

Pengaruh Substitusi Pakan Konsentrat dengan Tepung Azolla terhadap Kualitas Semen Ayam Kampung

The Effect of Substituting Concentrate Feed with Azolla Flour on the Quality of Kampung Chicken Semen

Reski, Awaluddin, Khaeruddin*, Bahri Syamsuryadi, Hermawansyah

Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sinjai.

Jl. Teuku Umar No. 8, Biringere, Sinjai Utara 92611, Sulawesi Selatan, Indonesia

Email Koresponding: *erukhaeruddin@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh substitusi konsentrat menggunakan tepung azolla (*Azolla microphylla*) pada ransum terhadap kualitas semen ayam Kampung. 10 ekor ayam kampung Jantan dewasa digunakan dalam penelitian ini sebagai ulangan. Ayam dipelihara dalam kandang individu dengan pemberian pakan yang mengandung konsentrat (P0) selama 2 pekan kemudian semen dievaluasi. Selanjutnya dipelihara selama 2 pekan yang diberi ransum dengan tepung azolla (P1) sebagai pengganti konsentrat. Semen dikoleksi dengan metode pemijatan dan dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis. Parameter penelitian makroskopis yaitu volume, warna, pH, dan konsistensi semen, sedangkan mikroskopis yaitu motilitas, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi spermatozoa. Penelitian ini menggunakan uji T berpasangan dengan 2 taraf perlakuan yaitu sebelum substitusi tepung azolla (P0) dan setelah substitusi tepung azolla (P1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa substitusi tepung azolla dalam ransum mampu meningkatkan motilitas spermatozoa secara signifikan ($P < 0,05$) hingga 88%. Sedangkan parameter lain menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan kualitas semen (volume semen, warna semen, konsistensi semen, pH semen, viabilitas spermatozoa, abnormalitas spermatozoa dan konsentrasi spermatozoa) setelah pemberian azolla dengan sebelum pemberian azolla ($P > 0.05$). Kualitas semen yang diperoleh yaitu volume semen 0,18-0,23 ml, warna semen putih susu, konsistensi semen kental, pH semen 7,47-7,58, viabilitas spermatozoa 91,5-93%, abnormalitas 10,2-19,7% dan konsentrasi spermatozoa 2,47-2,9 milyar/ml.

Kata kunci: Ayam Kampung, Konsentrat, Kualitas semen, Tepung Azolla

ABSTRACT

*The aim of this study was to determine the effect of substituting concentrate using azolla flour (*Azolla microphylla*) in rations on the quality of native chicken semen. 10 adult male native chickens were used in this study as replications. Chickens were kept in individual cages with feed containing concentrate (P0) for 2 weeks then the semen was evaluated. Furthermore, they were kept for 2 weeks given a ration with azolla flour (P1) as a substitute for concentrate. Semen was collected by massage method and evaluated macroscopically and microscopically. Macroscopic research parameters were volume, color, pH, and consistency of semen, while microscopic parameters were motility, viability, abnormality and concentration of spermatozoa. This study used a paired T test with 2 levels of treatment, namely before azolla flour substitution (P0) and after azolla flour substitution (P1). The results showed that azolla flour substitution in rations was able to increase spermatozoa motility significantly ($P < 0.05$) up to 88%. While other parameters showed that there was no difference in semen quality (semen volume, semen color, semen consistency, semen pH, spermatozoa viability, spermatozoa abnormalities and spermatozoa concentration) after administration of azolla compared to before administration of azolla ($P > 0.05$). The semen quality obtained was semen volume 0.18-0.23 ml, milky white semen color, thick semen consistency, semen pH 7.47-7.58, spermatozoa viability 91.5-93%, abnormalities 10.2-19.7% and spermatozoa concentration 2.47-2.9 billion/ml.*

Keywords: Azolla flour, Concentrate, Kampung Chicken, Semen quality

PENDAHULUAN

Ayam kampung dikenal memiliki produksi daging yang cukup tinggi dan tahan terhadap beberapa macam penyakit serta daya adaptasi tinggi (Junaedi *et al.*, 2025). Oleh karena itu, pengawasan rutin terhadap indikator performa reproduksi menjadi hal yang wajib dilakukan oleh setiap unit pembibitan yang meliputi fertilitas, daya tetas, umur induk, dan kualitas semen (Widyasanti *et al.*, 2025). Proporsi pakan dan asupan nutrisi yang seimbang dapat meningkatkan performa produksi ternak dan unggas, seperti penambahan bobot badan, laju produksi telur, dan efek reproduksi (Armeyanti *et al.*, 2024).

