

PENGARUH LEVEL ENERGI DALAM PAKAN TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA AYAM KAMPUNG SECARA MIKROSKOPIS

Effect of Energy Level in Feed on Microscopic Quality of Native Chicken Spermatozoa

Nining Haryuni¹, Anna Lidyawati¹, Binti Khopsoh¹ dan Niswatin Hasanah²

¹Jurusan Peternakan, Universitas Nahdlatul Ulama Blitar

²Jurusan Peternakan, Politeknik Negeri Jember

Email: niningharyuni@gmail.com

INTISARI

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh level energi dalam pakan terhadap kualitas spermatozoa. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam kampung pejantan umur 80 minggu, pakan perlakuan, natrium clorida 3%, eosin dan aquades. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Setiap ulangan terdiri dari 1 ekor ayam kampung pejantan. Koleksi semen dengan menggunakan metode pemijatan pada daerah abdominal. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan gerak massa spermatozoa dan menurunkan motilitas spermatozoa. Rata-rata skor gerak massa spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini berkisar antara $1,50 \pm 0,58\%$ sampai $3,00 \pm 0,00\%$, motilitas spermatozoa berkisar antara $68,75 \pm 2,50\%$ sampai $80,0 \pm 0,00\%$. Level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) pada peningkatan konsentrasi spermatozoa dan jumlah spermatozoa hidup. Rata-rata konsentrasi spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini berkisar antara $2,75 \times 10^9 \pm 0,50$ sel/ml sampai $3,75 \times 10^9 \pm 0,19$ sel/ml dan jumlah spermatozoa hidup berkisar antara $89,50 \pm 1,732\%$ sampai $92,50 \pm 1,29\%$. Level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini berkisar antara $2,27 \pm 0,19\%$ sampai $2,38 \pm 0,10\%$. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa level energi dalam pakan dapat memperbaiki kualitas spermatozoa.

Kata kunci: Ayam Kampung, Kualitas Spermatozoa, Level Energi, Pakan

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect of energy levels in feed on the quality of spermatozoa. The materials used in this study were 80 weeks old male native chickens, rations, 3% sodium chloride, eosin, and distilled water. This study used a Completely Randomized Design (CRD) consisted of 4 treatments and each treatment was repeated 4 times. Each repetition was a male native chicken. Collection of semen used the massage method on the abdominal area. The results of the study showed that the energy level in the rations increased ($P < 0.01$) the mass motion and decreased the motility of spermatozoa. The mean of mass motion scores obtained ranged 1.50% to 3.00%, and the motility ranged 68.75% to 80.0%. The energy level in the rations increased ($P < 0.05$) on the concentration and the number of live spermatozoa. The mean of concentration obtained ranged 2.75×10^9 cells/ml to 3.75×10^9 cells/ml and the number of live spermatozoa ranged from 89.50% to 92.50%. Energy level in rations had no significant effect ($P > 0.05$) on spermatozoa abnormality. The mean percentage of abnormal spermatozoa obtained ranged 2.27% to 2.38%. Based on this result, it can be concluded that the energy level in the rations could improve the quality of spermatozoa.

Keywords: Native Chickens, Spermatozoa Quality, Energy Level, Feed

PENDAHULUAN

Ayam kampung merupakan unggas lokal asli Indonesia yang dikembangkan dalam upaya memenuhi kebutuhan daging dan telur yang diharapkan dapat mendukung kemandirian penyediaan pangan nasional sesuai dengan Peraturan Pemerintah Nomor 68 Tahun 2002 tentang Ketahanan Pangan dengan Menekankan Kemandirian Penyediaan Pangan Berbasis Sumber Daya Lokal.

Peningkatan jumlah penduduk yang diiringi dengan kesadaran akan pentingnya nilai gizi menyebabkan kebutuhan pangan khususnya asal hewani mengalami peningkatan. Berdasarkan data yang diperoleh dari Pusat Data dan Informasi Pertanian Kementerian Pertanian (2016) tingkat konsumsi daging ayam kampung pada tahun 2015 mengalami peningkatan sebesar 25,40% dari 0,499 kg/kapita/tahun pada tahun 2014 menjadi 0,63 kg/kapita/tahun pada tahun 2015.

