

**PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGECER  
SITRAT KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR  
AYAM BANGKOK (*Gallus gallus domesticus*)**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Tegar Wijaya Putra  
1914141028**



**JURUSAN PETERNAKAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### **PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGECER SITRAT KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR AYAM BANGKOK (*Gallus gallus domesticus*)**

Oleh

**Tegar Wijaya Putra**

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

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF ADDITION VITAMIN C AND E IN EGG YOLK CITRATE DILUENT ON THE QUALITY OF LIQUID SEMEN BANGKOK CHICKEN (*Gallus gallus domesticus*)

By

Tegar Wijaya Putra

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 Bangkok chicken 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 (CRD) with 4 treatments and 3 replications. The treatment is P0; control, P1; addition of Vitamin C 0.2 g/100 ml of diluent, P2; addition of Vitamin E 0.41 g/100 ml diluent, P3; addition of Vitamin C 0.2 g/100 ml + Vitamin E 0.41 g/100 ml diluent. 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 of Bangkok chicken liquid semen post-dilution.

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

**PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGECER  
SITRAT KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR  
AYAM BANGKOK (*Gallus gallus domesticus*)**

**Oleh**

**Tegar Wijaya Putra**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PETERNAKAN**

**pada**

**Jurusan Peternakan  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PETERNAKAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Penelitian : **PENGARUH PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E DALAM PENGECER SITRAT KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN CAIR AYAM BANGKOK (*Gallus gallus domesticus*)**

Nama : **Tegar Wijaya Putra**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1914141028

Program Studi : **Peternakan**

Fakultas : **Pertanian**

**MENYETUJUI,**

**1. Komisi Pembimbing**

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

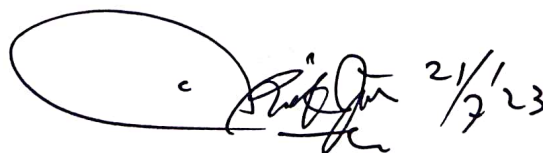


**Sri Suharyati, S.Pt., M.P.**  
NIP 196807281994022002



**Siswanto, S.Pt. M.Si.**  
NIP 197704232009121002

**2. Ketua Jurusan Peternakan**




**Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.**  
NIP 196706031993031002

## MENGESAHKAN

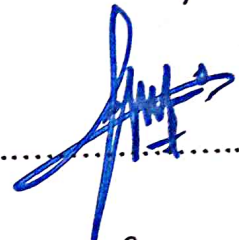
### 1. Tim Penguji

Ketua : Sri Suharyati, S.Pt., M.P.



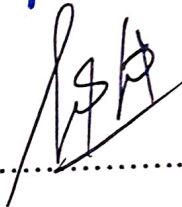
.....

Sekretaris : Siswanto, S.Pt., M.Si.



.....

Penguji  
Bukan Pembimbing : drh. Madi Hartono, M.P.



.....

### 2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Arwan Sukri Banuwa, M.Si.  
NIP. 196110201986031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 21 Juni 2023

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis berupa skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Sarjana) baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lain;
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan pembimbing;
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis dari publikasi orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dan disebutkan nama pengarang serta dicantumkan dalam Pustaka;
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi.

Bandar Lampung, 20 Juli 2023

Yang Membuat Pernyataan



Tegar Wijaya Putra

NPM 1914141028

## RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Tegar Wijaya Putra lahir di Gumawang pada 17 April 2001. Penulis merupakan anak pertama dari 2 bersaudara dari pasangan Bapak Supriyanto dan Ibu Murniati. Penulis menempuh pendidikan di TK Swadaya Sidorahayu pada 2006—2007, SD Negeri 2 Sidorahayu pada 2007—2013, SMP Muhammadiyah 2 Karang Tengah pada 2013—2016, SMA Negeri 1 Belitang pada 2016—2019 dan menempuh perkuliahan di Program Studi Peternakan, Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada 2019 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis menjadi anggota Himpunan Mahasiswa Peternakan dan Ikatan Mahasiswa OKU Timur (IKAM OKUT). Pada Januari 2020 penulis mengikuti kegiatan Magang Kerja Himapet di PT. Superindo Utama Jaya, Metro Utara, Kota Metro. Kemudian penulis diamanahkan sebagai ketua pelaksana Magang Kerja Himapet 2022. Pada Januari—Februari 2022 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Mekar Jaya, Kecamatan Belitang Madang Raya, Kabupaten OKU Timur, Sumatera Selatan. Penulis pernah mengikuti kegiatan pengabdian masyarakat “PROGRAM MATCHING FUND KEDAIREKA : Penanganan dan Pencegahan Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) pada Ternak melalui Pakan Berkualitas, Status Imunitas dan Biosecurity” di Kabupaten Pringsewu, Lampung Timur, Tulang Bawang Barat dan Mesuji pada Oktober—Desember 2022. Penulis pernah menjadi asisten dosen Anatomi dan Fisiologi Ternak serta Teknik Reproduksi Ternak. Penulis juga mengikuti program *teaching farm closed house* jurusan peternakan dan melaksanakan Praktik Umum di PT. Sumber Protein Unggul, Desa Rama Oetama, Kecamatan Seputih Raman, Kabupaten Lampung Tengah pada Juli—Agustus 2022.



## **MOTTO**

“Tetap tegar dan akan selalu tegar”

**(Tegar Wijaya Putra)**

“Jangan banyak ngeluh, malu sama nama”

**(Tegar Wijaya Putra)**

“Hidup memang tidak adil, jadi biasakan dirimu ya!”

**(Patrick Star)**

“Tidur adalah cara melarikan diri yang penuh kedamaian”

**(The SK Brook)**

“Apapun yang terjadi, tetaplah bernafas”

**(Jack Kahuna Laguna)**

## SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji syukur atas kehadiran Allah *Subhanahu wa Ta'ala* karena berkat, rahmat, nikmat, hidayah, dan inayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Penambahan Vitamin C dan E dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Cair Ayam Bangkok (*Gallus gallus domesticus*)” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Jurusan Peternakan di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.—selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung—atas izin yang diberikan;
2. Bapak Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.—selaku Ketua Jurusan Peternakan Universitas Lampung dan pembimbing akademik—atas bimbingan dan arahan yang telah diberikan;
3. Ibu Sri Suharyati, S.Pt., M.P.—selaku pembimbing utama sekaligus Ketua Program Studi peternakan—atas bimbingan, saran, nasihat, dan ilmu yang diberikan selama penyusunan skripsi;
4. Bapak Siswanto, S.Pt., M.Si.—selaku pembimbing anggota—atas bimbingan, saran, nasihat, dan ilmu yang diberikan selama penyusunan skripsi;
5. Bapak drh, Madi Hartono, M.P.—selaku pembahas sekaligus pembimbing akademik—atas arahan, bimbingan dan nasihat yang telah diberikan selama masa studi;
6. Ditjend Kemenristekdikti, atas beasiswa Bidikmisi selama penulis menempuh masa studi di Universitas Lampung;
7. Bapak Supriyanto dan Ibu Murniati atas segala doa, semangat, pengorbanan, dan kasih sayang yang tulus sehingga penulis bisa sampai di titik ini. Serta

adek Kansya Primurdiana, yang selalu memberikan dukungan serta semangat selama ini kepada penulis;

