

PENGARUH FREKUENSI PENAMPUNGAN SEMEN TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA PADA AYAM BANGKOK

The Effect of Frequency Semen Collection on Spermatozoa Quality of Bangkok's Chicken

Muhammad Hijriyanto¹ Dasrul², Cut Nila Thasmi²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: dasrul_darni@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh frekuensi penampungan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam bangkok. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Unsyiah pada bulan Desember 2015 sampai Januari 2016. Sembilan ekor ayam bangkok jantan berumur 10-12 bulan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yaitu penampungan semen satu kali per minggu (A), dua kali per minggu (B), dan tiga kali per minggu (C). Pengamatan kualitas semen meliputi evaluasi makroskopis (warna, pH, volume, dan konsistensi semen), dan evaluasi mikroskopis (gerakan massa, motilitas, konsentrasi dan abnormalitas) menurut metode BIB Lembang. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Variant* (ANOVA). Hasil pengamatan kualitas semen ayam bangkok untuk seluruh peubah yang diamati tidak menunjukkan perbedaan nyata terhadap ketiga frekuensi penampungan ($P > 0,05$). Penampungan semen satu kali per minggu, dua kali per minggu, dan tiga kali per minggu menghasilkan kualitas semen ayam bangkok yang sama. Dapat disimpulkan bahwa frekuensi penampungan semen tidak berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa ayam bangkok.

Kata kunci: ayam bangkok, semen, frekuensi ejakulasi

ABSTRACT

The purpose of this research was to find out the effect ejaculation frequency on quality of Bangkok Rooster spermatozoa. This research was conducted at Reproduction Laboratory, University of Syiah Kuala from December 2015 to January 2016. Nine bangkok chickens were randomly divided into three treatments of semen collection interval. Semen was collected once a week (A), twice a week (B), and three times a week (C). Variables observed were macroscopic (color, pH, volume, and consistency) and microscopic (mass activity, motility, sperm concentration and abnormality) according to the BIB Lembang method. The data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA). The results showed that the frequency of semen collection in 1, 2 and 3 times a week had no influence on quality of semen ($P > 0,05$). Frequency of semen collection no had influence do on spermatozoa quality in bangkok chickens.

Keyword: bangkok chicken, semen, ejaculation frequency

PENDAHULUAN

Ayam bangkok umumnya dipelihara sebagai ayam aduan, selain itu harga ayam bangkok jantan sangatlah tinggi dibandingkan dengan ayam lainnya. Rahayu dkk. (2010) menyatakan bahwa pada awalnya ayam bangkok didatangkan dari pulau Jawa ataupun dari luar daerah lain, sehingga kini telah banyak dikembangkan di Aceh. Peternak pada umumnya memelihara ayam bangkok secara khusus dan mengontrol sistem perkawinannya agar sifat sebagai ayam aduan senantiasa terjaga (Kaisiri, 2005).

Perkembangan usaha ayam bangkok dapat dipacu dengan inovasi teknologi Inseminasi Buatan (IB) dengan pola pemeliharaan ke arah intensifikasi (Ankanegara, 2011). Inseminasi buatan pada ayam merupakan suatu proses pemasukan semen ke dalam saluran reproduksi ayam betina dengan bantuan manusia (Toelihere, 1993). Menurut Sastrodihardjo (1996) keuntungan pemanfaatan teknik IB adalah untuk meningkatkan efisiensi penggunaan jantan,

menanggulangi rendahnya fertilitas akibat kawin alam, untuk mengetahui dengan jelas dan pasti asal usul induk dan pejantannya, meningkatkan jumlah produksi telur tetas, serta upaya pengadaan anak ayam (DOC) dalam jumlah banyak, umur seragam, dan waktu yang singkat.