Nutrisi dan pakan memiliki pengaruh yang sangat penting terhadap reproduksi unggas karena kualitas dan keseimbangan gizi secara langsung memengaruhi fungsi hormonal, perkembangan organ reproduksi, serta produksi telur atau spermatozoa (Widyasanti *et al.*, 2025). Biaya pakan merupakan 60-70% dari biaya total produksi ternak unggas, harga dan biaya pakan yang tinggi akan menyebabkan biaya produksi total menjadi tinggi sehingga penggunaan bahan pakan lokal merupakan upaya untuk meminimalkan biaya pakan (Djunaidi *et al.*, 2025). Pakan konsentrat relatif mahal dibandingkan dengan bahan pakan kasar atau alternatif (Hasanah, 2025).

Salah satu bahan pakan sumber protein alternatif yang memiliki kualitas yang baik adalah tanaman *Azolla microphylla*. Menurut Santi *et al.* (2021), azolla merupakan tumbuhan paku air dan salah satu pakan alami yang melimpah ketersediaannya di alam yang belum termanfaatkan secara optimal, tumbuh dan berkembang dengan cepat, hidupnya mengambang di atas permukaan air serta bersimbiosis dengan *Cyanobacteria* (alga hijau biru) mampu memfiksasi nitrogen udara. Kandungan asam amino esensialnya, terutama lisin 0,42% lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrat jagung, dedak, dan beras pecah (Arifin, 2003).

Menurut Achmadi *et al.* (2024), tumbuhan azolla mengandung beragam zat fitokimia dengan sifat antioksidan yang kuat, termasuk tanin, fenol, antrakuinon, dan steroid. Zat-zat ini juga dapat berfungsi sebagai sumber antioksidan alami. Songara, *et al.* (2020) menyatakan bahwa berbagai vitamin, protein, mineral dan asam amino pada tanaman azolla yang berperan dalam proses spermatogenesis menyebabkan terjadinya peningkatan kualitas semen. Pada mamalia, suplementasi azolla pada pakan kambing jantan meningkatkan karakteristik semen dan mempengaruhi perilaku seksual (Gupta *et al.*, 2022), selain itu suplementasi azolla dilaporkan meningkatkan motilitas spermatozoa, integritas akrosom, keseimbangan hormonal, dan efisiensi reproduksi pada domba Garut (Nurlatifah *et al.*, 2025). Berdasarkan hal tersebut sehingga penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh substitusi konsentrat menggunakan tepung azolla (*Azolla microphylla*) pada ransum terhadap kualitas semen ayam Kampung.

METODE PENELITIAN

Prosedur Penelitian

Pemeliharaan Ayam Sebelum Perlakuan

10 ekor ayam Jantan dewasa dipelihara selama 2 pekan kandang individu berukuran 50x50x65 cm dan diberikan ransum yang terdiri dari jagung 40%, dedak 25% dan konsentrat broiler 35% sebanyak 200 g/ekor/hari dan air minum diberikan secara adlibitum.

Pemeliharaan Ayam Setelah Perlakuan

Perlakuan yang digunakan Adalah pemberian tepung azolla sebagai pengganti konsentrat. Azolla segar dikeringkan dan dibuat menjadi tepung sebelum digunakan sebagai pakan. 10 ekor ayam Jantan dewasa yang telah dipelihara selama 2 pekan sebelumnya diberikan ransum yang terdiri dari jagung 30%, dedak 28% dan tepung azolla 42% sebanyak 200 g/ekor/hari dan air minum diberikan secara adlibitum.

Koleksi dan Evaluasi Semen

Koleksi dan evaluasi dilakukan 2 kali yaitu 2 pekan setelah pemeliharaan menggunakan pakan yang mengandung konsentrat dan 2 pekan setelah diberikan pakan yang mengandung tepung azolla. Koleksi atau penampungan semen menggunakan metode abdominal massage.

Ayam diletakkan dengan posisi kloaka di bagian depan dan dilakukan pemijatan bagian abdominal mengarah ke kloaka hingga papilla menonjol yang diiringin dengan keluarnya cairan berwarna putih susu (semen normal), selanjutnya semen ditampung dengan corong kecil yang terhubung dengan microtube (Khaeruddin et al., 2025). Semen dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis.

