

Efek Suplementasi ENERVON-C dan SANTA-e dalam Pakan terhadap Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung

(Effect of Supplementation of ENERVON-C and SANTA-e in Feed on Sperm Motility of Local Cocks)

Triva Murtina Lubis¹, Dasrul¹, Hamdan¹ dan Fauziah¹

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111

ABSTRACT This study aimed to observe the effect of supplementation of ENERVON-C and SANTA-e in feed on sperm motility of local cocks. The research was conducted at Reproduction Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Syiah Kuala University, Banda Aceh. The research used 12 local cocks divided into 4 treatment groups : P0 (feed of 521), P1 (feed of 521 + 200 mg ENERVON-C/kg of feed), P2 (feed of 521 + 200 mg SANTA-e/kg feed) and P3 (feed of 521 + 100 mg ENERVON-C/kg of feed and 100 mg SANTA-e/kg of feed). During the research, all cocks were given 100 g of 521 feed/day. Feed with ENERVON-C and SANTA-e was given for 2

weeks before semen collections. Drink was given ad libitum. Data were analysed with analysis of variance and if there are effects among the treatments, analysis will be continued with Duncan Test. Results shows that supplementation of ENERVON-C or SANTA-e and their combination in feed can increase the percentage of sperm motility. There are significant differences ($p < 0,05$) between control and treatment groups. To sum up, supplementation of ENERVON-C or SANTA-e in feed can improve the quality of sperm (motility) of local cocks. The sperm quality is better after giving of ENERVON-C and SANTA-e together than single supplementation.

Key words: sperm quality, sperm motility, local cocks, ENERVON-C, SANTA-e.

2012 Agripet : Vol (12) No. 1: 34-40

PENDAHULUAN

Ayam kampung mempunyai peran yang sangat besar bagi kehidupan masyarakat terutama di pedesaan karena dijadikan sebagai sumber daging, telur dan sebagai tambahan pendapatan. Ayam kampung lebih tahan terhadap penyakit-penyakit tertentu dan mempunyai daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan, namun demikian ayam kampung juga memiliki kelemahan, yaitu pertumbuhan dan pubertas yang lambat, produksi yang rendah, lamanya selang waktu bertelur akibat mengasuh anak dan rendahnya mutu genetik (Solihati dkk., 2006).

Untuk meningkatkan mutu genetik ayam kampung maka dilakukan inseminasi buatan (IB) yang biasanya menggunakan semen cair yang diperbanyak volumenya dengan penambahan bahan pengencer. Penggunaan semen cair untuk IB pada ternak

ayam masih menimbulkan banyak permasalahan, terutama menyangkut rendahnya motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa setelah penampungan. Kondisi ini diduga berkaitan dengan ketidakmampuan plasma seminalis untuk mencegah kerusakan integritas membran plasma yang diakibatkan oleh proses peroksidasi (Aurich *et al.*, 1997). Terjadinya peroksidasi diakibatkan oleh adanya peningkatan senyawa oksigen reaktif sebagai hasil metabolisme spermatozoa. Upaya untuk menghambat peroksidasi lipid dapat dilakukan dengan cara menambahkan antioksidan dalam pakan (Wijaya, 1996).

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal tersebut. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang

Corresponding author: trivamurtina@yahoo.com

dapat menimbulkan stress oksidatif. Stress oksidatif (*oxidative stress*) adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas (prooksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas (Pavlovic *et al.*, 2005).

Vitamin E (*tocopherol*) merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai antioksidan yang larut dalam lemak. Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan intra seluler yang paling kuat dalam mengurangi atau mencegah peroksidasi asam lemak tak jenuh di dalam dan di dinding sel (Donnelly *et al.*, 1999). Vitamin E mampu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai, sehingga dapat menghindari kerusakan peroksidatif membran sel (Halliwell, 1993). Vitamin E sebagai antioksidan dilaporkan juga mampu melindungi spermatozoa terhadap kerusakan peroksidatif dan penurunan jumlah serta motilitas spermatozoa. Pemberian vitamin E 100 - 300 milligram/hari secara oral pada pasien astenospermia (infertil) dilaporkan mampu meningkatkan jumlah, motilitas, viabilitas spermatozoa dan mengurangi kerusakan morfologi spermatozoa secara signifikan (Subratha, 1998). Selanjutnya penambahan vitamin E dalam pakan dosis 100 mg/kg pakan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa mencit secara sangat bermakna (Astuti dkk., 2008).