Tingkat fertilitas yang diperoleh dengan penerapan tehnik IB sangat dipengaruhi oleh kualitas semen. Kualitas semen sendiri dipengaruhi oleh musim, nutrisi, manajemen, faktor keturunan, teknik penampungan serta frekuensi penampungan (Setioko, 1981). Frekuensi ejakulasi pada perkawinan alam ataupun frekuensi penampungan semen pada pelaksanaan IB akan memengaruhi volume dan konsentrasi semen (Toelihere, 1993).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata pada frekuensi penampungan semen terhadap karakteristik semen. Penelitian sebelumnya yang dilakukan McDaniel dan Sexton (1977), mendapati bahwa frekuensi penampungan semen yang berbeda pada pejantan Leghorn sekali per minggu, tiga kali, dan lima kali (berdasarkan 5 hari kerja/minggu) menghasilkan volume dan konsentrasi semen berbeda nyata. Tiga kali penampungan per minggu menghasilkan volume per ejakulasi dan konsentrasi sperma yang lebih tinggi dibanding lima kali per minggu. Hal yang sama ditemukan pada penelitian Hulifah (2007) menemukan bahwa frekuensi penampungan semen yang berbeda (1 kali, 3 kali, dan 5 kali seminggu) pada ayam kampung, menunjukkan perbedaan yang sangat nyata pada volume semen, pH semen, dan konsentrasi spermatozoa. Sehubungan dengan adanya informasi mengenai pengaruh frekuensi penampungan semen terhadap kualitas semen, maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mempelajari pengaruh frekuensi penampungan semen yang berbeda terhadap karakteristik semen ayam bangkok.

MATERI DAN METODE

Hewan coba yang digunakan adalah 9 ekor ayam bangkok jantan berumur 10-12 bulan dengan kisaran bobot badan seragam. Sembilan ekor ayam jantan ini kemudian dibagi menjadi tiga secara acak (A, B, dan C) dengan masing-masing terdiri atas tiga ekor dan diberi taraf perlakuan yang berbeda, yaitu penampungan semen satu kali per minggu (A), dua kali per minggu (B), dan tiga kali per minggu (C).

Ayam selama masa adaptasi dan penelitian diberi pakan bravo 512 pokphand 100 g/ekor/hari sebanyak dua kali pemberian yaitu pada pagi dan sore hari, sedangkan air minum selalu tersedia.

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 papilla tetap menonjol. Semen segera ditampung dengan menggunakan tabung ukur dan segera dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis.

Pemeriksaan Kualitas Semen

Pemeriksaan makroskopis semen

Segera setelah dilakukan penampungan semen kemudian dilakukan pemeriksaan kualitas semen secara makroskopis berupa volume, warna, pH, dan konsistensi.

Pemeriksaan mikroskopis

Gerakan Massa

Pengamatan gerakan massa spermatozoa dilakukan dengan meneteskan 5 µl semen di atas *object glass* kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10x10.

Motilitas Individu

Pengamatan motilitas progresif spermatozoa dilakukan dengan meneteskan 5 μ l semen di atas *object glass* kemudian diteteskan 2-3 tetes NaCl fisiologis. *Object glass* ditutup dengan *cover glass* dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40.

Konsentrasi Spermatozoa

Pengamatan konsentrasi spermatozoa diawali dengan mengencerkan semen sebanyak 500 kali dengan formolsalin (1 μ l semen ditambah 499 μ l formolsalin) Selanjutnya, sampel diisikan ke dalam kamar hitung *Neubauer Chamber* yang telah ditutup menggunakan gelas penutup diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40. Penghitungan spermatozoa dilakukan pada 5 kotak besar. Konsentrasi spermatozoa yang didapatkan adalah $Y \times 5 \times 10^6$ (Y= jumlah spermatozoa pada 5 kotak).