Paramater Penelitian

Pada karakteristik semen secara makroskopis prosedur parameter yang diamati yaitu (Khaeruddin et al. 2020b):

1. Volume semen diamati menggunakan pada spuit 1 ml.
2. Warna semen diamati secara langsung menggunakan Indera penglihatan kemudian dikonversi menjadi angka, yaitu 1 (bening), 2 (putih susu) dan 3 (krem).
3. Konsistensi semen dinilai dengan memiringkan semen dan mengembalikannya pada posisi semula.
4. Konsistensi dinilai dengan 1 (encer), 2 (sedang) dan 3 (kental).
5. pH Semen diukur menggunakan *special pH indicator paper*.

Pada karakteristik semen secara mikroskopis prosedur parameter yang diamati yaitu:

1. Motilitas spermatozoa dilakukan dengan meletakkan 1 tetes semen di atas gelas objek kemudian dicampurkan 2-3 tetes Ringer laktat, ditutup dengan gelas penutup. Semen dan diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 pada 5 lapang pandang, penilaian dilakukan secara subjektif dengan persentase spermatozoa yang bergerak progresif (Khaeruddin et al., 2025).
2. Viabilitas spermatozoa dilakukan dengan semen diwarnai dengan setetes eosin-nigrosin dan diapus tipis pada gelas objek dan dikeringkan 5 detik. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400. Spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna, sedangkan yang mati menyerap warna (Agarwal et al., 2016). Penghitungan dilakukan sebanyak 200 sel spermatozoa dan kemudian dihitung persentase sel spermatozoa dengan rumus:

$$Viabilitas (\%) = \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100$$

3. Abnormalitas spermatozoa dievaluasi pada preparat yang telah diapus eosin-nigrosin minimal 200 spermatozoa menggunakan mikroskop perbesaran 400. Rumus yang digunakan yaitu Khaeruddin et al. 2020b):

$$Abnormalitas (\%) = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Total spermatozoa}} \times 100$$

4. Konsentrasi spermatozoa dievaluasi dengan cara semen diencerkan NaCl 3% (1:500), dihomogenkan dan ditetaskan di atas kamar hitung (*Neubauer chamber*). Penghitungan dilakukan pada 5 kotak pada mikroskop perbesaran 100. Rumus untuk menentukan konsentrasi spermatozoa dalam 1 mililiter semen yaitu (Arifiantini, 2012):

