PENGARUH ARAS TESTOSTERON PADA PENGENCER DAN DERAJAT PENGENCERAN SEMEN TERHADAP KECEPATAN GERAK DAN ABNORMALITAS SPERMATOZOA AYAM KEDU

(The Effect of Level Testosterone Addition in Diluents and Level Dilution on Speed Movement and Abnormality of Kedu Chicken Sperm)

Agus Susanto, Rachmawati Wahyuningsih dan Edy Pramono
Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto

ABSTRACT

The research entitled "The Effect of Level Testosterone Addition in Diluents and Level Dilution on Speed Movement and Abnormality of Kedu Chicken Sperm" was conducted in Laboratory of Physiology and Reproduction, Faculty of Animal Science, UNSOED, started at August 15th to September 15th, 2001. The aims of this research were to obtain influences of level testosterone and dilution on speed movement and secondary abnormality kedu chicken sperm and obtain interaction between the treatments. The tapped sperm from nine kedu chickens were used in this research. This Experiment was performed 4 x 3 Factorials with Randomized Completely Block Design (RCBD) as the basic design. The treatment combinations were level testosterone 0, 300, 600 and 900 µg (t_0, t_1, t_2 and t_3) and level of dilution 4, 6 and 8 time (in a row p_1, p_2 and p_3). The tapping period was replicated four times as a group (replicated) with two days interval. The result of this research showed that the interaction between level of testosterone addition and level of dilution gave a non-significant effect to speed movement sperm but significant to abnormality of kedu chicken sperm. The group gave a significant influence ($P<0.05$) to speed movement sperm and non significant to sperm abnormality. The interaction of level testosterone addition and level dilution of kedu chicken semen (T x P) has a quadratic regression to sperm abnormality with regression comparison is $Y = 24.418 - 0.014\ X + 1.187E\text{-}05\ X^2$, with peak point is (543.76: 20.23) of correlation coefficient (r) 0.55 and determination coefficient (R^2) as 30.34%. The addition of 600 µg testosterone level with 6 level dilutions was the best to defend sperm abnormality.

Key words: Spermatozoa, Kedu Chicken, Testosterone, Dilution, Speed Movement and Abnormality

PENDAHULUAN

Ayam kedu merupakan salah satu jenis ayam lokal yang dapat dikembangkan untuk membantu memenuhi kebutuhan protein hewani asal ternak bagi masyarakat. Perkembangan ayam kedu sampai saat ini diperkirakan sangat rendah. Hal ini disebabkan pemeliharaan ayam kedu tersebut masih bersifat tradisional dan populasi ayam kedu hanya terkonsentrasi pada daerah kedu saja.

Salah satu cara untuk mengembangkan dan meningkatkan produksi dan populasi ayam kedu adalah dengan memperbaiki metode perkawinan. Dalam pemeliharaan secara tradisional perkawinan yang terjadi biasanya secara alami, pejantan hanya mampu mengawini satu ekor betina dalam satu kali ejakulasi, sehingga sperma yang dihasilkan kurang bermanfaat untuk betina lain. Padahal, semen yang dihasilkan jauh melebihi kebutuhan ternak untuk membuahi telur dari satu ekor betina. Oleh karena itu, metode perkawinan alami kerap kali menjadi pembatas dalam upaya pengada-

an bibit dalam meningkatkan produksi dan populasi ternak.

Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu metode perkawinan yang dikembangkan guna pengadaan bibit yang bermutu sekaligus meningkatkan populasi ternak unggas secara kualitas maupun kuantitasnya. Keberhasilan program IB ditentukan oleh kualitas spermatozoa yang digunakan. Agar spermatozoa tetap baik dan dapat digunakan sewaktu-waktu dalam jumlah yang cukup banyak maka perlu dilakukan pengenceran. Pengenceran semen memungkinkan dilakukan IB pada lebih banyak ternak betina dan mempertahankan spermatozoa setelah dideposisikan ke dalam kelamin betina. Cairan yang digunakan untuk pengenceran harus dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa dan jika mungkin meningkatkan kecepatan gerak spermatozoa sehingga mempercepat pertemuannya dengan ovum. Salah satu kendala yang dihadapi dalam pelaksanan program IB adalah upaya untuk mempertahankan dan meningkatkan kualitas spermatozoa setelah pengenceran. Spermatozoa harus mempunyai kecepatan gerak yang baik dan abnormalitas sekunder yang rendah, karena merupakan faktor yang penting bagi spermatozoa untuk mencapai sel telur. Testosteron merupakan hormon yang dapat memperpanjang umur spermatozoa di dalam epididimis, menurunkan katabolisme protein dan mempercepat gerak spermatozoa (Garner dan Hafez, 1993). Oleh karena itu, perlu diketahui seberapa besar pengaruh penambahan aras testosteron dan derajat pengenceran terhadap kecepatan gerak dan abnormalitas sekunder spermatozoa ayam kedu.