Abnormalitas Spermatozoa

Pengamatan ini dimulai dengan membuat preparat ulas. Preparat ulas dibuat dengan meneteskan 1 μ l semen yang ditambah 4-5 tetes larutan eosin negrosin 2% pada *object glass*. Preparat ulas diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x40. Perhitungan dilakukan dengan menghitung 200 spermatozoa dalam 10 lapang pandang berbeda. Persentase spermatozoa abnormalitas didapat adalah jumlah spermatozoa abnormal dibagi dengan jumlah total spermatozoa dikalikan dengan 100.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Variant (ANOVA)* (Gaspersz, 1991). Bila terdapat perbedaan perlakuan, maka data selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil evaluasi semen secara makroskopis (warna, konsistensi, pH dan volume semen) dan mikroskopis (gerakan massa, motilitas, konsentrasi dan abnormalitas) pada ayam bangkok dengan frekuensi penampungan semen yang berbeda disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata ($x \pm SD$) Karakteristik Semen Ayam Bangkok pada Frekuensi Penampungan yang Berbeda

Parameter	Kelompok Perlakuan		
	A	B	C
Warna	Putih Susu	Putih Susu	Putih Susu
Konsistensi	Kental	Kental	Kental
Volume (ml)	0,167 \pm 0,058	0,167 \pm 0,115	0,178 \pm 0,069
pH	6,867 \pm 0,058	6,867 \pm 0,115	6,819 \pm 0,061
Gerakan Massa	+++	+++	+++
Motilitas Individu	83,3% \pm 5,774	83,3% \pm 5,774	78,9% \pm 1,925
Konsentrasi ($\times 10^9$ /ml)	10,067 \pm 2,447	5,754 \pm 3,967	7,401 \pm 0,578
Abnormalitas (%)	0,167% \pm 0,289	0,417% \pm 0,520	0,167% \pm 0,167

Keterangan :

A: ayam dengan penampungan semen satu kali per minggu

B: ayam dengan penampungan semen dua kali per minggu

C: ayam dengan penampungan semen tiga kali per minggu

(-): buruk; (+): sedang; (++) : baik; (+++) : sangat baik

Warna dan Konsistensi

Hasil pengamatan warna dan konsistensi semen ayam bangkok dengan frekuensi penampungan yang berbeda menunjukkan hasil yang sama yaitu berwarna putih susu dan konsistensi kental. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Alhmadi dkk. (2014) menyatakan bahwa warna semen ayam bangkok normal adalah putih susu. Kontaminasi semen dapat terjadi akibat dari tercemar oleh feses, transudat kloaka dan tercemar darah, kontaminasi ini dapat dilihat dari warna semen yang menunjukkan warna lain selain putih susu (Etches, 1996). Warna dan konsistensi semen ini menentukan konsentrasi sperma, bila semen kental dan berwarna putih pekat maka konsentrasi sperma tinggi, sebaliknya bila semen encer dan berwarna bening maka konsentrasinya rendah (Rosiqoty, 2001).

Volume semen

Hasil penelitian menunjukkan bahwa volume semen antara ketiga kelompok perlakuan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa frekuensi penampungan yang berbeda tidak berpengaruh terhadap volume semen yang dihasilkan. Rataan volume semen yang dihasilkan pada ketiga kelompok perlakuan berkisar antara 0,167-0,178 ml. Rata-rata volume semen yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan frekuensi penampungan berbeda pada ayam arab diperoleh jumlah rata-rata volume semen yakni 0,08-0,09 ml (Pratama, 2011), akan tetapi lebih rendah dari semen ayam yang dilaporkan oleh Toelihere (1985) yaitu berkisar antara 0,3-1,5 ml per ejakulat. Menurut Kismiyati (1997) dinyatakan bahwa volume semen ayam berkisar 0,11-1 ml. Hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan jenis ayam, umur, pola pemeliharaan, dan pakan yang diberikan.

Volume semen tergantung dari *breed*, spesies dan metode penampungan. Volume yang ditampung dengan metode pemijatan akan lebih banyak, jika dibandingkan dengan penampungan semen saat perkawinan alami. Volume semen pada saat kawin alami adalah 0,35 ml, sedangkan untuk metode pemijatan adalah 0,88 ml (Parker, 1972). Volume semen unggas biasanya relatif sedikit sedangkan konsentrasinya cukup tinggi, tergantung dari tiap bangsa dan individu (Toelihere, 1985).