$$\text{Jumlah rata-rata spermatozoa} \times 5 \times 500 \times 1000$$

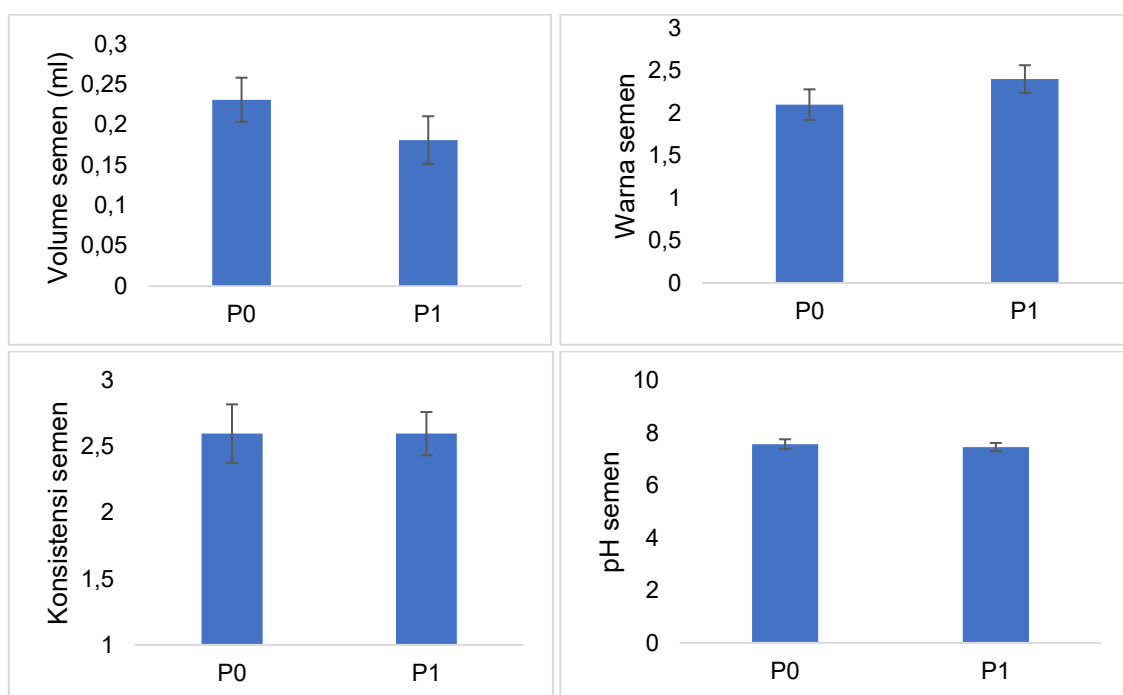
Analisis Data

Data dianalisis dengan uji T berpasangan terhadap P0 (sebelum pemberian tepung azolla) dan P1 (setelah pemberian tepung azolla) menggunakan *software* SPSS 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Makroskopis Semen Ayam Kampung dengan Substitusi Tepung Azolla dalam Ransum

Penambahan tepung azolla tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap volume semen ayam kampung. Volume semen yang dihasilkan dalam penelitian ini 0,18-0,23 ml. Penelitian Munthe *et al.* (2018) menunjukkan bahwa penggunaan pakan yang mengandung Azolla sp. terhadap kualitas semen ayam Kamaras jantan menghasilkan volume semen sebesar 0,27 ml, yang tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian ini. Volume semen yang dikumpulkan dalam penelitian ini jauh lebih banyak daripada yang diperoleh oleh Khaeruddin & Srimaharani (2019) yaitu 0,09 ml dan hampir identik dengan volume semen yang diperoleh oleh Khaeruddin & Kurniawan (2020) yaitu 0,2 ml. Setiap kali ejakulasi, ayam jantan menghasilkan 0,1 hingga 1,5 mililiter semen (Getachew, 2016). Volume semen bervariasi berdasarkan jenis ayam (Hermiz *et al.*, 2016; Adeoye *et al.*, 2017) dan umur (Azizah *et al.*, 2023).



Gambar 1. Karakteristik makroskopis semen ayam kampung dengan substitusi tepung azolla dalam ransum. P0: sebelum substitusi dan P1: setelah substitusi.

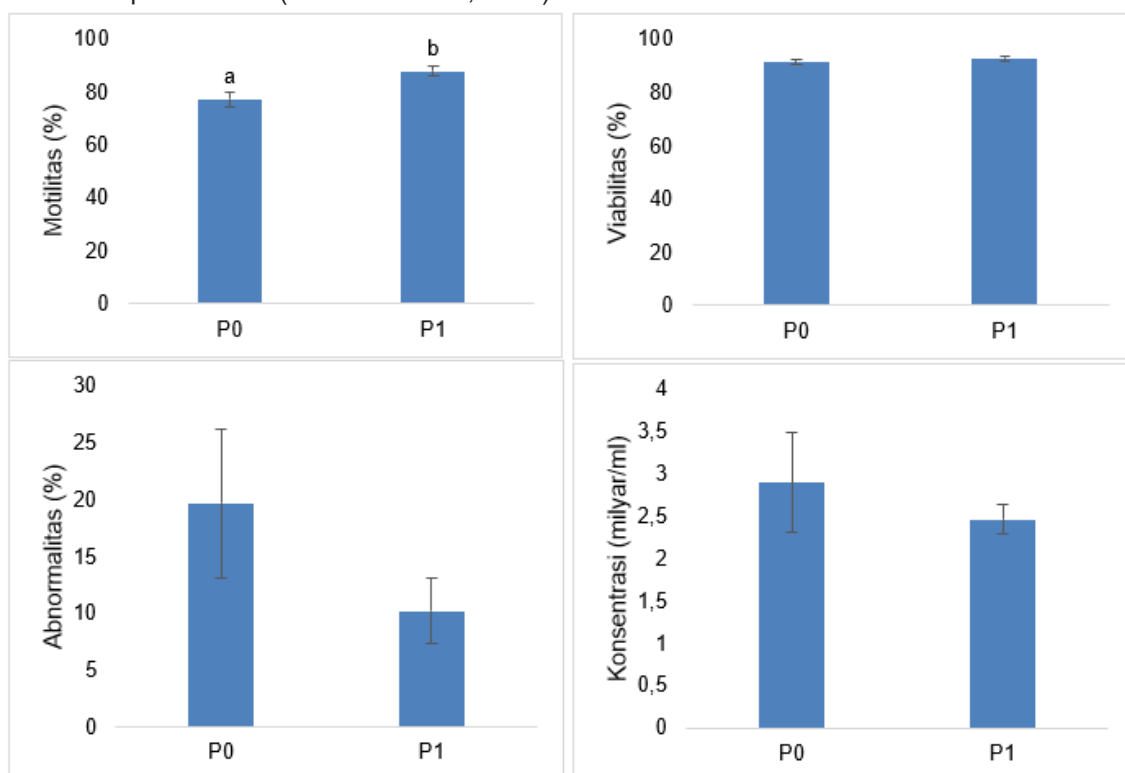
Substitusi tepung azolla tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap warna semen ayam kampung. Warna semen yang diperoleh dalam penelitian ini sebelum dan setelah penambahan tepung azolla yaitu 2,1-2,4 (putih susu), ini termasuk normal dan baik. Hasil ini sama dengan yang didapatkan Khaeruddin *et al.* (2020a) yaitu 2 (putih susu). Sedangkan Haryuni *et al.* (2022) melaporkan warna semen ayam Kampung putih susu, ketika diberi pakan berenergi tinggi warna semen menjadi putih keruh. Warna semen dipengaruhi oleh faktor kerapatan sperma, kerapatan sperma yang rendah dapat menghasilkan warna putih susu, sedangkan peningkatan kerapatan sperma menyebabkan warna semen menjadi lebih keruh (Ardita *et al.*, 2024). Kusumawati *et al.* (2020) menyatakan bahwa warna semen ayam kampung yang berwarna putih susu dapat dikatakan sangat normal dikarenakan tidak memiliki campuran warna lainnya yang menandakan adanya campuran kotoran.