Perkembangan populasi ayam kampung di Indonesia pada tahun 2012–2016 secara nasional mengalami stagnasi namun cenderung meningkat dengan pertumbuhan rata-rata sebesar 2,49% per tahun atau rata-rata populasi ayam kampung per tahun sebesar 282,09 juta ekor. Peningkatan konsumsi ayam kampung disebabkan karena cita rasa dari daging ayam kampung lebih disukai oleh konsumen dari pada daging ayam ras (Iskandar, 2012).

Sistem pemeliharaan ayam kampung di Indonesia dilakukan dengan 3 macam sistem pemeliharaan yaitu secara tradisional, semi intensif, dan intensif. Sekitar 80% pemeliharaan ayam kampung dilakukan secara tradisional di pedesaan dengan populasi kurang dari 30 ekor pada setiap peternak (Iskandar, 2012). Pengembangan ayam kampung secara nasional masih tergolong rendah karena pada umumnya masih dimanfaatkan sebagai tambahan pendapatan. Rendahnya pengembangan usaha ayam kampung menurut Nataamijaya (2010)

disebabkan karena belum tersedianya bibit unggul dan pemeliharaan yang kurang efisien. Manajemen pemeliharaan ayam kampung di daerah Batu Jawa Timur dilakukan dengan sistem yang sederhana (Suyatno, 2003).

Penanganan reproduksi ternak masih dilakukan dengan menerapkan kawin alami yang secara ekonomis kurang efisien sebab membutuhkan pejantan dalam jumlah yang banyak. Disamping itu penetasan masih dilakukan dengan menggunakan mesin tetas yang masih sederhana sehingga daya tetas yang dihasilkan juga tergolong masih rendah yaitu berkisar 62%.

Kendala yang dihadapi dalam usaha komersial ayam kampung yang dipelihara secara intensif adalah kurangnya pengadaan ayam dara untuk menggantikan induk produktif (Utami, 2009). Penggantian induk produktif masih didapatkan dari ayam dara hasil tetas dengan indukan sistem umbaran dan juga didapatkan dari pasokan pedagang ayam lokal. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk meningkatkan produktivitas ayam kampung adalah menggunakan teknologi reproduksi dengan cara inseminasi buatan (IB) (Sutiyono *et al.*, 2006).

Teknologi IB dapat digunakan untuk memperbaiki mutu genetik ayam dengan melakukan persilangan pada ayam unggul misalnya ayam ras petelur. Teknologi IB dapat digunakan sebagai salah satu terobosan untuk meningkatkan produktivitas ayam kampung. Keberhasilan kegiatan IB pada ayam sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: strain ayam, umur, pengencer yang digunakan, derajat pengenceran atau dosis inseminasi, kualitas semen, deposisi semen, dan waktu inseminasi (Danang *et al.*, 2012).

Bentuk spermatozoa ternak unggas adalah *filiformis*. Penyusun kepala spermatozoa ayam adalah nukleus yang bagian atasnya tertutup oleh *akrosom* yang berbentuk kerucut dan sedikit melengkung. Ekor spermatozoa terdiri dari bagian leher, bagian tengah, bagian utama dan bagian ujung (Johari *et al.*, 2009). Kepala spermatozoa ayam

memiliki panjang sekitar 12,77 µm. Kepala spermatozoa ayam terdiri dari *akrosom* dan nukleus yang masing-masing mempunyai panjang 1,91 µm dan 10,85 µm. *Akrosom* memiliki peran yang sangat penting dalam proses fertilisasi karena adanya enzim yang berperan dalam proses fertilisasi yaitu proakrosin, hialuronidase, zoana lisin esterase dan asam hidrolase.

Bagian tengah spermatozoa memiliki panjang 4,22 µm sedangkan bagian ekor mempunyai panjang 75,74 µm. Bagian tengah spermatozoa berfungsi sebagai pemasok energi dengan adanya produksi ATP di dalam mitokondria. Semakin panjang bagian tengah spermatozoa maka pasokan energi juga semakin besar. Bagian ekor spermatozoa berfungsi sebagai alat gerak spermatozoa (Ardhani *et al.*, 2018). Semakin banyak energi yang dihasilkan oleh bagian tengah spermatozoa akan berdampak pada aktifitas gerak yang semakin tinggi pula. Oleh sebab itu, perlu adanya penelitian penambahan level energi pada pakan untuk meningkatkan kualitas spermatozoa pada ayam kampung.