Derajat keasaman atau pH

Nilai pH semen ayam bangkok pada ketiga perlakuan menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa frekuensi penampungan yang berbeda tidak berpengaruh terhadap nilai pH yang dihasilkan. Hasil pengamatan nilai pH semen ayam bangkok dengan frekuensi penampungan yang berbeda menunjukkan hasil yang sama yaitu dengan rata-rata 6,8. 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. Namun, nilai pH ini lebih rendah dibandingkan nilai pH normal menurut Hardiyanto (1993) yakni 8,5-9.

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 (Toelihere, 1993). Hal ini disebabkan karena terjadi peningkatan aktivitas spermatozoa yang menguraikan fruktosa pada kondisi anaerob. Penguraian fruktosa menyebabkan terbentuknya asam laktat pada semen (Salisbury dan Vandemark, 1985). Semakin banyak asam laktat yang terbentuk maka pH semen akan semakin rendah dan spermatozoa akan banyak yang mati.

Gerakan Massa

Gerak massa semen yaitu gelombang atau pergerakan spermatozoa secara bersama-sama yang ditimbulkan dalam semen. Spermatozoa dalam suatu kelompok mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama-sama ke suatu arah. Gerakan spermatozoa menunjukkan gelombang yang tebal atau tipis, bergerak cepat atau lambat tergantung dari

konsentrasi sperma hidup di dalamnya (Toelihere, 1993). Dari hasil penelitian ini gerakan massa spermatozoa dari ketiga perlakuan menunjukkan hasil yang sama yakni dalam kriteria (+++) sangat baik.

Mardalestari (2005) menyatakan gerakan massa spermatozoa mencerminkan gerakan individu spermatozoa. Semakin aktif dan semakin banyak spermatozoa yang bergerak, maka gerakan massa pun semakin bagus (semakin tebal dan pergerakannya semakin cepat). Lebih jauh dijelaskan bahwa gerakan massa berkisar antara baik (++) sampai dengan sangat baik (+++) dimana pergerakan spermatozoa progresif dan membentuk gelombang massa yang tebal dan bergerak cepat adalah termasuk kriteria baik sampai sangat baik (Toelihere, 1985).

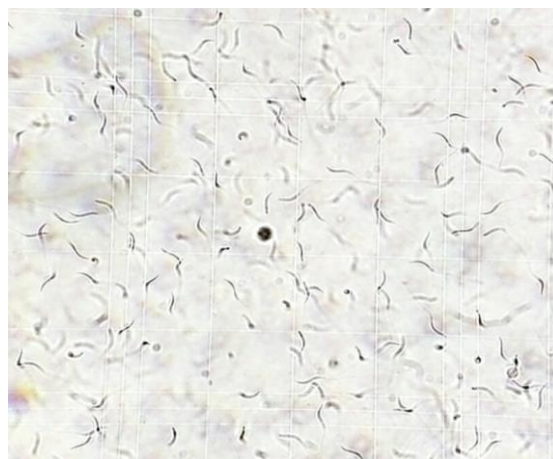
Motilitas Individu

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa ayam bangkok dengan frekuensi penampungan semen yang berbeda menunjukkan hasil tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan frekuensi penampungan tidak berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa. Rataan motilitas yang didapat pada penelitian ini yakni 78,9-83,3%, tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Almahdi dkk. (2014) yang mendapati motilitas spermatozoa ayam bangkok sebesar 84%. Menurut Garner dan Hafez (2000), dimana motilitas pada unggas berkisar 60-80%.

