

PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGECER SITRAT KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR AYAM BANGKOK

The Effect Of Addition Vitamin C And E In Egg Yolk Citrate Diluent On The Quality Of Liquid Semen Bangkok Chicken

Tegar Wijaya Putra¹, Sri Suharyati¹, Siswanto Siswanto¹, Madi Hartono¹

¹*Departement of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung*

E-mail: tegarwijaya17april@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of addition Vitamin C, Vitamin E and their combination on the quality of liquid semen (motility, viability and abnormality) in egg yolk citrate diluent in Rooster semen. This research was conducted in March 2023 at the Physiology and Reproduction Laboratory, Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung. This study used a completely randomized design with 4 treatments and 3 replications. The treatments were control (P0); addition of Vitamin C 0.2 g/100 ml of diluent (P1); addition of Vitamin E 0.41 g/100 ml diluent (P2); addition of Vitamin C 0.2 g/100 ml + Vitamin E 0.41 g/100 ml diluent (P3). The results obtained were analyzed for variance with a level of 5% and/or 1% then tested for the BNT test. The results showed that the addition of Vitamin C and Vitamin E in egg yolk citrate diluent had a very significant effect ($P < 0,01$) on motility, significant effect ($P < 0,05$) on viability but had no significant effect ($P > 0,05$) on post-dilution abnormalities and had no significant effect ($P > 0,05$) on motility, viability and abnormalities at 3 hours of storage. The treatment (P1) had the best quality compared to other treatments, with motility ($60,00 \pm 2,00\%$), viability ($80,79 \pm 0,99\%$) and abnormality ($10,00 \pm 0,95\%$) at post-dilution. The results of the study concluded that the addition of Vitamin C 0.2 g/100 ml of egg yolk citrate diluent had the best effect on maintaining the motility and viability Bangkok chicken liquid semen post-dilution.

Keywords: Bangkok Chicken, Egg yolk citrate, Spermatozoa, Vitamin C, Vitamin E

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan Vitamin C, Vitamin E dan kombinasinya terhadap kualitas semen cair (motilitas, viabilitas, dan abnormalitas) dalam pengencer sitrat kuning telur pada semen Ayam Bangkok. Penelitian ini dilaksanakan pada Maret 2023 bertempat di Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuannya adalah P0; kontrol, P1; penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer, P2; penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml pengencer, P3; penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml pengencer. Data yang diperoleh dianalisis ragam dengan taraf 5% dan/atau 1% dan diuji lanjut dengan uji BNT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dan vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas, berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap viabilitas namun tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas pasca pengenceran dan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada 3 jam penyimpanan. Pada perlakuan (P1) mempunyai kualitas terbaik dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan nilai motilitas ($60,00 \pm 2,00\%$), viabilitas ($80,79 \pm 0,99\%$) dan abnormalitas ($10,00 \pm 0,95\%$) pada pasca pengenceran. Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer sitrat kuning telur memberikan pengaruh terbaik dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas semen cair Ayam Bangkok pasca pengenceran.

Kata kunci: Ayam Bangkok, Sitrat kuning telur, Spermatozoa, Vitamin C, Vitamin E

PENDAHULUAN

Ayam Bangkok merupakan salah satu jenis ayam yang populer di Indonesia. Ayam Bangkok umumnya lebih dikenal sebagai ayam petarung yang memiliki keunggulan postur tubuh yang besar, tegak dan memiliki perototan yang padat. Ayam Bangkok juga memiliki performa pertumbuhan yang sangat baik

(Hastuti *et al.*, 2021). Dengan keunggulan tersebut, Ayam Bangkok selain untuk ternak kesayangan juga berpotensi dijadikan sebagai ayam pedaging yang dapat memenuhi kebutuhan masyarakat Indonesia.

Persilangan antara Ayam Bangkok dengan beberapa jenis ayam lain sering kali dilakukan untuk memperoleh keturunan yang memiliki performa pertumbuhan yang baik, postur yang besar, daging yang padat serta rasa daging yang disukai oleh masyarakat. Rowianti *et al.* (2021) mengungkapkan bahwa hasil persilangan Ayam Kampung dan Ayam Bangkok secara umum memiliki bobot badan yang lebih tinggi dari Ayam Kampung, hal ini menandakan bahwa persilangan Ayam Kampung dengan Ayam Bangkok dapat meningkatkan produktivitasnya.

Apriyanto *et al.* (2020) mengungkapkan bahwa saat ini telah dikembangkan ayam hasil persilangan pejantan Ayam Bangkok dengan betina Ayam Ras Petelur yang dikenal dengan nama Ayam Jawa Super. Ayam tersebut merupakan hasil persilangan yang memiliki pertumbuhan cepat dibandingkan ayam lokal dan memiliki karakteristik daging mirip dengan ayam lokal. Ayam hasil persilangan ini menjadi peluang usaha baru yang sangat menggiurkan, karena dapat diterima oleh masyarakat dan permintaannya cukup tinggi.

Persilangan Ayam Bangkok dengan Ayam Kampung maupun Ayam Ras Petelur dilakukan secara alami dengan pejantan seadanya sehingga keturunan yang dihasilkan mempunyai mutu genetik yang kurang baik. Untuk itu perlu dilakukan upaya perbaikan mutu genetik pada ayam hasil persilangan Ayam Bangkok, salah satunya dengan melakukan inseminasi buatan. Junaedi *et al.* (2021) mengungkapkan inseminasi buatan pada unggas bertujuan untuk memperbaiki kualitas genetik, meningkatkan fertilitas telur serta memperbanyak jumlah semen dari pejantan unggul pilihan sehingga lebih banyak betina yang dapat dikawini.

