

**PENILAIAN TERHADAP LARUTAN RINGER DAN AIR KELAPA TUA
SEBAGAI CECAIR MEDIA UNTUK SPERMA AYAM KAMPUNG**

NURSYAFIKAH BINTI OTHMAN

**DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
PERTANIAN DENGAN KEPUJIAN**

**PROGRAM PENGELUARAN TERNAKAN
FALKULTI PERTANIAN LESTARI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2018**



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN TESIS

JUDUL: PENILAIAN TERHADAP LARUTAN PINGER DAN AIR KELAPA TUA SEBAGAI
CECAIR MEDIA UNTUK SPERMA AYAM KAMPUNG

IJAZAH: IJAZAH SARJANA MUDA SAINS PERTANIAN DENGAN KEPUJIAN
(PROGRAM PENGELUARAN TERMAKAN)

SAYA: NURSYAFIKAH BINTI OTHMAN SESI PENGAJIAN: 2014 - 2018
(HURUF BESAR)

Mengaku membenarkan tesis *(LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

1. Tesis adalah hak milik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. Sila tandakan (/)

SULIT (Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD (Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

Disahkan oleh:

Nurulain
NURULAIN BINTI ISMAIL
PUSTAKAWAN KANAN

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

[Signature]
(TANDATANGAN PENULIS)

Alamat Tetap: 117 KAMPUNG
PANGKAL CHANGGONG,
18500 MACHANG,
KELANTAN

TARIKH: 11/1/2018

(NAMA PENYELIA)

TARIKH: _____

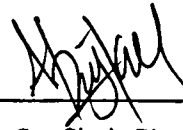
Catatan:

- *Potong yang tidak berkenaan.
- *Jika tesis ini SULIT dan TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.
- *Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana Secara Penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

Saya mengakui bahawa karya yang terhasil ini adalah hasil kerja saya melainkan beberapa ringkasan, tulisan dan maklumat yang saya ambil sebagai sumber didalam kajian saya ini telah saya jelaskan setiap sumber rujukannya. Saya juga mengakui bahawa hasil kerja saya ini tidak diambil dari universiti ini atau universiti-universiti lain. Saya juga mengakui bahawa hasil kerja ini belum pernah dihantar atau sedang dihantar untuk tujuan memenuhi syarat memperolehi ijazah dari Universiti Malaysia Sabah ini.



NurSyafikah Binti Othman

BR1411063

28 Disember 2017



DIPERAKUKAN OLEH

1. PROF. DR. ABDUL RASHID BIN BABA
PENYELIA

Tandatangan dan cop



PENGHARGAAN

Saya ingin mengambil kesempatan ini untuk mengucapkan setinggi-tinggi pujian dan kesyukuran kehadiran Allah SWT kerana dengan rahmat dan limpah kurnia-Nya kajian tahun akhir ini dapat dilaksanakan dengan baik. Setinggi-tinggi penghargaan dan ucapan ribuan terima kasih saya ingin huluskan kepada Prof. Dr. Abdul Rashid Baba selaku penyelia bagi kajian tahun akhi saya yang telah banyak membantu, membimbing, mendorong serta member tunjuk ajar kepada saya sepanjang tempoh kajian akhir ini dijalankan.

Ucapan jutaan terima kasih juga ditujukan buat rakan-rakan yang terlibat secara langsung mahupun tidak langsung dalam menjayakan kajian tahun akhir saya ini dengan mengorbankan masa, tenaga dan perkongsian idea-idea yang bernas dalam pelaksanaan kajian ini.

Akhir kata, segala kerjasama dan sumbangan dari pelbagai sudut bagi semua pihak yang terlibat hanya mampu saya dahului dengan ucapan jutaan terima kasih dan hanya Allah SWT yang mampu membalas segalanya. Sekian.



PENILAIAN TERHADAP LARUTAN RINGER DAN AIR KELAPA TUA SEBAGAI CECAIR MEDIA UNTUK SPERMA AYAM KAMPUNG

ABSTRAK

Satu kajian telah dijalankan di ladang ayam dan makmal Falkulti Pertanian Lestari (FPL), Kampus Sandakan, Universiti Malaysia Sabah (UMS) daripada September hingga November 2017. Tujuan kajian ini adalah untuk mengkaji keberkesanan keberkesanan cecair media berasaskan air kelapa tua ke atas kualiti penyimpanan sperma ayam jantan baka kampung tempatan. Empat ekor ayam kampung yang telah dipilih untuk koleksi semen dan telah digunakan dalam kajian ini. Eksperimen telah mengulang dua kali seminggu sehingga mendapat tiga kali replikasi sampel yang menunjukkan mortaliti individu daripada sampel semen segar lebih atau sama 85%. Sampel semen segar telah dikaji berdasarkan isipadu semen, warna dan konsistensi, kepekatan, jisim mortaliti dan mortaliti individu. Purata bagi isipadu semen yang dikumpul dari 4 ekor ayam jantan ialah 0.31 ± 0.01 mL. Bagi Warna dan Konsistensi dalam kajian ini ialah 3.67 ± 0.58 dan purata jisim motiliti pula ialah 5.33 ± 0.58 . Selain itu, purata kepekatan semen ialah $1.30 \pm 0.02 \times 10^9$ sperma/mL dan mortaliti individu pergerakan sperma daripada sampel segar ialah $94.33 \pm 4.04\%$. Mortaliti individu daripada sampel semen segar lebih atau sama 85% daripada semen segar dikumpul telah digunakan dalam kajian ini. Jumlah 0.3mL semen segar telah dilarut dengan jumlah 3mL di dalam tua buah 10mL tiub eppendofit yang berasingan dengan dua jenis larutan yang berbeza iaitu larutan Ringer's dan air kelapa tua. Eksperimen telah dijalankan selama 24 jam dan data telah dikumpulkan setiap 2 jam sehingga jam ke-8 dan selepas 12 jam. Kajian ini untuk mengkaji mortaliti sperma, peratusan hidup sperma dan peratusan abnormaliti sperma seperti kepada, ekor dan leher. Pada pemerhatian, pada masa jam ke-8, terdapat perbezaan signifikan ($p < 0.05$) diantara larutan Ringer's ($58.33 \pm 11.55\%$) dan air kelapa tua ($31.67 \pm 5.77\%$). Namun begitu, larutan Ringer's menunjukkan trend mortaliti individu yang tinggi berbanding dengan air kelapa tua tetap air kelapa tua juga menunjukkan peratusan yang sebagai cecair semulajadi. Kesimpulannya, selain larutan Ringer's, air kelapa tua juga boleh dijadikan sumber alternatif bagi larutan semen yang semulajadi terhadap ayam kampung dengan harga yang rendah dan mudah didapati di Malaysia.

Kata kunci: Air kelapa, sperma ayam kampung jantan, jumlah sperma, warna dan konsistensi, kepekatan, motiliti sperma dan morfologi.