8. Mas Fadhil—selaku staf laboratorium fisiologi dan reproduksi—atas kesempatan, arahan, dan izin tempat untuk melaksanakan penelitian;
9. Seluruh dosen dan staf Jurusan Peternakan atas segala ilmu, masukan, pemikiran dan urusan administrasi selama proses pembelajaran yang dapat menambah wawasan bagi penulis;
10. Teman-teman seperjuangan kelompok penelitian reproduksi Dimas Muhammad Fadilah, Hanip Rangga Saputra, Agus Nurwahid, Mahfud Rivai, Eri Febriyansar dan Fatma Nilam Sari atas waktu, tenaga, pikiran, semangat, motivasi dan kerja sama tim dalam penelitian sehingga penulis bisa sampai pada tahap ini;
11. Penghuni Sekretariat HIMARAH (Alan, Arya, Fajriko, Galih, Malhan, Rio Saputra, Mas Arif Nur Hidayat), serta Tina, Irma, Aden, Eri, Nisa, Riyan, Rio Ramanda, Rafida Bela Saputri, Isnaini, Gita, Imam, Bintang, Nenti, Siska, Afra, Nay, Ela, Bala dan Yesi atas canda tawa dan suka dukanya;
12. Keluarga besar “Angkatan 2019, khususnya warga Keraton Genap Sejagat” atas suasana kekeluargaan dan kenangan yang indah selama ini;
13. Seluruh kakak-kakak serta adik-adik Jurusan Peternakan atas persahabatan dan motivasinya;
14. Tak lupa, terimakasih kepada diri sendiri karena sudah mampu berdiri sampai di titik ini;
15. Serta semua pihak yang telah membantu selama ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu oleh penulis.

Penulis berdoa semoga semua bantuan dan jasa yang telah diberikan kepada penulis mendapat pahala dari Allah SWT, dan semoga skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukannya.

Bandar Lampung, 17 April 2023

Penulis,

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	v
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	vi
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
1.4 Kerangka Pemikiran.....	4
1.5 Hipotesis.....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Ayam Bangkok .....	7
2.2 Inseminasi Buatan .....	8
2.3 Penampungan Semen .....	9
2.4 Pengencer Semen .....	10
2.5 Sitrat Kuning Telur .....	11
2.6 Vitamin C dan Vitamin E.....	12
2.7 Kualitas Spermatozoa.....	15
<b>III. METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	19
3.2 Alat dan Bahan.....	19
3.2.1 Alat.....	19
3.2.2 Bahan .....	19
3.3 Metode Penelitian.....	19
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	20
3.4.1 Penampungan semen.....	21
3.4.2 Evaluasi semen segar .....	21
3.4.3 Pembuatan pengencer sitrat kuning telur.....	22

3.4.4 Pengenceran semen .....	24
3.4.5 Pencampuran pengencer.....	25
3.4.6 Pemeriksaan motilitas spermatozoa .....	25
3.4.7 Pemeriksaan viabilitas spermatozoa .....	26
3.4.8 Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa .....	26
3.5 Peubah yang Diamati .....	27
3.6 Analisis Data .....	27
<b>IV. Hasil dan Pembahasan</b>	
4.1 Karakteristik Semen Segar Ayam Bangkok.....	28
4.2 Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas Pasca Pengenceran.....	31
4.3 Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas Pasca Pengenceran.....	34
4.4 Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas Pasca Pengenceran.....	38
4.5 Pengaruh Perlakuan terhadap Motilitas 3 Jam Penyimpanan .....	39
4.6 Pengaruh Perlakuan terhadap Viabilitas 3 Jam Penyimpanan .....	41
4.7 Pengaruh Perlakuan terhadap Abnormalitas 3 Jam Penyimpanan ...	42
<b>V. Kesimpulan dan Saran</b>	
5.1 Kesimpulan .....	45
5.2 Saran.....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>46</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Karakteristik semen segar Ayam Bangkok.....	28
2. Rata-rata motilitas pasca pengenceran.....	32
3. Rata-rata viabilitas pasca pengenceran .....	34
4. Rata-rata abnormalitas pasca pengenceran .....	38
5. Rata-rata motilitas 3 jam penyimpanan .....	39
6. Rata-rata viabilitas 3 jam penyimpanan.....	41
7. Rata-rata abnormalitas 3 jam penyimpanan.....	42
8. Hasil analisis ragam motilitas pasca pengenceran .....	51
9. Hasil lanjutan analisis ragam motilitas pasca pengenceran .....	51
10. Hasil uji BNT dengan taraf 1% .....	51
11. Hasil analisis ragam viabilitas pasca pengenceran.....	51
12. Hasil uji BNT dengan taraf 5% .....	51
13. Hasil analisis ragam abnormalitas pasca pengenceran.....	52
14. Hasil analisis ragam motilitas 3 jam penyimpanan.....	52
15. Hasil analisis ragam viabilitas 3 jam penyimpanan .....	52
16. Hasil analisis ragam abnormalitas 3 jam penyimpanan.....	52

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Tata letak penelitian .....	20
2. Alur penelitian.....	20
3. Ayam Bangkok .....	54
4. Penampungan semen.....	54
5. Pembuatan pengencer.....	55
6. Pengamatan motilitas .....	55
7. Pengamatan viabilitas.....	56
8. Pengamatan abnormalitas.....	56

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

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. 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 seringkali 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. 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.

Bahan pengencer diperlukan 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. Pengencer sitrat-kuning telur mengandung karbohidrat yang diperlukan spermatozoa untuk melakukan aktivitas fisiologisnya sebelum dideposisikan ke saluran reproduksi betina.

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 O<sub>2</sub> (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.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. mengetahui pengaruh penambahan Vitamin C, Vitamin E dan kombinasi Vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair Ayam Bangkok;
2. mengetahui perlakuan terbaik Vitamin C, Vitamin E dan kombinasi Vitamin C dan E yang digunakan dalam pengencer sitrat kuning telur.

## **1.3 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang pengaruh penambahan Vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur pada semen cair Ayam Bangkok, memaksimalkan penggunaan semen pejantan unggul serta memperbaiki mutu genetik Ayam Bangkok dan persilangannya.

