
**PENGARUH MACAM PENGECER DAN LAMA PENYIMPANAN
PADA SUHU 5°C TERHADAP MOTILITAS, VIABILITAS DAN
ABNORMALITAS SPERMATOZOA AYAM KAMPUNG
(THE EFFECTS OF DIFFERENT KINDS AND TIME OF STORAGE AT
5°C TEMPERATURE ON MOTILITY, VIABILITY, AND
ABNORMALITY OF KAMPUNG ROOSTER SPERMATOZOA)**

Dipta Rilandana*, Dadang Mulyadi Saleh, Aras Prasetyo Nugroho

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto

*Email: rilandana.dipta98@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang. Penelitian bertujuan untuk mengetahui interaksi macam pengencer (ringer laktat, susu skim, dan andromed) dan lama waktu penyimpanan pada suhu 5°C terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa ayam kampung. **Materi dan Metode.** Materi penelitian yang digunakan yaitu ayam kampung jantan umur 1-1,5 tahun sebanyak 7 ekor sebagai penghasil spermatozoa, pakan ayam, kandang baterai beserta perlengkapannya, gelas penampung spermatozoa, seperangkat alat untuk uji kualitas spermatozoa, dan spuit 1 ml. Materi lainnya adalah spermatozoa segar dari 7 ekor ayam kampung, susu skim, ringer laktat, *andromed*, aquades, mikroskop, pipet tetes, *object glass*, *cover glass*, *box semen*, bilik thoma, pipet hematokrit, larutan NaCl 3%, larutan eosin negrosin, kulkas, dan *microtube*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial 2 faktor: faktor P yaitu macam pengencer dan faktor W lama simpan pada suhu 5°C melalui 3 perlakuan. Terdapat 3 ulangan dalam setiap perlakuan sehingga terdapat 27 unit percobaan dengan masing-masing perlakuan terdiri dari 3 waktu yang berbeda. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa interaksi antar perlakuan macam pengencer dan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa ayam kampung, sedangkan interaksi antar perlakuan macam pengencer dan lama penyimpanan pada motilitas dan abnormalitas spermatozoa ayam kampung berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$). Hasil ANOVA pengaruh macam pengencer berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas sedangkan pada abnormalitas berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$). Lama penyimpanan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap abnormalitas dan berpengaruh tidak nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas. Hasil menunjukkan motilitas terbaik spermatozoa ayam kampung dihasilkan oleh pengencer ringer laktat dengan penyimpanan selama 10 menit (92%). viabilitas terbaik spermatozoa ayam kampung dihasilkan oleh pengencer *andromed* dengan penyimpanan selama 370 menit (96,5%). Selanjutnya, abnormalitas terendah spermatozoa ayam kampung dihasilkan oleh pengencer susu skim dengan penyimpanan selama 190 menit (8,5%).

Kata Kunci: ayam kampung, motilitas spermatozoa, viabilitas, abnormalitas

ABSTRACT

Background. The aim of the study was to determine the interaction between types of diluents (Ringer's lactate, skimmed milk, and andromed) and storage time at 5°C on motility, viability, and abnormalities of kampung rooster spermatozoa. **Materials and Methods.** The research materials used were 7

kampung rooster aged 1-1.5 years as a spermatozoa producer, chicken feed, battery cage and its equipment, spermatozoa storage glass, a set of tools to test the quality of spermatozoa, and 1 ml syringe. Other materials are fresh spermatozoa from 7 free-range kampung rooster, skim milk, lactated Ringer, andromed, distilled water, microscopes, dropper pipettes, object glass, cover glass, cement box, thoma chamber, hematocrit pipette, 3% NaCl solution, eosin negrosin solution, refrigerator, and microtube. The research design used was a completely randomized design (CRD) with a factorial pattern of 2 factors: the P factor, namely the kind of diluent and the W factor, the time of storage at 5°C through 3 treatments. There were 3 replications in each treatment so that there were 27 experimental units with each treatment consisting of 3 different times.