ABSTRACT

A study was carried out at the Faculty of Sustainable Agriculture (FPL), Sandakan Campus, Universiti Malaysia Sabah (UMS) from September to November 2017. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of the coconut water as semen diluents of quality sperm preserved in local chicken breeds. Four cockeels have been selected for semen collection and have been used in this study. Experiments have been repeated twice a week in pooled semen for three replication samples that show individual mortalities of more than or equal 85% fresh semen samples. Fresh semen samples were studied based on the volume of semen, color and consistency, concentration, mass motility and individual motility. The average of the semen volume collected from 4 chickens was 0.31 ± 0.01 mL. Then, color and consistency in this study is 3.67 ± 0.58 and the average mass of motility is 5.33 ± 0.58 . In addition, the average semen concentration was $1.30 \pm 0.02 \times 10^9$ sperm / mL and the individual sperm motility of the fresh sample was $94.33 \pm 4.04\%$. Individual variants of fresh semen samples over or equal to 85% of fresh semen collected were used in this study. The amount of fresh semen 0.3mL was dissolved by 3mL in the 10mL eppendof tube with two different types of solutions was Ringer's solution and old coconut water. Experiments were conducted for 24 hours and data were collected every 2 hours until the 8th hour and after 12 hours. This study evaluate the sperm motility, the percentage of sperm life and the percentage of sperm abnormality such as to, tail and neck. On observation, at 8th hour, there was a significant difference ($p < 0.05$) between Ringer's solution ($58.33 \pm 11.55\%$) and old coconut water ($31.67 \pm 5.77\%$). However, the Ringer's solution shows a high individual motility trend compared to old coconut water but old coconut water still high percentage as natural diluent. In conclusion, in addition to Ringer's solution, old coconut water can also be used as an alternative source for natural semen solutions to low priced and readily available in Malaysia.

Keywords: Coconut milk, cockerel sperm, sperm count, color, concentration, sperm motility and morphology.

ISI KANDUNGAN

Senarai Kandungan	Muka Surat
DEKLARASI	ii
VERIFIKASI	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	ix
SENARAI GAMBARAJAH	x
SENARAI SINGKATAN	xi
SENARAI FORMULA	xii
BAB 1 PENGENALAN	
1.1 Latar belakang kajian	1
1.2 Justifikasi Kajian	3
1.3 Objektif Kajian	3
1.4 Hipotesis Kajian	3
Bab 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	
2.1 Poltri dan Pengeluaran Ayam Kampung di Malaysia	4
2.2 Anatomi dan Fisiologi Pembiakan Ayam	5
2.3 Teknik Pengambilan Semen	6
2.4 Penilaian Semen	6
2.4.1 Kuantiti semen	7
2.4.1.1 Kepekatan	7
2.4.1.2 Kuantiti	7
2.4.2 Kualiti Semen	7
2.4.2.1 Mass dan Motiliti Individu	7
2.4.2.2 Morfologi	8
2.4.2.3 Peratusan Sperma Hidup dan Mati	8
2.4.2.4 Peratusan Keabnormaliti Sperma	8
2.5 Cecair Media Semen	8
2.5.1 Penggunaan Air Kelapa Sebagai Cecair Media Semen	9
2.5.1.1 Digunakan dalam spesis lain	9
2.5.1.2 Digunakan dalam burung	9
2.6 Pemeliharaan Semen	10
2.6.1 Teknik untuk Pemeliharaan Semen	10
2.6.1.1 Suhu Bilik (RT)	10
2.6.1.2 suhu Sejuk	10
2.6.1.3 Krioawetan	11
2.6.2 Faktor yang mempengaruhi kualiti semen segar	11
2.6.2.1 Umur	11
2.6.2.2 Baka	11
2.7 Peranian Beradas (AI) pada Haiwan Ternakan	12
2.8 Masa inseminasi	12
2.8.1 Pengendalian Ayam sebelum Inseminasi	13



BAB 3 METODOLOGI KAJIAN

3.1 Lokasi Kajian	14
3.2 Ayam Jantan dan Pengurusannya	14
3.3 Pengumpulan Semen	14
3.4 Penyediaan Reagen	16
3.4.1 Larutan Ringer's	16
3.4.2 Air Kelapa	16
3.4.3 Eosin-Nigrosin Stain	17
3.5 Reka bentuk Eksperimen	17
3.6 Penilaian Semen	18
3.6.1 Kuantiti Semen	18
3.6.1.1 Isipadu	18
3.6.1.2 Kepekatan	18
3.6.2 Kualiti Semen	19
3.6.2.1 pH	19
3.6.2.2 Warna dan Konsistensi	19
3.6.2.3 Mass Motiliti	20
3.6.2.4 Hidup dan Mati Sperma	21
3.6.2.5 Abnormaliti	21
3.7 Data Analisis	22

BAB 4 KEPUTUSAN

4.1 ciri-Ciri Kualiti Sperma Segar Ayam Kampung	23
4.2 Peratusan Motaliti Individu Pergerakkan Sperma	24
4.3 Peratusan Sperma Hidup	26
4.4 Peratusan Abnormality Sperma	28
4.4.1 Peratusan Abnormaliti Kepala	28
4.4.2 Peratusan Abnormaliti Leher	29
4.4.3 Peratusan Abnormaliti Ekor	30
4.4.4 Peratusan Jumlah Abnormality Sperma	31

BAB 5 PERBINCANGAN

5.1 ciri-Ciri Kualiti Sperma Segar Ayam Kampung	32
5.2 Peratusan Motaliti Individu Pergerakkan Sperma	33
5.3 Peratusan Sperma Hidup	35
5.4 Peratusan Abnormality Sperma	36
5.4.1 Peratusan Abnormaliti Kepala	36
5.4.2 Peratusan Abnormaliti Leher	37
5.4.3 Peratusan Abnormaliti Ekor	37
5.4.4 Peratusan Jumlah Abnormality Sperma	37

BAB 6 KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan	39
6.2 Cadangan	39

RUJUKAN	40
----------------	----

LAMPIRAN	46
-----------------	----

SENARAI JADUAL

Jadual	Muka Surat
Jadual 3.1: Pengukuran bahan kimia untuk penyediaan larutan Ringer.	16
Jadual 3.2: Sukatan bahan kimia untuk penyediaan Eosin-Nigrosin stain	17
Jadual 3.3 Sukatan semen segar dan cecair media	17
Jadual 3.4 Skor untuk warna dan konsistensi	19
Jadual 3.5: Mass motiliti sperma (MMOT).	20
Jadual 4.1: Ciri-ciri kualiti sperma segar ayam kampung	23