Tujuan Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh serta interaksi dosis testosteron dan derajat pengenceran terhadap kecepatan gerak dan abnormalitas sekunder spermatozoa ayam kedu. Kegunaan penelitian ini diharapkan memberikan informasi pengaruh testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran terhadap kecepatan gerak dan abnormalitas sekunder spermatozoa ayam kedu serta diharapkan dapat diterapkan secara langsung oleh para peternak dalam pelaksanaan program IB.

METODE PENELITIAN

Materi penelitian yang digunakan adalah semen yang diperoleh dari delapan ekor ayam kedu umur ± 24 bulan yang dipelihara di kandang baterai. Ayam diadaptasikan dengan diberi pakan berupa campuran BR 1 Produksi PT Wonokoyo, jagung giling dan dedak dengan perbandingan (1:2:1).

Pembuatan pengenceran Kuning Telur Sitrat (KTS) dengan perbandingan yang digunakan adalah satu bagian kuning telur dan enam bagian Natrium Sitrat. Hormon Testosteron dengan merek dagang Testohormon diencerkan 10 kali dengan minyak non kolesterol, yaitu pencampuran 9 ml minyak jagung dengan 1 ml testosteron mengandung 30 ml testosteron propionat atau 30.000 µg. Sehingga setiap 0,1 ml campuran mengandung 300 µg testosteron

propionat. Setelah pengencer KTS tercampur dengan sempurna kemudian semen diencerkan dengan tiga tingkat pengenceran yaitu 4 kali pengenceran dalam empat tabung masing-masing diberi label T_0P_1, T_1P_1, T_2P_1, T_3P_1, pengenceran 6 kali dalam empat tabung reaksi masing-masing diberi label T_0P_2, T_1P_2, T_2P_2, T_3P_2 dan 8 kali pengenceran dalam empat tabung masing-masing diberi label T_0P_3, T_1P_3, T_2P_3, T_3P_3. Melakukan penyadapan semen ayam kedu kemudian dilanjutkan pemeriksaan semen segar. Semen yang telah selesai diperiksa dicampur dengan pengencer dalam 12 tabung. Kemudian disimpan pada suhu 5 °C dan diperiksa setelah 4 jam. Pemeriksaan kecepatan gerak menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10 x 10 yang telah dilengkapi dengan mikrometer. Kecepatan gerak spermatozoa dihitung dengan cara menentukan jarak yang ditempuh spermatozoa yang bergerak sejajar dengan skala mikrometer dibanding dengan waktu yang diperlukan. Tiap pengamatan dilihat 20 ekor spermatozoa kemudian dirata-ratakan.

Pengamatan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara membuat preparat ulas (menggunakan eusin negrosin), kemudian dihitung dengan counter check dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 40. Jumlah spermatozoa yang diamati minimal 200 ekor. Pengambilan data ini dilakukan sebanyak 4 kali dengan interval penyadapan 2 hari sekali.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan dasar Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 4 x 3 (Steel dan Torrie, 1980).

Periode penyadapan sebagai blok sebanyak empat kali, sedangkan perlakuan yang diberikan adalah level testosteron (T) sebagai faktor pertama dan dosis pengenceran (P) sebagai faktor ke dua, dengan kombinasi perlakuan seperti disajikan pada Tabel 1.