Vitamin C (asam askorbat) merupakan salah satu vitamin yang bersifat sebagai antioksidan yang larut dalam air. Vitamin C mampu menangkap radikal bebas dengan cara berikatan dengan anion superoksida (O_2^-) dan hidroksil radikal (OH^\cdot) (Glascott *et al.*, 1996). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dalam pakan dapat meningkatkan kualitas spermatozoa mencit yang terpapar timbal atau plumbum (Fauzi, 2008). Vitamin C juga sering diberikan bersamaan dengan pemberian vitamin E. Hasil penelitian Iswara (2009) menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dan E secara oral dapat meningkatkan kualitas spermatozoa mencit yang terpapar allethrin secara bermakna.

ENERVON- C merupakan suplemen yang banyak mengandung vitamin C untuk meningkatkan daya tahan tubuh, sedangkan

SANTA-e merupakan suplemen yang banyak mengandung vitamin E untuk daya tahan tubuh dan meningkatkan kesuburan manusia. Berdasarkan hal di atas dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas suplementasi ENERVON- C dan SANTA-e dalam pakan standar terhadap kualitas spermatozoa (motilitas) ayam kampung.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Darusalam, Banda Aceh. Penelitian ini menggunakan 12 ekor ayam kampung jantan, berumur sekitar 1 – 1,5 tahun dengan berat badan berkisar antara 1,7 – 2 kg. Alat-alat yang digunakan adalah kandang ayam, tempat pakan ayam, timbangan, mikroskop, tabung reaksi, *counter*, tissue, gunting, *aluminium foil*, *object glass* dan *cover glass*. Bahan yang digunakan adalah semen ayam kampung dewasa, pakan ayam tipe 521 (PT. Charoen Pokphand Indonesia, Medan), ENERVON-C (PT. Medifarma Laboratories Depok, Indonesia), SANTA-e (PT. Sanbe Farma Bandung, Indonesia), NaCl 0,9% dan alkohol 70%.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 kali ulangan. Perlakuan tersebut terdiri dari :

P0 = Pakan 521

P1 = Pakan 521 + 200 mg ENERVON-C / kg pakan

P2 = Pakan 521 + 200 mg SANTA-e / kg pakan

P3 = Pakan 521 + 100 mg ENERVON-C + 100 mg SANTA-e / kg pakan

Dua belas ekor ayam kampung jantan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor. Sebelum perlakuan, seluruh ayam diadaptasikan selama 2 minggu dan hanya diberikan pakan 521 dan air minum *ad libitum*, selanjutnya berat badan ayam ditimbang. Perlakuan diberikan pada masing-masing kelompok seperti pada rancangan penelitian. Selama penelitian ayam diberi pakan 521 100

gram/ekor dalam sehari, dibagi dalam dua waktu yaitu pagi dan sore hari masing-masing 50 gram/ekor. Ayam-ayam pada ulangan pertama diberikan pakan selama 14 hari, ulangan kedua 18 hari, ulangan ketiga 22 hari, ulangan keempat 26 hari, ulangan kelima 30 hari. Pakan dan air minum dikonsumsi secara *ad libitum*.

Penampungan Semen

Penampungan semen ayam kampung dilakukan pada pagi hari pukul 08.00 WIB. Koleksi semen dilakukan dua kali dalam seminggu. Sebelum pengambilan semen terlebih dahulu kloaka dibersihkan dengan alkohol 70% agar semen bebas dari kotoran. Penampungan semen dilakukan secara *massage* menurut metode Burrows dan Quinn (1937) yang telah dimodifikasi dengan dua orang operator (Suprijatna dkk., 2005).

Evaluasi Semen Secara Makroskopis

1. Volume : dapat langsung dibaca pada tabung yang berskala.
2. pH : diukur dengan indikator pH.
3. Warna : dapat langsung dilihat atau memperhatikan warna semen yang telah ditampung.
4. Konsistensi atau derajat kekentalan : dilakukan pada tempat yang terang, dengan cara tabung dimiringkan dan beberapa saat kemudian ditegakkan kembali. Jika semen yang menempel pada bagian tabung turun perlahan-lahan setelah tabung ditegakkan kembali menandakan bahwa semen tersebut mempunyai konsistensi yang kental.
5. Bau : dapat diketahui dengan cara mencium pada permukaan tabung.
6. Gerakan massa :
 - a. Sangat baik (+++) merupakan gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak dan bergerak cepat.
 - b. Baik (++) merupakan gelombang kecil tipis, jarang dan bergerak lambat.
 - c. Sedang (+) tidak terlihat gelombang melainkan hanya individual gerakan spermatozoa aktif progresif.
 - d. Buruk (O) atau necrospemia (N) hanya sedikit atau tidak ada sama

sekali gerakan individu. (Toelihere, 1993).

