

<http://ojs.universitasmuarabungo.ac.id/index.php/Sptr/index>

Pengaruh Penambahan Minyak Ikan Lemuru dan Minyak Sawit dalam Pakan Terhadap Kualitas Sperma Burung Puyuh (*Coturnix coturnix japonica*)

Abyadul Fitriyah¹, Isyaturriyadhah²

Abstract

Penelitian ini dilaksanakan untuk mengetahui pengaruh minyak ikan lemuru dan minyak sawit terhadap kadar testosteron serum darah dan kualitas spermatozoa burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*). Penelitian ini menggunakan 15 ekor burung puyuh jantan (*Coturnix coturnix japonica*), berumur 12 minggu, dibagi menjadi lima kelompok perlakuan pakan yaitu : R-0 (Pakan kontrol), R-1 (Pakan 3% MIL), R-2 (Pakan 6% MIL), R-3 (Pakan 3% MS), dan R-4 (Pakan 6% MS). Data hasil pengamatan pada kadar hormon testosteron dan kualitas semen (motilitas, morfologi, viabilitas dan konsentrasi spermatozoa) dianalisis secara kualitatif dengan cara membandingkan antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar hormon testosteron meningkat pada perlakuan 6% MIL (R-2) dan 6% MS (R-4), yaitu 4,92 ng/ml pada perlakuan R-2 dan 2,44 ng/ml pada perlakuan R-4. Sedangkan penggunaan MIL dan MS di dalam pakan memberi indikasi meningkatkan motilitas spermatozoa sampai 78,30% (R-2, R-3 dan R-4), jumlah spermatozoa hidup sampai 86,06% (R-4) dan konsentrasi spermatozoa sampai 255,30. 10⁹/ ml (R-4). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian minyak ikan lemuru dan minyak sawit dengan level tertentu (3% dan 6%) dapat mempengaruhi dan meningkatkan kadar hormon testosteron, HDL, LDL serta kualitas spermatozoa pada burung puyuh.

(Kata kunci : Kadar Testosteron, Kualitas Spermatozoa, Minyak Ikan Lemuru dan Minyak Sawit).

¹ Fakultas Peternakan Universitas Nahdatul Wathan Mataram.

² Fakultas Pertanian Universitas Muara Bungo, Jambi

The Effect of Supplementation Lemuru Fish Oil and Palm Oil in The Feed on the Sperm Quality of Quails (*Coturnix coturnix japonica*)

Abyadul Fitriyah¹, Isyaturriyadhah²

ABSTRACT

The objectives of this research is to study the effect of Lemuru Fish Oil (LFO) and palm (PO) oils in diet on testosterone level and semen quality of quails (*Coturnix coturnix japonica*). The research used 15 head of male quails (*Coturnix coturnix japonica*) and were divided into 5 treatment groups. The treatments were ; R-0 (control), R-1 (3 % LFO), R-2 (6 % LFO), R-3 (3 % PO) and R-4 (6 % PO). Data of observation result at testosterone level and semen quality (sperm motility, sperm morphology, sperm viability and sperm concentration), analyzed qualitatively in a compare between treatment. Result of research showing that amount of testosterone hormone increase at treatment of 6% LFO (R-2) and 6% PO (R-4), that are 4.92 ng/ml at R-2 treatment and 2.44 ng/ml at R4 treatment. The effect of using MO and PO also increase sperm motility (R-2, R-3 dan R-4 = 78,30%), sperm viability (R-4 = 86,06%) and sperm concentration (R-4 = 255,30. 10⁹/ ml). The research could be concluded that treatments did significantly differences on testosterone level, HDL, LDL and semen quality of quails.