#### 1.4 Kerangka Pemikiran

Persilangan Ayam Bangkok dilakukan secara alami dengan pejantan seadanya sehingga keturunan yang dihasilkan mempunyai mutu genetik yang kurang baik untuk itu perlu dilakukan upaya perbaikan mutu genetik ayam hasil persilangan Ayam Bangkok, salah satunya dengan melakukan inseminasi buatan. Inseminasi sebagai salah satu teknologi reproduksi sangat besar peranannya dalam meningkatkan efisiensi reproduksi ternak jantan dengan mengatasi keterbatasan jumlah pejantan unggul, serta memanfaatkan secara maksimal kapasitas reproduksi pejantan. Inseminasi Buatan merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk meningkatkan reproduktivitas dan populasi ternak. Dari semen seekor pejantan yang berkualitas dapat digunakan untuk mengawini beberapa betina. Cara ini juga dapat menurunkan penularan penyakit yang disebabkan melalui perkawinan.

Tingkat dari keberhasilan inseminasi buatan sangat dipengaruhi oleh kualitas sperma. Sperma yang disimpan semakin lama maka kualitasnya akan semakin menurun, oleh karena itu untuk mempertahankan kualitas sperma selama penyimpanan perlu penambahan bahan pengencer. Kematian sperma karena *cold shock* pada saat pendinginan dan pembekuan dapat diperkecil dengan menambahkan bahan pengencer sebagai pelindung (Hartono, 2008).

Sperma perlu dicampur dengan larutan pengencer yang menjamin kebutuhan fisik dan kimiawinya serta disimpan pada suhu dan kondisi tertentu yang mempertahankan kehidupan spermatozoa selama waktu yang diinginkan untuk kemudian dipakai sesuai kebutuhan. Syarat bahan pengencer yaitu tidak mengandung racun, mengandung nutrisi, mempertahankan PH, dan dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock*, menghambat reaksi peroksidasi lipid akibat aktivitas radikal bebas, serta dapat menambah volume semen (Susilawati,2013).

Penambahan bahan pengencer bertujuan untuk mempertahankan hidup spermatozoa selama proses pembekuan ataupun penyimpanan. Pengencer spermatozoa memiliki syarat penting yaitu sebagai penyedia makanan untuk menjadi sumber energi, dapat mencegah *cold shock* serta mencegah terbentuknya kristal es selama penyimpanan, menstabilkan PH dan tekanan osmotik agar tetap sama dengan spermatozoa (Aslam *et al.*, 2014)

Salah satu pengencer yang biasa digunakan dalam proses pengenceran semen adalah sitrat kuning telur. Menurut Evans and Maxwell (1987), sitrat kuning telur memiliki banyak kelebihan yaitu toksisitas rendah, sebagai *buffer* dan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, dapat melindungi dari *cold shock* dan sebagai sumber energi semen karena adanya gliserol, melindungi dari dehidrasi dan dapat mencegah pertumbuhan mikroba.

Membran spermatozoa dapat rusak karena adanya reaksi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah asam lemak tak jenuh yang bereaksi dengan kelompok *Reactive Oxygen Species* (ROS) berupa radikal hidroksil yang akan menyebabkan reaksi berantai. Peroksidasi lipid yang terus menerus akan menyebabkan terakumulasinya ROS dalam membran mitokondria, selanjutnya akan meningkatkan kerusakan sel (Umami, 2009). Kerusakan membran spermatozoa akibat reaktivitas ROS dapat dicegah dengan adanya senyawa antioksidan yang dapat melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki oleh radikal bebas, sehingga reaksi berantai berupa peroksidasi lipid dapat dihambat (Winarsi, 2007). Hasil penelitian Savitri *et al.* (2014) menunjukkan penambahan Vitamin C dalam pengencer dapat mempertahankan persentase motilitas spermatozoa pada sapi bali setelah ekuilibrisasi berkisar 55—58%. Abdillah (2018) mengungkapkan 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. Penambahan Vitamin C mampu meminimalkan kerusakan membran plasma sel sperma yang terjadi akibat reaksi peroksidasi.

Penambahan Vitamin E diperlukan untuk mengurangi kerusakan sel yang disebabkan lamanya penyimpanan. Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang digunakan untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (Putra *et al.*, 2019). Alawiyah dan Hartono (2006) bahwa penambahan Vitamin E dengan dosis 0,1—0,4 g/100 ml bahan pengencer cenderung meningkatkan jumlah sperma yang hidup.

Dosis penambahan Vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur yang optimal adalah 0,41g/100 ml dengan nilai motilitas sebesar 53,4% dan 0,412 g/100ml dengan nilai viabilitas sebesar 86,57%. 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 (Hartono, 2008).

Persentase motilitas semen segar di bawah 40% menunjukkan kualitas semen yang kurang baik dan berhubungan dengan infertilitas karena persentase spermatozoa yang motil dalam keadaan normal adalah 70—90 % motil (Susilawati, 2013).

## **1.5 Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. terdapat pengaruh penambahan Vitamin C, Vitamin E dan kombinasi Vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair ayam bangkok (motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa);
2. terdapat perlakuan terbaik Vitamin C, Vitamin E dan kombinasi Vitamin C dan E yang digunakan dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen cair ayam bangkok.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ayam Bangkok

Ayam Bangkok merupakan keturunan *gallus gallus* yang ada di Thailand tetapi telah lama berkembang biak di Indonesia. Keistimewaan ayam ini adalah bentuk tubuh yang ramping dan memiliki daya tahan berlaga yang tinggi, disamping itu ayam Bangkok juga mempunyai nilai ekonomis yang tinggi. Tidak mengherankan apabila peternak kemudian memeliharanya untuk kepentingan bisnis bukan sekedar hobi dan kebanggaan (Sudradjat, 1994).

Ayam Bangkok merupakan salah satu jenis ayam petarung yang memiliki postur tubuh besar, tegak, dan kuat. Ayam Bangkok dengan postur tubuh dan perototan yang padat dapat dijadikan sebagai ayam lokal pedaging. Morfologi ayam Bangkok lebih besar daripada ayam Kampung. Melalui program pemuliaan dengan seleksi dan persilangan antara ayam Bangkok dengan ayam Kampung bisa meningkatkan performans pertumbuhan ayam lokal (Mokodongan *et al.*, 2017).

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. Performans pertumbuhan ayam Kampung yang disilangkan dengan indukan ayam Bangkok dapat meningkatkan pertumbuhan bobot badan. (Rowianti *et al.*, 2021)

## 2.2 Inseminasi Buatan

Salah satu cara untuk meningkatkan produktifitas ternak adalah dengan memperkenalkan dan menerapkan teknologi reproduksi seperti inseminasi buatan (IB). Inseminasi buatan merupakan cara memasukan spermatozoa kedalam organ reproduksi betina dengan suatu alat tertentu melalui buatan manusia dan melalui proses sejak penampungan semen, penilaian, pengenceran semen, sampai penilaian hasil inseminasi buatan (Toelihere, 1993).