Evaluasi Semen Secara Mikroskopis (Motilitas Spermatozoa)

Semen diteteskan pada gelas objek kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 40. Motilitas spermatozoa diperiksa secara berurutan 5 lapangan pandang dengan menggeser bidang pandang dari kiri ke kanan untuk memperoleh 200 spermatozoa, kemudian diperhatikan gerakan sebagai berikut:

Nilai	Keterangan
P	Gerakan progresif, yaitu gerakan maju ke depan
C	Gerakan <i>circular</i> yaitu gerakan melingkar
N	<i>Necrospemia</i> , yaitu tidak ada gerakan
R	Gerakan <i>reverse</i> yaitu gerakan mundur

$$\text{Motilitas} = \frac{\text{jumlah spermatozoa progresif}}{\text{jumlah keseluruhan spermatozoa}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data persentase motilitas spermatozoa yang diperoleh dalam penelitian ini ditransformasikan dengan menggunakan tabel *arc sinus* kemudian dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan antara perlakuan dengan kontrol maka dilanjutkan dengan uji Duncan (Steel dan Torrie, 1990).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Semen Segar secara Makroskopis

Hasil pemeriksaan secara makroskopis terhadap semen segar ayam kampung setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata (\pm SD) hasil evaluasi semen segar ayam kampung secara makroskopis setelah perlakuan

Perlakuan	Volume (ml)	pH	Warna	Bau	Konsistensi	Gerakan Massa
P0	0,5 \pm 0,002	8,5 \pm 0,01	Putih susu	Nor mal	Kental	+++
P1	0,7 \pm 0,003	8,4 \pm 0,03	Putih susu	Nor mal	Kental	+++
P2	0,6 \pm 0,005	8,6 \pm 0,03	Putih susu	Nor mal	Kental	+++
P3	0,7 \pm 0,007	8,3 \pm 0,01	Putih susu	Nor mal	Kental	+++
Rata-rata (\pm SD)	0,6 \pm 0,004	8,5 \pm 0,02	Putih susu	Nor mal	Kental	+++

Pada Tabel 1 di atas terlihat bahwa volume semen ayam kampung yang tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan P3 setelah penambahan ENERVON-C dan SANTA-e dalam pakan yaitu $0,7 \pm 0,007$ ml, kemudian diikuti kelompok perlakuan P1 yaitu $0,7 \pm 0,003$ ml, kelompok perlakuan P2 yaitu $0,6 \pm 0,005$ ml dan kelompok perlakuan kontrol P0 $0,5 \pm 0,002$ ml. Volume tersebut masih dalam kisaran normal untuk ejakulasi seekor ayam jantan. Perbedaan volume ini diduga disebabkan oleh status individu ternak dan suplementasi vitamin yang ditambahkan ke dalam pakan.

Volume semen segar yang dihasilkan oleh seekor ayam jantan dalam satu ejakulasi dapat berbeda-beda. Pada umumnya perbedaan ini dipengaruhi oleh umur, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas pakan dan frekuensi penampungan (Toelihere, 1993), teknik dan metode penampungan (Kasai dan Izumo, 2001). Pada penelitian ini diperoleh volume semen ayam kampung dari setiap ejakulasi rata-rata $0,6 \pm 0,004$ ml. Volume ini termasuk normal karena volume semen ayam yang dihasilkan dalam satu kali ejakulasi adalah 0,2-0,5 ml (Hafez, 1993) atau 0,5-2,0 ml (Simanjuntak, 2002).

Nilai pH terendah terdapat pada perlakuan P3 yaitu $8,3 \pm 0,01$, kemudian diikuti kelompok perlakuan P1 yaitu $8,4 \pm 0,03$, kelompok perlakuan P0 yaitu $8,5 \pm 0,01$ dan kelompok perlakuan P2 $8,6 \pm 0,03$. Nilai pH rata-rata yang diperoleh adalah $8,5 \pm 0,02$. Menurut Hardiyanto (1993) pH semen ayam bervariasi antara 8,5 – 9.