Results. The results showed that the interaction between different kinds of diluent treatments and storage time had a significant effect ($P < 0.05$) on the viability of kampung rooster spermatozoa, while the interaction between treatments of types of diluents and storage time on motility and abnormalities of kampung rooster spermatozoa had no significant effect ($P > 0.05$). ANOVA results had a very significant effect on the type of diluent ($P < 0.01$) on motility, while the abnormal effect was not significant ($P > 0.05$). Storage time had a significant ($P < 0.05$) effect on abnormalities and had no significant ($P > 0.05$) effect on motility. The results showed that the best motility of free-range kampung rooster spermatozoa was produced by Ringer's lactate diluent with storage for 10 minutes (92%). The best viability of kampung rooster spermatozoa was produced by andromed diluent with storage for 370 minutes (96.5%). Furthermore, the lowest abnormality of kampung rooster spermatozoa was produced by skim milk diluent with storage for 190 minutes (8.5%).

Keywords: kampung rooster, spermatozoa, motility, viability, abnormality

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki populasi peternakan ayam kampung yang besar, perkembangbiakkannya menjadi salah satu mata pencaharian utama para peternak. Ayam kampung mempunyai beberapa sifat-sifat atau kelemahan seperti lambat untuk berkembang biak lebih banyak, waktu mengasuh terlalu lama yang berarti mengurangi produktivitas, banyaknya kendala pada ayam jantan terhadap ayam betina dalam penerapan perkawinan alami yang dikarenakan sulitnya dalam penjadwalan, fertilitas telur yang rendah, dan kendali akan keberadaan ayam sangat kurang sehingga kemungkinan akan dimangsa predator maupun hilang lebih tinggi, cara pemeliharaan ini kurang produktif (Anwar, 2011). Menurut (Danang, 2012) pada suatu pemeliharaan ternak tentu ada suatu kelebihan dan kekurangannya, pada hal tersebut ayam kampung pejantan memiliki beberapa kelemahan antara lain terlambat untuk dewasa kelamin dan pertumbuhan yang lambat, kemungkinan hal tersebut berasal dari pemberian pakan dengan kualitas rendah.

Ayam kampung pejantan memiliki kemampuan dalam perkawinan alami yaitu dapat mengawini banyak betina dibandingkan dengan jenis ayam pejantan lainnya, hal tersebut dikarenakan *antibody* yang tahan lama terhadap proses perkawinan serta tingkat kekebalan yang tinggi terhadap lingkungan yang kurang baik, namun seiring meluasnya aksesibilitas teknologi IB lebih banyak dilirik untuk diterapkan karena lebih efisien waktu (Priyono *et al.*, 2019). Teknologi inseminasi buatan (IB)

dapat dilakukan untuk meningkatkan produktivitas ayam jantan dengan cara mengoptimalkan spermatozoa dalam membuahi betina. Produktivitas ayam jantan dengan cara mengoptimalkan semennya dalam membuahi betina harus melalui proses pengenceran semen agar mendapatkan hasil yang maksimal, pengencer spermatozoa yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan susu skim, ringer laktat, dan andromed. Pengenceran spermatozoa ayam kampung yang disimpan pada suhu 5°C mampu menghasilkan motilitas, viabilitas, dan abnormalitas yang baik serta pada suhu 4-5°C merupakan suhu yang paling optimal pada penyimpanannya (Yu dan Leibo, 2002).

Larutan ringer laktat memiliki kandungan *sodium chloride* yang sama dengan unsur-unsur elektrolit dari plasma spermatozoa ayam seperti natrium, klorida, kalsium, dan magnesium (Danang, 2012). Penggunaan ringer laktat sebagai pengencer spermatozoa ayam kampung pada suhu 5°C merupakan suatu usaha memperbanyak volume dan memaksimalkan kualitas spermatozoa (Nugroho dan Saleh, 2016). Susu skim merupakan bahan untuk pengenceran spermatozoa yang memiliki kandungan glukosa sebagai energi pengganti fruktosa pada plasma spermatozoa yang dibutuhkan untuk beraktivitas selama penyimpanan, sehingga kualitas semen dapat dipertahankan. Menurut Danang *et al.*, (2012), bahwa dalam mendukung motilitas dan viabilitas, fruktosa yang terkandung pada karbohidrat dapat menjadi sumber energi pada spermatozoa. Pengencer andromed merupakan pengencer siap pakai yang tidak mengandung kuning telur. Menurut Susilawati (2011) menyatakan bahwa andromed merupakan bahan pengencer semen yang kandungannya tidak mengandung mikroorganisme yang berasal dari kuning telur serta penanganan waktu penyimpanan yang tergolong mudah.