Inseminasi buatan adalah suatu teknologi dan proses memasukkan sperma ke dalam saluran reproduksi betina dengan tujuan agar betina bunting tanpa perlu terjadi perkawinan alami. Konsep dasar dari teknologi ini adalah bahwa seekor pejantan dapat menghasilkan sperma hingga milyaran sel kelamin jantan (spermatozoa) per ejakulasi, sedangkan untuk membuahi sel telur pada betina hanya dibutuhkan satu sel spermatozoa (Hafez, 2000).

Keberhasilan IB pada ayam tergantung pada beberapa faktor, antara lain: strain ayam, umur ayam, bahan pengencer dalam penyimpanan semen, derajat pengenceran atau dosis inseminasi, kualitas semen, deposisi semen, dan waktu inseminasi (Ridwan dan Rusdin, 2008).

Tingkat keberhasilan perkawinan dengan IB sangat dipengaruhi oleh kualitas sperma. Kualitas sperma sesudah penampungan akan mengalami penurunan apabila tidak segera digunakan. Sperma yang tidak diencerkan dan disimpan selama sehari fertilitasnya akan menurun, oleh karena itu untuk mempertahankan kualitas sperma selama penyimpanan dan pembekuan adalah dengan penambahan bahan pengencer (Hartono, 2008).

Inseminasi Buatan memerlukan pengolahan semen agar dapat disimpan dan digunakan dalam waktu yang cukup lama. Selama proses pengenceran dan penyimpanan, masalah yang sering terjadi adalah kerusakan pada membran plasma semen akibat terbentuknya peroksida lipid (Putra *et al.*, 2019).

### 2.3 Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan dengan metode pengurutan di bagian punggung (*dorsal*). Menurut Toelihere (1985), pengurutan (*massage*) dilakukan dengan memijat punggung ayam jantan sampai pangkal ekor dengan jemari tangan kanan, kemudian diteruskan naik sampai kebagian ekor. Telapak tangan kolektor membentuk sudut 30—40° dari punggung ayam jantan. Perabaan harus halus dan tepat agar ayam terangsang sehingga ekor terangkat, kaki agak meregang, kloaka membuka dan terlihat sepasang papila (*phallus*) menonjol. Tangan kanan secara cepat memfiksir, menggenggam dan sedikit mengangkat pangkal ekor, jari tengah dan ibu jari menekan dasar kloaka dan tetap menahan agar kedua papila tetap menonjol. Semen segera ditampung dengan menggunakan tabung ukur dan segera dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis.

Penampungan semen dilakukan dengan menggunakan metode *massage*.

Penampungan semen dilakukan dengan cara sebagai berikut : terlebih dahulu bulu disekitar kloaka dicukur, bagian sekitar bibir dan kloaka tersebut dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan tisu yang dibasahi dengan alkohol 70%.

Selanjutnya dipasang tabung sebagai *artificial cloaca* yang diikatkan pada punggung ayam, kemudian dilakukan *massage* pada pejantan ayam bangkok dengan cara mengurut dari bagian punggung sampai kearah kloaka, dalam beberapa saat ejakulasi akan terjadi dan semen tertampung dalam tabung *artificial cloaca* (Malecki and Martin, 2002).

Penampungan semen dilakukan oleh dua orang. Seorang memegang ayam dengan tangan kiri sambil mengurut bagian punggung ayam untuk merangsang keluarnya semen, dan seorang lagi menyiapkan tabung penampung semen berskala dan tisu pembersih kotoran ayam. Pengurutan dilakukan beberapa kali sampai terjadinya rangsangan pada ayam yang ditandai dengan peregangan tubuh ayam dan keluarnya *papillae* dari *proktodaeum* kloaka. Saat ereksi mencapai maksimal, tangan kanan dan kiri orang yang melakukan pengurutan bekerjasama



memerah semen. Pada saat yang sama, orang kedua bersiap-siap menampung semen dengan tabung penampung berskala (Junaedi dan Husnaeni, 2019).

## 2.4 Pengencer Semen

Pengenceran semen dilakukan sebelum proses pembekuan semen. Tujuan dari pengenceran semen yaitu untuk meningkatkan dan memperbanyak volume semen serta menunjang daya hidup spermatozoa. Syarat bahan pengencer semen yaitu memiliki kandungan nutrisi yang baik yang dijadikan sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa (Toelihere, 1985).

Semen beku yang berkualitas tinggi membutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing* (Aboagla and Terada, 2004).

Bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, bahan anti *cold shock*, antibiotik dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa selama proses pembekuan dan *thawing*. Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa (Toelihere, 1993).

*Buffer* berfungsi sebagai pengatur tekanan osmotik dan juga berfungsi menetralkan asam laktat yang dihasilkan dari sisa metabolisme spermatozoa. *Buffer* yang umum digunakan adalah *tris (hydroxymethyl) aminomethane* yang mempunyai kemampuan sebagai penyangga yang baik dengan toksisitas yang rendah dalam konsentrasi yang tinggi (Steinbach and Foote, 1967).

Beberapa bahan pengencer yang umum digunakan dalam pengencer semen adalah kuning telur, susu, dan air kelapa. Larutan pengencer semen yang memiliki komposisi kimia lebih lengkap akan memberikan fungsi yang baik bagi spermatozoa yang diencerkan (Ridwan, 2007).

Bahan anti *cold shock* yang umum ditambahkan adalah kuning telur yang dapat melindungi spermatozoa pada saat perubahan suhu dari suhu ruang (28°C) pada saat pengolahan ke suhu ekuilibrase (5°C) (Aboagla dan Terada, 2004).

## 2.5 Sitrat Kuning Telur

Salah satu bahan pengencer yang dapat ditambahkan dalam pengencer semen ayam adalah sitrat kuning telur, karena 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 (Trias, 2001).

Di dalam sitrat kuning telur terdapat *buffer* yang dapat mempertahankan dan mengatur pH. Sistem *buffer* ini berperan melindungi spermatozoa dari perubahan pH yang tiba-tiba, yang dapat merusak daya hidup sel spermatozoa (Evans and Maxwell, 1987).

Kuning telur terdiri atas 49% air, protein 16,5%, lemak 32% dan hidrat arang 1%. Lemak kuning telur terdiri atas gliserida 62%, *phospolipid* 33% dan kolesterol 5%. *Phospolipid* terdiri atas *lechitine* 73% dan *cephalin* 15% (Susilawati, 2013).

