TINGKAT PENGENCER DAN LAMA SIMPAN BERBEDA TERHADAP ABNORMALITAS DAN MDA SEMEN ENTOG PADA SUHU RUANG 27ºC

DILUTION PHASE AND LENGTH OF SAVING ARE DIFFERENT FROM ABNORMALITY AND MDA ENTOG CEMENT AT 27ºC ROOM TEMPERATUR

SKRIPSI

Di ajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Guna Memperoleh Gelar Sarjana Peternakan (S.Pt)
Pada Program Studi Peternakan Fakultas Perternakan
Universitas Nusantara PGRI Kediri

Oleh:
EDI PURWOKO
NPM. 12.1.04.01.0018

Dibimbing oleh :

1. **Dr. Fitriani, S. Pt., M.P**
2. **Erna Yuniati, S. Pt., M.**P

PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS NUSANTARA PGRI KEDIRI

2017

SURAT PERNYATAAN
ARTIKEL SKRIPSI TAHUN 2017

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Lengkap	: Edi Purwoko
NPM	: 12.1.04.01.0018
Telepun/HP	: 085608996906
Alamat Surel (Email)	: purwoko300494@gmail.com
Judul Artikel	: Tingkat Pengencer dan Lama Simpa Berbeda Terhadap Abnormalitas dan MDA Semen Entog pada Suhu Ruang 27 Derajat Celcius
Fakultas – Program Studi	: Peternakan - Peternakan
Nama Perguruan Tinggi	: Universitas Nusantara PGRI Kediri
Alamat Perguruan Tinggi	: Jl. K.H. Achmad Dahlan No. 76 ☏ (0354) 771576, 771503 Kediri

Dengan ini menyatakan bahwa :

a. artikel yang saya tulid merupakan karya saya pribadi (bersama tim penulis) dan bebas plagiarisme;

b. artikel telah diteliti dan disetujui untuk diterbitkan oleh Dosen Pembimbing I dan II.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya. Apabila di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian data dengan pernyataan ini dan atau ada tuntutan dari pihak lain, saya bersedia bertanggungjawab dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Mengetahui		Kediri, 01 Februari 2017
Pembimbing I	Pembimbing II	Penulis,
Dr. Fitriani, S. Pt., M.P 0704016803	Erna Yuniati, S. Pt., M.P 0717066904	Edi Purwoko 12.1.04.01.0018

Skripsi Oleh:

Edi Purwoko

NPM 12.1.04.01.0018

Judul :

TINGKAT PENGENCER DAN LAMA SIMPAN BERBEDA TERHADAP ABNORMALITAS DAN MDA SEMEN ENTOG PADA SUHU RUANG 27°C

Telah disetujui untuk diajukan Kepada

Panitia Ujian/Sidang Skripsi Jurusan Peternakan
Fakultas Peternakan UN PGRI

Tanggal : 03-01-2017

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Fitriani, S.Pt., MP.	**Erna Yuniati, S.Pt., MP.**
NIDN. 0704016803	**NIDN. 0717066904**

Skripsi Oleh:

Edi Purwoko

NPM 12.1.04.01.0018

Judul :

TINGKAT PENGENCER DAN LAMA SIMPAN BERBEDA TERHADAP ABNORMALITAS DAN MDA SEMEN ENTOG PADA SUHU RUANG 27°C

Telah dipertahankan didepan Panitia Ujian/Sidang Skripsi Jurusan Peternakan

Fakultas Peternakan UN PGRI

Pada tanggal : 17-01-2017

Dan Dinyatakan telah Lulus Memenuhi Persyaratan

Panitia penguji :

1. **Ketua** : Dr. Fitriani, S.Pt., MP
2. **Penguji I** : ERNA YUNIATI, S.Pt. MP
3. **Penguji II** : Sapta Andaruisworo

Mengetahui,

Dekan Fakultas Peternakan

UNIVERSITAS NUSANTARA FAKULTAS PETERNAKAN PGRI KEDIRI

Dr. Budi Utomo, S.Pt., MP.

NIDN. 0710108304

TINGKAT PENGENCER DAN LAMA SIMPAN BERBEDA TERHADAP ABNORMALITAS DAN MDA SEMEN ENTOG PADA SUHU RUANG 27ºC

Edi Purwoko
12.1.04.01.0018
Fak Peternakan – Prodi Peternakan
Purwoko300494@gmail.com
Dr. Fitriani,S.Pt.MP dan Dosen Erna Yuniati, S.Pt., MP
UNIVERSITAS NUSANTARA PGRI KEDIRI

ABSTRAK

EDI PURWOKO : Tingkat Pengencer dan Lama Simpan Berbeda Terhadap Abnormalitas dan MDA Semen Entog Pada Suhu Ruang 27 ºC Skripsi, Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan UN PGRI Kediri, 2016.

Pada masa penyimpanan semen entog terjadi penurunan kualitas seiring dengan adanya perlakuan lama simpanan dan tingkat pengencer terhadap semen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar MDA semen entog dalam pengenceran dan penyimpanan berbeda pada suhu ruang (27ºC). Rangkaian penelitian di eksperimental dalam tingkat pengenceran semen entog dengan lama simpan berbeda pada suhu 27ºC.

Pada penelitian ini menggunakan parameter motilitas massa spermatozoa, motilitas individu, abnormalitas spermatozoa, uji aktivitas MDA. Sebanyak 5 ekor entog dewasa berkisar umur 1,5-2 tahun, 3 ekor jantan dan 2 ekor betina, sehat dan mempunyai libido tinggi digunakan sebagai ternak penelitian dan dikandangkan secara individual. Metode penelitian yang digunakan metode eksperimental dengan split plot (pola petak terbagi). Faktor pertama sebagai petak utama adalah tingkat pengenceran yaitu 0 (A0); 5X (A1);10X (A2) dan 15X (A3), faktor kedua sebagai anak petak adalah lama simpan 0 (B0); 60 menit (B1); 120 menit (B2) dan 180 menit (B3) yang disimpan pada suhu ruang 27ºC dengan 3 kali ulangan.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan hasil terbaik abnormalitas terjadi pada tingkat pengenceran 5x dengan lama simpan 60 menit, dan MDA pada tanpa pengenceran atau kontrol dengan lama simpan 120 menit.

Kata kunci : Abnormalitas dan MDA, Semen Entog, Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan, suhu 27ºC.

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Itik merupakan salah satu jenis unggas yang banyak dipelihara oleh masyarakat pedesaan yang tahan terhadap lingkungan dan berperan sebagai sumber protein. Tujuan pemeliharaan itik yang utama adalah sebagai penghasil telur, adapun sebagai penghasil daging belum begitu popular sebagaimana pada ayam. Itik yang sudah tidak produktif sebagai penghasil telur dijual sebagai itik potong.