SENARAI GAMBARAJAH

Gambarajah	Muka Surat
Rajah 3.1: Teknik pengumpulan semen	15
Rajah 3.2: Pengumpulan semen ke dalam picagari 1 mL	15
Rajah 3.3: Kelapa tua	16
Rajah 3.4: Neubauer haemocytometer digunakan dalam mengira kepekatan sel sperma.	18
Rajah 3.5: Mengira ruang dan grid pada Neubauer haemocytometer.	19
Rajah 3.6: Hidup (putih) dan mati (merah) sperma ayam.	21
Rajah 3.7: Contoh keabnormalan sperma ayam.	22
Rajah 4.1: Peratusan purata individu pergerakan sperma ayam kampung jantan yang dipelihara melalui dua cecair media yang berbeza	26
Rajah 4.2: Peratusan purata sperma hidup ayam kampung jantan yang dipelihara melalui dua cecair media yang berbeza	28
Rajah 4.3: Peratusan purata abnormaliti kepala sperma ayam kampung jantan yang dipelihara melalui dua cecair media yang berbeza	29
Rajah 4.4: Peratusan purata abnormaliti leher sperma ayam kampung jantan yang dipelihara melalui dua cecair media yang berbeza	30
Rajah 4.5: Peratusan purata abnormaliti ekor sperma ayam kampung jantan yang dipelihara melalui dua cecair media yang berbeza	31
Rajah 4.6: Peratusan purata jumlah abnormaliti sperma ayam kampung jantan yang dipelihara melalui dua cecair media yang berbeza	32

SENARAI SINGKATAN

DVS	Jabatan Perkhidmatan Veterinar
MMOT	Mass Motiliti
AI	Permanian Beradas
ND	Penyakit Newcastle
ITS	Insulin-Transferrin-Selenium
BSA	Albumin Bovine Serum



SENARAI FORMULA

Formula	Muka Surat
3.1	
Kepekatan (Sperma/mL) = $\frac{n}{s} \times 25 \times DR \times 10^4$	
n = jumlah bilangan spermatozoa untuk dua ruang,	18
s = bilangan empat segi besar,	
DR = kadar pencairan	
3.2	
Hidup sperma = $\frac{\text{bilangan hidup sperma}}{\text{jumlah bilangan sperma dinilai}} \times 100$	21

BAB 1

PENGENALAN

1.1 Latar Belakang Kajian

Industri ternakan ayam merupakan satu jenis industri ternakan yang berskala besar di Negara Malaysia dan negara lain. Ayam merupakan jenis produk daging dan telur yang di makan oleh semua bangsa di dunia dan memainkan peranan yang penting di dunia kerana ia menyediakan sumber makanan harian kepada manusia dan paling terkenal yang dipasarkan keseluruh dunia sebagai satu produk makanan segera. Produk ternakan ayam seperti daging dan telur mempunyai kandungan sumber protein yang tinggi kepada manusia kerana ia dapat membantu pertumbuhan dan membaiki sel badan, tisu dan tulang dalam tubuh badan. Seterusnya, terdapat tiada larangan budaya dan agama yang khas terhadap pemakanan dan permintaan kepada produk ayam yang meningkat dengan peningkatan dalam populasi manusia. Oleh itu, ia menyumbang kepada peningkatan ekonomi di dalam negara ini. Menurut Jabatan Perkhidmatan Veterinar (DVS) (2014), pengeluaran industri ternakan, terutamanya pengeluaran daging ayam meningkat perlahan-lahan, iaitu 1.49 juta tan pada tahun 2014 (Pengeluaran domestik adalah 1.437.000 tan dan pengimportan dari negara lain menyumbang sehingga hanya 0.054 juta tan). Pada tahun 2006, aktiviti pengeluaran ayam daging tempatan telah menyumbang lebih kurang 70% daripada keseluruhan bekalan daging seluruh negara. Sementara itu penggunaan produk ayam pada tahun 2014 adalah 1.46 juta tons. Berdasarkan bukti ini, Malaysia telah mencapai tahap saradiri dalam pengeluaran daging ayam kerana pengeluaran lebih tinggi daripada penggunaan atau permintaan pengguna.



Ayam kampung mempunyai dua kumpulan iaitu ternakan ayam kampung tradisional dan ternakan secara komersial. Ternakan ayam kampung tradisional dijalankan secara tradisi oleh orang kampung untuk kegunaan sendiri dan ternakan secara komersial secara lepas dibawah kebun getah dan kelapa sawit dengan menggunakan ayam kacukan (berwarna hitam, coklat atau coklat kehitaman). Sementara itu, industri pengeluaran ayam daging menjadi perlahan kerana permintaan tinggi daripada pengguna pada globalisasi dan permodenan terkini. Ini berlaku kerana manusia mencari gaya hidup yang sihat dengan memakan makanan yang berorganik seperti ayam kampung. Ayam kampung boleh dikatakan adalah daging yang berkualiti tinggi terutama dari segi nilai pemakanan dan rasa seperti apa yang pengguna inginkan. Ayam kampung juga dikatakan sesuai di bawah persekitaran yang keras tetapi produktiviti rendah berbanding dengan ayam daging komersial. Di bawah keadaan ini, teknologi pembiakan seperti pernian beradas (AI) diperlukan untuk dipraktis dan dilaksanakan untuk kemajuan genetik dan peningkatan pengeluaran ayam kampung.

Masalah utama pengeluaran ayam kampung ialah kekurangan stok pembiakan yang baik. Dengan memperkenalkan teknik AI dalam pengeluaran ayam kampung, kualiti dan kuantiti ayam kampung dapat ditingkatkan melalui peningkatan dalam asas keuntungan genetik. Usaha akan diambil terutamanya dengan memberi tumpuan kepada pengurusan penyimpanan sperm ayam secara optimum (Al-Daraji, 2012). Kaedah semasa penyimpanan air mani yang berkesan untuk diperbaiki dan dibangunkan ke tahap yang lebih baik kerana ia hanya berkesan sehingga 12 jam (Al-Daraji, 2012; Thurston, 1995). Kualiti serta kepekatan dan jumlah air mani akan dipelihara dan disimpan di bawah keadaan terurus dengan baik melalui menggunakan daripada bahan pencair air mani yang sesuai dan ia boleh digunakan selepas tempoh masa yang lama contohnya bahan pencair sperm seperti air kelapa dan ejakulasi air mani perlu dinilai berdasarkan beberapa aspek untuk sepadankan hasil yang sesuai untuk teknik AI.

Pokok kelapa telah lama dikenali sebagai sumber yang berharga kepada pelbagai komoditi untuk kehidupan manusia, air kelapa secara teknikalnya adalah cecair endosperm, minuman yang paling berkhasiat yang sifatnya telah disediakan ada untuk rakyat tropika untuk melawan panas (Khan, 2003). Air kelapa juga mempunyai ciri-ciri kandungan antioksidan yang tinggi, gula, vitamin, elektrolit dan amino asid

Nunes JF *et al* (1993) dan Yong JWH *et al* (2009). Cecair media berasaskan air kelapa untuk pemprosesan atau pemeliharaan semen kerbau adalah sesuai telah ditunjukkan oleh Vale *et al* (1999) dan El-Nattat *et al* (2009). Air kelapa juga mampu dalam *in vitro* kapasiti sperma dalam babi dan sebagai pematangan dan medium budaya untuk lembu, kambing dan biri-biri (Nascimento AB, 2005; Lucci CM, 2004; Silva JRV, 2004; Andrade ER, 2002).