Derajat keasaman (pH) semen dipengaruhi oleh proses metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob. Hasil akhir dari proses metabolisme spermatozoa tersebut berupa asam laktat. Semakin tinggi asam laktat yang dihasilkan akan menyebabkan akumulasi asam laktat sehingga pada akhirnya menyebabkan peningkatan derajat keasaman atau menurunkan (pH) larutan tersebut (Toelihere, 1981).

Menurut Partodihardjo (1992) warna dan konsistensi semen dapat dijadikan indikator untuk memprediksi konsentrasi spermatozoa yang berada dalam semen secara cepat. Pada kondisi awal dapat dikatakan bahwa semakin kental dan warna putih susu

maka konsentrasi spermatozoa yang terkandung di dalam semen tersebut semakin tinggi. Semen yang diperoleh pada penelitian ini adalah putih susu, konsistensinya kental dan baunya normal serta memiliki gerakan massa yang sangat baik (+++).

Evaluasi Semen Segar secara Mikroskopis (Motilitas Spermatozoa)

Motilitas merupakan salah satu kriteria penentu kualitas semen yang dilihat dari banyaknya spermatozoa yang bergerak progresif dibandingkan dengan seluruh spermatozoa yang ada. Daya gerak progresif ini mempunyai peran yang penting untuk keberhasilan fertilisasi. Kecepatan gerakan spermatozoa untuk masing-masing spesies berbeda dan bervariasi sesuai dengan kondisi medium dan suhu lingkungan (Toelihere, 1985). Rata-rata persentase motilitas spermatozoa ayam kampung pada keempat kelompok perlakuan, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata (\pm SD) persentase motilitas spermatozoa ayam kampung pada berbagai kelompok perlakuan

Perlakuan	Motilitas spermatozoa (%)
P0	$76,756 \pm 0,99^a$
P1	$86,976 \pm 1,21^b$
P2	$79,408 \pm 2,51^a$
P3	$92,010 \pm 1,27^b$

Keterangan : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). P0 = kontrol; P1 = enervon-C ; P2 = Santa-e; P3 = kombinasi.

Tabel 2 memperlihatkan bahwa rata-rata persentase motilitas spermatozoa ayam kampung mengalami peningkatan setelah penambahan ENERVON-C dan SANTA-e dalam pakan. Persentase motilitas spermatozoa paling tinggi ditemukan pada kelompok perlakuan P3 yaitu $92,010 \pm 1,27\%$, kemudian diikuti kelompok perlakuan P1 yaitu $86,976 \pm 1,21\%$, kelompok perlakuan P2 $79,408 \pm 2,51\%$ dan kelompok perlakuan kontrol P0 $76,756 \pm 0,99\%$. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dan E dalam pakan dapat meningkatkan

persentase motilitas spermatozoa ayam kampung.

Berdasarkan hasil uji statistik menggunakan ANOVA terhadap persentase motilitas spermatozoa terdapat pengaruh yang sangat nyata ($p < 0,01$) untuk masing-masing perlakuan. Hasil uji analisis berganda Duncan menunjukkan bahwa pada perlakuan P3 persentase motilitas spermatozoa lebih tinggi secara sangat nyata ($p < 0,01$) dibandingkan dengan P0, P1, P2. Persentase motilitas spermatozoa pada P1 lebih tinggi secara sangat nyata ($p < 0,01$) dibandingkan dengan P0 dan P2, sedangkan P2 lebih tinggi secara nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan P0. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian kombinasi ENERVON-C dan SANTA-e lebih baik dibandingkan dengan pemberian ENERVON-C atau SANTA-e secara tunggal. Hal ini disebabkan karena ENERVON-C dan SANTA-e banyak mengandung vitamin C dan vitamin E.