Kuning telur sebagai pengencer, mengandung *lipoprotein* dan *lecithin* yang mempertahankan dan melindungi integritas selubung protein dari spermatozoa dan mencegah *cold shock*. Kuning telur juga mengandung glukosa sebagai sumber energi bagi spermatozoa disamping protein dan vitamin-vitamin yang larut dalam air atau minyak, serta mempunyai viskositas yang mungkin menguntungkan spermatozoa (Toelihere, 1993).

*Lipoprotein* dan *lecithin* yang terkandung di dalam telur mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dari sel spermatozoa. Kuning telur juga mengandung glukosa, yang lebih baik digunakan oleh spermatozoa sapi untuk

metabolismenya daripada fruktosa yang terdapat di dalam semen, berbagai protein, vitamin-vitamin yang larut dalam air maupun yang larut dalam minyak, dan memiliki viskositas yang mungkin menguntungkan spermatozoa. Kuning telur mengandung asam-asam amino *L-tyrosin*, *Ltryptohan*, dan *L-phenilalanin* yang menghasilkan hydrogen peroksida pada deaminasi oksiatif (Susilawati, 2013).

Lesitin yang terkandung di dalam kuning telur ayam berperan penting dalam melapisi membran sel spermatozoa dengan mempertahankan susunan *fosfolipid bilayer* sel spermatozoa. Kerusakan spermatozoa pada saat proses pengolahan semen terjadi dikarenakan 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 (Coester *et al.*, 2019).

## **2.6 Vitamin C dan Vitamin E**

Salah satu antioksidan yang telah digunakan adalah Vitamin E atau  $\alpha$  tokoferol. 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 (Mayes, 1995).

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 (Abdillah, 2018).

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 (Sitohang *et al.*, 2015).

Kerusakan sel yang disebabkan lamanya penyimpanan dapat dikurangi dengan penambahan Vitamin E. Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang digunakan untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (Putra *et al.*, 2019).

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 (Wijaya, 1995).

Penambahan Vitamin C dalam pengencer dapat mempertahankan persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrase berkisar 55—58%. Dosis penambahan 3,50 mM Vitamin C memiliki persentase motilitas spermatozoa (58,33%) tertinggi dibandingkan dengan dosis penambahan Vitamin C yang lain (Savitri *et al.*, 2014).

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 (Hartono, 2008).

Inseminasi Buatan memerlukan pengolahan semen agar dapat disimpan dan digunakan dalam waktu yang cukup lama. Selama proses pengenceran dan penyimpanan, masalah yang sering terjadi adalah kerusakan pada membran plasma semen akibat terbentuknya peroksida lipid (Putra *et al.*, 2019).

Vitamin E diperlukan untuk mengurangi kerusakan sel yang disebabkan lamanya penyimpanan. Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang digunakan

untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (Putra *et al.*, 2019).

Semakin besar dosis Vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur dengan dosis terbesar 0,5 g/100ml maka kualitas semen cair yang disimpan selama 18 jam semakin baik dengan nilai motilitas sebesar  $59,37 \pm 8,00$  %; dan viabilitas  $89,46 \pm 1,12$  %. Pada pembekuan dosis penambahan Vitamin E dalam pengencer SKT yang optimal adalah 0,41g/100 ml dengan nilai motilitas sebesar 53,4% dan 0,412 g/100ml dengan nilai viabilitas sebesar 86,57%. 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 (Hartono, 2008).

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 motilitas spermatozoa (Hashem *et al.*, 2017).

Penggunaan antioksidan akan lebih bermanfaat apabila digunakan lebih dari satu jenis antioksidan dan telah dibuktikan bahwa kombinasi dua antioksidan bersama-sama mampu menghambat terjadinya katalisis pada proses oksidasi. Dosis antioksidan yang terlalu banyak dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi yang menyebabkan aktivasi antioksidan menghilang, bahkan antioksidan yang berlebihan akan menjadi peroksidan. Ketika pembekuan spermatozoa tidak tahan terhadap tekanan pembentukan kristal es, tekanan osmotik dan pembentukan radikal bebas selama pembekuan sampai pencairan kembali (Gordon, 1990). Krioprotektan berfungsi untuk melindungi dari keadaan *cold shock* dan kerusakan sel akibat pembentukan kristal es. Ketidakseimbangan cairan dalam sel sperma juga menyebabkan sel mengalami dehidrasi tinggi selama pembekuan sehingga diperoleh banyak spermatozoa mati. Dehidrasi sel sperma meningkat pada lingkungan hiperosmotik sehingga mengganggu metabolisme spermatozoa (Raynardia, 2017).

## 2.7 Kualitas Spermatozoa

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 (Solihati *et al.*, 2016).

Secara makroskopis volume semen Ayam Bangkok ( $0,31 \pm 0,01$  mL/ejakulasi) Jumlah volume per ejakulasi, dapat langsung diamati pada tabung yang berskala. Volume semen tergantung dari breed, spesies dan metode penampungan (Junaedi dan Husnaeni, 2019).

Rataan volume semen yang dihasilkan pada Ayam Bangkok berkisar antara 0,167—0,178 ml (Hijriyanto *et al.*, 2017). Semen ayam memiliki volume berkisar antara 0,3—0,5 ml per ejakulat (Toelihere, 1985). Volume semen ayam berkisar 0,11—1 ml (Kismiati, 1997).

Volume semen yang didapat tergantung dari *breed*, spesies dan metode penampungan. Volume yang ditampung dengan metode pemijatan akan lebih banyak, jika dibandingkan dengan penampungan semen saat perkawinan alami (Hijriyanto *et al.*, 2017). Volume semen pada saat kawin alami adalah 0,35 ml, sedangkan untuk metode pemijatan adalah 0,88 ml (Parker, 1972).

Hasil pengamatan warna dan konsistensi semen ayam bangkok dengan frekuensi penampungan yang berbeda menunjukkan hasil yang sama yaitu berwarna putih susu dan konsistensi kental (Hijriyanto *et al.*, 2017). Warna semen ayam bangkok normal adalah putih susu (Alhmadi, 2014). Kekentalan dan menginterpretasikan bahwa konsentrasi spermatozoa tinggi (Junaedi dan Husnaeni, 2019).

Spermatozoa dalam suatu kelompok cenderung bergerak bersama-sama ke suatu arah. Gerakan spermatozoa menunjukkan gelombang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari konsentrasi sperma hidup didalamnya. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa yang bergerak maka gerakan masa semakin bagus. Gerakan masa berkisar antara baik (++) dan sangat baik (++) (Danang *et al.*, 2012).

Pengamatan nilai pH semen ayam bangkok dengan frekuensi penampungan yang berbeda menunjukkan yang menunjukkan hasil dengan rata-rata 6,8 (Hijriyanto *et al.*, 2017). pH netral 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 peninggian suhu dan penambahan waktu (Abdillah, 1996).