MATERI DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayam pejantan kampung umur 80 minggu, pakan perlakuan dengan tingkat energi yang berbeda, semen hasil pakan

perlakuan, Natrium klorida 3%, pewarna Eosin sitrat, aquades.

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah metode penelitian lapang dan laboratorium. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 1 ekor ayam. Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan metode pijat urut pada daerah abdomen sampai kloaka hingga pejantan merasa terangsang yang ditandai dengan terangkatnya bulu pada daerah ekor. Pemijatan dilakukan dengan menggunakan tekanan tertentu hingga keluar cairan yang berwarna putih. Selanjutnya semen di tampung dalam tabung berskala untuk mengetahui berapa volumenya.

Campuran pakan dan kandungan nutrisi pakan perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Perlakuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- P0: Pakan Perlakuan dengan Energi Metabolis 2700Kcal/kg
- P1: Pakan Perlakuan dengan Energi Metabolis 2750Kcal/kg
- P2: Pakan Perlakuan dengan Energi Metabolis 2800Kcal/kg
- P3: Pakan Perlakuan dengan Energi Metabolis 2850Kcal/kg

Tabel 1. Campuran Pakan Perlakuan

Bahan Baku	Harga Bahan Baku per kg (Rp)	Perlakuan			
		P0	P1	P2	P3
Jagung lokal (%)	4.000	48,23	52,33	53,13	50,33
BKK Argentina (%)	6.150	21,80	22,20	22,10	22,40
MBM (%)	7.700	12,90	8,20	8,00	8,00
Bekatul (%)	3.000	8,00	8,00	6,80	7,90
Grit Batu (%)	300	5,00	5,00	5,00	5,00
Tepung Batu (%)	300	3,10	3,10	3,10	3,10
Minyak (%)	10.000	0,00	0,20	0,90	2,30
Premik (%)	85.000	0,50	0,50	0,50	0,50
DCP (%)	10.000	0,30	0,30	0,30	0,30
Garam (%)	1.400	0,10	0,10	0,10	0,10
Sodium Bicarbonat (%)	5.500	0,07	0,07	0,07	0,07
Harga Pakan Perlakuan per kg (Rp)		4.757	4.825	4.879	4.958

Keterangan: Perhitungan dengan menggunakan *software Brill Formulation*

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Pakan Perlakuan

Kandungan Nutrisi	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
Energi Metabolis (Kcal/kg)	2698,60	2751,40	2799,80	2851,60
Protein Kasar (%)	19,15	19,12	19,00	19,01
Lemak Kasar (%)	4,47	4,23	4,78	6,20
Serat Kasar (%)	3,66	3,25	3,11	3,17
Kalsium (%)	3,91	3,91	3,91	3,91
Phospor Total (%)	0,84	0,78	0,76	0,77
Phospor Avail (%)	0,51	0,49	0,49	0,49
Sodium (%)	0,13	0,13	0,13	0,13
Chloride (%)	0,15	0,15	0,15	0,15
Abu (%)	3,63	3,65	3,65	3,67

Keterangan: Perhitungan dengan menggunakan *software Brill Formulation*

Variabel yang Diamati

Konsentrasi spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa adalah jumlah sel spermatozoa yang ada pada semen. Perhitungan jumlah konsentrasi spermatozoa dapat dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*.

Gerak massa spermatozoa

Gerakan massa spermatozoa merupakan petunjuk derajat keaktifan pergerakan sperma yang dapat digunakan sebagai salah satu indikator tingkat sperma yang hidup dan aktif dalam semen.

Motilitas spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bergerak

secara progresif menuju ovum dalam menentukan pembuahan.

Spermatozoa hidup

Spermatozoa hidup adalah banyak spermatozoa yang hidup dalam semen. Pengamatan jumlah spermatozoa hidup dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali.