Menurut Iswara (2009) penambahan kombinasi vitamin C dan E dapat meningkatkan kualitas (persentase motilitas) spermatozoa mencit yang terpapar alletrin. Vitamin C berfungsi sebagai antioksidan dengan cara menetralkan radikal bebas dan menghambat peroksidasi lipida. Pemberian vitamin C dosis 200-1000 mg/ hari secara oral dapat meningkatkan jumlah spermatozoa *in vivo* pada laki-laki infertil (Agarwal dkk., 2005). Wibisono (2001) melaporkan bahwa pada tikus jantan yang terpapar oleh gelombang ultrasonik (merupakan salah satu pemicu terjadinya radikal bebas) mengalami penurunan jumlah spermatid sebesar 50%. Namun setelah pemberian vitamin C dengan dosis 0,20 mg/ g BB bersamaan dengan pemaparan gelombang ultrasonik selama 15 hari ternyata dapat meningkatkan jumlah spermatid sampai 66%. Hasil penelitian Wibisono (2001) menunjukkan bahwa vitamin C mampu melindungi sistem reproduksi tikus jantan yang terpapar oleh gelombang tersebut.

Vitamin E berperan dalam memperlambat berlangsungnya reaksi peroksidasi lipid karena mampu menangkap radikal bebas dan memutuskan rantai peroksidasi lipida di dalam membran sel. Aksi vitamin E adalah dengan menyumbangkan

satu atom hidrogen dari gugus OH pada cincinnya ke radikal bebas yang dibutuhkan untuk menstabilkan sebuah elektron yang tidak berpasangan akibat pembentukan radikal bebas. Hal ini menyebabkan terbentuknya radikal vitamin E yang stabil dan tidak merusak serta menghentikan reaksi rantai propagasi yang bersifat merusak pada proses peroksidasi lipida (Almatsier, 2002). Sulaiman dkk. (1996) melaporkan bahwa vitamin E memainkan peran penting dalam menurunkan peroksidasi lipida dan melindungi spermatozoa dari kerusakan oksidatif serta dibutuhkan untuk memelihara integritas membran spermatozoa (Therond *et al.*, 1996).

Vitamin C dan vitamin E sebagai antioksidan dapat menghentikan reaksi berantai radikal bebas. Pertama, vitamin E akan menangkap radikal bebas, namun vitamin E kemudian berubah menjadi vitamin E radikal sehingga memerlukan pertolongan vitamin C. Vitamin C dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat vitamin E radikal yang terbentuk pada proses pemutusan reaksi radikal bebas oleh vitamin E menjadi vitamin E bebas yang berfungsi kembali sebagai antioksidan (Pavlovic *et al.*, 2005). Dengan mekanisme kerja yang berbeda tersebut, jika kedua vitamin ini digunakan diharapkan akan dapat menghambat aktivitas radikal bebas, selain itu juga dapat meningkatkan fertilitas (Surai *et al.*, 1999).

Hal yang sama juga dikatakan oleh (Iswara, 2009) bahwa vitamin C bekerja secara sinergis dengan vitamin E dalam mempertahankan jumlah spermatozoa dengan menangkap radikal bebas. Vitamin E menyumbangkan satu elektronnya kepada radikal yang kemudian berubah menjadi vitamin E radikal dan selanjutnya akan distabilkan oleh vitamin C. Vitamin C yang bersifat radikal selanjutnya akan berubah menjadi stabil kembali oleh enzim antioksidan di dalam tubuh.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa suplementasi ENERVON-C, SANTA-e, dan kombinasi ENERVON-C dengan SANTA-e dalam pakan dapat meningkatkan