Pada inseminasi buatan, perlu adanya bahan pengencer dalam pengenceran semen segar. Bahan pengencer yang baik harus dapat mempertahankan sifat dan kualitas spermatozoa. Salah satu bahan pengencer yang baik yaitu sitrat kuning telur. Kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang mencegah terjadinya *cold shock* pada spermatozoa pada saat penyimpanan dalam suhu dingin. Coester *et al.* (2019) menjelaskan bahwa lesitin yang terkandung di dalam kuning telur ayam berperan penting dalam melapisi membran sel spermatozoa dengan mempertahankan susunan fosfolipid bilayer sel spermatozoa. Tanii *et al.* (2022) menyatakan sitrat-kuning telur memiliki kelebihan yaitu mengandung lipoprotein dan lecitin yang berfungsi sebagai bahan penyangga (*buffer*) untuk mempertahankan dan mengatur pH semen, juga mencegah terjadinya *cold shock* yang disebabkan oleh perubahan temperatur.

Kerusakan spermatozoa pada saat proses pengolahan semen terjadi karena adanya radikal bebas. Kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dan peroksida lipid ini dapat menurunkan tingkat motilitas dan daya hidup spermatozoa. Penambahan antioksidan dalam pengencer semen dilakukan untuk meminimalisir atau menekan kerusakan membran spermatozoa akibat radikal bebas. Bahan yang dapat digunakan sebagai antioksidan adalah Vitamin C dan E. Vitamin C memiliki kemampuan untuk menguatkan kestabilan jaringan membran plasma terhadap peroksidasi yang terjadi pada saat pengolahan semen beku karena ada kontak langsung dengan O₂ (oksigen) yang dapat menyebabkan kematian pada spermatozoa (Savitri *et al.*, 2014).

Hartono (2008) menyatakan bahwa penambahan Vitamin E akan mencegah peroksidasi lipid dengan cara memindahkan atom hidrogen kepada radikal peroksil. Semakin banyak Vitamin E yang ditambahkan maka semakin banyak atom hidrogen yang dilepaskan sehingga peristiwa peroksidasi lipid tidak terjadi dan viabilitas spermatozoa tetap terjaga.

Saat ini belum ada bukti dan belum diketahui pengaruh penambahan Vitamin C dan E dalam bahan pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen cair Ayam Bangkok. Untuk itu perlu adanya penelitian yang membuktikan pengaruh dan perlakuan penambahan Vitamin C dan E terbaik dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas spermatozoa Ayam Bangkok.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada Maret 2023 bertempat di Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Ternak Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

MATERI

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung untuk menampung semen Ayam Bangkok, batang pengaduk, kertas saring, pH meter, kertas label, alat tulis, mikroskop, layar monitor, *hemocytometer*, *object glass*, *cover glass*, *beaker glass*, pipet dan *tissue*. Bahan yang digunakan yaitu kuning telur, Vitamin C dan Vitamin E (dalam sediaan *pure powder*), semen Ayam Bangkok, NaCl, alkohol 70%, *tris amino methan*, asam sitrat, fruktosa, *penicillin*, *streptomycin*, aquabides dan larutan eosin.

METODE

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan penambahan dosis Vitamin C dan E dalam pengencer Sitrat Kuning Telur (SKT) dan dilakukan sebanyak tiga ulangan.

Perlakuan yang diberikan yaitu:

P0 = Tanpa penambahan vitamin C dan vitamin E;

P1 = Penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer atau 40 IU/100 ml pengencer;

P2 = Penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml pengencer atau 612 IU/100 ml pengencer;

P3 = Penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g (40 IU) dan Vitamin E 0,41 g (612 IU) dalam 100 ml pengencer.

Pelaksanaan Penelitian

Tahapan penelitian ini meliputi proses penampungan semen, evaluasi semen segar, pembuatan pengencer sitrat kuning telur, pengenceran semen, pencampuran pengencer, dan pemeriksaan motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa pasca pengenceran dan 3 jam penyimpanan.

Peubah Yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini yaitu motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari masing-masing perlakuan dan kontrol akan dianalisis statistika menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan taraf 5% dan/atau 1% kemudian dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui dosis yang memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas semen cair Ayam Bangkok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

KARAKTERISTIK SEMEN SEGAR AYAM BANGKOK

Semen segar yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari pejantan Ayam Bangkok di kandang Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Semen segar yang didapatkan kemudian dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui kelayakan semen sebelum diencerkan. Karakteristik semen segar Ayam Bangkok disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Semen Segar Ayam Bangkok

Karakteristik Semen	Nilai
Makroskopis	
Volume (ml)	0,4
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Kental
Bau	Khas
pH	7,0
Mikroskopis	
Motilitas Masa	+++
Konsentrasi (juta/ml)	2.740
Motilitas Individu	75%
Viabilitas	90,2%
Abnormalitas	11,4%

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa volume semen Ayam Bangkok yang didapatkan dengan metode pengurutan (*massage*) sebesar 0,4 ml. Hasil ini lebih besar dibandingkan dengan hasil penelitian Junaedi dan Husnaeni (2019) yang menyatakan secara makroskopis volume semen Ayam Bangkok ($0,31 \pm 0,01$ ml/ejakulasi) Jumlah volume per ejakulasi, dapat langsung diamati pada tabung yang berskala. Hasil ini juga lebih besar dibandingkan dengan penelitian Hijriyanto *et al.* (2017) yang menyatakan rata-rata volume semen yang dihasilkan pada Ayam Bangkok berkisar antara 0,167—0,178 ml. Menurut Kismiati (1997), volume semen ayam berkisar 0,11-1 ml. Volume semen yang didapat tergantung dari *breed*, spesies dan metode penampungan. Hijriyanto *et al.* (2017) menyatakan volume yang ditampung

dengan metode pemijatan akan lebih banyak, jika dibandingkan dengan penampungan semen saat perkawinan alami. Menurut Parker (1972), volume semen pada saat kawin alami adalah 0,35 ml, sedangkan untuk metode pemijatan adalah 0,88 ml.