Persilangan entog jantan dan itik betina dapat dikerjakan dengan menggunakan teknologi IB. Persilangan ini memiliki keuntungan di antaranya entog memiliki tubuh yang besar sedangkan itik memiliki telur yang banyak. Proses perkawinan melalui IB fertilitas tertinggi yang dapat dicapai adalah 80% dan melalui perkawinan alam hanya 20-30% (Simanjuntak, 2002). Melalui teknologi ini seekor pejantan yang diambil semennya dapat mengawini betina lebih banyak, dimana untuk terjadinya suatu pembuahan satu sel telur hanya diperlukan satu semen, sedangkan entog atau itik *muscovy* volume sebesar 0,05 – 0,5 ml/ejakulasi, konsentrasi spermatozoa sebesar 1,6 – 7,4 milyar/ml (Davtian, 1986 and Kurbatov, 1987 dalam Surai 1996).

Keberhasilan dari IB ini dipengaruhi beberapa faktor di antaranya tingkat pengencer, lama simpan dan suhu tempat semen yang akan diinseminasikan ke ternak betina tersebut. Pengenceran dengan maksud supaya memperbanyak volume semen yang akan dipakai IB sehingga seekor pejantan dapat mengawini betina lebih banyak. Sedangkan bahan pengencer harus memenuhi syarat tidak beracun bagi semen, memenuhi kebutuhan semen, murah, mudah didapat, mempertahankan daya tahan hidup semen dan mempertahankan kemampuan membuahi setelah pengenceran (Toelihere, 1993).

Menurut Lamarande, *et al* (1997) oksidasi lipid (lipid peroksida) pada membrane semen menghasilkan senyawa *malondialdehyde* (MDA) yang bersifat

toksik pada sel sehingga menyebabkan kerusakan membran semen. Membran semen yang rusak dapat menyebabkan penurunan integritas dan kualitas semen.

Menurut (Surai, 1999) menyatakan bahwa *karotenoid* kuning berfungsi sebagai antioksidan yang mencegah perioksidasi lipid jaringan. Fungsi antioksidan karotenoid dalam telur pada semen dengan cara menonaktifkan radikal oksigen, melindungi kerusakan dari radiasi dan kerusakan sinar untraviolet.

Suhu merupakan suatu keadaan dimana semen bisa tetap bertahan hidup, banyak masyarakat indonesia yang membudidayakan ternak entog dengan menggunakan teknologi inseminasi buatan (IB), akan tetapi banyak peternak yang belum bisa menyadiakan alat alat untuk keberhasilan teknologi IB tersebut. Menurut banyak peneliti, aktivitas metabolisme spermatozoa pada penyimpanan suhu ruang sekitar 25-30 ^{0}C cukup tinggi, sehingga untuk keperluan inseminasi semen yang disimpan dalam temperatur ruang ini harus segera diinseminasikan tidak lebih dari 45 menit setelah semen dikeluarkan (Clarke *et al*., 1982; Saleh, 2004).

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian untuk mengetahui hubungan abnormalitas dan MDA semen entog dengan tingkat pengencer dan lama simpanan berbeda pada suhu ruang (27 ^{0}C).

B. Rumusan Masalah

Bagaimanakah tingkat pengencer dan lama simpan berbeda terhadap Abnormalitas dan MDA semen entog pada suhu ruang 27 ºC.

C. Tujuan Penelitian

Mengetahui tingkat pengencer dan lama simpan berbeda terhadap Abnormalitas dan MDA semen entog pada suhu ruang 27 ºC.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai:

1. Pedoman untuk mengetahui MDA semen entog dalam pengenceran

dan penyimpanan berbeda pada suhu ruang (27^0C).

2. Pedoman penerapan dalam penggunaan semen entog untuk tujuan IB di lapangan.

METODE

A. Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan Mei 2016 di Laboratorium Lapang Jl. Simpang Candi Panggung Malang. Uji aktivitas MDA di Laboraturium Fisiologi / Ilmu FAAL Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Uji MDA di Laboratorium untuk mengetahui kerusakan semen dalam tingkat pengenceran dan lama simpan berbeda semen entog pada suhu ruang (27ºC).

B. Materi

1. Materi Penelitian

Entog yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 ekor entog jantan berumur sekitar 1, 5 – 2 tahun dengan berat badan 3 – 3,5 kg dan 2 ekor betina pemancing (*teaser*) berumur sekitar 1, 5 – 2 tahun dengan berat badan 2– 3kg. Entog yang di pelihara dalam kand individu yang terbuat dari kawat besi dengan ukuran panjang 60cm X lebar 60cm X tinggi 80 cm.

Ternak entog yang diadaptasikan dengan lingkungan selama ± 4 minggu. Pakan yang diberikan di batasi sebanyak 150 g/ekor/hari yaitu campuran dedak dan konsntrat tepung itik petelur (144) pokphand yang terdiri : kadar air max 12.0%, protein max 37,0 – 39,0 %, lemak min 2,0%, dengan perbandingan (4:1) + sedikit air di aduk sampai merata dan pakan yang diberikan sehari sekali antara jam 07.00 - 09.00 dan tempat air minum, pakan dalam kandang. Air di berikan secara *adlibitum*.

2. Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan dengan vagina buatan. Dengan menggunakan betina pemancing (*teaser*) untuk merangsang libido

entog jantan kawin dan penampungan di dakukan pada saat jantan menaiki betina dan mengeluarkan semen kemudian ditahan dengan tabung skala.

Pengenceran semen entog dilakukan pagi hari antara jam 07.00 – 09.00 dengan frekuensi penampungan 2x/minggu, di encerkan dengan pengenceran larutan *Ringer's* dan kuning telur dengan tingkat pengenceran 0 ; 5 ; 10 dan 15.

C. Pemeriksaan Secara Mikroskopis

1. Motilitas Massa Spermatozoa

Jumlah spermatozoa dalam semen segar hasil ejakulasi yang telah di tambahan pengencer dan lama penyimpanan yang berbeda. Penilaian motilitas massa dapat di tentukan dengan meneteskan semen di atas obyek gelas dan di amati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Jika terlihat adanya gelombang besar, banyak, gelap dan tebal seperti awan maka penilaian sepermatozoa sangat baik (+++). Bila terdapat gelombang – gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lambat maka penilaian semen adalah baik (++). Bila hanya terdapat gerakan –gerakan individu aktif progresif maka penilaian adalah sedang (+) dan bila tidak ada gerakan sama sekali maka penilaiana dalah buruk (0) pedoman pada petunjuk (Toelihere, 1993).