(Key words : Testosterone Level, Sperm Quality, Menhaden Oil and Palm Oil)

Pendahuluan

Burung puyuh merupakan unggas kecil yang sudah populer di kalangan masyarakat. Sebagaimana halnya dengan ternak lainnya, puyuh membutuhkan *nutrien* untuk memenuhi kebutuhan hidupnya serta memproduksi. Akhir-akhir ini banyak pabrik pakan yang memproduksi pakan ternak dengan berbagai kebutuhan dan kandungan zat gizi dengan fungsi serta khasiat tertentu. Tetapi sampai saat ini, belum ada pabrik pakan ternak yang memproduksi pakan unggas berdasarkan fisiologi reproduksi unggas tersebut, misalnya jenis kelamin. Padahal kebutuhan antara unggas jantan dan betina tentunya berbeda, terutama ternak jantan tujuan pembibitan.

Pakan merupakan faktor penting dalam memicu aktivitas gonad pada ternak. Perkembangan alat reproduksi pada ternak, sangatlah tergantung dari ketersediaan dan konsumsi pakan yang akan mempengaruhi semua aktivitas produksi dan reproduksi. Kekurangan pakan (*nutrien*), dapat berakibat fatal seperti gangguan alat reproduksi, keterlambatan pendewasaan kelamin dan menurunnya jumlah spermatozoa yang dihasilkan (Lake, 1983). Komponen utama yang penting dalam penyusunan pakan unggas yaitu energi dan protein, terdiri dari 70 % untuk ketersediaan sumber energi dan 25% sumber protein (Marsh, 2000).

Suplementasi minyak merupakan metode yang cocok untuk memenuhi kebutuhan energi serta asam lemak esensial dalam pakan unggas. Minyak yang sering digunakan sebagai sumber energi pada pakan unggas dan mengandung asam lemak esensial yaitu minyak yang berasal dari nabati dan hewani seperti minyak sawit dan minyak lemuru (Wahyu, 1997).

Minyak lemuru merupakan hasil samping pada industri pengalengan dan penepungan ikan lemuru yang sampai saat ini masih merupakan limbah yang belum dimanfaatkan dan berpotensi sebagai sumber asam lemak omega-3 sehingga dapat digunakan sebagai salah satu bahan penyusun ransum unggas (Sulistiawati, 1998). Minyak ikan lemuru memiliki kandungan asam *oleat* 15,55 %, asam lemak omega-6

8,91% dan omega-3 26,29%. Minyak sawit mengandung asam lemak linoleat 10,1%, karoten 500 sampai 700 ppm. Menurut Weiss (1983), asam lemak yang terkandung di dalam minyak ikan dan minyak sawit sangat berpengaruh terhadap kualitas produksi termasuk kualitas telur dan kualitas reproduksi diantaranya kualitas spermatozoa pada ternak.

Untuk meningkatkan kualitas spermatozoa pada ternak dibutuhkan asam lemak essensial dan kolesterol yang ditemukan dalam konsentrasi tinggi pada organ-organ reproduksi, dan sebagai prekursor dalam biosintesis testosteron (Harper *et al.*, 1977; Tranggono, 2001; Linder, 1985 ; Muryanti, 2005). Testosteron merupakan.. hormon yang berperan dalam perkembangan seksual pada individu jantan, berfungsi dalam proses spermatogenesis, memperpanjang daya hidup spermatozoa di dalam epididymis, dan perkembangan alat reproduksi luar serta tanda-tanda kelamin sekunder pada hewan jantan (Hardjosubroto dan Astuti, 1993 ; Nalbandov, 1990).

Sumber asam lemak essensial terdapat di dalam bahan pakan yang memiliki kandungan omega yang tinggi diantaranya omega 3 dan omega 6 (Estiasih, 1996 ; Clarke, 1977).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar hormon testosteron serum darah, HDL, LDL dan kualitas spermatozoa diantaranya motilitas sperma, morfologi sperma, viabilitas sperma dan konsentrasi sperma pada burung puyuh setelah diberi minyak ikan lemuru dan minyak sawit.