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 1 juga menunjukkan bahwa semen segar Ayam Bangkok mempunyai warna putih susu dan konsistensi kental. Hal ini sesuai dengan pendapat Hijriyanto *et al.* (2017) yang menyatakan warna dan konsistensi semen ayam bangkok dengan frekuensi penampungan yang berbeda yaitu berwarna putih susu dan konsistensi kental. Penelitian Almahdi *et al.* (2014) juga mengungkapkan bahwa warna semen ayam bangkok normal adalah putih susu. Warna putih susu dan konsistensi yang kental dapat menunjukkan bahwa semen segar Ayam Bangkok yang didapat mempunyai konsentrasi yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Junaedi dan Husnaeni (2019) yang mengungkapkan bahwa kekentalan dan warna menginterpretasikan bahwa konsentrasi spermatozoa tinggi.

pH yang didapatkan pada semen segar Ayam Bangkok pada penelitian ini (Tabel 1) yaitu 7,0. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan hasil pengamatan nilai pH semen Ayam Bangkok pada penelitian Hijriyanto *et al.* (2017) yang menunjukkan hasil dengan rata-rata 6,8. Namun hasil ini menunjukkan bahwa semen berkualitas baik karena memiliki kisaran pH yang netral dan sesuai dengan hasil yang didapat oleh Abdillah (1996) pada semen ayam lokal yaitu pH 7—7,5. Derajat keasaman semen sangat berpengaruh terhadap daya hidup spermatozoa. Semakin rendah nilai pH maka spermatozoa yang hidup akan semakin rendah. Nilai pH dapat menurun selama penyimpanan akibat peningkatan suhu dan penambahan waktu.

Motilitas masa pada hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan pergerakan yang sangat baik (++++) yang ditandai dengan pergerakan gelombang spermatozoa yang sangat cepat. Hal ini sesuai dengan pendapat Danang *et al.* (2012) yang menyatakan gerakan massa spermatozoa berkisar antara baik (++) dan sangat baik (+++). Gerakan spermatozoa menunjukkan gelombang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari konsentrasi sperma hidup di dalamnya. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa yang bergerak maka gerakan masa semakin bagus.

Konsentrasi semen segar Ayam Bangkok pada penelitian ini (Tabel 1) menunjukkan konsentrasi dalam rentang normal dengan hasil sebesar 2.740 juta sel/ml. Hal ini sesuai dengan pendapat Sastrodihardjo dan Resnawati (2003) yang menyatakan spermatozoa ayam memiliki nilai konsentrasi berkisar antara 1,75—3 milyar sel/ml. Hal ini juga didukung oleh pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan konsentrasi spermatozoa ayam berkisar antara 0,03—11 milyar sel/ml. Junaedi dan Husnaeni (2019) mengungkapkan 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.

Motilitas individu yang diperoleh pada penelitian ini (Tabel 1) yaitu sebesar 75%. Persentase ini dapat dikatakan normal dan layak untuk dilakukan proses pengenceran semen. Hal ini sesuai dengan pendapat Kostaman dan Sopiya (2017), secara makroskopis, motilitas dan viabilitas semen segar ayam kampung berbeda-beda. Persentase motilitas dikatakan normal jika berada di atas 70%. Persentase spermatozoa hidup lebih tinggi daripada spermatozoa motil karena dari jumlah spermatozoa yang hidup belum tentu semuanya motil progresif.

Viabilitas semen segar Ayam Bangkok yang diperoleh pada penelitian ini (Tabel 1) yaitu sebesar 90,2%. Hal ini tergolong sangat baik karena lebih tinggi dari hasil penelitian Getachew (2016) yang menyatakan tingkat keberhasilan IB salah satunya didukung oleh kemampuan dan kualitas produksi produksi semen pada ayam lokal jantan adalah 0,2—0,5 mL dan persentase motilitas sebesar 60—80% dengan kemampuan hidup antara 85—90%.

Hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan abnormalitas pada semen segar Ayam bangkok sebesar 11,4%. Hal ini masih tergolong normal dan dapat dipakai untuk inseminasi buatan karena sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan kelainan morfologi spermatozoa di bawah 20% masih dianggap normal, didukung oleh pendapat Ihsan (2009) yang menyatakan semen yang dapat dipakai IB abnormalitas spermatozoanya tidak boleh lebih dari 15% dan jika abnormalitas spermatozoa lebih dari 25% akan menurunkan fertilitasnya. Hartono *et al.* (2020) menyatakan bahwa abnormalitas pada spermatozoa dikelompokkan menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer terjadi karena kelainan-kelainan spermatogenesis di dalam tubuli seminiferi dan gangguan testikuler. Bentuk-bentuk abnormalitas primer diantaranya kepala terlalu kecil, atau terlalu besar, memanjang, ganda, serta ekor ganda. Abnormalitas sekunder terjadi setelah spermatozoa meninggalkan tubuliseminiferi atau pada saat penanganan dalam pembuatan semen beku yang biasanya memiliki bentuk ekor putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah melipat, serta ekor bengkok. Abnormalitas yang ditemukan pada penelitian ini yaitu kepala ganda, ekor ganda, kepala tanpa ekor, kepala bengkok, ekor putus, ekor bengkok dan ekor menggulung dengan frekuensi yang sering ditemukan adalah ekor bengkok dan menggulung.

PENGARUH PERLAKUAN TERHADAP MOTILITAS PASCA PENGECERAN

Motilitas menjadi salah satu kriteria penentu kualitas semen yang dilihat dari banyaknya spermatozoa yang motil progresif dibandingkan dengan seluruh spermatozoa yang ada dalam satu bidang pandang mikroskop. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa yang telah diberikan perlakuan penambahan Vitamin C dan Vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur pasca pengenceran disajikan dalam Tabel 2.

Tabel. 2 Rata-rata Motilitas Pasca Pengenceran

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata ± SD
	I	II	III		
	------(%)-----				
P0	52	55	51	158	52,67 ± 2,08 ^a
P1	60	62	58	180	60,00 ± 2,00 ^b
P2	51	53	49	153	51,00 ± 2,00 ^a
P3	52	50	50	152	50,67 ± 1,15 ^a

Keterangan:

P0 : tanpa penambahan Vitamin (kontrol)

P1 : penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml

P2 : penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml

P3 : penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g/100 ml dan Vitamin E 0,41 g/100 ml

huruf superscrip (a, b) yang berbeda pada kolom rata-rata menunjukkan perbedaan sangat nyata (P<0,01) terhadap motilitas spermatozoa Ayam Bangkok berdasarkan uji BNT.