1.2 Justifikasi Kajian

Air kelapa atau jus kelapa adalah minuman menyegarkan yang manis diambil secara langsung dari bahagian dalam buah kelapa. Minuman ini juga menyegarkan yang dipenuhi dengan banyak nutrisi semulajadi yang sihat yang boleh meningkatkan metabolisme dan imuniti badan dan digunakan lebih sebagai suplemen kesihatan (Poduval, 2012). Oleh itu, tujuan kajian ini untuk menilai air kelapa tua sebagai cecair media kepada ayam. Dengan kajian sebelum ini yang disebutkan di atas yang melaporkan kesesuaian air kelapa untuk pemprosesan atau pemeliharaan semen dalam ternakan ruminant dan mencadangkan untuk menjalankan kajian yang serupa dalam menilai keberkesanan cecair media berasaskan air kelapa tua ke atas kualiti penyimpanan sperma ayam jantan baka kampung tempatan.

1.3 Objektif Kajian

Objektif kajian ini adalah:

1. Untuk menilai keberkesanan cecair media berasaskan air kelapa tua ke atas kualiti penyimpanan sperma ayam jantan baka kampung tempatan.

1.4 Hipotesis Kajian

Ho: Tidak terdapat perbezaan yang signifikansi keberkesanan campuran air larutan kelapa tua dan larutan Ringer's sebagai cecair media untuk penyimpanan sperma ayam kampung tempatan.

Ha: Terdapat perbezaan yang signifikansi keberkesanan keberkesanan campuran air larutan kelapa tua dan larutan Ringers sebagai cecair media untuk penyimpanan sperma ayam kampung tempatan.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Poltri dan Pengeluaran Ayam Kampung di Malaysia

Pada masa moden sekarang poltri adalah ayam ternakan digunakan untuk kedua-dua pengeluaran daging dan telur. Poltri termasuk burung seperti ayam, ayam belanda, itik, angsa, burung unta, puyuh, burung kuang, ayam mutiara, dan burung merak. Ayam adalah poltri yang paling popular di seluruh dunia tanpa mengira budaya dan (Al-Nasser *et al.*, 2007; Aho, 2004; Aho, 2001; Roenigk, 1999). Ayam, itik dan burung puyuh adalah contoh ayam yang popular di bawah konteks Malaysia dan poltri adalah spesies ayam yang paling popular digunakan oleh Malaysia. Ini kerana produk ayam mempunyai nilai pemakanan yang tinggi disebabkan oleh daging ayam dan telur adalah sumber protein utama bagi pengguna di kebanyakan negara-negara di seluruh dunia. Penggunaan daging ayam telah meningkat dalam tempoh beberapa tahun lepas berikutan peningkatan kesedaran kesihatan pengguna di seluruh dunia. Ayam daging menguasai pasaran ayam di dunia yang terdiri daripada 70% daripada pasaran. Akaun Ayam belanda lebih kurang 8% dan ternakan lain menyediakan 22% daripada global market (Roenigk, 1999; 2004; USDA, 2006). Ini menunjukkan bahawa daging ayam daging terus dikehendaki daripada daging poltri lain.

Semua ayam komersial adalah keturunan spesies Ayam Hutan Merah (Al-Nasser *et al.*, 2007; Vaisanen *et al.*, 2005; Hillel *et al.*, 2003; Romanov and Weigend, 2001; Fumihito *et al.*, 1994, Siegel *et al.*, 1992, Sullivan, 1991; Crawford, 1990). Dari segi sejarah, ayam disimpan untuk pertandingan sabung ayam sehingga pertengahan 1800 apabila pertandingan sabung ayam menjadi haram selepas itu, penternak ayam di Amerika Syarikat dan Eropah mula membiakkan baka ayam untuk pameran (Moren



dan Avens, 1985; Crawford, 1990). Ayam komersial yang terdapat hari ini dipilih berdasarkan ciri-ciri fizikal, seperti keseragaman saiz badan dan warna bulu.

Ayam kampung adalah kesan dari keturunan campuran Ayam Hutan Merah dan bercampur dengan baka yang dibawa oleh Britishers (Petersen *et al.*, 1991). Ayam kampung yang diternak secara tradisional adalah berasaskan dari sumber yang minimum, terutamanya kos pemakanan. Penduduk kampung yang memelihara ayam kampung menternak secara sistem belakang rumah dengan reban ayam dibina secara sederhana dan kebanyakannya diberi makan dengan hidangan sisa makanan dari dapur. Ayam kampung telah diberi makan dengan makanan tambahan seperti bijiran yang murah dan mudah didapati (Aini, 1990). Selain itu, mereka mempunyai ciri-ciri kadar kematangan perlahan, saiz kecil dan beberapa produksi telur di sepanjang tahun. Ayam kampung Malaysia adalah keturunan dari strain ayam komersial yang diimport dan ada yang diternak di bawah tanaman kelapa sawit atau dipanggil integrasi ternakan-tanaman. Mereka juga disesuaikan dengan mana-mana persekitaran yang lasak dengan sangat tahan terhadap penyakit atau penyakit disebabkan oleh daya alam sekitar. Pengemar ayam kampung di Malaysia membuat pilihan berdasarkan pada masa kini ciri-ciri fenotip yang terdapat pada ayam kampung seperti berat badan kerana ia adalah salah satu kriteria utama pada ayam. Oleh itu, pengguna biasanya membeli ayam kampung dengan peratusan yang lebih tinggi hasil bangkai bahagian yang boleh dimakan untuk berat badan kerana ia melambangkan cadangan ekonomi yang lebih baik daripada mereka yang mempunyai hasil menurunan pengeluaran (Azlina Azma dan Engku Azahan, 2011).

2.2 Anatomi dan Fisiologi Pembiakan Ayam

Ayam jantan mampu permanian pada usia 4-5 bulan tetapi tidak digunakan untuk pembiakan sehingga usia 6 bulan untuk memastikan sperma yang berkualiti. Testis atau kelenjar kelamin berfungsi sebagai organ seksual utama di bawah konteks sistem pembiakan ayam. Ia terletak di dalam rongga dalaman badan haiwan yang berbeza daripada beberapa mamalia lain (Malik *et al.*, 2013). Testis atau kelenjar kelamin terletak di belakang Ayam berhampiran bahagian atas buah pinggang. Mereka adalah elips dan menunjukkan cahaya berwarna kuning. Itu mempunyai fungsi yang menghasilkan testosteron, hormon seks lelaki dan sperma. Sementara itu, sperma akan hanya terhasil apabila kematangan seksual ayam tercapai iaitu kira-kira 5 bulan.

Selalunya testis sebelah kiri adalah lebih besar daripada sebelah kanan. Selain menghasilkan sperma, testis juga menghasilkan hormone jantan yang mempengaruhi mengawan, tingkah laku, pertumbuhan balung di atas kepala, saiz bulu ekor, taji pada bahagian kaki dan gelambir merah di bawah dagunya. Menurut Senger (2003), semakin besar saiz testis, semakin banyak pengeluaran sperma. Saluran pembiakan ayam terdiri daripada sistem saluran dengan berpasangan terdiri daripada epididimis dan vas deferens. Diameter vas deferens akan meningkat sebelum persetubuhan untuk membolehkan air mani disimpan di kawasan bulat dan air mani kemudian dibebaskan dari vas deferens apabila terdapat rangsangan seksual (Perry, 1960).