Abnormalitas spermatozoa

Anormalitas spermatozoa adalah ketidaknormalan bentuk dari spermatozoa. Pada umumnya abnormalitas spermatozoa dapat diamati dari segi bentuk (bentuk dan ukuran kepala, serta bentuk dan ukuran ekor). Ketidaknormalan spermatozoa penting digunakan untuk mengetahui tingkat fertilitas.

Tabel 3. Deskripsi Skor Penilaian Evaluasi Semen Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Skor	Evaluasi semen secara makroskopis dan mikroskopis		
	Warna	Konsistensi	Gerakan massa
1	Krem	Cair	+
2	Putih susu	Sedang	++
3	Putih keruh	Kental	+++

(Ariyanti *et al.*, 2017)

PEMBAHASAN

Pengaruh level energi dalam pakan terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung pejantan secara mikroskopis.. Rata-rata kualitas spermatozoa ayam kampung pejantan yang diberi perlakuan level energi dalam pakan disajikan pada Tabel 4

Konsentrasi Spermatozoa

Analisis statistik menunjukkan bahwa level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) meningkatkan konsentrasi spermatozoa. Rata-rata konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini berkisar antara $2,75 \times 10^9$ sel/ml sampai $3,34 \times 10^9$ sel/ml. Rata-rata konsentrasi

spematozoa yang paling tinggi didapatkan pada perlakuan P3 yaitu sebesar 3,34%. Rata-rata konsentrasi spermatozoa pakan perlakuan dengan meningkatkan energi dalam pakan yang didapatkan pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Danang *et al.*, (2012) yaitu sebesar $3,13 \times 10^9$

dan hasil penelitian Saleh dan Sugiyatno (2007) yang melakukan pada ayam kampung umur sekitar 48-70 minggu yaitu sebesar $3,51 \times 10^9$. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan level energi pada pakan dapat memperbaiki kualitas spermatozoa pada ayam kampung pejantan umur 80 minggu.

Tabel 4. Rata-Rata Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung Pejantan Yang Diberi Perlakuan Level Energi Dalam Pakan

Perlakuan	Variabel				
	Konsentrasi spermatozoa (10^9)/ml**	Gerak massa spermatozoa*	Motilitas spermatozoa (%)*	Spermatozoa hidup (%)**	Abnormalitas spermatozoa (%)**
P0	2,75±0,50 ^a	1,50±0,58 ^a	68,75±2,50 ^a	89,50±1,73 ^a	2,38±0,10
P1	3,30±0,22 ^b	2,25±0,50 ^a	80,00±0,00 ^b	91,00±0,82 ^a	2,28±0,26
P2	3,33±0,10 ^b	3,00±0,00 ^b	80,00±0,00 ^b	92,25±0,50 ^{ab}	2,30±0,14
P3	3,34±0,19 ^b	3,00±0,00 ^b	80,00±0,00 ^b	92,50±1,29 ^b	2,28±0,19

Keterangan: * Notasi yang berbeda pada kolom yang sama memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap gerak massa spermatozoa dan motilitas spermatozoa

** Notasi yang berbeda pada kolom yang sama memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap konsentrasi spermatozoa dan jumlah spermatozoa hidup, serta abnormalitas spermatozoa

Peningkatan level energi dapat meningkatkan konsentrasi spermatozoa disebabkan energi mempunyai peran yang sangat penting dalam proses metabolisme sel. Energi berfungsi sebagai bahan bakar dalam proses metabolisme. Menurut Zahri *et al.*, (2018) energi mempunyai peran yang penting dalam metabolisme sel otak dan perkembangan gonad. Menurut Arief (2018) otak mempunyai bagian yang disebut hipotalamus yang berfungsi untuk menghasilkan hormon gonadotropin. Hormon gonadotropin merupakan hormon yang mengendalikan proses spermatogenesis. Meningkatnya kadar hormon gonadotropin pada proses spermatogenesis akan meningkatkan jumlah spermatozoa yang dihasilkan.