Materi dan Metode

Hewan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 15 ekor burung puyuh jantan (*Coturnix coturnix japonica*), berumur 12 minggu dengan berat badan berkisar antara 78,2 g - 125,7 g. Puyuh jantan sebanyak 15 ekor dibagi secara acak menjadi lima (5) kelompok perlakuan pakan. Adapun perlakuan yang dilakukan yaitu ; R-0 (Pakan kontrol), R-1 (Pakan 3% minyak ikan lemuru), R-2 (Pakan 6% minyak ikan lemuru), R-3 (Pakan 3% minyak sawit), dan R-4 (Pakan 6% minyak sawit). Bahan pakan yang digunakan untuk penelitian terdiri dari jagung kuning, tepung ikan, bekatul, bungkil kedelai, *meat bone meal*, premix dengan kadar protein kasar sekitar 20,5% dan energi termetabolis 2600 kcal/kg.

Susunan pakan perlakuan seperti pada Tabel 1. Pakan perlakuan disusun berdasarkan hasil perhitungan dari Tabel komposisi bahan pakan menurut NRC (1994). Pemberian pakan dilakukan pada pagi pukul 06 : 00 dan sore pukul 16 : 00 WIB dengan kebutuhan masing-masing puyuh sebanyak 20 g/hari/ 100 g BB. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

Tabel 1. Komposisi kimia bahan pakan penelitian.

Bahan Pakan	Komposisi (%)	PK (%)	LK (%)	SK (%)	Ca (%)	P (%)	EM (Kcal/kg)
Jagung kuning	56	5,64	2,05	1,18	0,11	0,07	1622,02
Bekatul	13	1,65	1,54	1,52	0,11	0,2	304,50
Bungkil kedelai	18	9,57	0,26	1,52	0,17	0,19	494,63
<i>Meat bone meal</i>	5,5	3,65	0,61	0,16	0,61	0,31	180,86
CaCO ₃	6	-	-	-	0,54	-	-
DL-metionin	0,30	-	-	-	-	-	-
L-Lysin	0,35	-	-	-	-	-	-
NaCl	0,22	-	-	-	-	-	-
Premix	0,55	-	-	-	-	-	-
Choline	0,08	-	-	-	-	-	-
Jumlah	100,00	20,51	4,46	4,38	1,54	0,77	2602,01

Keterangan : EM = Energi Metabolisme

Pengambilan dan Pengumpulan Data

Tahap penelitian terdiri dari kegiatan pemberian pakan selama 20 minggu, pengukuran kadar hormon testosteron yang dianalisis dengan teknik RIA (*Radio Immuno Assay*) di Laboratorium Pramita Yogyakarta, pengukuran kadar kolesterol, *High Density Lipoprotein* (HDL) dan *Low Density Lipoprotein* (LDL) di analisis dengan metode CHODP-PAP di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, sedangkan koleksi semen dan evaluasi semen dianalisa di Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan UGM.

Hasil pengamatan pada kadar hormon testosteron, kadar kolesterol, HDL serta LDL dan pengamatan kualitas semen yaitu motilitas, morfologi, viabilitas serta konsentrasi spermatozoa dianalisis secara kualitatif dengan cara membandingkan burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) setiap perlakuan dan kontrol.

Kadar Hormon Testosteron, Kolesterol, HDL dan LDL

Darah diambil dengan spuit 3 ml dari jantung dan ditempatkan pada tabung ependrof dibiarkan semalam, kemudian disentrifuge 5000 rpm selama 10 menit, cairan bening merupakan serum darah, kemudian dianalisis dengan metode ELFA (*Enzyme-Linked Flourescence Immuno Assay*) menggunakan KIT VIDAS testosteron untuk mengetahui kadar hormon testosteron, sedangkan untuk pengukuran kadar kolesterol, *High Density Lipoprotein* (HDL) dan *Low Density Lipoprotein* (LDL) menggunakan metode CHODP-PAP.