Ayam kampung memiliki potensi yang cukup besar untuk dikembangkan secara modern baik dari pola pemeliharaan maupun manajemen perkawinannya, dalam upaya meningkatkan populasi dan produktivitas maka penerapan teknologi IB merupakan suatu keharusan untuk dilakukan (Malik, 2018). Keberhasilan suatu IB dapat berpengaruh melalui penampungan, penyimpanan, pengenceran spermatozoa, kesuburan betina, kualitas spermatozoa, dan kemahiran inseminator (Herdis, 2012). Dalam mempertahankan kualitas spermatozoa dalam jangka waktu tertentu pada pelaksanaan IB hal yang harus diperhatikan yaitu didasari dengan pengenceran suatu spermatozoa yang akan dibutuhkan pada pengaplikasiannya (Isnaeni *et al.*, 2019). Pengaruh lama simpan pada penelitian ini menggunakan waktu yang bervariasi yaitu 10 menit, 190 menit, dan 370 menit. Menurut Lubis (2011), bahwa spermatozoa segar dapat hidup selama 30-45 menit pada suhu kamar, apabila ditambah dengan bahan pengencer mampu hidup selama 6-24 jam pada suhu kulkas.

METODE PENELITIAN

Materi yang digunakan adalah ayam kampung jantan umur 1-1,5 tahun sebanyak 7 ekor sebagai penghasil spermatozoa, pakan ayam, kandang baterai ukuran 60x60 cm beserta perlengkapannya, gelas penampung semen, kulkas, termos dan spuit 1 ml. Materi lainnya adalah spermatozoa segar dari 7 ekor ayam kampung, susu skim, ringer laktat, *andromed*, aquades, mikroskop, pipet tetes, *object glass*, *cover glass*, *box*

semen, bilik thoma, pipet hematokrit, larutan NaCl 3%, larutan eosin negrosin, kulkas, dan *microtube*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial (3x3) melalui 3 perlakuan. Terdapat 3 ulangan dalam setiap perlakuan sehingga terdapat 27 unit percobaan dengan masing-masing perlakuan yaitu macam pengencer dan lama penyimpanan yang terdiri dari 3 waktu yang berbeda. Macam pengencer yang digunakan yaitu susu skim (P1), ringer laktat (P2), dan andromed (P3), serta untuk lama penyimpanan yang digunakan yaitu 10 menit (W0), 190 menit (W1), dan 370 menit (W2). Data yang diperoleh ditabulasikan dan dianalisis dengan analisis variansi dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

HASIL DAN PEMBAHASAN

MOTILITAS

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi motilitas spermatozoa ayam kampung tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap perlakuan macam pengencer dan lama penyimpanan. Rataan motilitas spermatozoa ayam kampung pada semua kelompok perlakuan selama 370 menit lama simpan secara umum menunjukkan bahwa pada hasil pengamatan 10, 190, dan 370 menit menunjukkan motilitas tertinggi terdapat pada P1 sedangkan hasil terendah terlihat pada P2.

Tabel 4. Hasil Uji BNJ 5% Pengaruh Macam Pengencer Terhadap Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung.

Perlakuan	Total Rerata (%)	BNJ 5% = Notasi
P2	48,16	68,83 ^a
P1	75,44	96,11 ^{ab}
P3	82,17	102,84 ^b

Keterangan: P1: susu skim, P2: ringer laktat, P3: andromed. Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) berdasarkan uji lanjut BNJ 5%.