Spermatozoa ayam memiliki nilai konsentrasi berkisar antara 1,75—3 milyar sel/ml (Sastrodihardjo dan Resnawati, 2003). Konsentrasi spermatozoa ayam berkisar antara 0,03—11 milyar sel/ml (Toelihere, 1993).

Konsentrasi spermatozoa yang rendah dapat menurunkan kualitas spermatozoa. Konsentrasi spermatozoa tergantung pada umur, bangsa ternak, dan bobot badan serta frekuensi penampungan dan konsentrasi spermatozoa adalah salah satu karakteristik yang diturunkan dari induk ke anaknya (Junaedi dan Husnaeni, 2019). Volume semen unggas biasanya relatif sedikit sedangkan konsentrasinya cukup tinggi, tergantung dari tiap bangsa dan individu (Toelihere, 1985).

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 (Kostaman dan Sopiyan, 2017).

Motilitas terendah yang harus dimiliki semen untuk inseminasi buatan adalah 40% (Solihati *et al.*, 2006). Tingkat keberhasilan IB salah satunya didukung oleh kemampuan dan kualitas produksi semen pada ayam lokal jantan adalah 0,2—0,5 mL dan persentase motilitas sebesar 60—80% dengan kemampuan hidup antara 85—90% (Getachew, 2016)

Persentase motilitas semen segar di bawah 40% menunjukkan kualitas semen yang kurang baik dan berhubungan dengan infertilitas karena persentase spermatozoa yang motil dalam keadaan normal adalah 70—90% motil (Susilawati, 2013).

Abnormalitas dapat diamati dengan cara membuat preparat ulas menggunakan larutan pewarnaan, kemudian dihitung dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x40. Jumlah spermatozoa yang diamati minimal 200 sel. Persentase abnormalitas spermatozoa Ayam Kampung merupakan perbandingan jumlah spermatozoa abnormal dengan jumlah spermatozoa yang diamati (Nugroho dan Saleh, 2015).

Semen yang dapat dipakai IB abnormalitas spermatozoanya tidak boleh lebih dari 15% dan jika abnormalitas spermatozoa lebih dari 25% akan menurunkan fertilitasnya (Ihsan, 2009). Kelainan morfologi spermatozoa di bawah 20% masih dianggap normal (Toelihere, 1993). Abnormalitas pada spermatozoa dikelompokkan menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan sekunder. 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. Sedangkan 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 (Hartono *et al.*, 2020).



Penyimpanan semen yang lebih lama akan semakin meningkatkan tingkat kematian spermatozoa karena rusaknya membran plasma yang berakibat pada terganggunya suplai energi spermatozoa (Wiyanti *et al.*, 2013). 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 (Ulus *et al.*, 2019). Berkurangnya jumlah nutrisi spermatozoa disebabkan oleh penggunaan energi untuk aktivitas mekanik (gerak) dan kimiawai (biosintesa) (Danang *et al.*, 2012). Semakin berkurangnya cadangan makanan, dan ketidakseimbangan cairan elektrolit akibat metabolisme spermatozoa dapat menyebabkan kerusakan membran sel spermatozoa (Solihati *et al.*, 2006).

Tenaga yang dibutuhkan spermatozoa berasal dari perombakan ATP (*Adenosine Tri-Phosphate*) 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 enzim untuk merombak ATP hilang sehingga mengakibatkan motilitas yang rendah pada spermatozoa (Akredianto, 2014).

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 (Setyawan *et al.*, 2019).

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 (Hernawati *et al.*, 2019).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

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

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

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*.

##### **3.2.2 Bahan**

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.

#### **3.3 Metode Penelitian**

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 (Abdillah, 2018)

P2 : Penambahan Vitamin E 0,41 g/100 ml pengencer (Hartono, 2008)

P3 : Penambahan kombinasi Vitamin C 0,2 g dan Vitamin E 0,41 g dalam 100 ml pengencer

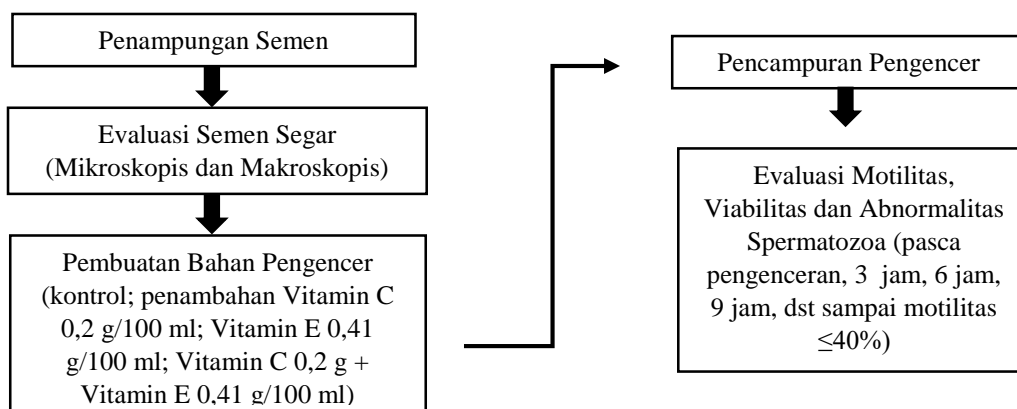
Berdasarkan perlakuan yang diberikan, maka penelitian dilakukan dengan mengevaluasi 16 sampel semen. Tata letak penelitian disajikan pada Gambar 1.

P0U1	P1U1	P3U2	P2U2
P2U4	P1U3	P0U3	P1U3
P1U2	P0U2	P2U3	P3U1
P3U3	P1U4	P2U1	P0U4

Gambar 1. Tata letak penelitian

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Reproduksi Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang meliputi penampungan semen Ayam Bangkok, proses pembuatan pengencer sitrat kuning telur, proses pengenceran semen dan pemeriksaan kualitas semen pasca pengenceran dan setiap 3 jam penyimpanan hingga motilitasnya  $\leq 40\%$ . Alur penelitian ini disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Alur penelitian

### 3.4.1 Penampungan semen

Cara menampung semen pada ayam:

1. menyiapkan Ayam Bangkok pejantan yang akan ditampung spermanya;
2. memastikan area kandang penampungan dalam keadaan bersih;
3. memegang ayam pada kedua pahanya dengan tangan kiri;
4. mencukur bulu-bulu disekitar kloaka ayam;
5. membersihkan bagian sekitar kloaka dengan *tissue*;
6. memasang tabung sebagai *artificial cloaca* yang diikatkan pada punggung ayam;
7. melakukan *massage* pada pejantan ayam bangkok dengan cara mengurut dari bagian punggung sampai kearah kloaka;
8. pengurutan dilakukan beberapa kali sampai terjadinya rangsangan pada ayam yang ditandai dengan peregangan tubuh ayam dan keluarnya *papillae* dari *proktodaeum* kloaka.
9. dalam beberapa saat ejakulasi akan terjadi dan semen tertampung dalam tabung *artificial cloaca* (Malecki and Martin, 2002).