2. Motilitas Individu

Dilakukan dengan cara meneteskan semen entog yang di encerkan dengan larutan *Ringer's* 10 kali dan lama simpan yang berbeda pada suhu 4 ºC pada obyek glass kemudian ditutup dengan cover glass. Penilaian motilitas individu dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang gerakannya progresif maju kedepan dibandingkan dengan yang diam tidak bergerak sebanyak ± 100 spermatozoa dengan satuan persen (Bearden dan Fuquay, 1984 ; Partodihardjo, 1992) dengan menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali.

$$\% \text{ Motilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa progresif}}{\text{Total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3. Abnormalitas Spermatozoa

Pengamatan sama dengan pengamatan motilitas spermatozoa. Semen entog yang diencerkan dengan larutan *Ringer's* 20 kali lama simpan yang berbeda pada suhu 27 ºC diteteskan pada *obyect glaas* kemudian diaduk dengan pewarna *eosin*. Dibuat preparat ulas setipis mungkin dengan *cover glass*. Spermatozoa abnormal dihitung persentase spermatozoa normal diantara ± 100 kali dengan pembesaran 400 kali pada spermatozoa yang di amati. (Partodihardjo, 1992)

$$\% \text{ Abnormal} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

4. Uji MDA (*malondialdehid*)

Sampel semen perlakuan diuji Aktivitas MDA dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer. 100 µl sampel semen perlakuan ditambahkan dengan 100 µl larutan MDA (aquades 0,55 µl, TCA 10% 100 µl, HCI 1 N 0,25 µl, Na-triobarbiturat 1% 100 µl) disentrifugasi 500 rpm selama 10 menit kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 100 ºC, supernatant dipisahkan dan serapannya diamati dengan spectrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm dan dilakukan pengukuran absorbansinya MDA (Oberley and Spitz, 1985).

D. Analisis Data

Metode penelitian yang digunkan metode eksperimental dengan split plot (pola petak terbagi). Faktor pertama sebagai Petak Utama adalah tingkat pengenceran yaitu 0 (A_0); 5X (A_1); 10X (A_2) dan 15X (A_3), Faktor kedua sebagai Anak Petak adalah Iama simpan 0(B_0); 60 menit (B_1); 120 menit (B_2) dan 180 menit (B_3) yang disimpan pada suhu ruang 27 ºC. Empat kelompok (3 kali ulangan) (StelldanTorrie, 1990).

E. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Petak Terbagi dengan 16 perlakuan dimana petak utama tingkat pengenceran yaitu 0(A_0); 5X (A_1); 10X (A_2) dan 15X (A_3) dan Anak Petak adalah Iama simpan 0(B_0); 60 menit (B_1); 120 menit (B_2) dan 180 menit (B_3) yang disimpan pada suhu ruang 27 ºC. Perlakuan yang diberikan adalah sebagai berikut:

A_0B_0 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_0B_1 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 60 Menit.

A_0B_2 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_0B_3 = Tingkat Pengencer 0 kali, Lama Simpan 180 Menit.

A_1B_0 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_1B_1 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 60 Menit.

A_1B_2 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_1B_3 = Tingkat Pengencer 5 kali, Lama Simpan 180 Menit.

A_2B_0 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_2B_1 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 60 Menit.

A_2B_2 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_2B_3 = Tingkat Pengencer 10 kali, Lama Simpan 180 Menit.

A_3B_0 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 0 Menit.

A_3B_1 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 60 Menit.

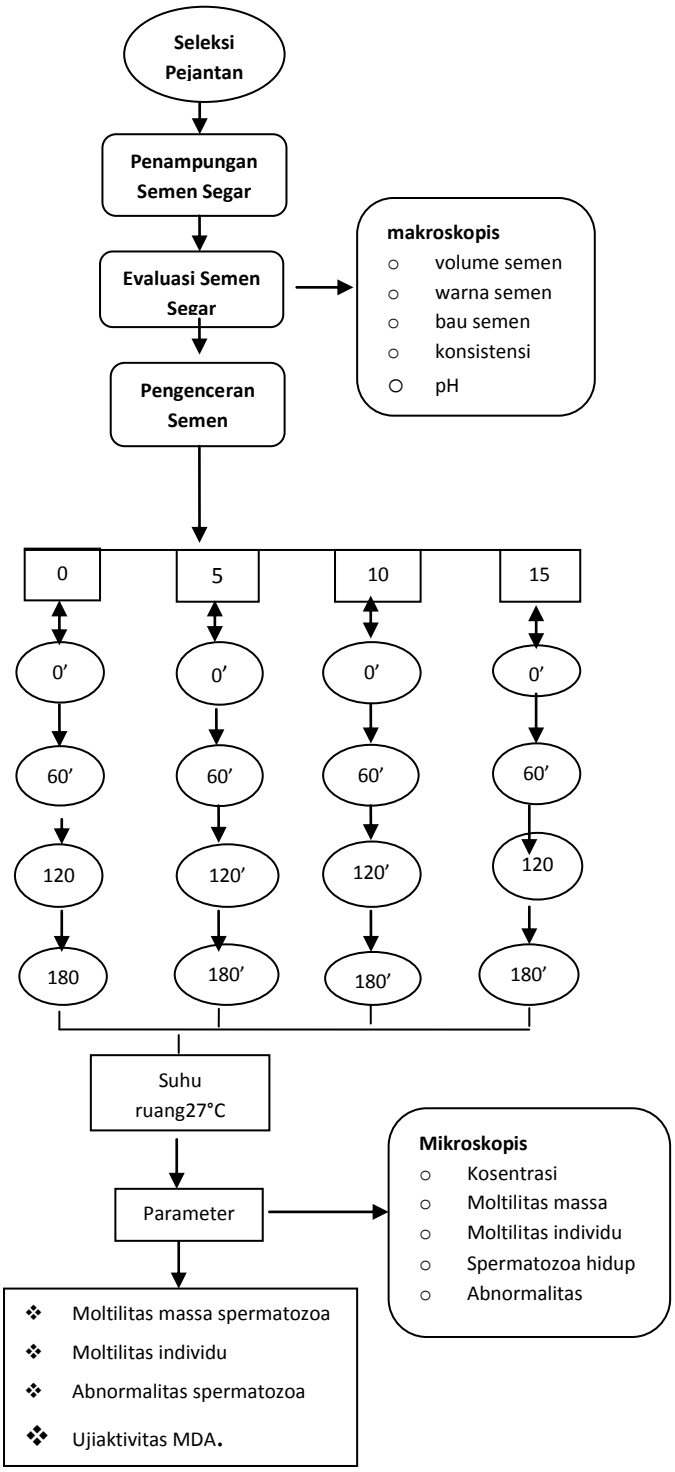
A_3B_2 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 120 Menit.

A_3B_3 = Tingkat Pengencer 15 kali, Lama Simpan 180 Menit.

F. Parameter yang Diamati

Pada penelitian ini menggunakan parameter moltilitas massa spermatozoa, moltilitas individu, abnormalitas spermatozoa dan uji aktivitas MDA.