Berdasarkan hasil analisis variansi menunjukkan bahwa pengaruh macam pengencer berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung dan setelah di uji lanjut BNJ 5% bahwa pada perlakuan macam pengencer ringer laktat (P2) berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap jenis pengencer andromed (P3) tetapi pada jenis pengencer susu skim (P1) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap jenis pengencer ringer laktat (P2) dan andromed (P3). Menurut Nugroho *et al.*, (2016) hal ini diduga karena masing-masing perlakuan hanya memberikan pengaruh pada masing-masing perlakuan dan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap interaksi antar perlakuan terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung ($P > 0,05$). Data hasil pengamatan menunjukkan tingkat motilitas paling tinggi yaitu pada perlakuan P1W0 dengan nilai $84 \pm 8,26$ % dan tingkat motilitas yang mengalami peningkatan pada lama simpan yaitu pada jenis pengencer kedua (P2) dengan menggunakan pengencer ringer laktat. Penilaian motilitas pada spermatozoa ayam kampung diketahui melalui pengamatan di bawah mikroskop atau secara mikroskopik. Pemeriksaan dilakukan paling kurang 6 lapang pandang di bawah mikroskop dengan pembesaran 40×10 . Penilaian tersebut bersifat subjektif dengan melihat pergerakan individu dari spermatozoa yaitu pergerakan maju kedepan (progresif) maupun berputar-putar (oksilatoris). Hafez dan Hafez (2008),

menyatakan bahwa motilitas yang harus dimiliki sebelum IB adalah sebesar 40%, jika motilitas kurang dari 40% maka spermatozoa tersebut tidak bisa diinseminasikan. Berdasarkan hasil data penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa ayam kampung pada perlakuan pengencer ringer laktat dengan lama simpan 10 menit (P2W0) (40,83%) memiliki nilai motilitas terendah berdasarkan data tetapi masih memiliki nilai yang melampaui standar yaitu 40%. Hal tersebut terjadi karena berbedanya suhu lingkungan waktu penampungan serta banyaknya pengambilan semen ayam kampung yaitu 2 kali pengambilan yang memengaruhi kualitas spermatozoa terhadap tingkat motilitas. Menurut Nugroho *et al.*, (2016) hal ini diduga terjadi karena perbedaan suhu lingkungan waktu penampungan yang dapat mempengaruhi ketahanan motilitas dalam penyimpanan pada suhu 5°C.

VIABILITAS

Hasil analisis variansi pada pengamatan viabilitas menggunakan spermatozoa semen ayam kampung dengan perlakuan kombinasi antara macam pengencer dengan lama penyimpanan disajikan pada Lampiran 4 menunjukkan bahwa adanya interaksi yang berpengaruh nyata ($P < 0,05$) dan akan dilanjutkan dengan uji lanjut BNJ 5% yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Lanjut BNJ 5% Terhadap Interaksi Macam Pengencer dan Lama Penyimpanan Viabilitas Spermatozoa Ayam Kampung.

Lama Simpan	Perlakuan (%)		
	P1	P2	P3
W0	96,49 ^c	65,99 ^a	93,15 ^c
W1	83,65 ^b	85,99 ^{bc}	95,32 ^c
W2	84,65 ^b	76,82 ^{ab}	93,99 ^c

Keterangan: P1: susu skim, P2: ringer laktat, P3: andromed. W0: 10 menit, W1: 190 menit, W2: 370 menit. Superskrip yang berbeda pada kolom dan baris menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) berdasarkan uji lanjut BNJ 5%.

Rataan viabilitas spermatozoa ayam kampung pada semua kelompok perlakuan selama 370 menit lama simpan secara umum menunjukkan bahwa pada hasil pengamatan lama penyimpanan 10, 190, dan 370 menit menunjukkan viabilitas tertinggi terdapat pada P1 sedangkan hasil terendah terlihat pada P2. Berdasarkan hasil nilai rata-rata menunjukkan bahwa pengencer susu skim, ringer laktat, dan andromed dengan lama penyimpanan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa ayam kampung. Menurut Danang *et al.*, (2012) daya hidup spermatozoa dapat bertahan sampai 18 jam ketika ditambahkan pengencer yang disebabkan pada penyimpanan pada suhu rendah, proses metabolisme berjalan lambat sehingga produksi racun yang dihasilkan tidak terlalu banyak dan masih layak untuk diinseminasikan. Menurut Agustian *et al.*, (2014) bahwa viabilitas spermatozoa akan mengalami penurunan kualitas yang dikarenakan oleh penurunan suhu kondisi lingkungan. dan Susilawati (2011) menyatakan bahwa penurunan suhu dan lama simpan yang semakin lama akan menurunkan metabolisme spermatozoa yang berakibat pada menurunnya produksi energi yang bisa digunakan sebagai energi mekanik atau sebagai energi kimiawi. Menurut Danang *et al.*, (2012) yaitu persentase