Peubah yang diamati adalah kecepatan gerak dan abnormalitas sekunder spermatozoa ayam kedu. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis ragam. Selanjutnya kurva respon interaksi antar perlakuan diuji dengan Orthogonal Polinomial.

$$\text{Kecepatan} = \frac{\text{Jarak yang dicapai dari gerak lurus progresif (mm)}}{\text{Waktu yang diperlukan (dt)}}$$

$$\text{Persentase Abnormal} = \frac{\text{Spermatozoa Abnormal}}{\text{Spermatozoa Abnormal + Spermatozoa Normal}} \text{ X } 100\ \%$$

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan Antara Testosteron dan Dosis Pengencer

Perlakuan		Kombinasi Perlakuan
t_0p_1	:	0 µg testosteron dalam 4 ml KTS : semen (3 : 1)
t_0p_2	:	0 µg testosteron dalam 6 ml KTS : semen (5 : 1)
t_0p_3	:	0 µg testosteron dalam 8 ml KTS : semen (7 : 1)
t_1p_1	:	300 µg testosteron dalam 4 ml KTS : semen (3 : 1)
t_1p_2	:	300 µg testosteron dalam 6 ml KTS : semen (5 : 1)
t_1p_3	:	300 µg testosteron dalam 8 ml KTS : semen (7 : 1)
t_2p_1	:	600 µg testosteron dalam 4 ml KTS : semen (3 : 1)
t_2p_2	:	600 µg testosteron dalam 6 ml KTS : semen (5 : 1)
t_2p_3	:	600 µg testosteron dalam 8 ml KTS : semen (7 : 1)
t_3p_1	:	900 µg testosteron dalam 4 ml KTS : semen (3 : 1)
t_3p_2	:	900 µg testosteron dalam 6 ml KTS : semen (5 : 1)
t_3p_3	:	900 µg testosteron dalam 8 ml KTS : semen (7 : 1)

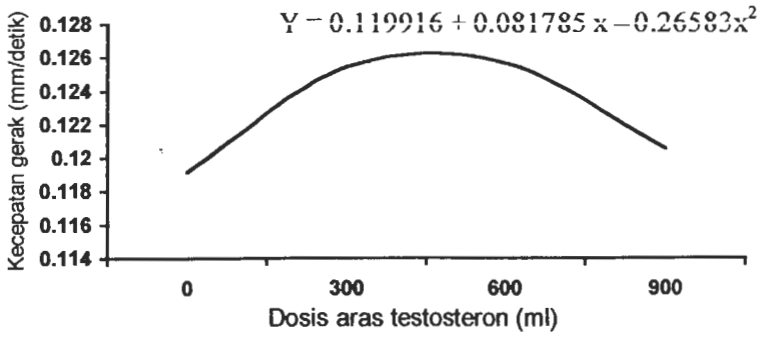
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan semen segar diperoleh rataan volume semen ayam kedu sebesar 0,47 ml/ejakulasi. Volume tersebut masih dalam kisaran normal untuk ejakulasi seekor ayam. Semen ayam kedu yang digunakan untuk penelitian berwarna putih susu. Hal ini menunjukkan bahwa semen yang dihasilkan mempunyai kepadatan spermatozoa yang tinggi. Menurut Rose (1997) Ayam jantan memproduksi 0,5 – 1,0 ml semen per ejakulasi, sedangkan semen yang didapatkan berwarna putih susu. Lebih lanjut Etches (1996) menyatakan semen ayam berwarna putih mutiara. Konsentrasi semen ayam kedu yang digunakan dalam penelitian adalah 5,49 x 10^9/ml. Nilai ini masih dalam kisaran normal. Menurut Toelihere (1985) bahwa konsentrasi spermatozoa ayam rata-rata adalah 0,03 - 11 x 10^9/ml. Konsentrasi semen bervariasi dari suspensi keruh dan kental sampai suatu semen encer.