### 3.4.2 Evaluasi semen segar

Evaluasi semen segar dilakukan segera setelah semen ditampung dari pejantan. Evaluasi semen dilakukan untuk mengetahui semen yang ditampung layak atau tidak untuk dilakukan proses selanjutnya. Evaluasi semen meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis.

Pemeriksaan makroskopis:

1. volume;
2. warna (putih susu, krem, kuning);
3. kekentalan (encer, sedang, kental);
4. bau (khas);
5. pH (hasil dari pengukuran Ph meter).

Pemeriksaan mikroskopis:

1. menyalakan mikroskop, layar monitor dan *slide warmer*;
  2. menyiapkan NaCl fisiologis 0,9% dalam *beaker glass*, *stick glass*, pipet, *object glass*, *cover glass* dan *tissue*;
  3. melakukan pemeriksaan gerakan massa sperma
    - a. meneteskan semen menggunakan *stick glass* di atas *object glass*.
    - b. melihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10 sambil mengatur jarak lensa dengan objek yang dilihat sehingga terlihat gerakan massa semen, dan dilakukan penilaian sebagai berikut:
      - 0 : tidak ada gerak spermatozoa maupun gerak massa sperma
      - +
 : gerakan massa sperma lemah berupa gelombang tipis dan jarang
    - ++ : gerakan massa sperma cepat berupa gelombang tebal dan gelap
    - +++ : gerakan massa sperma sangat cepat berupa gelombang gelombang tebal dan gelap

Semen segar yang layak diproses lebih lanjut adalah semen dengan nilai gerakan massa minimal (+ +);
4. melakukan pemeriksaan motilitas sperma;
5. mengencerkan semen dengan NaCl Fisiologis (satu tetes semen ditambah 4 tetes NaCl sesuai kekentalan semen) kemudian ditutup dengan *cover glass*. Melihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 20x10 dan 10x10;
6. mengamati motilitas sperma dengan cara menilai sperma yang bergerak maju. Pengamatan dilakukan pada minimal 5 bidang pandang. Semen segar yang layak diproduksi adalah yang memiliki motilitas sperma  $\geq 70\%$  (BIB Poncowati, 2012).

### 3.4.3 Pembuatan pengencer sitrat kuning telur

Pembuatan pengencer sitrat kuning telur dilakukan yaitu pembuatan *buffer* dan pembuatan pengencer. Langkah yang dilakukan yaitu:

## 1. Pembuatan *buffer*

Pembuatan *buffer* dilakukan dengan cara:

- a. menimbang 2,9 g Na-sitrat kemudian memasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer;
- b. menambahkan fruktosa 2,5%
- c. mengaduk semua bahan agar homogen kemudian menambahkan *aquabidest* hingga 100 ml dan mengaduk hingga rata, selanjutnya dipanaskan hingga suhu 92°C dan dinginkan pada suhu kamar;
- d. menambahkan antibiotik *penicillin* 3 ml dan *streptomycin* 1 ml kemudian mengaduk hingga merata (BIB Lembang, 2012).

## 2. Pembuatan pengencer

Pembuatan pengencer sitrat kuning telur dilakukan dengan cara:

- a. menyiapkan telur segar dan membersihkan kulitnya menggunakan kapas beralkohol 70%;
- b. memecahkan kulit telur hingga 1/3—1/2 bagian menggunakan pinset steril;
- c. membuang semua cairan putih telur, kuning telur yang utuh dan terbungkus selaput vitelin dipindahkan keatas kertas hisap untuk menghilangkan cairan putih telur yang tersisa;
- d. memecahkan selaput vitelin dan mengalirkan kuning telur kedalam gelas ukur tanpa selaput vitelinnya sebanyak 20 ml;
- e. menuangkan kuning telur yang telah ditimbang kedalam Erlenmeyer kemudian menambahkan larutan *buffer* sebanyak 74 ml dan mengaduk hingga rata (BIB Lembang, 2012).

### 3.4.4 Pengenceran semen

Pengenceran semen dilakukan dengan rumus:

$$Z = \frac{(a \times b \times c)}{d}$$

Keterangan :

Z : volume semen setelah diencerkan

a : volume sperma yang akan diencerkan

b : motilitas (%)

c : konsentrasi sperma per ml

d : dosis IB

(Hartono *et al.*, 2020)

Dilanjutkan dengan cara:

1. membagi SKT menjadi 4 bagian, dengan volume masing-masing sebanyak 100 ml;
2. menimbang dosis vitamin C dan E sesuai dengan perlakuan yang akan dilakukan;
  - P0 : pengencer SKT
  - P1 : Pengencer SKT + vitamin C 0,2 g/100 ml
  - P2 : Pengencer SKT + vitamin E 0,41 g/100 ml
  - P3 : Pengencer SKT + vitamin C 0,2 g/100 ml + vitamin E 0,41 g/100 ml
3. mencampurkan vitamin C, vitamin E dan kombinasi keduanya pada labu ukur sampai homogen;
4. memindahkan larutan kedalam Erlenmeyer, kemudian menyimpan larutan ke dalam lemari es dengan suhu 4—5°C dan menutup tabung menggunakan aluminium foil (BIB Poncowati, 2012).

### 3.4.5 Pencampuran pengencer

Sitrat kuning telur dengan Vitamin C dan Vitamin E Pengencer dibagi menjadi 4 bagian dengan volume sama banyak kemudian menambahkan Vitamin C dan E dengan dosis ( Vitamin C 250 mg), (Vitamin E 0,41 g), (Vitamin C 250 mg dan Vitamin E 0,41 g ) pada masing-masing pengencer, mengaduk hingga merata. Semen kemudian disimpan dan diamati setiap 24 jam hingga motilitasnya mencapai 40%. Menurut Iswati *et al.* (2017), dosis semen yang dipakai untuk melakukan inseminasi buatan pada unggas betina yaitu 0,2 ml per ekor dengan jumlah konsentrasi 20 juta/dosis IB. Menurut Mumu (2009), cara menghitung jumlah pengencer yaitu:

$$\text{Jumlah pengencer (ml)} = \frac{\text{volume semen} \times \% \text{ motilitas} \times \text{konsentrasi}}{\text{dosis straw}} \times \text{volume}$$

Semen yang telah dicampur dengan pengencer kemudian disimpan dalam refrigerator dengan suhu 5°C selama 3 jam sampai motilitas  $\leq 40\%$ .