2.3 Teknik Pengumpulan Semen

Pengumpulan semen dipraktikkan dengan cara teknik-teknik pengumpulan semen untuk meningkatkan asas genetik ayam melalui AI. Sebelum menjalankan proses pengambilan semen, ayam perlu dilatih untuk menghasilkan semen yang boleh digunakan dalam AI. Ayam juga dilatih untuk membiasakan diri dengan kaedah AI yang dijalankan. Seluruh proses pengumpulan semen perlu berhati-hati untuk memaksimumkan kuantiti dan kualiti semen diambil kerana pencemaran daripada peralatan mengumpul, bahan asing seperti darah dan produk cloacae mungkin merosakkan hasil (Lukaszewicz, 2002).

2.4 Penilaian Semen

Penilaian semen diperlukan terdahulu untuk menjayaan proses AI dan juga sebelum dan selepas penyimpanan air mani (Dumpala *et al*, 2006; Reddy, 1995). Sebagai contoh, semen yang berkualiti sahaja akan menjalani penilaian semen yang dipilih untuk disenyawakan ke dalam ayam betina dan dengan itu, masalah kesuburan rendah anak ayam juga kurang dihasilkan. Contoh parameter dikaji dalam penilaian air mani ayam termasuk jumlah sperm, warna, kepekatan, motiliti sperma dan morfologi (Dumpala *et al.*, 2006; Donoghue dan Wishart, 2000).

2.4.1 Kuantiti Semen

2.4.1.1 Kepekatan

Kepekatan sperma boleh ditentukan dengan menggunakan kolorimeter, fotometer atau spectrophotometer dengan ketumpatan optik yang berkait rapat dengan kepekatan sperma biasanya dianggarkan oleh haemocytometer (Bakst dan Cecil, 1997). Haemocytometer terdiri dua ruang mengira dengan kedalaman 0.1 mm dan 1.0 mm persegi di bawah setiap ruang bersama-sama dengan dua pipet pencairan. Saiz grid menunjukkan bilangan sperma yang digunakan untuk dikira di bawah air mani tertentu pencairan. Dalam usaha untuk mencapai keputusan pengiraan yang tepat dan ideal, bahan pencair diperlukan untuk melumpuhkan sperma di mana faktor-faktor pencairan adalah bergantung kepada spesies.

2.4.1.2 Kuantiti

Kepekatan semen adalah tinggi dengan kuantiti sperm meningkat. Jika kuantiti itu didapati tinggi dalam kepekatan air mani yang rendah, ia boleh disimpulkan bahawa sampel air mani telah berlebihan cair dengan cecair telus. Contoh cecair telus adalah air kencing kerana ia boleh ikut aliran keluar semen segar terutamanya semasa pengambilan semen sehingga mereka menyesuaikan diri sepenuhnya dengan alam sekitar.

2.4.2 Kualiti Semen

2.4.2.1 Mass dan Motiliti Individu

Penilaian motiliti massa berfungsi dengan baik dengan sperm segar. Menurut Sexton (1976) motilitas sperma boleh dinilai berdasarkan asas peratusan di bawah kaedah mikroskop cahaya dengan x 10 pembesaran. Mikroskop adalah sebagai gerakan kolektif dan ia dinyatakan sebagai sebuah gerakan skor atau sperma individu dan ia telah dinyatakan dalam peratus (%) yang berubah. Oleh itu, motilitas sperma boleh terus dinilai berdasarkan sistem yang terdiri dari jarak 0-9 dan sperma yang dikumpulkan akan ditempatkan di 20 μ L sperm.

2.4.2.2 Morfologi

Morfologi spermatozoa normal dan abnormal dinilai dengan mikroskop cahaya dalam keadaan udara kering menggunakan Eosin-Nigrosin berwarna. Semen akan dicairkan kepada 20 ul sebelum melaksanakan kaedah ini dan dicampur dengan 20 ul Eosin-Nigrosin berwarna dan biarkan ia di bawah udara kering sebelum diperhatikan di bawah mikroskop cahaya dengan x 1000 kuasa pembesaran dan jenis morfologi sperma boleh diperhatikan.

2.4.2.3 Peratusan Sperma Hidup dan Mati

Eosin-Nigrosin berwarna boleh membantu dalam peratus telah dipilih untuk hidup dan mati sperma melalui memerhatikan morfologi sperma (Blesbois, 2007) di bawah bantuan mikroskop cahaya. Ia diukur dalam peratus asas (%).

2.4.2.4 Peratusan Abnormaliti Sperma

Abnormaliti sperma dapat dikesan melalui bantuan Eosin-Nigrosin berwarna di bawah mikroskop cahaya. Contoh keabnormalan sperma termasuk, leher dibengkokkan, kerosakan bahagian pertengahan, kerosakan acrosome segi bengkok, membengkak, simpulan atau bulat, kecacatan kepala dan ekor. Ia merupakan langkah dalam peratus asas (%).

2.5 Cecair Media Semen

Bahan pencair semen digunakan untuk meningkatkan jumlah air mani terutama haiwan yang menghasilkan sedikit air mani setiap ejakulasi. Ia adalah salah satu proses penting untuk mendekati berberkesanan AI bergantung kepada sejauh mana air mani boleh dipelihara dan disimpan untuk mengekalkan kesuburan.

2.5.1 Penggunaan Air Kelapa sebagai Cecair Media Semen

2.5.1.1 Digunakan dalam Spesis lain

Air kelapa sering digunakan sebagai cecair media semen dan dinamakan sebagai cecair media air kelapa dalam pelbagai jenis spesies ternakan. Air kelapa meluas dan mudah didapati sepanjang tahun. Air kelapa adalah steril, mempunyai cecair asid yang sedikit. Ia mengandungi protein, garam, karbohidrat, vitamin, faktor pertumbuhan dan phospholipid (Laguna, 1996). Ia juga telah digunakan dalam banyak kawasan seperti krioawetan sel-sel dan tisu. Ia adalah medium yang berkesan digunakan untuk memelihara dan mencairkan kambing (Nunes dan Salgueiro, 1999), babi (Toniolli *et al.*, 1996) dan semen biri-biri (Guerra dan Nunes, 1999) dan embrio (Blume *et al.*, 1997). Cecair media air kelapa yang berkaitan dengan 7% daripada gliserol telah digunakan dan diisytiharkan sebagai kajian berjaya dalam semen krioawetan babi (Rota, 1998). Larutan air kelapa telah ditambah bersama-sama dengan beberapa suplemen seperti pyruvate, glutamin, hypoxanthine, insulin-transferrin-selenium (ITS) dan albumin bovine serum (BSA) yang telah kini digunakan sebagai salah satu medium penting dalam vitro pengkulturan oocytes dan embrio (Blume *et al.*, 1997) dan pemeliharaan folikel preantral (Silva *et al.*, 2000) dan semen segar (Cardoso *et al.*, 2002).