Kecepatan Gerak Spermatozoa

Kecepatan gerak yang dihasilkan dari hasil penelitian ini cukup baik dengan rataan kecepatan gerak sebesar 0,12 mm/detik (7,37 mm/menit). Hasil pengukuran ini lebih cepat dibanding dengan pengukuran kecepatan yang dilakukan oleh Sutaryo *et al.* (1999) bahwa kecepatan gerak rataan spermatozoa ayam kampung yang diberi perlakuan Natrium Sitrat adalah 5,69 ± 0,54 mm/menit. Lebih lanjut dinyatakan bahwa kecepatan gerak spermatozoa di luar alat kelamin betina adalah kurang lebih 6 mm per menit.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran berpengaruh tidak nyata terhadap kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu.



Gambar 1. Hubungan Penambahan Aras Testosteron Terhadap Kecepatan Gerak Spermatozoa Ayam Kedu

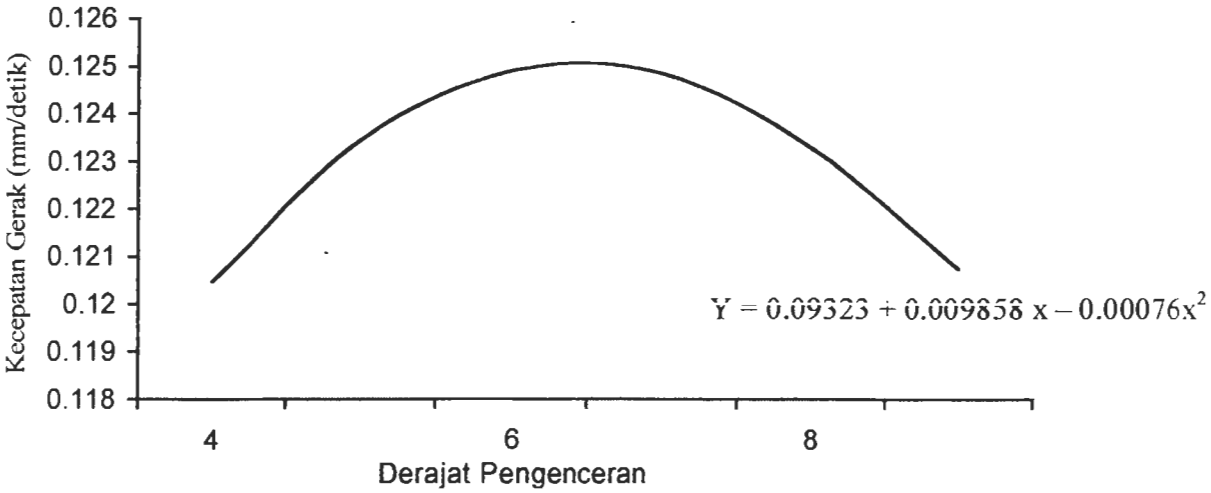
Hal ini diduga karena aras testosteron dan derajat pengenceran tidak saling mempengaruhi atau pengaruhnya sangat kecil terhadap kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan aras testosteron berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu. Dari hasil uji ortogonal polinomial ternyata penambahan aras testosteron mempunyai hubungan kuadratik terhadap kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu (Gambar 1) dengan persamaan regresi :

$$Y = 0,1199 + 0,0818\ X - 0,266\ X^2,$$

titik balik (0,1538 ; 0,1262) sedangkan koefisien determinasi $R^2 = 0,2097$ serta koefisien korelasi $r = 0,46$. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh penambahan aras testosteron terhadap kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu sebesar 20,97%, sedangkan sisanya 79,03 % dipengaruhi oleh faktor lain. Misalnya kemungkinan tidak tercampur testosteron dengan pengencer dengan sempurna.

Penambahan aras testosteron 0,2 ml (600 µg) akan meningkatkan kecepatan gerak spermatozoa dan kecepatan gerak yang dicapai adalah 0,13 mm/detik (7,57 mm/menit). Hal ini diduga bahwa penambahan aras testosteron pada pengencer KTS sampai taraf 600 µg bersifat isotonik (mempunyai tekanan yang sama) sehingga metabolisme berlangsung sempurna. Energi hasil metabolisme digunakan untuk pergerakan spermatozoa. Energi yang digunakan untuk menggerakkan spermatozoa dihasilkan oleh serabut ekor berasal dari penguraian Adenosin Tri Phosphat (ATP) yang terdapat pada serabut sepiral yang mengikat berkas serabut (Salisbury dan Van Demark, 1961). Penambahan aras testosteron di atas 600 µg akan menimbulkan penurunan kecepatan gerak.