### 3.4.6 Pemeriksaan motilitas spermatozoa

Pemeriksaan motilitas individu spermatozoa dapat diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x pada suhu yang dijaga konstan 37°C dengan menggunakan *cover glass*, kemudian menentukan proporsi (persentase) spermatozoa yang bergerak progresif dengan satuan persen (%).

Klasifikasi gerak individu spermatozoa antara lain:

1. gerak maju yang merupakan indeks daya hidup terbaik;
2. gerak mundur dan gerak melingkar merupakan tanda-tanda *cold shock*;
3. gerakan berayun atau berputar-putar di tempat sering terlihat pada semen yang tua;
4. apabila spermatozoa banyak yang berhenti bergerak maka dianggap mati (Susilawati, 2011).



### 3.4.7 Pemeriksaan viabilitas spermatozoa

Pemeriksaan viabilitas dilakukan dengan cara:

1. meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas objek;
2. meneteskan semen yang telah dicampur dengan bahan pengencer tris kuning telur secara berturut-turut (P0, P1, P2 dan P3);
3. menempelkan ujung gelas objek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek;
4. mengeringkan preparat ulas dengan cara menggerakkan di atas nyala lilin atau pemanas Bunsen;
5. memeriksa spermatozoa yang hidup dan mati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran sedang (10x40) spermatozoa yang hidup tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah atau merah muda. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 210 sel;
6. menurut Azzahra *et al.*, (2016) menghitung viabilitas spermatozoa dengan rumus:

$$\text{Viabilitas spermatozoa} = \frac{\text{jumlah sperma hidup}}{\text{jumlah sperma diamati}} \times 100\%$$

### 3.4.8 Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa

Pemeriksaan persentase abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara:

1. meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas objek;
2. meneteskan semen yang telah dicampur dengan bahan pengencer secara berturut-turut (P0, P1, P2 dan P3);
3. menempelkan ujung gelas objek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek;
4. mengeringkan preparat ulas dengan cara menggerakkan di atas nyala lilin atau pemanas Bunsen;

5. memeriksa sperma yang abnormal bisa dilakukan dengan perbesaran sedang (10x40). Spermatozoa yang abnormal ditandai dengan bentuk sperma tanpa kepala, kepala tanpa ekor, ekor melingkar, kepala ganda. Jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 210 sel;
6. menurut Ridwan (2007), menghitung sperma abnormal dapat dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Abnormalitas spermatozoa} = \frac{\text{jumlah sperma abnormal}}{\text{jumlah sperma diamati}} \times 100\%$$

### **3.5 Peubah yang Diamati**

Peubah yang diamati adalah:

1. motilitas spermatozoa;
2. viabilitas spermatozoa;
3. abnormalitas spermatozoa.

### **3.6 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.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. penambahan Vitamin C, Vitamin E dan kombinasi Vitamin C dan 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 spermatozoa pasca pengenceran. Penambahan Vitamin C dan E dalam pengencer sitrat kuning telur tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap motilitas, viabilitas dan abnormalitas pada 3 jam penyimpanan;
2. penambahan Vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer sitrat kuning telur memberikan pengaruh terbaik terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa Ayam Bangkok pasca pengenceran.

### 5.2 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. Tesis. 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.
- Aboagla, E. M. E. and T. Terada. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*, 62(6): 1160—1172.
- 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.
- Alawiyah, D. dan M. Hartono. 2006. Pengaruh penambahan Vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing Boer. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*, 31(1): 8—14.
- Alkan, S., A. Baran, O. B. ozdas, 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.

- Aslam, H. A., Dasrul, dan Rosmaidar. 2014. Pengaruh penambahan Vitamin C dalam pengencer Andromed terhadap persentase motilitas dan membran plasma utuh spermatozoa sapi Aceh setelah pembekuan. *Jurnal Medika Veterinaria*, 8(1): 20—26.
- 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.
- Evans, G. and W. M. C. Maxwell. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butter worth. London.
- 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.
- 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.
- Iswati, N. Isnaini, dan T. Susilawati. 2017. Fertilitas spermatozoa ayam buras dengan penambahan antioksidan glutathione dalam pengencer ringer's selama simpan dingin. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*, 27(1): 107—115.
- Junaedi dan Husnaeni. 2019. Kaji banding kualitas semen segar empat genetik ayam lokal Indonesia. *Jurnal Veteriner*, 20(3): 397—402.
- 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.
- Malecki, I. and G. B Martin. 2002. Semen Collection in The Emu and Ostrich. Proceedings of the World Ostrich Congress. Warsaw. Polandia.
- 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. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Mokodongan, A. R., F. Nangoy, J. R. Leke, dan Z. Poli. 2017. Penampilan pertumbuhan ayam Bangkok starter yang diberi pakan dengan level protein berbeda. *Jurnal Zootek*, 37(2): 426—435.
- Mulyadi, P.M. 2007. Karakteristik Semen Ayam Arab, Pelung dan Wareng Tangerang. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mumu, M. I. 2009. Viabilitas semen sapi Simental yang dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol. *Jurnal Agroland*, 16(2): 172—179.
- Nugroho, A. P. dan D. M. Saleh. 2016. Motilitas dan abnormalitas spermatozoa ayam Kampung dengan pengencer ringer laktat – putih telur dan lama simpan pada suhu 5°C selama 48 jam. *Acta Veterina Indonesiana*, 4(1): 35—41.
- Parker, J.E. 1972. Reproductive physiologi in poultry. In: Reproduction in Farm Animals. 2nd ed. Lea and Febiger. Philadelphia.

- Putra, I. M. H., W. Bebas., dan 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.
- Raynardia, Y. L. 2017. Pengaruh perbedaan level krioprotektan DMA terhadap pembekuan sperma ayam. *Journal of Livestock Science and Production*, 1(1): 12—17.
- Ridwan. 2007. Pengaruh pengencer semen terhadap abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing lokal pada penyimpanan suhu 5°C. *Jurnal Agroland*, 16 (2): 187—92.
- Ridwan dan Rusdin. 2008. Konservasi semen ayam buras menggunakan berbagai pengencer terhadap fertilitas dan periode fertil spermatozoa pasca inseminasi buatan. *Jurnal Agroland*, 15(1): 63—67.
- 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 ekuilibrasi 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.
- Steinbach, J. and R. H. Foote. 1967. Osmotic pressure and pH effects on survival of frozen or liquid spermatozoa. *Jurnal Dairy Science*, 50(2): 205—213.
- Sudradjat. 1994. Ayam Bangkok. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.

- 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. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- 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.
- Umami, H. M. 2009. Pengaruh Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Jumlah Spermatozoa Mencit Hiperlipidemia. Laporan Penelitian. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius. Yogyakarta.
- 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.