih baik. Pada program pemuliaan pengujian kualitas spermatozoa berbagai genetik perlu dilakukan untuk mendapatkan produktivitas yang tinggi. Semen yang mempunyai kualitas jelek menyebabkan fertilitas telur rendah dan sebaliknya semen berkualitas baik menghasilkan persentase telur fertil yang lebih tinggi. Hal ini tergantung pada pejantan, khususnya kualitas semen yang dihasilkan pejantan. Kemampuan spermatozoa ayam pejantan hanya dapat bertahan hidup pada suhu kamar selama 30-45 menit (Lubis, 2011)

Evaluasi semen dilakukan untuk mengetahui kuantitas, kualitas dan karakteristik semen dari berbagai jenis genetik unggas. Pemeriksaan semen dilakukan sesuai metode baku yang meliputi evaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi semen dilakukan dengan dua cara yaitu pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan semen secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH. Pemeriksaan secara mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas dan persentase hidup atau mati (Hafez, 1993). Penilaian secara mikroskopis sifatnya subyektif dan tergantung pada masing-masing pemeriksa. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji perbandingan kualitas spermatozoa empat rumpun genetik unggas (ayam pelung, ayam sentul, ayam nunukan dan ayam bangkok).

METODE PENELITIAN

Hewan Percobaan

Ayam jantan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari empat genetik ayam jantan yang berbeda (ayam pelung, ayam nunukan, ayam sentul, dan ayam bangkok). Ayam jantan yang digunakan ada sebanyak delapan ekor (tiap bangsa ayam berjumlah dua ekor) dan berumur satu tahun. Ayam jantan dikandangkan secara individual dan telah diadaptasikan terhadap kolektor semen maupun pada lingkungan kandang. Adaptasi memerlukan waktu dua bulan. Setelah terbiasa dengan lingkungan kandang dan kolektor, ayam tersebut kemudian dipakai dalam penelitian untuk ditampung semennya.

Pakan yang diberikan berupa pakan komersial berbentuk pellet (PT Japfa Comfeed, Tbk.). Pakan diberikan dengan takaran 150 g/hari dan pemberian air minum secara *ad libitum*.

Koleksi Semen Segar

Koleksi semen dari tiap perlakuan dilakukan tiga kali seminggu. Adapun teknik penampungan semen yang digunakan adalah dengan pengurutan (*massage*) pada bagian punggung ayam. Penampungan semen dilakukan oleh dua orang. Seorang memegang ayam pada kedua pahanya dengan tangan kiri sambil mengurut bagian punggung ayam untuk merangsang keluarnya semen, dan seorang lagi menyiapkan tabung penampung semen berskala dan tisyu pembersih kotoran ayam. Pengurutan dilakukan beberapa kali sampai terjadinya rangsangan pada ayam yang ditandai dengan peregangan tubuh ayam dan keluarnya *papillae* dari *proktodaeum* kloaka. Ketika ereksi mencapai maksimal, tangan kanan dan kiri orang yang melakukan pengurutan bekerjasama memerah semen. Pada saat yang sama, orang kedua bersiap-siap menampung semen dengan tabung penampung berskala.

Evaluasi Semen Segar

Setelah koleksi semen dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Evaluasi secara makroskopis dilakukan terhadap volume, warna, dan konsistensi. Volume semen diukur dengan menggunakan tabung berskala, pH semen diukur menggunakan pH *special indicator paper*, konsistensi semen dibedakan antara kental dan sedang, dan warna dibedakan menjadi krem dan putih susu. Evaluasi secara mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa per mL, spermatozoa hidup, dan mortalitas spermatozoa.

Gerakan massa spermatozoa dinilai dengan cara meneteskan semen segar pada gelas objek lalu diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x10. Penilaian dilakukan berdasarkan tebal tipisnya gelombang massa serta kecepatan gelombang massa berpindah tempat, dengan kriteria penilaian sempurna (++++/4), sangat baik (+++/3), baik (++/2), lumayan (+/1), dan buruk (tidak ada gelombang).