Hasil analisis ragam menunjukkan hasil yang berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap motilitas spermatozoa pasca pengenceran. Hal ini menunjukkan penambahan Vitamin C efektif digunakan dalam pengencer sitrat kuning telur karena Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat mencegah adanya radikal bebas sehingga motilitas spermatozoa dapat terjaga. Wijaya (1995) menyatakan Vitamin C merupakan salah satu vitamin yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mencegah aktivitas oksigen reaktif dengan asam lemak tak jenuh pada membran plasma spermatozoa. Savitri *et al.* (2014) juga mengungkapkan bahwa penambahan Vitamin C dalam pengencer dapat mempertahankan motilitas spermatozoa berkisar 55-58%.

Uji lanjut BNT menunjukkan bahwa P1 dengan perlakuan pemberian Vitamin C 0,2 g/100 ml menjadi perlakuan terbaik yang diberikan pada pengencer sitrat kuning telur. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Vitamin C 0,2 g/100 ml dalam pengencer sitrat kuning telur efektif untuk menjaga motilitas spermatozoa sehingga layak untuk digunakan dalam inseminasi buatan pada Ayam Bangkok. Hal ini diduga karena Vitamin C mengandung antioksidan yang dapat mencegah peroksidasi lipid sehingga membran spermatozoa tidak rusak. Abdillah (2018) mengungkapkan bahwa penggunaan antioksidan Vitamin C dapat digunakan pada bahan pengencer SKT maupun Andromed dan penggunaan sebesar 0,2 g/100 ml bahan pengencer SKT secara efektif mencegah peroksidasi lipid.

Hasil uji BNT menunjukkan perlakuan P2 (penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml) dan P3 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml) dalam pengencer sitrat kuning telur menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan kontrol P0 (tanpa penambahan vitamin). Hal ini diduga karena pengencer yang digunakan yaitu sitrat kuning telur yang mengandung lipoprotein dan lesitin yang dapat menjadi *buffer* sehingga tekanan osmotik dalam spermatozoa dapat terjaga. Sitrat kuning telur juga mengandung fruktosa yang dapat menjadi sumber nutrisi bagi spermatozoa untuk menjaga metabolisme yang terjadi didalam sel sehingga sel spermatozoa masih memiliki motilitas yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Trias (2001) yang menyatakan sitrat kuning telur mengandung *lecitin* dan *lipoprotein* yang dapat digunakan sebagai bahan penyangga (*buffer*) semen serta dapat mencegah terjadinya *cold shock* akibat penurunan temperatur yang mendadak. Susilawati (2013) juga mengungkapkan bahwa kuning telur terdiri atas 49% air, protein 16,5%, lemak 32% dan hidrat arang 1%. Lemak kuning telur terdiri atas gliserida 62%, *phosfolipid* 33% dan kolesterol 5%. *Phosfolipid* terdiri atas *lehitine* 73% dan *cephalin* 15%.

Perlakuan P2 (penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml) menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan terhadap perlakuan P0 (kontrol). Hal ini diduga karena terjadi aglutinasi (penggumpalan) Vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur. Hashem *et al* (2017) mengungkapkan bahwa dalam pengenceran semen, Vitamin E perlu dilarutkan dengan tween 80 yang mengandung asam oleat akan berefek baik pada kualitas spermatozoa. Penggunaan bahan pengencer yang berbeda akan berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa.

Perlakuan P3 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml) menunjukkan hasil

terendah dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal ini diduga karena penambahan antioksidan yang terlalu banyak menyebabkan terjadinya kerusakan pada membrane spermatozoa. Hal ini diperkuat dengan pendapat Gordon (1990) yang menyatakan bahwa dosis anti oksidan yang terlalu banyak dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi yang menyebabkan aktivasi antioksidan menghilang, bahkan antioksidan yang berlebihan akan menjadi peroksidan.

PENGARUH PERLAKUAN TERHADAP VIABILITAS PASCA PENGECERAN

Daya hidup atau viabilitas diperlukan untuk menilai kualitas spermatozoa dan sebagai ukuran kemampuan spermatozoa dalam membuahi sel telur. Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa yang telah diberikan perlakuan penambahan Vitamin C dan Vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur pasca pengenceran disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Viabilitas Pasca Pengenceran

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata ± SD
	I	II	III		
	------(%)-----				
P0	79,52	76,19	76,19	231,90	77,30 ± 1,92 ^a
P1	81,90	80,48	80,00	242,38	80,79 ± 0,99 ^b
P2	77,14	76,19	76,67	230,00	76,67 ± 0,48 ^a
P3	77,14	75,24	78,57	230,95	76,98 ± 1,67 ^a

Keterangan:

P0 : tanpa penambahan Vitamin (kontrol)

P1 : penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml

P2 : penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml

P3 : penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g/100 ml dan Vitamin E 0,41 g/100 ml

huruf superscrip (a, b) yang berbeda pada kolom rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) terhadap viabilitas spermatozoa Ayam Bangkok berdasarkan uji BNT.

Hasil analisis ragam menunjukkan hasil yang berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap viabilitas spermatozoa Ayam Bangkok pasca pengenceran. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan Vitamin C dalam pengencer sitrat kuning telur efektif untuk menjaga viabilitas spermatozoa pasca pengenceran karena Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat mencegah peroksidasi lipid dan rusaknya membran spermatozoa yang dapat menurunkan nilai viabilitas. Sitohang *et al.* (2015) menyatakan Vitamin C mampu mengikat oksigen radikal dalam sel mencegah peroksidasi lipid.

Uji lanjut BNT menunjukkan perlakuan P1 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml) menunjukkan nilai tertinggi dibandingkan P2 (penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml), P3 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml) dan kontrol P0 (tanpa penambahan vitamin). Perlakuan P1 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml) menjadi perlakuan terbaik karena Vitamin C dapat menjadi antioksidan yang dapat mencegah kerusakan peroksidasi lipid pada membran spermatozoa. Hal ini didukung dengan pendapat Wijaya (1995) yang menyatakan Vitamin C merupakan salah satu vitamin yang berfungsi sebagai antioksidan terlarut yang dapat mencegah aktivitas oksigen reaktif dengan asam lemak tak jenuh ganda pada membran plasma spermatozoa. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Sitohang *et al.* (2015) yang menyatakan Vitamin C mampu mengikat oksigen radikal dalam sel mencegah peroksidasi lipid. Vitamin C merupakan vitamin larut air yang mampu melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat stres oksidatif dengan cara menetralkan radikal hidrogen peroksida serta mencegah aglutinasi spermatozoa.