2.5.1.2 Digunakan dalam Burung

Air kelapa adalah cecair yang terdapat dalam rongga kelapa yang mewakili 25% berat buah-buahan. Terdapat kira-kira 95.5% adalah berasaskan air, 4% karbohidrat, 0.5% besi, 0.1% lemak, 0.01% daripada fosforus, dengan kehadiran asid amino, vitamin C, vitamin B kompleks dan garam mineral. Di samping itu, air kelapa serbuk dari ACP air kelapa 201® boleh bertindak bahan pencair vaccinal yang kekal dengan penyakit anti Newcastle (ND) tindak balas antibodi untuk melawan penyakit Newcastle (ND) (Cardoso *et al.*, 2006). Menurut Norman (1962) susu kelapa sebagai sebahagian daripada cecair untuk semen dan beliau mencatatkan bahawa santan mempunyai kelebihan mengekalkan kesegaran viabiliti semen.

2.6 Pemeliharaan Semen

Pemeliharaan semen mempunyai jangka pendek atau panjang untuk membuat pernian beradas (AI) dijalankan dan mencapai keberkesanan pada kadar lebih tinggi. Semen biasanya dipelihara di bawah suhu bilik, suhu sejuk dan melalui kaedah krioawetan. Selain itu, melanjutkan tempoh penyimpanan sperma pada suhu sub-sifar mencipta sebuah penyimpanan sperma sebagai kawasan untuk menyimpan sperma walaupun selepas kematian ayam (Latif *et al.*, 2005).

2.6.1 Teknik untuk Pemeliharaan Semen

2.6.1.1 Suhu Bilik

Terdapat kemungkinan untuk mengekalkan kadar kesuburan untuk air mani cair di bawah in vitro untuk lebih daripada 30 minit adalah rendah, di mana kualiti dicairkan daripada semen ayam jantan direndahkan dalam masa 30 minit bergantung kepada kualiti permulaannya. Tindak balas motiliti sperma dalam ayam domestik berlaku di bawah kenaikan suhu 30-40 ° C. Selain itu, perubahan dalam medium luaran berkait rapat dengan beberapa faktor seperti suhu, pH dan komposisi ion (Bonato *et al.*, 2012). Di bawah keadaan ini, motiliti sperma akan dipulihkan pada 40°C di bawah pH alkali luar dengan tambahan kalsium (Ca) (Bonato *et al.*, 2012). Oleh itu, kesan pH dalam simpanan sederhana, suhu penyimpanan dan interaksi mereka perlu diambil kira untuk mengekalkan keberkesanan sperma dan aktiviti dalam vitro.

2.6.1.2 Suhu Sejuk

Dalam usaha untuk mencapai kadar yang lebih tinggi kesuburan, semen yang baru dicairkan bagi spesies ayam harus digunakan dalam masa 20 minit. Sebagai pencairan ayam menunjukkan air mani menurun pada peratusan sperma mati dalam semen yang disimpan (Abu M., *et al.*, 2013). Motilitas air mani ayam menunjukkan peratusan yang paling rendah apabila disimpan pada 41 ° C berbanding dengan semen pada 25 ° C, 18 ° C atau 5 ° C di bawah keadaan dicairkan atau dicairkan (Peters *et al.*, 2008; Dumpala *et al.*, 2006). Walau bagaimanapun, langkah berjaga-jaga perlu mengambil kira dalam mengelakkan air mani mengalami kecederaan akibat kesejukan.

2.6.1.3 Krioawetan

Krioawetan adalah satu daripada teknologi pembiakan dibantu selain AI dan pengurusan krioawetan yang berjaya adalah sperma memerlukan pemilihan pelarut yang sepatutnya, pemilihan cryoprotectant yang terbaik, penentuan pembekuan dan pencairan kadar untuk pengekalan optimum potensi persenyawaan dan penyingkiran daripada mana-mana bahan-bahan yang merosakkan untuk kesuburan contoh gliserol sebelum inseminasi. Ia juga bertindak sebagai penyimpanan sperma dan adalah satu kaedah yang berkesan untuk memelihara sumber genetik menggunakan perlindungan krio yang khusus di bawah pengurusan ex situ bagi spesies terancam dan baka ternakan dan juga dalam haiwan ladang ternakan, seperti spesies burung (Ehling *et al.*, 2012).

2.6.2 Faktor Yang Mempengaruhi Kualiti Semen Segar

2.6.2.1 Umur

Umur adalah satu faktor yang memberi kesan terhadap semen segar. Menurut Pornjit *et al.*, (2013) molaliti, jisim pergerakan dan viabiliti lebih rendah dalam ayam tua daripada ayam muda. Oleh itu, ini dapat disimpulkan bahawa lagi tua umur ayam, lagi rendah kualiti semen ayam (Kelso *et al.*, 1996; Kotlowska *et al.*, 2005; Long *et al.*, 2010).

2.6.2.2 Baka

Baka adalah salah satu faktor memberi kesan terhadap semen segar selain umur. Baka menunjukkan kesan signifikan terhadap kesuburan semen ayam (Tabatabaei *et al.*, 2009). Oleh itu, sangat penting mempunyai penyimpanan rekod yang baka ayam mengeluarkan kualiti semen yang tinggi.

RUJUKAN

- Abdul Rashid, B., Julie Marzlinda, M. R. and Zurain, R. 2014. Efficacy of coconut Water as Extender for Savanna Goat Buck. Proceedings of the 1st ASEAN *Regional Conferences on Animal Production and 32nd MSAP Annual Conferences*, 4-6 June 2014, Kuching, Sarawak. 47-48
- Abu Md. M. T., Mohammad Musharraf, U. B., Raihana Nasrin, F., Nasrin Sultana, J. and Md. Bazlur, R. M. 2013 Evaluation of semen quality among four chicken lines. *Journal of Agriculture and Veterinary Science* **6(5)**: 7-13
- Aini. 1990. Indigenous chicken population in South-East Asia. *World's Poultry Science Journal* **46**: 51-57
- Alkan, S., Baran, A. Ozdas, B. O. and Evecen , M. 2002. Morphological Defect in Turkey Semen. *Journal Veterinary Animal Science of Turkey* **26**: 1087-1092
- Al-Daraji, H.J. 2012. Effect of Diluents Supplementation with Tomato Juice on Semen Quality and Storage Ability of Roosters' Semen during Liquid Storage. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Science* **1(7)**: 918-926
- Al-Nasser, A., Al-Khalaifa, H, Al-Saffar, A., Khalil, F., Al-Bahouh, M., Ragheb, G., Al-Haddad, A and Mashaly, M. 2007. Overview of Chicken Taxonomy and Domestication. *World's Poultry Science Journal* **63**: 285-300
- Andrade, E. R., Amorim, C.A., Matos, M. H. T., Rodrigues, A. P. R., Silva, J. R. V., and Man D. 2002. Evaluation of Saline and Coconut Water Solutions in Preservation of Ovine Preantral Follicles In Situ. *Small Ruminant Res* **43**: 235- 243.
- Aho, P. 2001. The World's Commercial Chicken Meat and Egg Industries. In: Commercial Chicken Meat and Egg Production. Fifth edition.(Ed. Bell, D, D., and Weaver W. D.). Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, pp: 3-17
- Aho, P. 2004. Challenges and opportunities for marketing poultry products in developed and developing countries. Presented on behalf of The American Soybean Association in Romania and Turkey, June 1-16, 2004.
- AzlinaAzma, I. A. and Engku Azahan, E, A. 2011. Dressed yield and edible parts of crossbred village (kampung) chicken as affected by restrictions in feed. *Malaysian Society of Animal Production* **14**: 57-60
- Bajpal, P. K. and Brown, K. E. 1964. The effect of Different Temperature on the Metabolic Activity, Morphology and Fertility Capacity of Turkey Semen. *Poultry Science* **43**: 1501-1508
- Bakst, M.R. and Cecil, H.C. 1997. Determination of Sperm Concentration I, II and III. In: Bakst, M.R. and Cecil, H.C. (eds) *Techniques for Semen Evaluation, Semen Storage and Fertility Determination*. Poultry Science Association, Illinois, pp 6-22