viabilitas spermatozoa yang mengalami penurunan dengan bertambahnya lama simpan, dapat dipengaruhi oleh jumlah nutrisi spermatozoa dalam pengencer yang dimana menyebabkan kerusakan, sehingga viabilitas spermatozoa ayam kampung mengalami penurunan. Kerusakan suatu membran sel spermatozoa disebabkan oleh pertukaran larutan intraseluler dan ekstraseluler bahan pengencer dengan spermatozoa karena berbedanya tingkat konsentrasi, proses pengenceran spermatozoa dapat mengakibatkan kerusakan pada membran plasma serta menurunkan motilitas. Kerusakan membran sel spermatozoa akan 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. Menurut Fauzan *et al.*, (2009) menyatakan bahwa energi yang terdapat di dalam sel spermatozoa berguna untuk kelangsungan hidup lalu daya gerak yang dihasilkan berasal dari perombakan *Adenosine Triphosphate* (ATP) menjadi *Adenosine Diphosphate* (ADP) dan *Adenosine Monophosphate* (AMP) di dalam mitokondria, jika persediaan fosfat organik di dalam ATP habis maka sel spermatozoa akan berhenti bergerak hingga akhirnya mati. Keadaan spermatozoa sangat berpengaruh terhadap viabilitas karena spermatozoa memiliki aktivitas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan asam laktat yang tinggi sehingga dapat membunuh spermatozoa (Varasofiari *et al.*, 2013).

ABNORMALITAS

Hasil analisis variansi yang disajikan pada Lampiran 8 menunjukkan bahwa tidak adanya interaksi ($P > 0,05$) terhadap kombinasi perlakuan macam pengencer dan lama penyimpanan, melainkan untuk lama simpan berpengaruh nyata terhadap abnormalitas spermatozoa ayam kampung ($P < 0,05$).

Tabel 6. Hasil Uji BNJ 5% Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kampung.

Perlakuan	Total Rerata (%)	BNJ 5% = Notasi
W0	14,55	22,38 ^a
W1	15,5	23,33 ^a
W2	24,03	31,86 ^b

Keterangan: P1: susu skim, P2: ringer laktat, P3: andromed. Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) berdasarkan uji lanjut BNJ 5%.

Data hasil pengamatan menunjukkan bahwa macam pengencer dan lama penyimpanan selalu terjadi kenaikan disetiap perlakuan, persentase abnormalitas tertinggi dihasilkan oleh P1W2 = 20,83% dan persentase terendah dihasilkan oleh P3W0 = 13,33%. Pengamatan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan pembuatan preparat ulas, kemudian penambahan eosin yang dimana apabila pada saat tercampurnya eosin dengan jumlah yang terlalu banyak serta tidak merata akan menyebabkan terganggunya pengamatan serta penurunan hasil dan jika saat menggoreskan *object glass* yang terlalu keras dapat menyebabkan putusnya kepala dan ekor pada spermatozoa. Hasil nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa ayam kampung menghasilkan nilai yang beragam yang dikarenakan hal tersebut diduga karena beberapa faktor antara lain : penggunaan jenis pengencer yang berbeda, lama

simpan yang bervariasi, suhu, lingkungan, umur, preparat ulas yang dibuat dan proses pencampurannya. Hal tersebut dinyatakan oleh Yulnawati *et al.*, (2009) bahwa abnormalitas tersier dapat disebabkan oleh faktor *human error* yaitu kesalahan pada saat pembuatan preparat ulas, hal tersebut terjadi karena pada saat menggoreskan *object glass* terlalu menekan sehingga menyebabkan kerusakan spermatozoa pada bagian ekor atau kepalanya yang terputus serta patah dan bercabang. Menurut Arifiantini *et al.*, (2006) bahwa abnormalitas sekunder dapat terjadi karena pejection yang ditampung spermatozoanya belum terjadi ejakulasi sehingga spermatozoa yang dihasilkan pada sel spermatozoa terdapat sitoplasma droplet.