Motilitas merupakan daya gerak individu sperma yang digunakan sebagai ukuran kemampuan sperma untuk membuahi sel telur. Daya gerak maju ini sangat diperlukan pada saat berada di dalam saluran kelamin betina untuk mencapai tempat terjadinya fertilisasi (Danang dkk., 2012). Pengujian motilitas spermatozoa merupakan satu parameter penting (patokan) yang dapat dijadikan dasar informasi penilaian untuk inseminasi buatan (Sopiyana dkk., 2006). Penilaian motilitas dilakukan secara pendugaan sehingga hasil yang diperoleh akan bersifat subyektif dan dipengaruhi oleh pengalaman individu yang melakukan pengamatan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Salisbury dan Vandemark (1985) yang menyatakan bahwa metode penghitungan motilitas spermatozoa dilakukan secara perbandingan dan hasilnya tidak mutlak.

Konsentrasi Spermatozoa

Konsentrasi semen yaitu jumlah spermatozoa yang terkandung dalam satu ml ejakulasi. Penilaian konsentrasi sangat penting karena digunakan untuk menentukan jumlah pengenceran semen (Supriatna, 2000). Hasil pengamatan konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini tidak berbeda nyata ($P>0,05$) antara ketiga perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa frekuensi penampungan yang berbeda tidak berpengaruh terhadap konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan. Rataan konsentrasi semen yang didapat yakni antara 5,75-10,07 milyar sel/ml semen.



Gambar 1. Pengamatan konsentrasi spermatozoa ayam bangkok (10x40)

Menurut Sastrodihardjo dan Resnawati (2003), spermatozoa ayam memiliki nilai konsentrasi berkisar antara 1,75-3 milyar sel/ml sedangkan menurut Toelihere (1993), konsentrasi spermatozoa ayam berkisar antara 0,03-11 milyar sel/ml. Menurut Partodihardjo (1982) bahwa konsentrasi sperma tergantung pada umur, bangsa ternak, bobot badan serta frekuensi penampungan. Gilbert (1980) menyatakan bahwa konsentrasi sperma adalah salah satu karakteristik yang diturunkan. Pengamatan konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.

Abnormalitas

Abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara ketiga perlakuan ($P>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa frekuensi penampungan yang berbeda tidak berpengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa yang dihasilkan. Hasil pengamatan menunjukkan rata-rata abnormalitas berkisar antara 0,2-0,4%. Menurut Toelihere (1993), persentase sperma abnormalitas berkisar antara 5-20%. Hasil ini menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa dalam penelitian ini dalam kisaran normal. Pengamatan abnormalitas spermatozoa pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengamatan abnormalitas spermatozoa ayam bangkok menggunakan pewarnaan eosin negrosin: abnormalitas spermatozoa ditunjukkan oleh tanda panah (10x40).

Menurut Ihsan (2009) bahwa semen yang dapat dipakai IB abnormalitas spermatozoanya tidak boleh lebih dari 15% dan jika abnormalitas spermatozoa lebih dari 25% akan menurunkan fertilitasnya. Hal ini juga sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa kelainan morfologi spermatozoa di bawah 20% masih dianggap normal. Menurut Hafez (2000) bahwa abnormalitas sperma dikelompokkan menjadi 3 yaitu abnormalitas primer, abnormalitas sekunder dan abnormalitas tersier. Abnormalitas primer terjadi pada testis saat proses spermatogenesis tepatnya di tubuli seminiferi. Abnormalitas primer ditandai oleh kepala yang terlampau kecil (*microcephalic*) atau terlalu besar (*macrocephalic*), kepala yang lebar, ekor atau badan berganda dan lain-lain. Abnormalitas sekunder terjadi di epididimis sewaktu ejakulasi. Abnormalitas sperma ditandai dengan adanya butiran protoplasma pada pangkal ekor sperma.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa frekuensi penampungan semen (tiga, dua, dan satu kali seminggu) tidak berpengaruh terhadap kualitas semen (warna, konsistensi, volume, pH, gerakan massa, motilitas, konsentrasi, dan abnormalitas spermatozoa) ayam bangkok.