Analisis Spermatozoa

Semen puyuh yang akan di evaluasi diperoleh dari *vas deferen*, dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 1,0 ml garam fisiologis (NaCl 0,9%) suhu 40 °C, kemudian dipotong-potong menggunakan gunting kecil hingga halus dan diaduk dengan gelas pengaduk. Suspensi spermatozoa yang diperoleh dapat digunakan untuk analisis spermatozoa.

a). Analisis motilitas spermatozoa

Suspensi spermatozoa ditetaskan diatas gelas obyek dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali, maka akan terlihat gerakan massa dan gerakan individu. Motilitas spermatozoa ditentukan dari 100 spermatozoa dalam satu lapangan pandang.

b). Analisis morfologi spermatozoa

Pemeriksaan morfologi dapat diamati pada sedian apus yang menggunakan pewarnaan eosin 3%. Pemeriksaan morfologi ditekankan pada spermatozoa bentuk normal dan abnormal, hasilnya dinyatakan dalam persentase. Pengamatan dilakukan pada 100 spermatozoa (Suhadi & Arsyad, 1983).

c). Analisis viabilitas spermatozoa

Analisis viabilitas spermatozoa dilakukan dengan cara : 1 tetes suspensi spermatozoa diletakkan di atas gelas obyek, kemudian ditetaskan eosin 1 tetes, dibuat sediaan apus dan dikeringkan di udara. Pengamatan sediaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali terhadap 100 spermatozoa. Spermatozoa hidup tidak berwarna, sedangkan spermatozoa mati akan berwarna dan hasilnya dinyatakan dalam persentase.

d). Konsentrasi spermatozoa

Suspensi spermatozoa dari pipet eritrosit yang telah dihomogenkan dengan metylene blue ditetaskan pada bilik hitung Neubauer, dan diamati dibawah mikroskop pada 5 kotak besar dengan perbesaran 400 kali. Konsentrasi spermatozoa di hitung pada 5 kotak (4 kotak di ujung dan 1 kotak ditengah) dan dinyatakan dalam $X \cdot 10^9/\text{ml}$.

Hasil dan Pembahasan

Kadar hormon testosteron, kolesterol, HDL dan LDL burung puyuh jantan

Pengamatan reproduksi pada individu jantan, umumnya dilakukan dengan mengamati kualitas dari spermatozoa, evaluasi jumlah spermatozoa, berat organ

reproduksi, histologi organ reproduksi, kadar hormon, dan mengamati hasil uji reproduksi pada hewan betina pasangan kawinnya.

Kadar hormon dalam serum darah merupakan salah satu parameter yang diukur dalam penelitian ini. Untuk mengetahui kadar hormon testosteron dalam serum darah burung puyuh jantan (*Coturnix coturnix japonica*), maka digunakan pengukuran dengan metode RIA (*Radio Immuno Assay*).

Hasil uji kadar hormon testosteron, kolesterol, HDL dan LDL burung puyuh jantan (*Coturnix coturnix japonica*) setelah diberi perlakuan minyak ikan lemuru dan minyak sawit, menunjukkan hasil yang beragam (Tabel 2). Semakin tinggi dosis minyak ikan lemuru dan minyak sawit yang diberikan, maka semakin meningkat kadar hormon testosteron yang dihasilkan. Hal ini kemungkinan dosis asam lemak omega (omega-3 dan omega-6) yang seharusnya diberikan pada ternak unggas khususnya burung puyuh (*Coturnix coturnix japonica*) lebih tinggi dibandingkan yang diberikan pada ternak besar (mamalia) maupun pada manusia. Pada Tabel 2. menunjukkan kadar hormon testosteron burung puyuh jantan untuk kontrol dan perlakuan.

Tabel 2. Kadar hormon testosteron burung puyuh jantan.

No	Dosis (mg/100 g bb/hari)	Kadar Testosteron (ng/ml)	Kadar kolesterol (mg/dl)	Kadar HDL (mg/dl)	Kadar LDL (mg/dl)
1.	R-0 = Kontrol	1,68	202.5	67.1	4.24
2.	R-1 = 3 % minyak ikan lemuru (3% MIL)	0,42	237.0	78.4	8.1
3.	R-2 = 6 % minyak ikan lemuru (6% MIL)	4,92	174.1	46.3	18.04
4.	R-3 = 3 % minyak sawit (3% MS)	1,39	182.6	53.7	9.54
5.	R-4 = 6 % minyak sawit (6% MS)	2,44	195.0	58.9	20.36