Perlakuan P2 (penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml) mendapatkan hasil viabilitas 76,67±0,48%. Hasil ini lebih rendah dari perlakuan P0 (kontrol). Hal ini diduga karena vitamin E yang menggumpal dalam pengencer sitrat kuning telur karena Vitamin E merupakan vitamin yang larut dalam lemak. Hashem *et al* (2017) mengungkapkan bahwa dalam pengenceran semen, Vitamin E perlu dilarutkan dengan tween 80 yang mengandung asam oleat akan berefek baik pada kualitas spermatozoa. Penggunaan bahan pengencer yang berbeda akan berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa. Viabilitas pada perlakuan P2 masih tergolong tinggi dan dapat digunakan untuk proses inseminasi buatan. Hal ini diduga karena penambahan Vitamin E mampu melindungi spermatozoa dari radikal bebas sehingga viabilitas spermatozoa tetap terjaga. Hal ini didukung oleh pendapat Hatono (2008) yang menyatakan penambahan Vitamin E akan mencegah peroksidasi lipid dengan cara memindahkan atom hidrogen kepada radikal peroksil. Semakin banyak Vitamin E yang ditambahkan maka semakin banyak atom hidrogen yang dilepaskan sehingga peristiwa peroksidasi lipid tidak terjadi dan viabilitas spermatozoa tetap terjaga. Putra *et al.* (2019)

menambahkan, Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang digunakan untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas.

Perlakuan P3 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml) menunjukkan hasil viabilitas 76,98±1,67%. Hasil ini lebih rendah dari perlakuan P0 (kontrol). Hal ini diduga karena penambahan Vitamin C dan E menjadikan dosis antioksidan terlalu banyak sehingga menjadi peroksidan yang dapat merusak membran spermatozoa. Hal ini diperkuat dengan pendapat Gordon (1990) yang menyatakan bahwa dosis antioksidan yang terlalu banyak dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi yang menyebabkan antioksidan menghilang, bahkan antioksidan yang berlebihan akan menjadi peroksidan. Namun, hasil ini masih tergolong tinggi sehingga dapat digunakan untuk proses inseminasi buatan pada unggas. Hal ini diduga karena terdapat penambahan Vitamin C dan E yang dapat menjadi antioksidan untuk mencegah terjadinya radikal bebas pada spermatozoa. Sitohang *et al.* (2015) mengungkapkan bahwa Vitamin C mampu mengikat oksigen radikal dalam sel mencegah peroksidasi lipid. Vitamin C merupakan vitamin larut air yang mampu melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat stres oksidatif dengan cara menetralkan hidroksil, superoksidasi dan radikal hidrogen peroksida serta mencegah aglutinasi spermatozoa. Abdillah (2018) juga mengungkapkan bahwa penggunaan antioksidan Vitamin C dapat digunakan pada bahan pengencer SKT maupun Andromed dan penggunaan sebesar 0,2 g/100 ml bahan pengencer SKT secara efektif mencegah peroksidasi lipid. Penelitian Mayes (1995) mengungkapkan bahwa Vitamin E mempunyai kemampuan memutuskan berbagai rantai reaksi radikal bebas sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat pada radikal bebas dari asam lemak tidak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi.

PENGARUH PERLAKUAN TERHADAP ABNORMALITAS PASCA PENGECERAN

Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa yang telah diberikan perlakuan penambahan Vitamin C dan Vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur pasca pengenceran disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Abnormalitas Pasca Pengenceran

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata ± SD
	I	II	III		
	------(%)-----				
P0	10,95	9,52	12,38	32,86	10,95±1,43
P1	10,00	9,05	10,95	30,00	10,00±0,95
P2	8,57	10,00	12,86	31,43	10,48±2,18
P3	11,43	11,90	10,95	34,29	11,43±0,48

Keterangan:

P0 : tanpa penambahan vitamin (kontrol)

P1 : penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml

P2 : penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml

P3 : penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g/100 ml dan Vitamin E 0,41 g/100 ml

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan P1 (penambahan Vitamin C 0,41 g/100 ml), P2 (penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml), P3 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml) tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa. Hal ini membuktikan bahwa penambahan antioksidan Vitamin C dan E tidak memberikan pengaruh yang nyata pada abnormalitas spermatozoa pasca pengenceran.

Abnormalitas spermatozoa terjadi di tubuliseminiferi dan juga pada saat penanganan semen. Hal ini diperkuat dengan pendapat Hartono *et al.* (2020) menyatakan bahwa abnormalitas primer terjadi karena kelainan-kelainan spermatogenesis di dalam tubuliseminiferi dan gangguan testikuler. Bentuk-bentuk abnormalitas primer diantaranya kepala terlalu kecil, atau terlalu besar, memanjang, ganda, serta ekor ganda. Abnormalitas sekunder terjadi setelah spermatozoa meninggalkan tubuluseminiferi atau pada saat penanganan dalam pembuatan semen beku yang biasanya memiliki bentuk ekor putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah melipat, serta ekor bengkok. Solihati *et al.* (2006) menyatakan bahwa spermatozoa unggas memiliki bentuk kepala yang silindris memanjang dengan akrosom yang meruncing. Kepala spermatozoa unggas sedikit melengkung dan diselimuti akrosom. Ekor spermatozoa terdiri dari leher, bagian tengah dan ujung. Bagian tengah dan ekor tersusun dari mitokondria dan sitoskeleton sel.