G. Denah Penelitian



HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Evaluasi Semen Entog

Evaluasi semen dilakukan dengan 2 cara yaitu pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan semen secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi dan pH. Observasi ini perlu dilakukan untuk penentuan kualitas semen dan daya reproduksi pejantan dan lebih khusus lagi untuk menentukan kadar pengenceran semen (Toelihere, 1977). Sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas dan persentase hidup atau mati (Hafez, 1993).

Hasil pemeriksaan semen segar setelah penampungan selama penelitian tertera pada Lampiran 1. Rataan hasil pemeriksaan semen segar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Evaluasi Semen Entog

Parameter pengamatan		Rataan ± SD
Makroskopis	1. Volume (ml)	2.17 ± 0.29
	2. Warna	Putih s/d Putih keruh
	3. Bau	Khas
	4. Konsistensi	Encer s/d kental
	5. pH	7,5 ± 0
Mikroskopis	1. Konsentrasi (10^7/ml)	1.12 ± 0.25
	2. Moltilitas massa	++ s/d +++
	3. Moltilitas individu (%)	81.67 ± 2.89
	4. Spermatozoa hidup (%)	87 ± 1
	5. Abnormalitas (%) 1) Tingkat pengenceran 2) Lama simpan	 7.46 ± 1.52 7.46 ± 1.48
	6. Aktivitas MDA (umol/dl) 1) Tingkat pengenceran 2) Lama simpan	 1313.01 ± 48.35 1313.01 ± 48.35

Rataan volume semen entog per–ejakulasi yang diperoleh selama penelitian sebesar (2.17 ± 0.29) ml. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa volume semen yang dihasilkan banyak disebabkan semen yang didapat lebih encer. Diduga dihasilkan saat ejakulasi semen yang ditampung bercampur dengan sekresi lipatan – lipatan limpa dan badan – badan vaskuler di dalam *cloaca* sehingga encer. Ini sesuai dengan penyataan Hafez (2000) semen dibagi menjadi dua bagian padat disebut spermatozoa yang dihasilkan oleh testis dan bagian yang cair disebut *seminal plasma* (cairan semen) yang dihasilkan oleh kelenjar asesoris jantan 9 *bulbo urethralis, prostata, vesicular seminalis, sekresi* tersebut berfungsi sebagai *buffer* dan medium bagi spermatozoa agar daya hidupnya dapat dipertahankan secara normal setelah ejakulasi.

Warna semen yang diperoleh selama penelitian adalah putih sampai putih keruh. Partodihardjo (1992) menyatakan bahwa warna semen unggas yang normal adalah putih susu, sedangkan derajat kekeruhannya tergantung pada konsentrasi semen yang ada, semakin keruh maka kosentrasinya semakin tinggi dan sebaliknya bila warna semen bening menunjukkan konsentrasi yang rendah. Pada perlakuan ini, semen yang berwarna putih keruh

menunjukkan bahwa semen tersebut memiliki tingkat konsentrasi yang lebih tinggi dari pada semen yang berwarna putih.

Bau semen segar entog pada saat penelitian didapatkan bahwa bau khas ternak. Bau tersebut menunjukkan semen tersebut dalam keadaan normal dan tidak terdapat kontaminasi. Semen dengan keadaan normal pada umumnya mempunyai bau yang khas sesuai dari bau hewan tersebut. Sesuai dengan pendapat Kartasudjana (2001) yang menyebutkan bahwa semen normal umumnya memiliki bau yang khas dari hewan tersebut, apabila terdapat bau busuk menunjukkan semen bercampur dengan nanah.

Keasaman pH diduga akibat dari aktifitas enzim fosfolipase A, karena enzim ini bersifat toksit terhadap semen pada waktu proses pengenceran (Tambing, dkk 2003). Hartono (2008) menyatakan enzim ini disekresikan oleh kelenjar bulbourethralis dan akan merusak kuning telur yang ada dalam pengencer, yaitu menguraikan lesitin menjadi lisolesitin dan asam lemak tak jenuh sehingga tingginya kandungan asam lemak tidak jenuh membuat sperma rentan terhadap peroksidasi dengan kehadiran oksigen (Maxwell dan Watson, 1987). Rataan derajat keasaman (pH) semen yang diperoleh selama penelitian adalah (7,5 ± 0). Hafez (1993) menyatakan bahwa, semen unggas yang normal memiliki pH dalam kisaran 7,2 – 7,6. Toelihere (1993) menyatakan bahwa semen segar bersifat agak basa dengan rataan pH berkisar antara 7,0 – 7,6. Nilai pH yang tinggi selama penelitian disebabkan karena pengaruh cairan transparan atau seminal plasma dalam semen yang menyebabkan semen menjadi lebih basa.

Konsistensi yang diperoleh selama penelitian semen entog adalah encer sampai kental. Konsistensi semen berhubungan dengan konsentrasi semen yang terkandung didalamnya. Salisbury dan Van

Demark (1978) menyatakan bahwa, kekentalan semen akan naik selaras dengan kandungan semennya. Konsistensi dan konsentrasi berhubungan juga dengan warna semen. Semakin tinggi kandungan semen dalam semen maka warna semen akan semakin keruh.

Rataan konsentrasi semen segar diperoleh selama perlakuan adalah 1.12 ± 0.25 (10^7 /ml). Menurut Hafez (1993), konsentrasi semen unggas berkisar antara 3 – 7 10^9. Setyowati dan Budiarti (1992) menjelaskan bahwa, konsentrasi unggas dipengaruhi oleh pertumbuhannya. Faktor yang lain yang mempengaruhi konsentrasi semen antara lain umur, cahaya, nutrisi, genetik dan frekuensi penampungan.

Menurut Lake 1978 dalam Toelilehe (1993), konsentrasi semen yang rendah disebabkan adanya cairan transparan dalam semen. Semen yang berwarna krem keputihan dan keruh memiliki jumlah semen kurang 1 milyar/ml, tetapi jika warnanya lebih jernih dari air susu maka diperkirakan mengandung 500 juta semen/ml. Rataan konsentrasi semen segar hasil penelitian menunjukkan bahwa semen di atas termasuk kategori sedang karena memiliki jumlah semen yang lebih dari 1 milyar/ml.

Rataan motilitas massa yang diperoleh selama penelitian berkisar antara ++ sampai dengan +++ (baik sampai dengan sangat baik). Toelihere (1993) menyatakan bahwa, kualitas semen tergolong bagus jika dibandingkan motilitas massa semen mempunyai (++) nilai baik dan (+) kurang baik. Partodihardjo (1993) menyatakan bahwa, gerakan massa diberi skor (+++) jika terlihat gelombong besar banyak, gelap, tebal dan aktif. Skor (++) diberikan jika terdapat gelombong kecil tipis, jarang, bergerak lambat dan kurang jelas. Skor (+) diberikan untuk semen yang tidak menunjukkan gerakan massa bergelombong dengan jelas dan hanya

nampak gerakan – gerakan individu semen. Rataan persentase motilitas individu semen segar yang diperoleh selama penelitian adalah 81.67 ± 2.89 %. Semen unggas yang normal menurut Hafez (1993) memiliki motilitas individu berkisar antara 60 – 80%.