Motilitas spermatozoa adalah persentase spermatozoa yang maju ke depan (progresif), dinilai dengan cara meneteskan satu tetes semen ditambah 8-10 tetes larutan fisiologis, dihomogenkan dan dipindahkan satu tetes di atas gelas objek yang lain dan ditutup dengan *cover glass*. Motilitas spermatozoa dinilai secara estimasi dari lima lapangan pandang dengan cara membandingkan jumlah spermatozoa yang bergerak maju ke depan dengan gerakan

spermatozoa yang lain dinyatakan dalam persentase (Junaedi, 2015).

Konsentrasi spermatozoa dihitung dengan menggunakan *Neubauer chamber*. Semen ditetaskan ke dalam kamar hitung pada *Neubauer chamber* yang telah ditutup dengan *cover glass*. Penghitungan sel spermatozoa dilakukan pada lima kotak besar. Jumlah sel spermatozoa yang telah dihitung pada lima kotak kemudian dikali dengan 10 sel/mL (Yudi *et al.*, 2007). Viabilitas (persentase spermatozoa hidup) dan mortalitas (persentase spermatozoa mati) dievaluasi dengan menggunakan zat warna eosin negrosin. Satu tetes semen ditambah 8-10 tetes eosin negrosin, dihomogenkan dan dibuat preparat ulas dan dikeringkan pada suhu 37°C. Penghitungan dilakukan pada 10 lapangan pandang di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x10. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna dan yang mati berwarna merah ungu pada bagian kepala. Sebanyak 200 sel spermatozoa dihitung dan kemudian hitung persentase sel spermatozoa yang hidup dan mati (Indrawati *et al.*, 2013).

Parameter Penelitian

Parameter penelitian ini adalah: (1) Konsentrasi spermatozoa (juta/mL); (2) Motilitas spermatozoa (%); (3) Viabilitas spermatozoa (%); (4) Volume semen (mL/ejakulasi); (5) Warna semen (putih/ krem/ putih susu/ bening); dan (6) Konsistensi semen (1/2/3/4).

Tabel 1. Rataan nilai karakteristik semen segar empat rumpun ayam lokal Indonesia

Parameter	Rataan kualitas semen segar ayam lokal			
	ayam pelung	ayam nunukan	ayam sentul	ayam bangkok
Makroskopis				
Volume (mL)	0,23±0,02 ^{ab}	0,32 ± 0,01 ^a	0,15±0,02 ^b	0,31±0,01 ^a
Warna	Putih	Putih	Putih	Krem
Kekentalan	Kental	Kental	Kental	Kental
Mikroskopis				
Gerakan Massa	3,00±0,00	3,00±0,00	2,75±0,05	3,00±0,00
Motilitas	84,69±1,12 ^a	77,74±1,57 ^b	77,64±1,65 ^b	82,35±1,85 ^a
Spermatozoa (%)				
Viabilitas	89,17±1,23 ^b	86,29±1,15 ^b	90,35±1,21 ^a	90,64±1,16 ^a
Spermatozoa (%)				
Konsentrasi Spermatozoa (Juta/mL)	5.043,33±51 ^a	3.250,22±45 ^b	3.002,87±67 ^b	3.550,36±78 ^b

Keterangan: ^aHuruf berbeda yang mengikuti angka pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian di desain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan berupa bangsa ayam lokal (ayam pelung, ayam nunukan, ayam sentul, dan ayam bangkok) dan setiap perlakuan terdiri atas empat ulangan. Data penelitian dianalisis menggunakan sidik ragam, dan data yang ditemukan berbeda nyata antar perlakuan, dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1995). Data diolah menggunakan program IBM SPSS versi 21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Empat Genetik Ayam Lokal Indonesia

Hasil pengamatan karakteristik semen segar terdapat perbedaan kualitas semen segar antar berbagai rumpun. Semen segar empat genetik ayam lokal yang digunakan dalam penelitian mempunyai kualitas baik dan berada pada kisaran normal (Tabel 1). Secara makroskopis volume semen ayam nunukan ($0,32 \pm 0,01$ mL/ejakulasi) dan ayam bangkok ($0,31 \pm 0,01$ mL/ejakulasi) berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan ayam sentul ($0,15 \pm 0,02$ mL/ejakulasi), sedangkan volume spermatozoa ayam pelung ($0,23 \pm 0,02$ mL/ejakulasi) tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan genetik bangsa unggas lainnya. Jumlah volume per ejakulasi, dapat langsung diamati pada tabung yang berskala. Volume semen tergantung dari *breed*, spesies dan metode penampungan.