PENGARUH PERLAKUAN TERHADAP MOTILITAS 3 JAM PENYIMPANAN

Penelitian dilanjutkan dengan mengamati motilitas spermatozoa Ayam Bangkok pada penyimpanan selama 3 jam dengan suhu 4—5°C. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa yang telah diberikan perlakuan penambahan Vitamin C dan Vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur pada 3 jam

penyimpanan disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata Motilitas 3 Jam Penyimpanan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata ± SD
	I	II	III		
P0	10	5	8	23	7,67±2,52
P1	13	10	15	38	12,67±2,52
P2	2	3	3	8	2,67±0,58
P3	8	3	5	16	5,33±2,52

Keterangan:

P0 : tanpa penambahan vitamin (kontrol)

P1 : penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml

P2 : penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml

P3 : penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g/100 ml dan Vitamin E 0,41 g/100 ml

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml dan Vitamin E 0,41 g/100 ml pengencer sitrat kuning telur tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap motilitas spermatozoa selama masa simpan 3 jam. Hal ini diduga karena penyimpanan pada suhu dingin selama 3 jam membuat spermatozoa kehabisan energi sehingga motilitasnya menjadi rendah. Hal ini didukung oleh pendapat Akredianto (2014) yang menyatakan bahwa tenaga yang dibutuhkan spermatozoa berasal dari perombakan ATP (*Adenosine Tri-Phospate*) yang berada didalam selubung mitokondria teraktifkan oleh enzim tertentu sehingga ikatan fosfat yang mengandung banyak energi terurai dan melepaskan energi, akan tetapi penyimpanan spermatozoa pada suhu dingin dan terlalu lama membuat membran spermatozoa rusak dan menyebabkan perombakan ATP hilang sehingga mengakibatkan motilitas yang rendah pada spermatozoa.

Hasil sisa metabolisme sperma berupa asam laktat juga dapat menjadi racun bagi spermatozoa sehingga menurunkan motilitasnya. Hal ini didukung oleh pendapat Setyawan *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa penyimpanan spermatozoa dalam rentang waktu yang lama akan mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa dari metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menurun menjadi asam akibat penurunan pH dalam kondisi ini dapat juga bersifat racun bagi spermatozoa sehingga dapat menyebabkan kematian spermatozoa.

Rendahnya motilitas spermatozoa pada penyimpanan dalam suhu 4—5°C selama 3 jam juga diduga disebabkan oleh toksisitas tinggi yang berasal dari spermatozoa mati yang menjadi toksik bagi spermatozoa hidup. Yulnawati dan Setiadi (2005) menjelaskan bahwa spermatozoa yang mati dan berubah menjadi toksik terhadap spermatozoa lain yang masih hidup, sehingga menyebabkan kualitas spermatozoa secara umum menurun. Bebas *et al.* (2016) mengungkapkan bahwa keberadaan zat yang bersifat toksik baik yang berasal dari spermatozoa yang telah mati maupun yang berasal dari zat yang terkandung dari pengencer yang telah mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat menyebabkan tingginya kadar radikal bebas yang dapat merusak keutuhan membran plasma spermatozoa.

PENGARUH PERLAKUAN TERHADAP VIABILITAS 3 JAM PENYIMPANAN

Viabilitas spermatozoa pada penyimpanan selama 3 jam dengan suhu 4—5°C diamati untuk mengetahui pengaruh masa simpan terhadap viabilitas. Rata-rata persentase viabilitas pada 3 jam penyimpanan disajikan dalam Tabel 6.

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan P1 (penambahan Vitamin C 0,41 g/100 ml), P2 (penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml), P3 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml) tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa selama masa simpan 3 jam. Rata-rata viabilitas yang didapatkan pada masing-masing perlakuan P0, P1, P2 dan P3 berturut-turut yaitu 49,84±2,25%; 51,59±5,72%; 43,02±5,92% dan 43,81±2,65%.

Hasil penelitian ini menunjukkan perlakuan penambahan Vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa selama masa simpan 3 jam. Hal ini diduga karena adanya penumpukan asam laktat sebagai limbah hasil metabolisme yang menjadi racun bagi spermatozoa. Hafez (2000) mengungkapkan asam laktat yang merupakan produk limbah hasil metabolisme menumpuk dan merupakan racun bagi spermatozoa yang mengakibatkan penurunan viabilitas. Hernawati *et al.* (2010) juga menyatakan bahwa viabilitas akan semakin menurun karena sumber energi yang digunakan semakin habis, selain itu juga disebabkan oleh banyaknya penumpukan asam laktat hasil metabolisme yang bersifat toksik bagi spermatozoa.

Tabel 6. Rata-rata Viabilitas 3 Jam Penyimpanan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata ± SD
	I	II	III		
	------(%)-----				
P0	48,10	52,38	49,05	149,52	49,84±2,25
P1	57,14	51,90	45,71	154,76	51,59±5,72
P2	46,67	46,19	36,19	129,05	43,02±5,92
P3	43,33	41,43	46,67	131,43	43,81±2,65

Keterangan:

P0 : tanpa penambahan vitamin (kontrol)

P1 : penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml

P2 : penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml

P3 : penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g/100 ml dan Vitamin E 0,41 g/100 ml

Masa simpan pada suhu rendah selama 3 jam juga diduga berpengaruh terhadap viabilitas spermatozoa pada penelitian ini. Masa simpan dapat mempengaruhi jumlah nutrisi dalam bahan pengencer sitrat kuning telur sehingga sel sperma akan kekurangan nutrisi yang berdampak pada menurunnya metabolisme dan berakibat pada rendahnya viabilitas spermatozoa. Wiyanti *et al.* (2013) menyatakan bahwa penyimpanan semen yang lebih lama akan semakin meningkatkan tingkat kematian spermatozoa karena rusaknya membran plasma yang berakibat pada terganggunya suplai energi spermatozoa. Ulus *et al.* (2019) mengungkapkan persentase spermatozoa yang menurun seiring dengan bertambahnya lama simpan semen dipengaruhi oleh jumlah nutrisi spermatozoa dalam pengencer ikut mengalami penurunan, sehingga viabilitas spermatozoa ayam kampung mengalami penurunan. Danang *et al.* (2012) menyatakan berkurangnya jumlah nutrisi spermatozoa disebabkan oleh penggunaan energi untuk aktivitas mekanik (gerak) dan kimiawai (biosintesa). Sesuai dengan pendapat Solihati *et al.* (2006) bahwa semakin berkurangnya cadangan makanan, dan ketidakseimbangan cairan elektrolit akibat metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan membran sel spermatozoa.