Substitusi tepung azolla tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap konsistensi semen ayam kampung. Konsistensi yang dihasilkan pada penelitian ini sebelum dan setelah penambahan tepung azolla adalah yaitu 2,6 (rata-rata kental). Hasil ini sama dengan yang

didapatkan Haryuni *et al.* (2022) yaitu 2,25-3 (sedang-kental) dan Khaeruddin *et al.* (2020b) melaporkan konsistensi sedang (2) yaitu 2,5-2,7 (sedang- kental). Konsistensi semen berkaitan dengan kadar air dan jumlah spermatozoa, semakin tinggi konsentrasi spermatozoa maka semakin kental semen tersebut. Substitusi tepung azolla tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap pH semen ayam kampung. pH semen dalam penelitian ini (7,47-7,58) tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Khaeruddin & Kurniawan (2020) bahwa pH semen ayam kampung 7,4 dan Zen *et al.* (2020) yaitu 7,58-8,18. Tingkat fertilitas spermatozoa tertinggi diperoleh ketika pH semen ayam berada antara 6,5 dan 8,0, ketika pH semen lebih rendah atau lebih tinggi dari kisaran tersebut maka kesuburan menurun secara signifikan (Wilcox, 1958). pH semen yang rendah terjadi karena tingginya asam laktat akibat konsentrasi spermatozoa yang juga tinggi sehingga dapat menyebabkan banyak spermatozoa yang mati (Zabiq *et al.*, 2017).

Karakteristik Mikroskopis Semen Ayam Kampung dengan Substitusi Tepung Azolla dalam Ransum

Substitusi tepung azolla berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap motilitas spermatozoa ayam kampung. Motilitas spermatozoa ayam kampung sebelum substitusi 77,3%, meningkat setelah substitusi tepung azolla menjadi 88%. Hal ini diduga karena adanya kandungan vitamin pada tepung azolla mengandung vitamin/mineral, dan antioksidannya yang berpotensi meningkatkan motilitas spermatozoa pada ayam. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa komponen bioaktif dalam azolla termasuk asam amino, asam lemak, vitamin, dan antioksidan mungkin berperan dalam menjaga integritas membran sperma, mengurangi stres oksidatif, dan mendukung sintesis hormon sehingga berkaitan erat dengan peningkatan motilitas dan potensi fertilisasi spermatozoa (Nurlatifah *et al.*, 2025).



Gambar 2. Karakteristik mikroskopis semen ayam kampung dengan substitusi tepung azolla dalam ransum. P0: sebelum substitusi dan P1: setelah substitusi.