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.
- 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.
- Ankanegara, A.A. 2011. Fertilitas Telur Ayam Arab Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Dari Frekuensi Penampungan Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Danang, D.R., N. Isnaini, dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh lama simpan semen terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung dalam pengencer ringer's pada suhu 40°C. *J. Ternak Tropika*. 13(1): 47-57.
- Etches, R.J. 1996. *Reproduction in Poultry*. Department of Animal and Poultry Science, University of Guelph Ontario, Canada.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In: *Reproduction in Farm Animal*. 7th ed. Lea and Febringer, Philadelphia.
- Gaspersz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. CV. Armiko, Bandung.
- Gilbert, A.B. 1980. *Poultry*. In: *Reproduction in farm animals*. 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animal*. 7th ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hardiyanto. 1993. Pengaruh semen ayam segar maupun setelah diencerkan dan disimpan melalui inseminasi buatan terhadap fertilitas dan kematian embrio telur ayam kampung. *J. Ilmiah Ilmu Peternakan*. 3(4): 47-56.
- Hulfah. 2007. Pengaruh Frekuensi Penampungan Sperma terhadap Kuantitas, Kualitas Sperma dan Dosis terhadap Fertilitas Telur Ayam Kampung. *Thesis*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Ihsan, N.M., 2009. *Bioteknologi Reproduksi Ternak*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kaisiri, L. 2005. Pengelompokan Ayam Bangkok sebagai Ayam Aduan Berdasarkan Sifat Morfologi di Kabupaten Manokwari. *Skripsi*. Jurusan Produksi Ternak, UNIPA, Manokwari.
- Kismiati, S. 1997. Pengaruh Interval Inseminasi Terhadap Performan Reproduksi dan Heritabilitas Pertumbuhan Ayam Kedu Hitam. *Tesis*. Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Mardalestari, R. 2005. Pengaruh Jenis dan Konservasi Krioprotektan serta Metode terhadap Kualitas Semen Beku Ayam Arab (Fayoumi). *Skripsi*. Program Studi Biologi, Universitas Pakuan, Bogor.
- McDaniel, G.R. and T.J. Sexton. 1977. Frequency of semen collection in relation to semen volume, sperm concentration and fertility in the chicken. *Journal Poultry Science*. 33:1989-1993.
- Parker, J.E. 1972. *Reproductive Physiologi in Poultry*. In: *Reproduction in Farm Animals*. 2nd ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Partodihardjo, S. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara, Jakarta.
- Pratama, G.S. 2011. Karakteristik Semen Ayam Arab pada Frekuensi Penampungan yang Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rahayu, B.W.I., A.E.P. Widodo, dan R. Sarunggallo. 2010. Penampilan pertumbuhan ayam persilangan kampung dan bangkok. *Jurnal Ilmu Peternakan*. 5(2): 77-81.
- Rosyqoti, N. 2001. Pengaruh Frekuensi Penampungan terhadap Kualitas Semen Ayam Kampung. *Skripsi*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Salisbury, G.W. dan N.L. Vandemark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. (diterjemahkan oleh: R. Djanuar). Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

- Sastrodihardjo, S. 1996. *Inseminasi pada Ayam Buras*. Puslitbang Peternakan, Bogor.
- Sastrodiharjo, S. dan H. Resnawati. 2003. *Inseminasi Ayam Buras Meningkatkan Produksi Telur Mendukung Pengadaan DOC Unggul*. Penebar Swadaya, Yogyakarta.
- Setioko, A.R. 1981. The Effect of Frequency of Collection and Semen Characteristics on Fertility of Pekin Drakes Semen. *Thesis*. Master of Science in Agriculture, University of Western Australia.
- Sopiyana, S., S. Iskandar, T. Susanti, dan D. Yogaswara. 2006. Pengaruh krioprotektan dma, dmf dan glycerol pada proses pembekuan semen ayam kampung. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner*. Hal: 702-708.
- Supriatna, I. 2000. Inseminasi buatan pada ayam. *Kegiatan Pelatihan Inseminasi Buatan Pada Ayam*. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Toelihere, M. R. 1985. *Fisiologi reproduksi pada ternak*. Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi buatan pada ternak*. Angkasa, Bandung.