PENGARUH PERLAKUAN TERHADAP ABNORMALITAS 3 JAM PENYIMPANAN

Abnormalitas spermatozoa pada penyimpanan selama 3 jam dengan suhu 4—5°C diamati. Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa pada 3 jam penyimpanan disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata Abnormalitas 3 Jam Penyimpanan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata ± SD
	I	II	III		
	------(%)-----				
P0	11,43	11,43	8,57	31,43	10,48±1,65
P1	10,48	9,05	10,00	29,52	9,84±0,73
P2	10,00	12,38	11,43	33,81	11,27±1,20
P3	12,38	10,95	11,43	34,76	11,59±0,73

Keterangan:

P0 : tanpa penambahan vitamin (kontrol)

P1 : penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml

P2 : penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml

P3 : penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g/100 ml dan Vitamin E 0,41 g/100 ml

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan P1 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml), P2 (penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml), P3 (penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml + Vitamin E 0,41 g/100 ml) tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap persentase abnormalitas spermatozoa. Hal ini membuktikan bahwa penambahan antioksidan Vitamin C dan E tidak memberikan pengaruh yang nyata pada abnormalitas spermatozoa. Abnormalitas yang terjadi pada saat penyimpanan selama 3 jam masih tergolong normal dan layak digunakan untuk inseminasi buatan. Ihsan (2009) menyatakan semen yang dapat dipakai IB abnormalitas spermatozoanya tidak boleh lebih dari 15% dan jika abnormalitas spermatozoa lebih dari 25% akan menurunkan fertilitasnya. Toelihere (1993) juga menambahkan kelainan morfologi spermatozoa di bawah 20% masih dianggap normal.

Abnormalitas yang ditemukan pada penelitian ini yaitu kepala ganda, ekor ganda, kepala tanpa ekor, kepala bengkok, ekor putus, ekor bengkok dan ekor menggulung dengan frekuensi yang sering ditemukan adalah ekor bengkok dan menggulung. Alkan *et al.* (2002) menjelaskan bahwa kepala spermatozoa membengkak sesaat semen diejakulasikan yang diakibatkan perbedaan tekanan osmosis dan suhu sehingga sulit untuk menentukan swelled head yang abnormal. Ardhani (2015) juga menjelaskan kerusakan sekunder pada spermatozoa terjadi pada bagian kepala dan tengah sehingga pada bagian tengah terlihat melipat dan patah. Bentuk ini disebabkan karena sifat sensitif pada bagian tengah spermatozoa dan gerakan ekor. Hasil penelitian Mulyadi (2007) banyak menemukan abnormalitas dengan bentuk ekor melingkar (bending or knotting), ekor patah dan kepala tanpa ekor (*head detachment*) spermatozoa Ayam Arab. *Tail detachment* atau ekor tanpa kepala, bentuk ini juga disebabkan oleh faktor sekunder.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini yaitu:

1. Penambahan Vitamin C, Vitamin E dan kombinasi Vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur dapat mempertahankan motilitas dan viabilitas namun tidak dapat mempertahankan abnormalitas spermatozoa pasca pengenceran. Penambahan Vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur tidak dapat mempertahankan motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada 3 jam penyimpanan;
2. Penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer sitrat kuning telur memberikan pengaruh terbaik dalam mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa Ayam Bangkok pasca pengenceran.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai fertilitas dan daya tetas yang dihasilkan pada inseminasi buatan menggunakan pengencer sitrat kuning telur dengan penambahan vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah. 1996. Pengaruh Beberapa Pengencer Semen, Lama Penyimpanan Semen dan Waktu Inseminasi terhadap Fertilitas Spermatozoa Ayam Buras. Thesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Abdillah, L. 2018. Pengaruh Penambahan Antioksidan Vitamin C dan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur dan Andromed terhadap Kualitas Sperma Beku Domba Ekor Gemuk. Disertasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Akredianto, B. R. D. 2014. Pengaruh Waktu Equilibrasi terhadap Motilitas dan Viabilitas Kambing Gembrong Post Thawing dalam Pengencer Skim Kuning Telur. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Alkan, S., A. Baran, O. B. ozdaz, and M. Evecen. 2002. Morfologi defects in Turkey semen. *Journal Veteriner Animal Science*, 26(5): 1087—1092.
- Almahdi, A. B., Y. S. Ondho, and Sutopo. 2014. Comparative studies of semen quality on different breed of chicken in poultry breeding center Temanggung-Central Java. *Journal of Engineering and Science*, 3(2): 94—103.
- Apriyanto, A. S. Aku, dan R. Aka. 2020. Penampilan produksi hasil persilangan resiplokal ayam Peranakan Bangkok dan ras petelur umur 1-8 minggu. *Jurnal Ilmiah Peternakan Halu Oleo*, 2(2): 221—227.
- Ardhani, F. 2014. Karakteristik Semen dan Spermatozoa Ayam Nunukan. Penelitian Mandiri Faperta Universitas Mulawarman. Samarinda.
- Bebas, W., L. B. Geovany dan K. B. Made. 2016. Penambahan Vitamin E pada pengencer bts terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi landrace pada penyimpanan 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1) : 1—7.
- Coester, J. S., A. Sulaiman, dan M. Rizal. 2019. Daya hidup spermatozoa sapi Limousin yang dipreservasi dengan pengencer tris dan berbagai konsentrasi sari kedelai. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*, 6(2): 175—180.
- Danang, D. R., N. Insani, dan P. Trisunawati. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam Kampung dalam pengencer ringer's pada suhu 4°C. *Jurnal Ternak Tropika*, 13(1): 45—57.
- Getachew, T. 2016. A review article of artificial insemination in poultry. *World's Veterinary Journal*, 6(1): 26—35.