Azolla menyediakan matriks padat asam amino esensial, asam lemak tak jenuh ganda/*polyunsaturated fatty acid* (PUFA) (terutama asam linoleat dan α -linolenat), dan fitokimia antioksidan (karotenoid, flavonoid, dan polifenol) (Golzary *et al.*, 2021). Beberapa survei

komposisi di berbagai spesies azolla, telah melaporkan kandungan protein kasar yang tinggi dengan profil asam amino yang seimbang dan fraksi PUFA yang terukur, bersama dengan ekstrak kaya antioksidan (Al-Huqail *et al.*, 2025). Konstituen ini relevan untuk fungsi spermatozoa karena asam amino mendukung enzim penghasil ATP dan protein struktural, PUFA berkontribusi pada fluiditas membran plasma dan akrosomal, dan antioksidan menyangga spesies oksigen reaktif yang jika tidak akan merusak membran sperma dan organel (Islam *et al.*, 2021; Nurlatifah *et al.*, 2025). Potensial membran mitokondria spermatozoa sangat erat kaitannya dengan motilitas, kapasitas, reaksi akrosom, dan integritas DNA, disfungsi mitokondria atau ketidakseimbangan redoks menekan motilitas dan mengganggu stabilitas akrosom (Nurlatifah *et al.*, 2025). PUFA dalam makanan dan antioksidan dapat membantu menjaga arsitektur membran dan potensial membran mitokondria dengan mengurangi peroksidasi lipid dan mempertahankan kapasitas fosforilasi oksidatif (Li *et al.*, 2025). Motilitas spermatozoa ayam kampung setelah substitusi tepung azolla pada penelitian ini sedikit lebih tinggi yang dilaporkan Zen *et al.* (2020) yaitu 82,67-86,33%, Sedangkan menurut Munthe *et al.* (2018) persentase viabilitas spermatozoa ayam Kamaras yang diberi pakan azolla yaitu 84,7%.

Substitusi tepung azolla tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap viabilitas spermatozoa ayam kampung. Viabilitas spermatozoa ayam kampung yang didapatkan yaitu 91,5-93% lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yaitu 85,3% (Murcahyana *et al.*, 2016). Viabilitas spermatozoa ditentukan oleh stabilitas membran plasma spermatozoa. Viabilitas dan fungsi spermatozoa tidak hanya bergantung pada mekanisme molekuler kompleks di dalam selnya, tetapi juga terkait erat dengan stabilitas protein kerangka membrannya, yang bekerja bersama untuk menjaga integritas struktural dan fungsi spermatozoa (Xue *et al.*, 2025). Membran sperma memiliki potensial spesifik yang membantu sperma beradaptasi dengan cepat terhadap perubahan ion di lingkungannya dan sangat memengaruhi viabilitasnya serta pada akhirnya kemampuannya untuk membuahi (Dunleavy *et al.*, 2019).

Substitusi tepung azolla tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa ayam kampung. Abnormalitas spermatozoa pada penelitian ini 10,20-19,71% mendekati laporan Zen *et al.* (2020) yaitu 13,61-19,78%. Berdasarkan temuan penelitian, sebagian besar abnormalitas spermatozoa meliputi pembengkokan bagian tengah. Hal ini sejalan dengan pendapat Suyadi & Wahjuningsih (2021) bahwa dibandingkan spesies lain, spermatozoa ayam lebih sensitif terhadap pembengkokan bagian tengahnya karena bagian tengah tersebut lebih panjang. Temuan Khaeruddin *et al.* (2020b), juga menyatakan bahwa pembengkokan kepala dan bagian tengah mendominasi sebagian besar kelainan spermatozoa ayam kampung, sedangkan Khaeruddin *et al.* (2021) pada beberapa jenis ayam lokal menemukan pembengkokan pada bagian tengah memiliki persentase yang cukup besar selain pembengkokan ekor.

Substitusi tepung azolla tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap konsentrasi semen ayam kampung dengan konsentrasi berkisar antara 2,90 hingga 2,47 miliar/ml. Nilai ini berada pada kisaran umum yang ditemukan pada penelitian sebelumnya yaitu 1-3 milyar/ml (Woli *et al.*, 2017; Malik *et al.*, 2018; Isnaeni *et al.*, 2019; Ulus *et al.*, 2019). Namun lebih rendah dari laporan sebelumnya yaitu 4,14-5,39% (Khaeruddin *et al.*, 2020b) dan 5,19 milyar/ml (Nugroho & Saleh, 2016). Laporan Hambu *et al.* (2016) menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa bervariasi berdasarkan individu ayam kampung dengan kisaran 1,3 hingga 5,91 milyar/ml. Konsentrasi spermatozoa ayam dipengaruhi oleh kombinasi jenis ayam, waktu koleksi semen, dan perbedaan individu ayam (Sorhue *et al.*, 2024).