SIMPULAN

Lama simpan yang berlebihan tidak baik untuk motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa dikarenakan dapat menyebabkan penurunan hasil serta kualitas yg terkandung didalamnya, sebab energi pada spermatozoa digunakan secara terus menerus yang mengakibatkan kehabisan energi dan berdampak pada kematian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian, F. M., Ihsan, N. M., & Isnaini, N. 2014. Pengaruh Lama Simpan Semen dengan Pengencer Tris Aminomethan Kuning Telur Pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer. *Jurnal Ternak Tropika*. 15(2):1-6.
- Anwar, Kholid. 2011. *Panduan Sukses Beternak dan Bisnis Ayam Kampung*. Yogyakarta: Penerbit Pinang Merah.
- Arifiantini, R. I., Wresdiyati, T dan E. F. Retnani. 2006. Pengujian Morfologi Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Menggunakan Pewarnaan "Williams". *J. Indontrop. Anim. Agric.* 31(2):105-110.
- Danang, D. R., Isnaini, N., & Trisunuwati, P. 2012. Pengaruh Lama Simpan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung dalam Pengencer Ringer's pada Suhu 4°C. *Journal of Tropical Animal Production*. 13(1):47-57.
- Fauzan, M., M, Hartono, dan P.E. Santosa. 2009. Pengaruh Suhu dan Lama Thawing di Dataran Rendah terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Brahman. *Jurnal Ternak Tropika*. 12(1):27-37.
- Hafez, B. & Hafez, E.S.E. 2008. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Blackwell Publishing. Australia.
- Herdis. 2012. Pengaruh Waktu Penampungan Semen Terhadap Gerakan Massa Spermatozoa dan Tingkah Laku Kopulasi Pejantan Domba Garut. *J. Sains dan Teknologi Indonesia*. 14:38-43.
- Isnaeni, M., Faidiban, O. R., & Tethool, A. N. 2019. Konsentrasi dan Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) dalam Pengencer Ringer Laktat yang Diberi Tambahan Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus Lam*). *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis*. *Journal of Tropical Animal and Veterinary Science*. 9(2):44-49.
- 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.
- Malik, A. 2018. Potensi Bahan Pengencer Citrat dan Kuning Telur yang Berbeda Rasio terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung. *Potensi Bahan Pengencer Citrat*

- dan Kuning Telur yang Berbeda Rasio terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung. *Ternak Tropika*. 3(2): 54-58.
- Nugroho, A. P., & Saleh, D. M. 2016. Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kampung dengan Pengencer Ringer Laktat-Putih Telur dan Lama Simpan pada Suhu 5°C Selama 48 Jam. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 4(1):35-41.
- Priyono, Sopiñana, S., & Kostaman, T. 2019. Kerja Finansial Manajemen Perkawinan Inseminasi Buatan dan Kawin Alam pada Ayam Lokal. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Bogor*. 581-589.
- Susilawati, T. 2011. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Journal of Tropical Animal Production*. 12(2):15-24.
- Varasofiari, L. N., Setiatin, E. T., & Sutopo, S. 2013. Evaluasi Kualitas Semen Segar Sapi Jawa Brebes berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan. *Animal Agriculture Journal*. 2(1): 201-208.
- Yu, I., & Leibo, S. P. 2002. Recovery of Motile, Membrane-intact Spermatozoa from Canine Epididymides Stored for 8 Days at 4°C.. *Theriogenology*. 57(3): 1179-1190.
- Yulnawati., Herdis., Maheswari, H., Boediono, A dan Rizal, M. 2009. Potensi Reproduksi dan Upaya Pengembangbiakan Kerbau Belang Tana Toraja. *Seminar dan Lokakarya Nasional Kerbau*.