- Gordon, M.H., 1990. The mechanism of antioxidants action in vitro. cit : B.J.F. Hudson, editor. *Elsivier Applied Science*, 9(1): 17—23.
- Hafez, E. S. E. 2000. Semen evaluation In: *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Hartono, M. 2008. Optimalisasi penambahan vitamin e dalam pengencer sitrat kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen kambing Boer. *Jurnal Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 33(1): 11—19.
- Hartono, M., S. Suharyati, P. E. Santosa, dan Siswanto. 2020. *Buku Penuntun Praktikum Teknologi Reproduksi Ternak*. Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Hashem, E. Z., R. Haddad, and M. Eslami. 2017. Evaluation of ram semen enrichment with oleic acid on different spermatozoa parameters during low temperature liquid storage. *Small Ruminant Research*, 150(4): 30—39.
- Hastuti, Junaedi, dan A. Putra. 2021. Hubungan karakteristik morfologi tubuh dengan bobot badan Ayam Bangkok jantan. *Jurnal Veteriner*, 22(3): 360—366.
- Hernawati, T., D. H. Fevianita, M. Hariadi, dan R. Kurnijasanti. 2010. Viabilitas dan motilitas spermatozoa entok (*Cairina moschata*) dalam kombinasi bahan pengencer susu skim, fruktosa dan kuning telur. *Veterinaria Medika*, 3(1): 49—52.
- Hijriyanto, M., Dasrul, dan C. T. Thasmi. 2017. Pengaruh frekuensi penampungan semen terhadap kualitas spermatozoa pada ayam Bangkok. *JIMVET*, 1(1): 046—053.
- Ihsan, N. M., 2009. *Bioteknologi Reproduksi Ternak*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Junaedi dan Husnaeni. 2019. Kaji banding kualitas semen segar empat genetik ayam lokal Indonesia. *Jurnal Veteriner*, 20(3): 397—402.
- Junaedi, Khaeruddin, dan A. H. Fattah. 2021. Peningkatan keterampilan budidaya ternak unggas bagi peternak ayam lokal di Kabupaten Kolaka melalui bimbingan teknis inseminasi buatan dan metode persilangan. *Abdimas Galuh*, 3(1): 183—192.
- Kismiati, S. 1997. Pengaruh Interval Inseminasi terhadap Performan Reproduksi dan Heritabilitas Pertumbuhan Ayam Kedu Hitam. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kostaman, T., dan S. Sopiyan. 2017. Evaluasi Karakteristik Ejakulasi Ayam White Leghorn. Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan V: Teknologi dan Agribisnis Peternakan untuk Mendukung Ketahanan Pangan, Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Mayes, P. A., 1995, Glukoneogenesis dan Pengendalian Kadar Glukosa Darah, dalam Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., dan Rodwell, V. M., (Eds) *Biokimia Harper*, Diterjemahkan oleh Andry Hartono, Edisi XXII, 227. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Mulyadi, P. M. 2007. *Karakteristik Semen Ayam Arab, Pelung dan Wareng Tangerang*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Parker, J. E. 1972. *Reproductive Physiology in Poultry*. In: *Reproduction in Farm Animals*. 2 nd ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Putra, I. M. H., W. Bebas, M. K. Budiasa. 2019. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi Vitamin E pada pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa puyuh. *Buletin Veteriner Udayana*, 11(1): 58—64.
- Rowianti, W. O., Junaedi, dan Suparman. 2021. Pertumbuhan bobot badan ayam hasil persilangan ayam Kampung dengan ayam Bangkok. *Jurnal Sains dan Teknologi Peternakan*, 3(1): 8—11.
- Sastrodihardjo, S. dan H. Resnawati. 2003. *Inseminasi Buatan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Savitri, F. K., S. Suharyati, dan Siswanto. 2014. Kualitas semen beku sapi Bali dengan penambahan berbagai dosis vitamin C pada bahan pengencer skim kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(3): 30—36.
- Setyawan, F., T. W. Suprayogi, R. A. Prastiya, T. I. Restiadi, A. L. Saputro, dan B. Agustono. 2019. Pengaruh perbedaan waktu ekuilibrisasi sebelum pembekuan terhadap kualitas spermatozoa sapi Rambon Banyuwangi menggunakan pengencer tris kuning telur. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2): 101—107.
- Sitohang, A. G., B. Wantouw, dan E. Queljoe. 2015. Perbedaan antara efek pemberian Vitamin C dan Vitamin E terhadap kualitas spermatozoa tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah diberi paparan asap rokok. *Jurnal E-Biomedik*, 3(1): 65—71.
- Solihati, N., R. Idi, R. Setiawan, I. Y. Asmara, dan B. I. Sujana. 2006. Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5°C terhadap periode fertil dan fertilitas sperma. *Jurnal Ilmu Ternak*, 6(1): 7—11.

- Susilawati, T. 2011. Spermatologi. UB Press. Malang.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. UB Press. Malang.
- Tanii, R. Y., A. A. Dethan, dan T. I. Purwantiningsih. 2022. Pengaruh pengencer ekstrak air daun tebu dalam sitrat kuning telur terhadap viabilitas dan abnormalitas spermatozoa serta pH semen sapi Bali. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1): 56—65.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Trias, P. A. H. 2001. Kualitas sperma dan pengaruh bahan pengencer terhadap daya hidup spermatozoa domba lokal. *Buletin Pertanian dan Peternakan*, 2(3): 14—20.
- Ulus, E., E. D. Kusumawati, dan A. T. N. Krisnaningsih. 2019. Pengaruh pengencer dan lama simpan semen ayam kampung pada suhu ruang terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa. *Jurnal Sains Peternakan*, 7(1): 29—40.
- Wijaya, A. 1995. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. *Prodia Diagnostics Education Services*, 6(1): 1—6.
- Wiyanti, D.C., N. Isyani, dan P. Trisunuwati. 2013. Pengaruh lama simpan semen dalam pengencer NaCl fisiologis pada suhu kamar terhadap kualitas spermatozoa ayam Kampung (*Gallus domestic*). *Jurnal Kedokteran Hewan*, 7(1): 53—55.
- Yulnawati dan M. A. Setiadi. 2005. Motilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kucing selama penyimpanan pada suhu 4°C. *Media Kedokteran Hewan*, 21(3): 100—104.