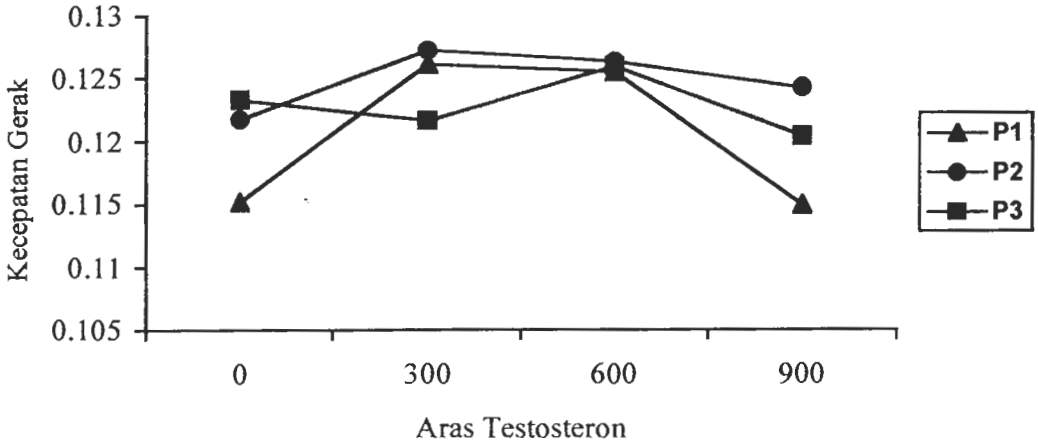
Gambar 2. Hubungan Derajat Pengenceran Terhadap Kecepatan Gerak Spermatozoa Ayam Kedu

Hal ini diduga karena penambahan aras testosteron di atas 600 µg bersifat hipertonik sehingga terdapat perbedaan tekanan osmosis antara cairan pengencer dengan cairan di dalam sel sperma. Cairan pengencer yang lebih kental daripada cairan di dalam sel sperma menyebabkan terjadinya pemindahan cairan dari dalam sel sperma keluar melalui permeabilitas membran. Akibatnya sperma akan kehilangan sebagian zat yang berguna bagi proses metabolisme sehingga laju metabolisme menjadi rendah. Bearden dan Fuquay (2000) menyatakan bahwa membran permiable, baik dalam pengencer hipertonik maupun hipotonik akan memudahkan air melalui membran tersebut

Analisis ragam menunjukkan bahwa derajat pengenceran berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu. Hasil uji orthogonal polinomial menunjukkan adanya hubungan kuadratik antara derajat pengenceran dengan kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu, dengan persamaan garis regresi :

$Y = 0,09323 + 0,009858\ X - 0,00076\ X^2$ titik balik (6,46 ; 0,125) sedangkan koefisien determinasi $R^2 = 0,5438$ serta koefisien korelasi $r = 0,73$. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh derajat pengenceran terhadap kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu sebesar 54,38%, sedangkan sisanya 45,62% dipengaruhi oleh faktor lain

Berdasarkan persamaan garis regresi (Gambar 2) terlihat bahwa derajat pengenceran 6,46 kali memberikan kecepatan terbaik dibanding derajat pengenceran yang lain yaitu 0,123 mm/detik (7,50 mm/menit). Pada derajat pengenceran 4 kali konsentrasi spermatozoa lebih tinggi sehingga diduga akan menghambat gerak spermatozoa itu sendiri. Sedangkan pada derajat pengenceran 8 kali sperma akan dihambat geraknya oleh derajat kekentalan dari pengencer.