- Blanco, J. M., Wildt, D. E., Hoffle, U., Voelker, W., and Donoghue, A. M. 2009. Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species. *Theriogenology* **71**: 200-213
- Blesbois, E., Grasseau, I., Seigneurin, F., Mignon-Grasteau, S., Saint Jalme, M., and MialonRichard, M. M. 2008. Predictors of success of semen cryopreservation in chickens. *Theriogenology* **69**: 252-261
- Blesbois, E. 2007. Current status in Avian Semen Cryopreservation. *World's Poultry Science Journal* **63**: 213-222
- Blume, H., Vale Filho, V.R., Marques, A.P. and Saturnino, H.M. 1997. Coconut water assessment in the maturation of bovine oocytes. *Journal of Animal Reproduction* **21**: 72-75
- Blom, E. 1981. Physiology and Pathology of Reproduction. *Medycyna Weterynaryjna*, **4**: 239-242.
- Bonato, M., Cornwallis, C. K., Malecki, I. A., Rybnik-Trzaskowska, P. K. and Cloete, S. W. P. 2012. The effect of temperature and pH on the motility and viability of ostrich sperm. *Animal Reproduction Science* **133**: 123-128
- Brillard, J.P. 2003. Practical Aspects of Fertility in Poultry. *World's Poultry Science Journal* **59**: 441-446
- Burrows, W.H. and Quinn, J.P. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. *Poultry Science* **24**: 19-24
- Cardoso, R.C.S., Silva, A.R., Uchoa, D.C. and Silva, L.D.M. 2002. Cryopreservation of canine semen using coconut extender with egg yolk and three different glycerol concentrations. *Theriogenology* **59**: 743-751
- Cardoso, W. M., Romão, J.M., Salles, R. P. R., Teixeira, R. S. C., Siqueira, A. A., Moraes, T. G. V., Silva, E. E. and Salgueiro, C. C. M. 2006. Powdered coconut water – ACP 201® as vaccinal diluent to Newcastle Disease Virus in domestic pigeons (*Columba livia*). *Portuguese Review of Veterinary Science* **101**: 557- 560
- Clarke, R. N., Bakst, M. R. and Ottinger, M. A. 1984. Morphology Change in Chicken and Turkey Spermatozoa Incubated under Various Conditions. *Poultry Science* **63**: 801-805
- Crawford, R.D. 1990. Poultry genetic resources: evolution, diversity, and conservation. In: *Poultry Breeding and Genetics* (Ed. Crawford, R.D.). Elsevier Science Publishing Company, Amsterdam and New York, pp: 43-60
- Donoghue, A. M. and Wishart, G. J. 2000. Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science* **62**: 213-232

- Dumpala, P.R. Parker, H.M. and McDaniel, C.D. 2006. The sperm quality index from fresh semen predicts chicken semen quality after storage. *International Journal of Poultry Science* **5(9)**: 850-855
- Dumpala, P.R., Parker, H.M., and McDaniel, C.D. 2006. The effect of semen storage temperature and diluent type on the sperm quality index of broiler breeder semen. *International Journal of Poultry Science* **5(9)**: 863-845
- DVS, 2014 Malaysia: Consumption of Livestock Product, 2005-2014.
<http://www.dvs.gov.my/documents/10157/5b1cbd30-54f3-824c-0aa3285775d>.
 Diakses pada 7 Julai 2015. Disahkan pada 8 Julai 2015
- El-Nattat, W. S., El-Sisy, G. A., El-Sheshtawy, R. I 2009. Cryopreservation of buffalo semen using coconut water extender with egg yolk and different glycerol concentrations. *Egypt J Basic Appl Physiol* **8**: 139-146.
- Ehling, C., Taylor, U. Baulain, U., Weigend, S., Henning, M. and Rath, R. 2012. Cryopreservation of semen from genetic resource chicken lines. *Agriculture and Forestry Research* **3 (62)**: 151-158
- Fumihito, A., Miyake, T., Sumi, S., Takada, M., Ohno, S. and Kondo, N. 1994. One subspecies of the red jungle fowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 12505-12509
- Helmenstine, A. M. 2014. Ringer's Solution Recipe. Retrieved July 1, 2015 from <http://chemistry.about.com/od/labrecipes/a/Ringer-S-Solution-Recipe.htm>
- Hillel, J., Groenen, M.A., Tixier-Boichard, M. Korol., A.B., David, L., Kirzhner, V.M. Burke, T., Baarre-Dirie, A., Crooijmans, R. P., Elo, L., Feldman, M.W., Freidlin, P.J., Maki-Tanila, A., Oortwijn, M., Thomson, P., Vignal, A., Wimmers, K and Weigend, S. 2003. Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genetics, Selection, Evolution* **35**: 533- 557
- Hu, S., Zhang, X. G., Han, C., Wei, S. Y., Xie, D. Q., Du, R. R. and Hu, J. H. 2015. Effect of Three Different Diluents on Quality of Boar Semen Stored at 17°C. *Journal of Northeast Agricultural University* **22(2)**: 36-46
- Holstein, A.F., Roosen, R. E. C. and Schirren, C. 1988. *Illustrated Pathology of Human Spermatogenesis*. Grosse Verlag
- Kelso, K. A, Cerolini, S., Noble, R. C., Spark, N. H. C. and Speke, B. K. 1996. Lipid and Antioxidant Change in Semen of Broiler Fowl from 25 to 60 weeks of Age. *Journal of Reproductin and Fertility* **106(2)**: 201-206
- Kuster, C. E., Singer, R. S. and Althouse, G. C. 2004. Determining Sample Size for the Morphological Assessment of Sperm. *Theriogenology* **61(4)** 691-703
- Kotłowska, M., Glogowski, J., Dietrich, G.J., Faruga, A., Jankowski, J. And Ciereszko, A. 2005. Biochemical characteristics and sperm production of turkey semen in relation to strain and age of the males. *Poultry Science* **84**: 1763-1768