Secara umum, warna semen segar berwarna putih (ayam pelung, ayam nunukan dan ayam sentul) kecuali ayam bangkok memiliki warna semen krem. Warna semen diamati secara organoleptik melalui pengamatan langsung. Kekentalan semen segar keempat genetik ayam lokal tersebut semuanya memiliki kekentalan yang tinggi. Kekentalan dan warna menginterpretasikan bahwa konsentrasi spermatozoa tinggi.

Konsentrasi spermatozoa empat genetik ayam lokal sangat tinggi. Ayam pelung memiliki konsentrasi spermatozoa ($5.043,33 \pm 51$ juta/mL) paling tinggi ($P < 0,05$) dibanding ayam nunukan ($3.250,22 \pm 45$ juta/mL), ayam sentul ($3.002,87 \pm 67$ juta/mL), dan ayam bangkok ($3.002,87 \pm 67$ juta/mL). Berdasarkan beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa yang rendah DAPAT menurunkan kualitas spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa tergantung pada umur, bangsa

ternak, dan bobot badan serta frekuensi penampungan dan konsentrasi spermatozoa adalah salah satu karakteristik yang diturunkan dari induk ke anaknya.

Secara mikroskopis gerakan massa semen keempat genetik ayam lokal termasuk baik. Gerakan massa yang baik mencerminkan gerakan individu spermatozoa progresif. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa yang bergerak ke depan, menandakan semen mempunyai kualitas yang semakin baik (semakin tebal dan pergerakannya semakin cepat). Spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke suatu arah. Gerakan spermatozoa menunjukkan gelombang yang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari konsentrasi spermatozoa hidup di dalamnya. (Toelihere, 1993).

Motilitas spermatozoa ayam pelung ($84,69 \pm 1,12\%$) dan ayam bangkok ($82,35 \pm 1,85\%$) lebih baik ($P < 0,05$) dibanding motilitas spermatozoa ayam nunukan ($77,74 \pm 1,57\%$) dan ayam sentul ($77,64 \pm 1,65\%$). Motilitas keempat genetik ayam lokal berada dalam kisaran motilitas yang normal yaitu di atas 70% (Dumpala *et al.*, 2006). Motilitas seperti ini sangat mendukung sel spermatozoa untuk mencapai sel telur di dalam saluran reproduksi ayam betina dalam waktu singkat dan memungkinkan terjadinya fertilisasi yang berhasil. Hasil penelitian pada ayam lokal tidak jauh berbeda dengan ayam hutan hijau ($77 \pm 3\%$ hingga $97 \pm 2\%$) (Bebas dan Laksmi, 2013). Motilitas spermatozoa dapat dipertahankan dengan menggunakan kuning telur sebagai pengencer. Bebas dan Gorda (2016), Andrabi *et al.* (2008), dan Ihsan (2011) berturut-turut telah menggunakan kuning telur sebagai pengencer semen unggas, kerbau, dan kambing untuk mempertahankan motilitas spermatozoa.

Motilitas spermatozoa merupakan salah satu indikator ukuran kemampuan spermatozoa membuahi ovum dalam proses fertilisasi (Junaedi *et al.*, 2016). Adapun cara perhitungan motilitas progresif spermatozoa adalah total spermatozoa dikurangi dengan total spermatozoa tidak motil progresif dibagi dengan total spermatozoa kali seratus persen. Kriteria tidak motil progresif adalah tidak bergerak, bergerak di tempat, bergerak melingkar, dan bergerak lambat. Motilitas (daya gerak) spermatozoa sangat bergantung pada suplai energi berupa ATP hasil metabolisme. Metabolisme dapat berlangsung dengan baik

apabila membran plasma sel berada dalam keadaan utuh, sehingga mampu mengatur lalu lintas substrat dan elektrolit yang dibutuhkan.