Rataan persentase semen hidup dalam semen segar yang diperoleh selama penelitian adalah 87 ± 1 %. Semen unggas yang normal menurut Toelihere (1993) persentase hidup segar kira – kira 80%. Hasil yang diperoleh selama penelitian menunjukkan bahwa semen entog yang ditampung memiliki kualitas yang baik dan dapat digunakan untuk kepentingan IB.

B. Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Pada Suhu Ruang (27 ^{o}C)

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan (Yulnawati et al. 2013). Abnormalitas spermatozoa berkaitan erat dengan kemampuan membuahi sel telur dan kemandulan pada berbagai spesies. Struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi sehingga lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan (Yulnawati et al. 2013). Barth dan Oko (1989) menyampaikan bahwa bentuk- bentuk abnormalitas spermatozoa diklasifikasikan menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas spermatozoa yang belum melebihi 20% dari contoh semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Toelihere, 1993).

Hasil pemeriksaan Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan

Berbeda Pada Suhu Ruang (27 ºC) tertera pada lampiran 7. Rataan Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Pada Suhu Ruang (27 ºC) dapat dilihat pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Rataan Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Pada Suhu Ruang (27 ºC)

Tingkat Pengenceran	Abnormalitas (%) ($\overline{X}$ ± SD)	Perlakuan Lama simpan (menit)	Abnormalitas (%) ($\overline{X}$ ± SD)
0	7.77 ± 0.96	0	6.94 ± 2.1
5	7.22 ± 1.77	60	6.8 ± 0.96
10	7.5 ± 2.01	120	8.05 ± 2.15
15	7.36 ± 1.36	180	8.05 ± 0.71
($\overline{X}$ ± SD)	***7.46 ± 1.52***	***($\overline{X}$ ± SD)***	***7.46*** ± 1.48

Dari hasil penelitian menunjukkan rataan tertinggi abnormalitas semen entog terjadi pada tanpa pengenceran atau kontrol (7.77 ± 0.96)% dengan penyimpanan 120 menit (8.05 ± 2.15)%.

Hasil Analisis Ragam (Lampiran 7) menunjukkan bahwa dalam tingkat pengenceran dan lama simpan tidak berbeda nyata ($p > 0.05$). Kontrol merupakan rataan abnormalitas tertinggi,sedangkan tingkat pengencer 5 kali merupakan rataan yang terendah. Hal ini membuktikan bahwa kuning telur dapat menekan abnormalitas spermatozoa entok karena kuning telur merupakan Antioksidan yang bertindak mengikat asam lemak tidak jenuh dan mencegah terjadinya reaksi berantai yang menyebabkan tingginya abnormalitas spermatozoa. Menurut Hammerstedt (1993), antioksidan adalah senyawa *nukleofilik* yang mempunyai kemampuan mereduksi, memadamkan atau menekan reaksi radikal bebas.

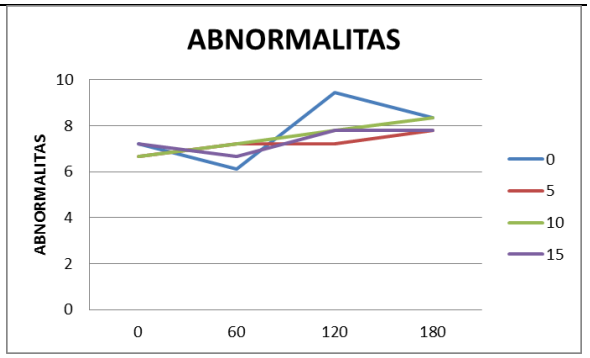
Rataan tertinggi terjadi pada penyimpanan 120 menit, sedangkan rataan terendah terjadi pada penyimpan 60 menit. Lama penyimpanan akan menyebabkan

spermatozoa menjadi tidak isotonik yang menyebabkan terjadinya kerusakan membran plasma spermatozoa yang masih hidup, sehingga meningkatkan abnormalitas spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Solihati et al., (2006) menyatakan bahwa semakin lama penyimpanan menyebabkan bertambahnya spermatozoa yang mati. Banyaknya membran plasma spermatozoa yang rusak dan spermatozoa yang mati menjadikan spermatozoa yang abnormal meningkat. Hasil ini sesuai dengan penelitian pada entog yang dilakukan Fauzi *et* al. (1999) bahwa pengenceran semen entog dengan NaCl fisiologis dan lama penyimpanan pada suhu ruang mempengaruhi abnormalitas spermatozoa, dengan semakin tingginya derajat pengenceran dan lama penyimpanan akan semakin tinggi pula abnormalitas spermatozoa.

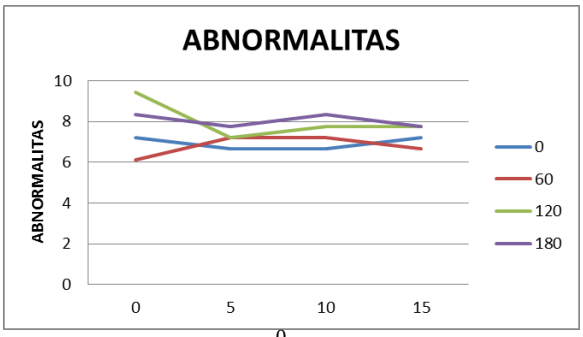
Rataan abnormalitas semen terendah terjadi pada penyimpanan 60 menit (6.8 ± 0.96) % dengan tingkat pengencer 5 kali (7.22 ± 1.77) %. Tinggi rendahnya abnormalitas spermatozoa entok sangat dipengaruhi oleh susunan setruktur sel dan metabolisme dalam semen. Alawiyah dan Hartono (2006) menyebutkan bahwa peroksidasi lipid akan menyebabkan kerusakan struktur dan terganggunya metabolisme spermatozoa yang berakibat spermatozoa mati.