KESIMPULAN

Substitusi konsentrat dengan tepung azolla dapat meningkatkan motilitas spermatozoa ayam kampung, namun tidak berpengaruh terhadap karakteristik makroskopis semen, viabilitas spermatozoa, abnormalitas spermatozoa dan konsentrasi spermatozoa.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, P. C., Rinca, K. F., Bollyn, Y. M. F., Luju, M. T., & Gultom, R. (2024). Review: pemanfaatan fermentasi tepung tanaman azolla (*Azolla microphylla*) terhadap performa pada pakan unggas. *Wahana Peternakan*, 8(1), 72–79.
- Adeoye, G. O., Oleforuh-Okoleh, V. U., & Chukwuemeka, U. M. (2017). Influence of breed type and age on spermatological traits of Nigerian local chickens. *Agro-Science*, 16(1), 11-16.
- Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. (2016). Eosin-nigrosin staining procedure. In: A. Agarwal, S. Gupta, R. Sharma. (eds.). *Andrological Evaluation of Male Infertility: A Laboratory Guide*. Switzerland: Springer.
- Al-Huqail, A. A., Aref, N. M., Khan, F., Sobhy, S. E., Hafez, E. E., Khalifa, A. M., & Saad-Allah, K. M. (2024). *Azolla filiculoides* extract improved salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) is associated with prompting osmostasis, antioxidant potential and stress-interrelated genes. *Scientific Reports*, 14(1), 11100.
- Ardita, D., Herawati, E., & Salamah, A. (2024). Produksi dan kualitas semen sapi pejantan Simmental di Balai Inseminasi Buatan Lembang pada berbagai waktu penampungan. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 11(1), 42–49.
- Arifiantini, R. I. (2012). *Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*. Bogor: IPB Press.
- Arifin, Z. (2003). *Azolla: Pembudidayaan dan Pemanfaatan pada Tanaman Padi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Armayanti, A. K., Luthfi, N., Nuraliah, S., Khaeruddin, K., Prima, A., Suryani, H. F., Wati, N. E., Ibrahim, I., Indah, A. S., Ali, N., & Susanti, I. (2024). *Nutrisi Ternak Dasar: Dinamika Teori dan Perkembangannya*. Jambi: PT. Sonpedia Publishing Indonesia.
- Azizah, N., Komarudin, K., Pratiwi, N., Kostaman, T., & Sartika, T. (2023). Analisis kualitas semen ayam lokal indonesia berdasarkan galur dan umur dewasa kelamin yang berbeda. *Jurnal Agripet*, 1(23), 40-45.
- Djunaidi, I.H., Khaeruddin, K., Pamungkas, A., Purnamasari, L., Rizkuna, A., Imanullah, A.S., Fanani, A.F., Fati, N., Nurhidayah, A.F., Yusuf, R., Singgili, H., Sulisty, W., & Aisyah, S. (2025). *Manajemen Ternak Unggas*. Padang: Azzia Karya Bersama.
- Dunleavy, J.E.M., O'Bryan, M.K., Stanton, P.G., & O'Donnell, L. (2019). The cytoskeleton in spermatogenesis. *Reproduction*, 157, R53–R72.
- Getachew, T. (2016). A review article of artificial insemination in poultry. *World's Veterinary Journal*, 6(1), 26-35.
- Golzary, A., Hosseini, A., & Saber, M. (2021). *Azolla filiculoides* as a feedstock for biofuel production: cultivation condition optimization. *International Journal of Energy and Water Resources*, 5(1), 85-94.
- Gupta, S. K., Chandra, R., Shinde, K. P., Bhakat, M., Lone, S. A., & Kumar, N. (2022). Effect of azolla (*Azolla pinnata*) supplementation on puberty, semen characteristics and sexual behaviour in Alpine× Beetal crossbred bucks. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 92(7).
- Hambu, E.K., Arifiantini, R.I., Purwantara, B., & Darwati, S. (2016). Raw semen characteristics of three different Indonesian local roosters. *Animal Production*, 18(3), 165-172.
- Haryuni, N., Lestariningsih, L., & Khopsoh, B. (2022). Perbaikan kualitas semen ayam kampung melalui peningkatan energi metabolisme pakan. *Journal of Science Nusantara*, 2(3), 123-129.
- Hasanah, U. (2025). Pengaruh variasi dosis pakan konsentrat terhadap pertumbuhan bobot badan ayam broiler. *ARMADA: Jurnal Penelitian Multidisiplin*, 3(1), 25-30.
- Hermiz, H. N., Shaker, A. S., Hasafa, B. M., Al-Khatib, T. R., Sardary, S. Y., & Toma, J. S. (2016). Evaluation semen characterization of roosters resulted from different local lines and their crosses with ISA brown. *International Journal of Agricultural Science*, 1, 7-14.
- Islam, M. M., Umehara, T., Tsujita, N., & Shimada, M. (2021). Saturated fatty acids accelerate linear motility through mitochondrial ATP production in bull sperm. *Reproductive Medicine and Biology*, 20(3), 289-298.
- Isnaeni, M., Faidiban, O.R., & Tethool, A. N. (2019). Konsentrasi dan motilitas spermatozoa ayam kampung (*Gallus domesticus*) dalam pengencer ringer laktat yang diberi tambahan minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam). *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis*, 9(2), 44-49.