Viabilitas spermatozoa ayam sentul ($90,35 \pm 1,21\%$) dan ayam bangkok ($90,64 \pm 1,16\%$) lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan viabilitas spermatozoa semen ayam pelung ($89,17 \pm 1,23\%$) dan ayam nunukan ($86,29 \pm 1,15\%$). Secara umum viabilitas spermatozoa keempat genetik ayam lokal berada pada kisaran normal. Menurut Khaeruddin *et al.* (2015) spermatozoa yang hidup ditandai dengan warna terang di bagian kepala dan spermatozoa yang mati berwarna merah-ungu ketika diwarnai dengan pewarnaan eosin. Kostaman dan Utama (2006) menyatakan bahwa persentase spermatozoa hidup lebih tinggi daripada spermatozoa motil karena dari jumlah spermatozoa yang hidup belum tentu semuanya motil progresif.

Daya hidup atau viabilitas diperlukan untuk menilai kualitas spermatozoa dan sebagai ukuran kemampuan spermatozoa dalam membuahi sel telur. Persentase viabilitas merupakan salah satu indikator untuk menentukan keberhasilan inseminasi. Daya hidup spermatozoa juga dipengaruhi oleh penggunaan oksigen dalam proses metabolisme dan respirasi untuk mengoksidasi substrat-substrat pokok dan mengembalikan ikatan fosfat untuk membangun kembali ATP sehingga diubah menjadi energi yang digunakan oleh spermatozoa (Yasmin *et al.*, 2010).

Persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya lama simpan. Hal ini disebabkan karena nutrisi makanan bagi spermatozoa berkurang. Berkurangnya jumlah nutrisi spermatozoa disebabkan oleh penggunaan energi untuk aktivitas mekanik (gerak) dan kimiawi (biosintesis). Menurut Solihati *et al.* (2006) bahwa semakin berkurangnya cadangan makanan, dan ketidakseimbangan cairan elektrolit akibat metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan membran sel spermatozoa. Kerusakan ini sebagai akibat adanya pertukaran larutan intraseluler dan ekstraseluler antara bahan pengencer dengan spermatozoa karena adanya perbedaan konsentrasi. Proses pengenceran semen dapat menyebabkan rusaknya membran plasma dan menurunkan motilitas. Kerusakan membran sel spermatozoa berdampak pada membran yang pada awalnya mempunyai sifat semipermeabel tidak lagi mampu menyeleksi keluar masuknya

zat, sehingga pada saat dilakukan uji warna eosin-negrosine zat tersebut masuk ke dalam plasma. Hal ini mengakibatkan semakin meningkatnya spermatozoa yang menyerap larutan pewarna eosin negrosin sebagai tanda spermatozoa telah mati akibat meningkatnya permeabilitas membran sel (Toelihere, 1993).

Spermatozoa adalah sekresi kelenjar kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi juga dapat ditampung dengan berbagai cara untuk kepentingan inseminasi. Spermatozoa terdiri dari dua bagian yaitu spermatozoa yang dihasilkan dalam testis dan plasma spermatozoa berupa campuran sekresi yang dihasilkan oleh organ-organ yang berbeda dan terpisah seperti testis, epididimis, kelenjar vesikularis, prostat dan kelenjar bulbouretralis (Toelihere, 1993).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa: Volume semen ayam terbesar dihasilkan ayam nunukan dan ayam bangkok, diikuti ayam pelung dan yang paling kecil ayam sentul. Warna semen segar berwarna putih pada ayam pelung, ayam nunukan dan ayam sentul, sedangkan ayam bangkok berwarna krem. Ayam pelung memiliki konsentrasi spermatozoa paling tinggi dibanding ayam nunukan, ayam sentul dan ayam bangkok. Motilitas spermatozoa ayam pelung dan ayam bangkok lebih baik dibanding motilitas spermatozoa ayam nunukan dan ayam sentul. Viabilitas spermatozoa ayam sentul dan ayam bangkok lebih baik dibandingkan dengan ayam pelung dan ayam nunukan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan kualitas semen beku empat genetik ayam lokal Indonesia seperti ayam pelung, ayam nunukan, ayam sentul dan ayam bangkok.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, (Kemenristek Dikti) atas pendanaan yang diberikan. Terimakasih