kualitas spermatozoa (motilitas) ayam kampung. Pemberian kombinasi suplemen ENERVON-C dan SANTA-e secara bersamaan menghasilkan kualitas semen yang paling baik dibandingkan dengan suplementasi ENERVON-C atau SANTA-e secara tunggal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., Prabakaran, S., and Said, T., (2005). Prevention of oxidative stress injury to sperm. *J. Androl.* 26 (6) : 654-660.
- Almatsier, S., 2002. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Astuti, S., Muchtadi, D., Astawan, M., Purwantara, B., dan Wresdiyati, T., 2008. Kualitas spermatozoa tikus yang diberikan tepung kedelai kaya isolovon, seng (Zn) dan vitamin E. *Media Peternakan.* 32 (1) : 12-21.
- Aurich, J.E., Schonherr, U., Hoppe, and Aurich, C., 1997. Effect of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-stored stallion semen. *Theriogenology.* 48 (2): 185-192.
- Burrows, W.H., and Quinn, J.P., 1937. The collection of spermatozoa from the domestics fowl and turkey. *Poultry Sci.* 16: 19-24.
- Donnelly, E.T., McClure, N., and Lewis, 1999. The effects of ascorbate and alpha – tocopherol supplementation in vitro on DNA integrity and hydrogen peroxide – induced DNA damage ion human spermatozoa. *Mutagenesis.* 14 (5): 505 – 511.
- Fauzi, T.M., 2008. Pengaruh Pemberian Timbal Asetat dan Vitamin C terhadap Kadar Malondialdehyde dan Kualitas Spermatozoa dalam Sekresi Epididimis Mencit Albino. Tesis. Pascasarjana USU, Medan.
- Glascott, Gilfor, P. A, E., Serroni, A., and Ferber, J.L., 1996. Independent antioxidant action of vitamin E and C in cultured rat hepatocytes intoxicated with allyl alcohol. *Biochem. Pharmacology.* 52. (8): 1254 -1262.
- Halliwell, B., 1993. Free radicals and vascular disease: how much do we know ?. *Brit. Med. J.* 307: 885.
- Hafez, E.S.E., 1993. Semen Evaluation. *In* : *Reproduction in Farm Animals.* E.S.E. Hafez (Ed). 6th ed. Lea & 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–Ilmu Peternakan.* 3 (4) : 47-56.
- Iswara, A., 2009. Pengaruh pemberian antioksidan vitamin C dan E terhadap kualitas spermatozoa tikus putih terpapar ALLETHRIN. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Kasai, K., and Izumo., 2001. Efficiency of artificial vagina method in semen collection from Osaka Drakes. *J. Appl. Poultr. Res.* 10: 206-210. www.Poultryscience.org/japr/abs/01/r0130206.htm. [23 Februari 2006]
- Partodiharjo, S., 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. PT. Mutiara Sumber Widya, Jakarta. Hal: 42-45.
- Pavlovic V., Cekic, S., Rankovic, G., and Stoiljkovic, N., 2005. Antioxidant and pro-oxidant effect of ascorbic acid. *Acta Medica Medianae.* 44 (1): 65-69.
- Simanjuntak, L., 2002. Tiktok. Hasil Persilangan Itik dan Entok. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Solihati, N., Idi, R., Setiawan, R., Asmara, I.Y., dan Sujana, B.I., 2006. Pengaruh lama penyimpanan semen cair ayam buras pada suhu 5°C terhadap periode fertil dan fertilitas sperma. *J. Ilmu Ternak.* 6 (1): 7-11.
- Steel, R.G.D., dan Torrie, J.H., 1990. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometri. Alih bahasa oleh Bambang Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Subratha, I.M., 1998. Pemberian Fosfolipid Esensial dan Antioksidan (Vit. E) Meningkatkan Integritas Membran

- Spermatozoa. Disertasi. Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sulaiman, S.A., Ali, M.E., Zaki, Z.M., el-Manik, E.M., dan Nasr, M.A., 1996. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J. Androl.* 17(5):530-537.
- Suprijatna, E., Atmomarsono, U., dan Kartasudadjana, R., 2005. Ilmu Dasar Ternak Unggas. Cetakan I. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Surai, P. F., Noble, R.C., and Speake, B.K., 1999. Relationship between vitamin E content and susceptibility to lipid oxidation in tissues of the newly hatched chick. *British Poult. Sci.* 40:406-410.
- Therond, P., Auger, J., Legrand, A., and Jouannet, P., 1996. Alpha-tocopherol in human spermatozoa and seminal plasma relationship with motility antioxidant enzymes and leukocytes. *Mol. Hum. Repro.* 2 (10) : 739-744.
- Toelihere, M.R., 1981. Ilmu Kemajiran pada Ternak Sapi. Edisi Pertama. Institut Pertanian Bogor. Hal: 52-57, 76-85.
- Toelihere, M. R., 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Toelihere.M.R., 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung. Hal : 75-77, 84-85, 120-128, 266-267.
- Wibisono, M., 2001. Pengaruh vitamin C terhadap jumlah spermatik pada *Mus Musculus* yang dipapar gelombang ultrasonik. *Jurnal Kedokteran YARSI.* 9 (1): 96-103.
- Wijaya, A., 1996. Radikal bebas dan parameter statur antioksidan. Forum Diagnostikum, Prodia Diagnostics Education Services. pp: 1 – 12.