Kadar hormon testosteron tertinggi di tunjukkan oleh perlakuan minyak ikan lemuru 6% (R-2), sedangkan kadar hormon testosteron terendah ditunjukkan oleh

perlakuan minyak ikan lemuru 3 % (R-1). Meningkatnya kadar hormon testosteron pada perlakuan minyak ikan lemuru 6% diimbangi oleh menurunnya kadar kolesterol total (174.1 mg / dl), HDL (46.3 mg / dl) dan LDL (18, 04 mg / dl) pada serum darah burung puyuh jantan (*Coturnix coturnix japonica*) yang ditunjukkan pada Tabel 2. Hal ini terjadi karena sebagian kolesterol telah disintesis menjadi hormon testosteron. Hormon testosteron disintesis dari kolesterol dalam sel *Leydig* dan kelenjar adrenal (Austin dan Short ,1979). Biosintesis testosteron memerlukan kolesterol sebagai prekursornya yang secara otomatis akan mempengaruhi juga kandungan HDL dan LDL di dalam serum darah sehingga pada saat di analisa kadar kolesterol, LDL dan HDL hanya sedikit yang bisa terdeteksi.

Meningkatnya kadar hormon testosteron pada perlakuan minyak ikan lemuru 6% dan minyak sawit 6% disebabkan oleh meningkatnya aktivitas sel-sel *Leydig* yang mensintesis hormon testosteron, sedangkan meningkatnya efektivitas sel-sel *Leydig* ini di duga oleh tingginya kandungan *high density lipoprotein*/HDL (lipoprotein berkepadatan tinggi) yang banyak terdapat di dalam asam lemak tidak jenuh, diantaranya asam lemak omega-3 (*eicosapentaenoat acid*) yang banyak terdapat di dalam minyak ikan lemuru dan omega-6 (arakhidonat) yang banyak terdapat di dalam minyak sawit. *High Density Lipoprotein* merupakan salah satu komponen plasma darah yang akan memberikan kolesterol pada kelenjar adrenal. Bila kolesterol yang diambil dari darah meningkat, maka sintesis kolesterol dari kelenjar adrenal di hambat (sebaliknya). Bila kolesterol tidak segera digunakan untuk sintesis testosteron dan steroid lainnya, maka kolesterol disimpan dalam kelenjar adrenal sebagai ester kolesterol dan akan digunakan untuk sintesis testosteron melalui kerja Siklik *Adenosin Mono Pospat* (cAMP). Pengambilan kolesterol dari HDL dipacu oleh *Interstitial Cell Stimulating Hormone* (ICSH). Menurut Hardjosubroto dan Astuti (1993), fungsi utama ICSH adalah menstimuler sel-sel interstisial dari *Leydig* di testes untuk menghasilkan hormon testosteron. Selanjutnya ditambahkan oleh Ganong (1996) bahwa sel *Leydig* dirangsang oleh ICSH melalui peningkatan cAMP. Siklik *Adenosin Mono Pospat* meningkatkan pembentukan kolesterol dari

ester kolesterol dan melalui pengaktifan protein kinase di ubah menjadi *pregnenolon* yang selanjutnya oleh enzim *3 β dehidrogenase* dan *17 α hidroksilase* diubah menjadi *androstenedion* yang dikonversi menjadi testosteron.

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa minyak ikan lemuru dan minyak sawit yang banyak mengandung asam lemak omega (omega-3 dan omega-6) dengan level 6 % dapat meningkatkan kadar testosteron dalam plasma darah burung puyuh jantan, tetapi sebaliknya untuk level 3 %, bahkan menunjukkan nilai yang lebih rendah dari kontrol.