Hasil rataan abnormalitas semen entog tertinggi terjadi pada tanpa pengenceran atau kontrol (7.77 ± 0.96) %, dengan penyimpanan 120 menit (8.05 ± 2.15)% . Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan kuning telur mampu menekan abnormalitas semen. Persentase ini tergolong normal, sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa pada

kebanyakan ejakulat persentase spermatozoa abnormal berkisar antara 5-20%. Bearden dan Fuquay (1984) menyatakan bahwa jika spermatozoa abnormal lebih dari 25% dari total spermatozoa dalam satu ejakulasi, maka akan menurunkan fertilitas. sedangkan menurut Toelihere (1985), abnormalitas spermatozoa yang melampaui angka 14% menunjukkan adanya gejala infertilitas atau ketidak suburan seekor pejantan, sedangkan menurut Hafez (1987), jumlah spermatozoa abnormal dalam semen hingga mencapai 20% tidak akan menyebabkan penurunan angka fertilitas. Tingkat abnormalitas semen entok telihat pada grafik gambar 1. Abnormalitas *spermatozoa* pada lama penyimpanan berbeda pada suhu 27 ^{0}C dan gambar 2. Abnormalitas *spermatozoa* pada tingkat pengencer berbeda pada suhu 27 ^{0}C.



Gambar 1. Abnormalitas *spermatozoa* pada lama penyimpanan berbeda pada suhu 27 ^{0}C



Gambar 2. Abnormalitas *spermatozoa* pada tingkat pengencer berbeda pada suhu 27 ^{0}C

C. Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Dalam Semen Entog Pada Suhu Ruang (27 ^{o}C) terhadap MDA

Malondialdehyde (MDA) telah digunakan secara luas sebagai indicator keberadaan radikal bebas dan terjadinya kerusakan oksidatif, Zakaria (1996). MDA merupakan hasil senyawa akhir dari oksidasi lipid yang bersifat toksik pada sel sehingga menyebabkan kerusakan pada

membran spermatozoa. Membran spermatozoa yang rusak akan menyebabkan menurunnya integritas membran spermatozoa, sehingga pada akhirnya menyebabkan penurunannya kualitas sperma (Hayati, 2006). Menurut Sanaeka dan Kuspisz, (2004) senyawa MDA menyebabkan kerusakan membran semen dan penurunan integritas membran semen sehingga terjadi penurunan kualitas semen.

Hasil pemeriksaan Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Dalam Semen Entog Pada Suhu Ruang (27 ºC) terhadap MDA tertera pada lampiran 8. Rataan Tingkat Pengenceran dan lama penyimpanan hasil rataan MDA pada Ruang (27 ºC) setelah perlakuan terlihat pada Tabel 3. berikut.

Tabel 3. Rataan Tingkat pengenceran dan lama simpan berbeda dalam semen entog pada suhu Ruang (27 ºC) terhadap MDA.

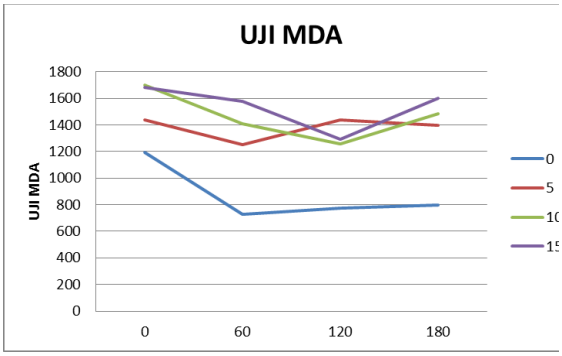
Tingkat pengencer	MDA (umol/dl) ($\overline{X}$ ± SD)	Perlakuan Lama simpan (menit)	MDA (umol/dl) ($\overline{X}$ ± SD)
0	872.96 ± 2.72	0	1502.12 ± 36.77
5	1379.2 ± 94.08	60	1241.5 ± 60.02
10	1462.54 ± 34.57	120	1189.83 ± 39.35
15	1537.33 ± 62	180	1318.58 ± 57.06
($\overline{X}$ ± SD)	***1313.01 ± 48.34***	***($\overline{X}$ ± SD)***	***1313.01 ± 48.34***

Dari hasil penelitian menunjukkan aktivitas MDA memperoleh rataan tertinggi pada tanpa penyimpanan atau control (1502.12 ± 36.77) umol/dl, dengan tingkat pengencer 15 kali (1537.33 ± 62) umol/dl.

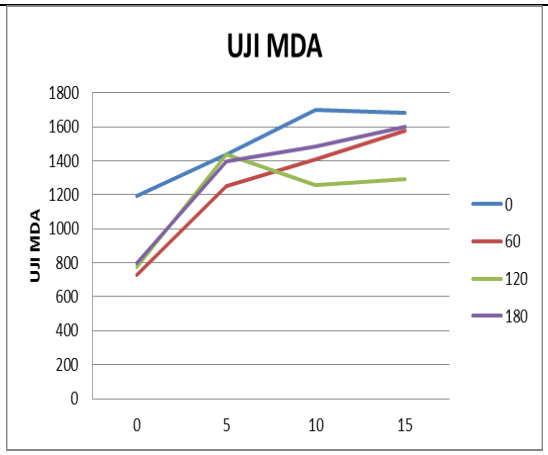
Pengencer merupakan antioksidan yang dapat menangkal kerusakan peroksidasi lipid yang bereaksi dengan lemak tak jenuh dalam pengenceran semen entog segar. Dari tingkat pengenceran 15 kali menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang bereaksi dengan komponen membran sel dalam pengenceran semen entog lebih cepat, hal ini terjadi pada kontrol semen belum mengalami *stress* dan sesudah perlakuan semen banyak yang *stress* akibat perlakuan

dan penambahan pengencer kuning telur sehingga spermatozoa mengalami kerusakan. *Stress* pada semen merupakan penyebab utama disfungsi semen menghambat proses fosforilasi (Sharma, 1999). Oksidasi fosforilasi yang terganggu menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) semen, kadar ROS yang tinggi dalam sel dapat mengoksidasi lipid, protein dan DNA, Lipid membran plasma semen memiliki fosfolipid dengan kadar yang tinggi menyebabkan semen sangat rentan terhadap ROS (Sanoeka, 2004). Penyimpanan 0 menit atau kontrol merupakan rataan MDA yang paling tinggi hal ini di karenakan pengaruh dari perlakuaan saat penampungan semen, yang mengakibatkan terjadinya strees yang diiringi dengan meningkatnya radikal bebas. Tidak adanya waktu mengakibatkan antioksidan dalam semen tidak bisa berperan aktif sehingga meningkatnya kadar MDA tidak bisa terhentikan. Antioksidan bertindak mengikat asam lemak tidak jenuh dan mencegah terjadinya reaksi berantai, menurut Hammerstedt (1993), antioksidan adalah senyawa *nukleofilik* yang mempunyai kemampuan mereduksi, memadamkan atau menekan reaksi radikal bebas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kuning telur sebagai antioksidan yang terlalu banyak dan tidak seimbang akan meningkatkan kadar MDA dalam semen. Penambahan tingkat pengencer berlebih mengakibatkan banyaknya kerusakan lipid, diduga kerusakan antara antioksidan dalam spermatozoa tidak dapat menerima antioksidan dari luar akhirnya terjadi pro-oksidan. Ini sesuai dengan pendapat Wresdiyati dan Makita, (1995) bahwa *malondialdehide* merupakan produk akhir dari oksidasi lipid, tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid yang juga menunjukkan jumlah radikal bebas.