Gambar 3. Respon Penambahan Aras Testosteron dengan Derajat Pengenceran Terhadap Kecepatan Gerak

Hal ini sesuai dengan pendapat Sastrodihardjo *et al.* (1995) yang menyatakan bahwa kekeruhan dan kekentalan pengencer semen yaitu besar dan kecil serta jumlah partikel dalam semen tersebut akan menghambat motilitas sperma. Dari kurva respon penambahan aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran (Gambar 3) terlihat bahwa penambahan aras testosteron 0 sampai 300 µg kecepatan gerak pada P2 paling tinggi kemudian disusul P1 dan P3, masing-masing 0,13 mm/detik, 0,13 mm/detik dan 0,12 mm/detik. Kemudian pada aras testosteron 600 µg kecepatan gerak tertinggi dicapai pada P2 kemudian disusul P3 dan P1 yaitu 0,13 mm/detik, 0,13 mm/detik dan 0,13 mm/detik. Setelah itu mulai terjadi penurunan kecepatan gerak dengan penambahan aras testosteron antara 600–900 µg dengan kecepatan gerak tertinggi pada P2 kemudian P3 dan P1, masing-masing 0,12 mm/detik, 0,12 mm/detik dan 0,11 mm/detik. Hal ini diduga pada derajat pengenceran P2 akan menurunkan viskositas kuning telur sehingga setelah dicampur dengan testosteron menjadi larutan yang bersifat isotonis sehingga tercapai keseimbangan antara semen dengan pengencernya.

Periode penyadapan dua hari sekali selama empat kali berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap kecepatan gerak. Perbedaan kecepatan gerak per periode penyadapan dapat timbul karena pengaruh makanan, suhu udara dan kelembaban. Selain itu menurut Salisbury dan Van Demark (1961) angka motilitas yang progresif *in-vitro* bervariasi sesuai dengan kepadatan cairan, suhu lingkungan dan umur spermatozoa.

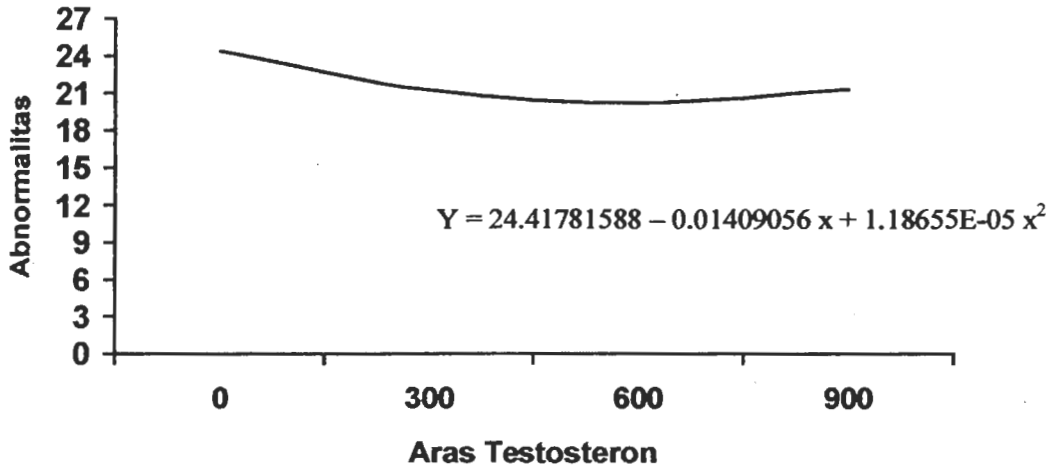
Abnormalitas Spermatozoa

Hasil pengamatan rataan persentase abnormalitas spermatozoa ayam kedu

dengan penambahan aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran cukup baik dengan rataan dari seluruh perlakuan sebesar 12,3%. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan aras testosteron pada pengencer mampu menekan abnormalitas spermatozoa. Abnormalitas pada aras testosteron 0 sampai 300 µg mengalami penurunan dan dipertahankan sampai penambahan antara 600 – 900 µg. Selain itu abnormalitas juga makin meningkat dengan bertambahnya derajat pengenceran. Hasil ini sama dengan penelitian pada Entok yang dilakukan Fauzi *et al.* (1999) bahwa pengenceran semen Entok 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. Abnormalitas terendah diperoleh pada penambahan aras testosteron 600 µg yaitu sebesar 11,29%. Abnormalitas tersebut diakibatkan oleh kelainan yang sudah ada atau dibawa dari testis dan juga karena pengaruh penyadapan dan pengenceran. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antar aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Dari uji ortogonal polinomial menunjukkan bahwa interaksi penambambahan aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran spermatozoa ayam kedu (T pada P) mempunyai hubungan kuadratik terhadap abnormalitas spermatozoa (Gambar 3) dengan persamaan :

$Y = 24,418 - 0,014\ X + 1,187E\text{-}05\ X^2$

dengan titil balik (543,76 : 20,2348) serta koefisien korelasi r = 0,55 sedangkan koefisien determinasi $R^2 = 0,3035$.