kepada Rektor Universitas Sembilanbelas November Kolaka dan Lembaga Penelitian dan Penjaminan Mutu Pendidikan (LP2M-PMP) yang turut berperan dalam mendukung pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrabi SMH, Ansari MS, Ullah N, Anwar M, Mehmood A, Akhter S. 2008. Duck egg yolk in extender improves the freezability of buffalo bull spermatozoa. *Animal Reproduction Science* 104: 427-433.
- Bebas W, Gorda W. 2016. Penambahan astaxanthin pada pengencer kuning telur berbagai jenis unggas dapat memproteksi semen babi selama penyimpanan. *Jurnal Veteriner* 17(4): 484-491.
- Bebas W, Laksmi NDI. 2013. Konsentrasi spermatozoa dan motilitas ayam hutan hijau (*Gallus varius*). *Buletin Veteriner Udayana* 5(1): 57-62
- Dumpala PR, Parker HM, Daniel MC. 2006. The effect of semen storage temperature and diluent type on the sperm quality index of Broiler breeder semen. *J Poult Sci* 5: 838-845.
- Hafez ESE. 1993. Semen Evaluation Dalam: *Reproduction In Farm Animals*. 6th ed. Philadelphia. Lea and Febiger.
- Indrawati D, Bebas W, Trilaksana IGNB. 2013. Motilitas dan daya hidup spermatozoa ayam kampung dengan penambahan astaxanthin pada suhu 3-5°C. *Indonesia Medicus Veterinus* 2(4): 445-452.
- Ihsan NM. 2011. Penggunaan telur itik sebagai pengencer semen kambing. *Jurnal Ternak Tropika* 12(1): 10-14
- Junaedi. 2015. Daya Tahan Pembekuan Semen Empat Genetik Ayam Lokal pada Program Kriopreservasi Plasma Nutfah Indonesia. *Tesis*. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Junaedi, Arifiantini I, Sumantri C, Gunawan A. 2016. The use of dimethyl sulfoxide as cryoprotective agent for native chicken frozen semen. *Jurnal Veteriner* 17(2): 300-308.
- Khaeruddin, Sumantri C, Darwati S, Arifiantini RI. 2015. Penggunaan minyak zaitun ekstra virgin ke dalam bahan pengencer semen terhadap kualitas spermatozoa ayam lokal. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* 3(1): 46-51.
- Kostaman T, Utama IK. 2006. Studi motilitas dan daya hidup spermatozoa kambing Boer pada pengencer tris sitrat-fruktose. *J Sain Vet* 24(1): 58-64.
- Lubis TM. 2011. Motilitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer air kelapa, NaCl Fisiologis dan Air Kelapa-NaCl Fisiologis pada 25-29°C. *Agripet* 11(2): 45-50.
- Solihati N, Idi R, Setiawan R, Asmara IY. 2006. Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5 °C terhadap periode fertil dan fertilisasi sperma. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 6(1): 7-11.
- Steel RGD, Torrie JH. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Sumantri B (Penerjemah). Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.
- Toelihere MR. 1993. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung. Angkasa. Hlm.186.
- Yasmin C, Kartini E, Widya S. 2010. Pengaruh pemberian ekstrak etanol akar anting-anting *Acalypha indica* L terhadap kualitas spermatozoa mencit. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 18(1): 29-37
- Yudi, Arifiantini I, Purwantara B, Yusuf TL. 2007. Karakteristik semen segar dan kualitas semen cair kuda dalam pengencer dimitropoulos yang disuplementasi dengan fruktosa, trehalosa dan rafinosa. *Media Peternakan* 30(3): 163-172.