Dari hasil Analisis Ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa penambahan pengencer, lama penyimpanan dan interaksinya tidak berbeda nyata ($p < 0.05$), penambahan dalam tingkat pengencer kuning telur sebagai atioksidan dalam percobaan adanya level tingkatan yang sedikit berbeda. Uji MDA dapat dilihat pada grfik gambar 3. MDA semen entok pada lama simpan berbeda pada suhu 27 ^{0}C dan Gambar 4. MDA semen entok pada tingkat pengencer berbeda pada suhu 27 ^{0}C.



Gambar 3. MDA semen entog pada lama simpan berbeda pada suhu 27 ^{0}C



Gambar 4. MDA semen entog pada tingkat pengencer berbeda pada suhu 27 ^{0}C

D. Hubungan Abnormalitas Semen Entog Terhadap MDA pada Suhu Ruang (27 ^{o}C)

Abnormalitas merupakan salah satu indikator dalam menentukan kualitas spermatozoa, karena struktur sel yang abnormal dapat menyebabkan gangguan dan hambatan pada saat fertilisasi, lebih jauh menyebabkan rendahnya angka implantasi maupun kebuntingan (Yulnawati *et al.* 2013). MDA

(*malondialdehid*) merupakan proses pembentukan peroksidasi lemak yang memiliki ikatan dalam asam lemak tak jenuh dipicu oleh radikal bebas. Rusaknya membran plasma spermatozoa menyebabkan abnormal pada bagian kepala dan ekor yang mempengaruhi daya gerak dan menurunkan daya hidup semen sehingga berpengaruh pada abnormalits spermatozoa. Keabnormalan kepala spermatozoa disebabkan adanya radikal bebas yang masuk pada waktu ejakulasi (Kruger, *et al*. 1987). MDA telah digunakan secara luas sebagai indicator keberadaan radikal bebas dan terjadinya kerusakan oksidatif, Zakaria (1996). Semen yang mengalami *stress oksidatif* akibat radikal bebas membran plasmanya mengandung asam lemak tak jenuh sehingga menimbulkan kerusakan sel. Membran spermatozoa yang rusak akan menyebabkan menurunnya integritas membran spermatozoa, sehingga pada akhirnya menyebabkan penurunan kualitas sperma (Hayati, 2006).

Dari hasil Analisis Ragam menunjukkan bahwa penambahan tingkat pengencer tidak berbeda nyata ($p < 0.05$) dikarenakan pada level kenaikannya masih tergolong sedikit sedangkan lama simpan juga pada level kenaikannya masih tergolong sedikit, bahan pengencernya juga mengalami kenaikan yang masih sedikit dan interaksinya tidak berbeda nyata ($p < 0.05$) pada suhu 27 ^{0}C. MDA tertinggi pada suhu 27 ^{0}C berada pada perlakuan penambahan tingkat pengencer 15 kali dengan tanpa penyimpanan atau konrol. Menurunnya motilitas diikuti abnormalitas diduga disebabkan proses metabolisme, sehingga banyaknya energi yang digunakan untuk bergerak menyebabkan selama penyimpanan mengalami penurunan serta kemungkinan terjadi perubahan sifat – sifat fisiologis semen dalam

medium. Tingginya kadar MDA pada pengencer 15 kali di karenakan terbentuknya radikal bebas yang bereaksi dengan komponen membran sel dalam pengenceran semen entog lebih cepat, hal ini terjadi pada kontrol semen belum mengalami *stress* dan sesudah perlakuan semen banyak yang *stress* akibat perlakuan dan penambahan pengencer kuning telur sehingga spermatozoa mengalami kerusakan yang di iringi meningkatnya abnormalitas spermatozoa. Alawiyah dan Hartono (2006) menyebutkan bahwa peroksidasi lipid akan menyebabkan kerusakan struktur dan terganggunya metabolisme spermatozoa yang berakibat spermatozoa mati.

Penambahan kadar tingkat pengencer dan lama simpan yang berbeda pada suhu 27 ^{0}C, penambahan tingkat pengencer sebagai antioksidan dapat menangkal kerusakan peroksidasi lipid yang bereaksi dengan lemak tak jenuh dalam pengenceran semen entog segar, sehingga mengalami dengan uji MDA terjadinya penurunan kerusakan adanya endapan perubahan warna merah muda. semen entog memberikan rataan terhadap persentase abnormalitas individu semen. Berdasarkan tabel 2 Rataan Abnormalitas Semen Entog Dalam Tingkat Pengenceran dan Lama Simpan Berbeda Pada Suhu Ruang (27 ºC) menunjukan bahwa rataan tingkat pengencer (7.46 ± 1.52) dan lama simpan (7.46 ± 1.48) termasuk dalam kategori semen layak untuk proses inseminasi buatan. Hal ini sesuai dengan (Toelihere, 1993) yang mengatakan bahwa rataan abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari semen, maka semen tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan hasil terbaik abnormalitas terjadi pada tingkat pengenceran 5x dengan lama simpan 60 menit, dan MDA pada tanpa pengenceran atau kontrol dengan lama simpan 120 menit.

B. Saran

Perlu adanya ketelitian dan keterampilan saat penampungan semen entog, untuk aplikasinya pengencer 5x dengan lama simpan 60 menit.

DAFTAR PUSTAKA

Abuja, P.M dan Albertini, R. 2001. *Methods For Monitoring Oxydative Resistance Stress, Lipid Peroxidation and Oxidation Resistance of Lipoproteins.* Clin Chim Acta. 306 : 1 – 17.

Alawiyah, D. dan Hartono, M. 2006. *Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan pengencer sitrat Kuning Telur terhadap Kualitas semen beku Kambing Boer*. J.Indon.Trop.Anim.Agric. 31 [1]: 8- 14.

Andreyev. 1987 dalam Setioko, A.R, 2000. *Inseminasi Buatan Pada Ternak Itik. Makalah Temu Aplikasi Paket Teknologi Pertanian (APTEK)*. Banjarbaru Kalimantan Selatan.

Anonymous, 2000. *Mula Duck* ??? Metzinfo " metzer farms. Com. Internet.

Basu, Y., Takuda, Y., Takamura, T., dan Isojima, S. 2004. *Localization of Human Seminal Plasma No & Antigen (Ferrisplan) in Accessory Glands of Male Genital etract*. J.Reprod.Immunol

Baser., dan Zad, R.K. 2004. *Involvement of Protein Tyrosine Phosphorylation of Human Sperm Capacitation Acrocome reaction and Zone Pellucida Binding.* Bio.Sci, 1:206-213

Bearden, H.J., and Fuquay, J.W. 1984. *Applied Animal Reproduction. Second Edition. Reston Publishing Company.* Inc. A Principle Hall Company Reston. Virginia.