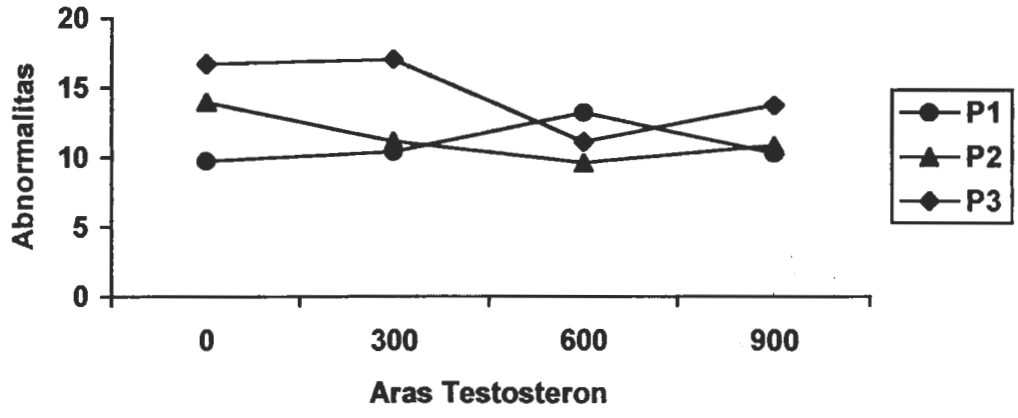


Gambar 4. Hubungan Penambahan Aras Testosteron dan Derajat Pengenceran Terhadap Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kedu

Hal ini memperlihatkan pengaruh penambahan aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran hanya sebesar 30,35%, sedangkan 69,66% dipengaruhi oleh faktor lain.

Persamaan garis regresi menunjukkan bahwa tanpa penambahan testosteron abnormalitas spermatozoa yang paling tinggi kemudian mengalami penurunan pada penambahan aras testosteron 300 sampai 600 μg dan abnormalitas meningkat lagi pada penambahan aras testosteron 900 μg. Hal ini diduga karena tanpa penambahan atau pemberian testosteron berlebihan akan menyebababkan bahan pengencer tidak termetabolisme dengan baik dan tekanan tidak isotonik. Akibat selanjutnya ialah kebutuhan energi untuk motilitas spermatozoa tidah terpenuhi sehingga abnormalitas spermatozoa lebih tinggi. Menurut Bearden dan Fuquay (2000) semen akan mempertahankan aktivitas metabolik maksimum bila diencerkan dengan pengencer isotonik. Salah satu dari pengencer yaitu yang bersifat hipotonik ataupun hipertonik akan menurunkan kecepatan metabolik. Penambahan aras testosteron 900 μg meningkatkan abnormalitas spermatozoa, yaitu dari 11,29 menjadi 11,63. Hal ini diduga karena semakin tingginya dosis testosteron maka akan menurunkan viskositas medium semen yang besifat hipotonis. Perubahan viskositas ini akan mempengaruhi perubahan asam-basa medium sehingga spermatozoa akan mengalami kerusakan.

Dari kurva respon penambahan aras testosteron pada pengencer dan derajat pengenceran terlihat bahwa pada pengenceran 6 kali menghasilkan abnormalitas yang paling rendah dari berbagai derajat pengenceran, yaitu 11,39%. Abnormalitas pada penambahan aras testosteron 600 μg mampu menekan abnormalitas spermatozoa.