Gerak Massa Spermatozoa

Analisis statistik menunjukkan bahwa level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan gerak massa spermatozoa. Rata-rata skor gerak massa spermatozoa yang

didapatkan pada penelitian ini berkisar antara 1,50–3,00. Skor rata-rata gerak massa spermatozoa tertinggi didapatkan pada P2 dan P3 yaitu sebesar 3,00.

Jumlah energi yang dikonsumsi oleh ayam akan berdampak pada gerak massa spermatozoa (Ariyanti *et al.*, 2017). Energi hasil metabolisme yang dimanfaatkan untuk daya gerak spermatozoa adalah energi dalam bentuk ATP (Danang *et al.*, 2017). Semakin tinggi energi yang dihasilkan maka gerak massa spermatozoa juga akan semakin tinggi, begitu sebaliknya semakin rendah kandungan energi maka gerak massa spermatozoa juga akan semakin menurun.

Motilitas Spermatozoa

Analisis statistik menunjukkan bahwa level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan motilitas. Rata-rata motilitas spermatozoa terendah didapatkan pada perlakuan P0 yaitu sebesar 68,75% dan untuk perlakuan P1, P2 dan P3 persentase rata-rata motilitas spermatozoa adalah sama yaitu

sebesar 80%. Motilitas spermatozoa merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk menentukan kualitas spermatozoa dan kemampuan spermatozoa dalam membuahi ovum pada saat proses fertilisasi (Danang *et al.*, 2012). Rata-rata motilitas spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini tidak jauh beda dengan penelitian Saleh dan Sugiyatno (2007) yaitu sebesar 77,14% dan penelitian yang dilakukan oleh Danang *et al.* (2012) yaitu sebesar 77,50%. Membran plasma sel tersusun dari makromolekul yang berupa protein, lipoprotein, dan glikoprotein.

Kandungan energi dalam pakan yang tinggi dapat meningkatkan kualitas membran plasma spermatozoa. Metabolisme sel akan berjalan dengan baik apabila kondisi membran plasma dalam kondisi utuh sehingga laju lalu lintas keluar masuknya sel semua substrat dan elektrolit yang dibutuhkan untuk proses metabolisme akan berjalan dengan baik. Hasil dari metabolisme adalah energi dalam bentuk ATP (Danang *et al.*, 2012).

Menurut Saleh dan Isyanto (2011) energi dalam bentuk ATP yang dihasilkan dari proses metabolisme akan digunakan untuk aktivitas gerak spermatozoa. Semakin tinggi energi yang dihasilkan maka aktivitas gerak spermatozoa juga akan semakin tinggi. Hal senada juga diungkapkan oleh Saleh dan Sugiyanto (2007) yang menyebutkan bahwa kurangnya pasokan energi dapat menyebabkan terjadinya penurunan motilitas spermatozoa.

Spermatozoa Hidup

Analisis statistik menunjukkan bahwa level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) meningkatkan jumlah spermatozoa hidup. Rata-rata jumlah spermatozoa hidup yang didapatkan pada penelitian ini berkisar antara 89,50%-92,50%. Rata-rata jumlah spermatozoa hidup yang paling tinggi didapatkan pada perlakuan P3 yaitu sebesar 92,50%. Rata-rata spermatozoa hidup yang didapatkan pada penelitian ini hampir sama dengan penelitian Danang *et al.*

(2012) yaitu sebesar 92,60% dan lebih tinggi jika dibandingkan penelitian Saleh dan Sugiyatno (2007) yaitu sebesar 86%.

Membran plasma sel spermatozoa tersusun dari glikolipida dan glikoprotein yang disebut selubung glikokaliks. Glikokaliks berfungsi untuk melindungi membran plasma dari kerusakan (Danang *et al.*, 2012). Penambahan level energi dalam pakan dapat meningkatkan kualitas membran plasma spermatozoa. Kondisi membran plasma yang baik akan berdampak pada kemampuan spermatozoa untuk dapat bertahan hidup. Semakin baik kondisi membran plasma maka semakin banyak jumlah spermatozoa yang hidup.

Abnormalitas Spermatozoa

Analisis statistik menunjukkan bahwa level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini berkisar antara 2,28%-2,38%. Persentase rata-rata abnormalitas spermatozoa yang paling tinggi didapatkan pada P0 yaitu sebesar 2,38%. Rata-rata abnormalitas spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Saleh dan Sugiyatno (2007) yaitu sebesar 8,50%.