- Lake, P. E., and W. M. McIndoe. 1959. The glutamic acid and creatine content of cock seminal plasma. *Biochemical Journal* **71**:303–306
- Latif, A., Ijaz, A., Aleem, M. and Mahmud, A. 2005. Effect of Osmotic Pressure and pH on the Short Term Storage and Fertility of Broiler Breeder Sperm. *Pakistan Veterinary Journal* **25(4)**: 179-182
- Lukaszewicz, E., Jersey, A., Partyka, A. And Siudzinska, A. 2008. Efficacy of evaluation of rooster sperm morphology using different staining methods. *Research in Veterinary Science* **85**: 583-588
- Lukaszewicz, E. 2002. An effective method for freezing white Italian gander semen. *Theriogenology* **58**: 19-27
- Long, J.A., Bongalhardo, D. C., Pelaez, J., Saxena, S., Settar, P., Sullivan, N. P. O. and Fulton, J. E. 2010. Rooster Semen Cryopreservation: Effect on Pedigree Line and Male Age on Post-Thaw Sperm Function. *Poultry Science* **89(5)**: 966-973
- Lucci, C. M., Kacinskis, M. A., Rumpf, R., Báo, S. N 2004. Effects of lowered temperatures and media on shorter preservation of zebu (*Bos indicus*) preantral ovarian follicles. *Theriogenology* **61**: 461-472.
- Malik, A., Haron, A.W., Yusoff, R., Nesa, M., Bukar, M. and Kasim, A. 2013. Evaluation of the ejaculate quality of the red jungle fowl, domestic chicken, and bantam chicken in Malaysia. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **37**: 564-568
- Moreng, R. and AvenS, J.S. 1985. Classification, nomenclature, and showing of poultry. In: *Poultry Science and Production*. Reston Publishing Co., Inc. Prentice-Hall Company. Reston, Virginia 22090, pp: 16-45
- Nasiruddin khan, Muti ur rehmn and Khurram Wazir khan 2003. A study of chemical composition of *Cocos nucifera* L. (coconut) water and its usefulness as rehydration fluid, *Pak. J. Bot.*, **35(5)**: 925 – 930.
- Nascimento, A. B., Oliveira, V. P., Marques, M. G., Toniolli, R., Gerger, R. P. C., and Coutinho, A. R. S. 2005. Dehydrated coconut water for in vitro sperm capacitation in swine **17**: 275
- Nunes J. F., Sales F. G. M. El 1993. Agua de coco (*Cocos nucifera*) in natura integrally adicionada con citoquinina, comodiluidor de semen caprino. *Rev Ciencia Anim* **3(3)**: 273- 281.
- Omeja, S. S. I., and Marie, B. N. 1990. Evaluation of the Semen Characteristic of Adult Cocks of Different Genetics Backgrounds. *Theriogenology* **3**: 1111-1118
- Peters, S.O., Shoyebo, O. D., Ilori, B.M., Ozoje, M. O., Ikeobi, C. O. N., and Adebambo, O. A. 2008. Semen quality traits of seven strain of chicken raised in humid tropics. *International Journal of Poultry Science* **7**:949-953

- Petersen, J.B., Guzman Jr, M.R.D., and Wu, M. C. 1991. Catalog of the native poultry of Southeast Asia. *Food and Fertilizer Technology Centre for Asian Pacific Region, Taiwan. Taiwan Livestock Research Institute.*
- Perry, E.J. 1960. *The Artificial Insemination of Farm Animals.* Rutgers University Press, New Jersey.
- Pornjit, S., Thevin, V. and Banyat, L. 2013. Effect Environment Factor, Age and Breed on Semen Characteristics in Thai Indigenous Chicken: A One-Year Study. *Thai Journal of Veterinary Medicine* **43(3)**: 347-352
- Quinn, J.P., Burrows, W.H. 1936. Artificial insemination in fowls. *Journal of Heredity* **27**:31–37
- Reddy, R. P. 1995. Artificial Insemination of broilers: Economic and management implications. In: Bakst M.R., Wishart G.J. (Eds.), Proc. 1 Int. Symp. Artificial Insemination of Poultry. Poultry Science Association, Savoy, IL, pp: 73-89
- Romanov, M.N. and Weigend, S. 2001. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers.
- Rota, A. 1998. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. 143–149
- Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T. and Maekawa, A. 1996. Nutrient Comparison of Kopyor Coconut (*Cocos nucifera* L.). *Food Chemistry* **57**: 299-304
- Senger, P.L. 2003. *Pathways to pregnancy and Parturition.* (99164-6332) 2nd Ed. Pullman, Washington, USA.
- Sensone, G., Nastri, M. J. R. and Fabbrocini, A. 2000. Storage of Buffalo (*Bubalus bulbalis*) Semen. *Animal Reproduction Sciences* **62**: 55-76
- Sexton, T.J. 1976. Studies on the Dilution of Turkey Semen. *British Poultry Science* **17**: 179 – 186
- Silva, J. R. V., Van Den Hurk R., Costa, S. H. F., Andrade, E. R., Nunes, A. P. A., and Ferreira, F. V. A., 2004. Survival and Growth Of Caprine Primordial Follicles after In Vitro Culture of Ovarian Cortical Slices in Media Containing Coconut Water **81**: 273-286.
- Silva, J.R.V., Lucci, C.M., Carvalho, F.C.A., Bao, S.N., Costa, S.H.F., Santos, R.R. and Figueiredo, J.R. 2000. Effect of coconut water and Braun-Collins solutions at different temperatures and incubation times on the morphology of goat preantral follicles preserved in situ. *Theriogenology* **54**: 809–822
- Sree Kumar Poduval, 2012. Feature: Tender coconut water - Sipping health F&B NEWS
- Sullivan, M.1991. Flock structure in red junglefowl. *Applied Animal Behaviour Science* **30**: 381-386

- Tabatabaei, S Batavani, R. A. and Talebi, A. R. 2009. Comparison o Semen Quality in Indigenous and Ross Broiler Breeder Rooster. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **8(1)**: 90-93
- Thurston. R., 1995 Storage of poultry semen above freezing for twenty-four to forty-eight hours. In: *Proceedings of First International Symposium on Artificial Insemination of Poultry*: 107- 122
- Vale W. G., Nahum B. S., Silva AOA, Sousa J. S., Souza H. E. M., and Ohashi O. M. 1999. Inseminação artificial em búfalos com sêmen congelado em diluenta base de água de coco (*Cocos nucifera*). *Rev Bras Reprod Anim* 1999; **23**: 354-356.
- Vaisanen, J., Hakansson, J and Jensen, P. 2005. Social Interaction in red junglefowl (*Gallus gallus*) and white leghorn layers in stable groups and after re-grouping. *British Poultry Science* **46(2)**: 156-168
- Yong J. W. H., Ge L., Fei Ng Y., and Tan S. N. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules* **14**: 5144-5164.