Gambar 5. Respon Penambahan Aras Testosteron dengan Derajat Pengenceran (t x p) Terhadap Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kedu

Hal ini menunjukkan bahwa penambahan aras testosteron 600 µg pada derajat pengenceran 6 kali menghasilkan larutan yang bersifat isotonis sehingga terjadi keseimbangan antara semen dan pengencer. Abnormalitas yang paling tinggi terjadi pada derajat pengenceran 4 kali, abnormalitas semakin meningkat seiring dengan penambahan aras testosteron. Hal ini diduga bahwa semakin tinggi penambahan aras testosteron menyebabkan pengencer semakin pekat dan bersifat hipertonik. Kondisi seperti ini akan menyebabkan perubahan tekanan osmotik antara semen dengan pengencer sehingga materi intrasel yang berguna untuk metabolisme banyak yang hilang. Hal ini akan menyebabkan meningkatnya abnormalitas.

Blok berpengaruh tidak nyata terhadap abnormalitas spermatozoa. Hal ini diduga karena ayam pejantan sudah beradaptasi dengan periode penyadapan dua hari sekali. Selain itu, perlakuan terhadap semen pada saat pencampuran dan pembuatan preparat ulas sudah seragam sehingga hasil perhitungan abnormalitas sudah sesuai prosedur.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa : penambahan testosteron pada level 0,1 ml (300 µg) sampai 0,2 ml (600 µg) pada derajat pengenceran 6 kali mampu meningkatkan kecepatan gerak spermatozoa ayam kedu, dari 0,122 mm/detik (7,32 mm/menit) pada kontrol menjadi 0,126 mm/detik (7,56 mm/menit).

Penambahan aras testosteron pada derajat pengenceran 6 kali dengan aras testosteron 0,2 ml (600 µg/ml pengencer) mampu menekan laju abnormalitas spermatozoa ayam kedu. Jika dibandingkan dengan yang tidak diberi perlakuan atau pada penambahan terlalu tinggi 0,3 ml (900 µg/ml pengencer).

Kombinasi perlakuan penambahan aras testosteron 0,2 ml (600 µg/ml pengencer) dengan derajat pengenceran 6 kali merupakan pengencer yang paling baik untuk mendapatkan kualitas spermatozoa guna keperluan Inseminasi Buatan.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sebagai upaya penerapan penambahan aras testosteron 0,2 ml (600 µg) pada derajat pengenceran 6 kali untuk mengetahui tingkat keberhasilan dalam Inseminasi Buatan pada ayam khususnya ayam kedu

DAFTAR PUSTAKA

Bearden, J.H. and J.W. Fuquay, 2000. Applied Animal Reproduction. Fifth edition. Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River. New Jersey.

Etches, R.J., 1996. Reproduction in Poultry. Center for Agriculture and Bioscience (CAB) International. New York

Fauzi, Rachmawati W.S. dan Edy Pramono. 1999. Pengaruh Aras NaCl Fisiologis dan Lama Pe-nyimpanan pada Suhu Ruang terhadap Motilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Entok. Skripsi. Fakultas Peternakan UNSOED, Purwokerto.

Garner, D.L., and E.S.E. Hafez, 1993. Spermatozoa and Seminal Plasma. *In*: Reproduction in Farm Animals. Hafez E.S.E. (Ed). Lea and Febiger, Philadelphia.

Rose, S.P., 1997. Principles of Cattle. Center for Agriculture and Bioscience (CAB) International. New York

Salisbury, G.W., and V.I. Van Demark. 1961. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. *Terjemahan :* Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. R. Djanuar. 1985. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Sastrodihardjo, C., Sofjan, Tjutju dan Paggi, 1995. Daya Tahan Hidup Spermatozoa Ayam Buras dalam Berbagai Pengencer Semen dengan Penyimpanan dalam Suhu Kamar. Balai Penelitian Ternak Ciawi. Bogor

Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1980. Prinsip dan Prosedur Statistika. *Terjemahan oleh*: Bambang Sumantri, 1993. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Sutaryo, Rachmawati, W.S. dan Sugiyatno. 1999. Pengaruh Level Natrium Sitrat dalam Pengencer dan Metode Pengemasan terhadap Motilitas dan Kecepatan Gerak Ayam Kampung. Skripsi. Fakultas Peternakan UNSOED, Purwokerto.

Toelihere, M.R., 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.