Bebas, W. 2002. *Pengaruh Lama Penyimpanan Semen Ayam Hutan Hijau (Gallus varius) pada Suhu 40C Terhadap Daya Hidup Spermatozoa dan Fertlitas Telur Ayam Kampung (Gallus domesticus)*. (http://wwwl.Veterinary.Journal/lab/reprod/veteriner/html. Diakses 26 Maret 2006)

Clarke, R.N., Sexton, T.J., dan Ottinger, M.A. 1982. *Effect of holding temperature and storage time on respiratory rate, motility, and fertility of chicken and turkey semen*. Poult. Sci. 61: 1912-1917.

D.L. Garner dan E.S.E. Hafez. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma.* Dalam Hafez reproduction in Farm Animals *7 th Edition*. Lippincot Williams & Wilkins. Marylan USA.

Dorota, S. dan M, Kurpisz. 2004. *Reactive Oxygen Species and Sperm Cells.* Jounal Reproduction Biology and Endocrinology, March 2: 1-7

Estevest, S., Sharma, R., dan Thomas, A. 2002. *Effect of Swim-up Sperma washing and Subseguent Capacitation on Acrocome Status and Fungsional Membrane Integrity of Normal Spem.* Departement of Urolory the ceveland Clinic Foundation Clevelani. Ohio

Fitriani, 2011. *Tingkat Pengenceran dan dosis Semen Entog terhadap Fertilitas Telur Hasil Persilangan Entog dengan Itik Melalui Teknologi IB*. Veterinaria medika.vol 4, no 3.Unair. Surabaya.

Fitriani, 2009. *Kajian Penambahan Alfa Tokoferol dengan Lama Penyimpanan dan Suhu Berbeda terhadap Kualitas Semen Entog*. Disertasi UB. Malang.

Hammerstedt, H.R. 1993. *Maintenance of Bioenergenic Balance in Sperm and Prevention of lipid Perioxidation*: A Review of the Effect on Design of storage Preservation sistems. Reprod Fertil, 5: 675-690.

Hayati, A., Mangkoewidjojo, S,. Hinting, A dan Moeljopawiro, S. 2006. *Hubungan Kadar MDA Sperma dengan Integritas Membran Spermatozoa Tikus (Rattus norvericus) setelah Pemaparan 2-Methoxythanol*. Reviewer Seminar Biologi Nasional 2005 Surabaya.

Hardjosworo, P.S, 2001. *Blasteran Entog dan Itik*. Sumber Daging Masa Depan. Trobos Edisi Juni.

Maxwell, W.M.C and P.F. Watson, 1987. *Resent progress in the preservation of ram semen*. J. Amin. Reprod. Sci. 42:55-65.

Ostashko *et al*, 1977 dalam Surai, P.E and Wishart, G.J, 1996. *Poultry Artificial Insemination Technology In The Countries Of The Former USSR*. World's Poultry Science Journal. Vol.52(1)

Saleh, D.M. 2004. *Optimization of Semen Processing and Cryopreservation Techniues in Philippine Native Roosters (Gallus gallus domesticus L)*. Doctoral Dissertasion University of the Philippines Los Banos.

Sanoeka, D dan Kurpisz, M. 2004. *Reactive Oxygen Species and Sperm Cells*. Reproductive Biology and Endrocrilogy 2(12): 1-7.

Setioko, A.R, 2000. *Inseminasi Buatan Pada Ternak Itik*. Makalah Temu Aplikasi Paket Teknologi Pertanian (APTEK). Banjarbaru Kalimantan Selatan.

Sharma, M., Rai, K., Sharma, S.S., dan Gupta, Y.K. 2000. *Effect Of Antioxidants On Pyrogallol-Induced Delay In Gastric Emptying In Rats. Department Of Pharmacology*, All India Institute Of Medical Sciences. New Dehli. Phasmacology Feb; 60 (2): 90 – 96.

Simanjuntak, l, 2002. *Tiktok Unggas Pedaging Hasil Persilangan itik dan Entog*. Penerbit PT AgroMedia Pustaka. Jakarta

Surai, P.E and Ionov, I.A. 1992. dalam Surai, P.E and Wishart, G.J, 1996. *Poultry Artificial Insemination Technology In The Countries Of The Former USSR*. World's Poultry Science Journal. Vol.52(1)

Solihati N, Ruhijat I, Setiawan R, Asmara IY, Sujana BI.2006. *Pengaruh lama penyimpanan sperma- tozoa cair Ayam Buras pada suhu 5 0C terhadap periode fertil dan fertilitas sperma*. Jurnal Ilmu Ternak 6: 7-11.

Stevens, V.I, R. Blair, R.E. Salmon and J.P Stevens, 1984. *Effect of Varyng Levels of Dietery Vitamin D 3 on Turkey Hen egg production, Fertility and Hatchabitility, Embryo Mortality and Incident of Embryo Beak Malformations.* Poultry Science 63: 760- 764

Tai Liu, j.J and Tai, C, 1991. *Mule Duck Production in Taiwan*. Artificial Insemination of Duck Food & Fertilizer Technology Center. Extension Bulletin no. 328: Pp 1 –6

Tambing, N.S. Mozes, R. Toelihere. Tuty, L. Yusuf. Purwatara, B. Sutama, K. Polmer, Z dan Situmorang. 2003. *Pengaruh frekuensi ejakulasi terhadap karakteristik semen segar dan kemampuan libido kambing saanen*. Balai penelitian ternak Bogor.

Toelihere, M.R, 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Penerbit Angkasa bandung. Anggota IKAPI. Jawa Barat

Toelihere, M. R. 1977. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.

Wresdiyati, dan Makita . 1995. *Pengaruh α Tokoferol terhadap Profil Superioksida Dismutase dan Malondialdehide pada Jaringan Hati Tikus di Bawah Kondisi Stress*. Bagian Anatomo, Histologi dan Embriologi. Fakultas Kedokteran Hewan. Bagian Biokimia. Fakultas Tehnologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

Yulnawati, *et al*,. 2013. Gambaran Abnormalitas Spermatozoa Sapi Subtropis di Lingkungan Tropis. Forum Komunikasi dan Seminar Nasional Peternakan. Puslit Bioteknologi LIPI, Cibinong.

Zakaria, F.R. 1996. *Senyawa radikal dalam dan oleh bahan pangan*. Prosiding seminar senyawa radikal bebas dan sistem pangan : Reaksi biomolekuler, dampak tarhadap kesehatan dan penangkalan. Kerjasama PAU IPB dengan Kedutaan Besar Perancis. Jakarta : 11 - 17