- Junaedi, J., Suparman, S., Mirnawati, M., Irwansyah, I., Azis, R., Kustyorini, T.I.W., Hastuti, H., Khaeruddin, K., Rahmi, N., Amin, N., Jannah, R., Lidiyawati, A., Akhiroh, P., & Risal M. (2025). *Budidaya Ayam Kampung secara Modern*. Sumedang: Mega Press Nusantara
- Khaeruddin, A. N., Ardi, N., Fattah, A. H., & Armayanti, A. K. (2020a). Penentuan konsentrasi susu skim terbaik dalam pengencer semen ayam kampung berbahan dasar ringer laktat. *Jurnal Veteriner*, 21(2), 300-308.
- Khaeruddin, K., Arismunandar, A., & Nurda, N. (2020b). Karakteristik semen ayam kampung yang diberi minyak hati ikan kod sebagai feed suplement. *Musamus Journal of Livestock Science*, 3(1), 15-24.
- Khaeruddin, K., Hermawansyah, H., Syamsuryadi, B., & Junaedi, J. (2021). Studi Morfometrik Dan Morfologi Spermatozoa Enam Rumpun Ayam Lokal Indonesia. *Jurnal Kajian Veteriner*, 9(3), 123-134.
- Khaeruddin, K., & Kurniawan, M. E. (2020). Keberhasilan pembekuan semen ayam yang diencerkan dan diperkaya dengan glukosa, trehalosa, sukrosa dan laktosa. *Jurnal Veteriner*, 21(3), 476-484.
- Khaeruddin, K., & Srimaharani, S. (2019). Use of old coconut water with various skim concentrations of milk as a diluent for kampung chicken semen. *Chalaza Journal of Animal Husbandry*, 4(1), 24-29.
- Kusumawati, E. D., Krisnaningsih, A. T. N., & Walangara, A. U. K. (2020). Kualitas spermatozoa ayam kampung dan ayam Arab dengan lama simpan yang berbeda pada suhu ruang. *Jurnal Sains Peternakan*, 8, 41– 56.
- Li, Y., Lou, Z., Liu, F., Liu, Y., Wang, C., Wang, Y., Qian, W., Li, D., & Xu, T. (2025). The impact of lipid metabolism on ferroptosis in myocardial ischemia–reperfusion injury. *Apoptosis*, 2025, 1–15.
- Malik, A., Shahdan, M., Zakir, M.I., Sasongko, N., & Sakiman. (2018). Penambahan minyak ikan dalam pengencer skim milk-egg yolk terhadap motilitas dan abnormalitas ayam kampung pasca thawing. *Jurnal Ilmu Ilmu Peternakan*. 21(2), 55-69.
- Munthe, R., Daud, M., & Yaman, M, A. (2018). Pengaruh Substitusi pakan fermentasi mengandung azolla sp terhadap kualitas semen pejantan kamaras. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa pertanian*, 3(1), 2614-6053.
- Murcahyana, M., Susilawati, T., & Isnaini, N. (2016). Pemberian ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam larutan natrium klorida fisiologis sebagai bahan pengencer semen terhadap peningkatan kualitas semen ayam buras pada suhu ruang. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 10(2), 175-181.
- Nugroho, A.P., & Saleh, D.M. (2016). Motilitas dan abnormalitas spermatozoa ayam kampung dengan pengencer ringer laktat putih telur dan lama simpan pada suhu 5°C selama 48 jam. *Acta Veterinaria Indonesia*. 4 (1), 35-41.
- Nurlatifah, A., Prihantoko, K.D., Menassol, J.B., Herdis, H., Damayanti, E., Diansyah, A.M., Azis, I.U., Khan, F.A., Maidin, M.S., Mustofa, F., & Lestari, D.A., 2025. Dynamic changes in the sperm quality of *Azolla pinnata* as a forage alternative to Garut ram. *Open Veterinary Journal*, 15(12), pp.6697-6697.