Hasil rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa yang didapatkan pada penelitian ini juga lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Danang *et al.*, (2012) yaitu sebesar 5,10%. Menurut Ardhani *et al.*, (2018) faktor yang berpengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa diantaranya adalah penyakit, stres panas, proses kriopreservasi, strain ayam, musim dan preservasi pasca koleksi dan pewarnaan pada saat analisis.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah penambahan level energi dalam pakan dapat meningkatkan konsentrasi spermatozoa, gerak massa spermatozoa, motilitas spermatozoa dan jumlah spermatozoa hidup.

Penambahan level energi dalam pakan memberikan pengaruh yang tidak nyata terhadap abnormalitas spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardhani F., I.M.U. Raharja., B.M. Boangmanalu, dan D. Hanjoko. 2018. Karakteristik morfologik dan morfometrik spermatozoa ayam Nunukan. *Jurnal Peternakan*. 15(2):62-67.
- Arief. Y.S. 2011. Stres dapat mengganggu proses spermatogenesis pada Mencit. *Jurnal Ners*. 6(2):169-174.
- Ariyanti. R., N. Ulupi., T. Suryati, dan R.I. Arifantini. 2017. Performa produksi dan reproduksi ayam Sentul dengan konsentrasi IgY berbeda dalam serum darah. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 5(3):89-93.
- Danang, D.R., N. Isnaini, dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer Ringer's pada suhu 40°C. *Jurnal Ternak Tropika*. 13(1):47-57.
- Iskandar. S. 2012. Optimalisasi Protein dan Energi Ransum Untuk Meningkatkan Produksi Daging Ayam Lokal. *Pengembangan Inovasi Pertanian*. 5(2):96-107.
- Johari. S., Y.S. Ondho., S. Wuwuh., Y.B. Henry,, dan Ratnaningrum. 2009. Karakteristik Dan Kualitas Semen Berbagai Galur Ayam Kedu. *Prosiding Seminar Nasional Kebangkitan Peternakan – Semarang, 20 Mei 2009*.
- Nataamijaya, A.G. 2010. Pengembangan potensi ayam lokal untuk menunjang peningkatan kesejahteraan petani. *Jurnal Litbang Pertanian*. 29(4):131-138.
- Pusat Data dan Informasi Pertanian Kementerian Pertanian. 2016. *Outlook Daging Ayam Komoditas Pertanian Subsektor Peternakan*. Sekretariat Jendral – Kementerian Pertanian Republik Indonesia.
- Saleh. D.M, dan A.Y. Isyanto. 2011. Pengaruh lama penyimpanan terhadap motilitas dan fertilitas spermatozoa ayam kate lokal. *Jurnal Cakrawala Galuh*. 1 (6):1-6.
- Saleh. D.M. dan Sugiyatno. 2007. Pengaruh aras glycerol terhadap motilitas dn fertilitas spermatozoa ayam kampung yang dibekukan dengan nitrogen cair. *Jurnal Animal Production*. 9(1): 45-48.
- Sutiyono., S. Riyadi, dan S. Kismiati. 2006. Fertilitas dan daya tetas telur dari ayam petelur hasil inseminasi buatan menggunakan semen ayam kampung yang diencerkan dengan bahan berbeda. *Jurnal Indonesian Animal Agricultural*. 31(1): 36-40.
- Suyatno. 2003. Peningkatan produksi bibit ayam lurik melalui penerapan inseminasi buatan. *Jurnal Dedikasi*. 1(1):104-111.
- Utami, I.A.P. 2009. Daya tahan spermatozoa ayam buras (peranakan Sentul) pada tiga macam pengencer. *Jurnal Ganec Swara*. 3(3): 39-42.
- Zahri, A., A.O. Sudrajat, dan M. . Junior. 2018. Profil hormon FSH, LH dan Estradiol serta kadar glukosa darah Sidat, *Anguilla Bicolor Bicolor (Mc Clelland, 1844)* yang dirangsang hormon HCG, MT, E2 dan anti Dopamin. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. 18(1):57-67.