Kualitas Semen

Hasil pemeriksaan semen tentang pengaruh perlakuan pakan terhadap kualitas semen burung puyuh secara mikroskopis, dapat dilihat pada Tabel 3. di bawah ini.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan pakan terhadap kualitas semen burung puyuh

Pemeriksaan	Pakan perlakuan				
	R0	R1	R2	R3	R4
1. Motilitas Spermatozoa (%)	71,70	73,30	78,30	78,30	78,30
2. Morfologi spermatozoa					
- Abnormalitas Spermatozoa (%)	44,26	38,29	76,70	71,39	57,31
- Spermatozoa Normal (%)	55,74	61,71	23,29	28,60	42,69
3. Viabilitas spermatozoa					
- Spermatozoa Hidup (%)	54,04	73,24	73,19	79,00	86,06
- Spermatozoa Mati (%)	45,90	26,75	26,80	20,99	13,94
4. Konsentrasi spermatozoa (10 ⁹ /ml)	180,80	244,80	250,00	238,20	255,30

Data yang terlihat pada Tabel 3. menunjukkan bahwa penggunaan minyak ikan lemuru (MIL) dan minyak sawit (MS) di dalam pakan memberi indikasi

meningkatkan motilitas spermatozoa, jumlah spermatozoa hidup dan konsentrasi spermatozoa, secara angka relatif lebih tinggi dibandingkan dengan pakan R-0 (kontrol). Motilitas spermatozoa tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan R-2 (6 % MIL), R-3 (3 % MS) dan R-4 (6 % MS) yaitu menunjukkan angka 78,30 %. Sedangkan peningkatan jumlah spermatozoa hidup ditunjukkan oleh perlakuan R-4 (6 % MS) sebesar 86,06%, diikuti oleh R-3 (3 % MS) yaitu 79,00%, kemudian R-2 (6 % MIL) dan R-1(3% MIL) menunjukkan angka yang relatif sama (73,19% dan 73,24%). Demikian pula dengan konsentrasi spermatozoa (10^9 / ml), konsentrasi spermatozoa tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan R-4 (6 % MS) sebesar 255,30 . 10^9 / ml, kemudian R-2 (6 % MIL) yaitu 250,00 . 10^9 / ml, R-1(3% MIL) yaitu 244,80 . 10^9 / ml dan R-3 (3% MS) sebesar 238,20 . 10^9 / ml. Analisis morfologi sperma menunjukkan, tingginya jumlah sperma yang abnormal pada setiap perlakuan, kemungkinan disebabkan oleh teknik penampungan sperma yang diambil melalui *vas deferens* yang telah dipotong kecil-kecil sehingga pada waktu pengamatan sperma dibawah mikroskop banyak terlihat sperma yang abnormal seperti kepala, badan dan ekor yang terputus, dan pada Tabel 3. menunjukkan angka yang cukup tinggi disemua perlakuan dibandingkan dengan jumlah sperma yang normal.

Tingginya kualitas semen pada burung puyuh yang diberi perlakuan pakan minyak ikan lemuru dan minyak sawit dipengaruhi oleh komposisi asam lemak dalam ransum dengan kandungan omega-3, omega-6 maupun omega-9 yang dapat memberikan pengaruh terhadap organ-organ reproduksi dan merupakan prekursor dalam pembentukan hormon reproduksi sehingga proses pembentukan semen lebih baik pada perlakuan yang diberi pakan mengandung minyak ikan lemuru (R-1, R-2) dan minyak sawit (R-3, R-4) dibandingkan dengan pakan kontrol (R-0). Dari penelitian Estiasih (1996), MIL mengandung asam lemak omega-3 = 26,29%; omega-6 = 8,9%. Sedang MS mengandung omega-3 = 2,6%, omega-6 = 53,4% dan omega-9 = 25% (Clarke *et al.*, 1977). Pakan perlakuan MIL maupun MS mengandung asam lemak untuk memenuhi kebutuhan nutrien bagi ternak yang merupakan salah satu sumber energi, bahan baku pembentukan hormon steroid/reproduksi dalam kelenjar

adrenal yang berfungsi dalam proses spermatogenesis. Seiring dengan aktivitas spermatozoa yang terus meningkat maka kebutuhan akan sumber energi pun akan meningkat dan harus tetap tersedia untuk meningkatkan daya tahan hidup spermatozoa. Sumber energi tersebut dapat diperoleh dari pakan yang mengandung asam lemak esensial seperti asam lemak omega-3, omega-6 dan omega-9 (Cristensen, 1995 disitasi Wibowo, 1997; Toelihere, 1985). Asam lemak esensial juga banyak ditemui di dalam organ-organ reproduksi (Rettersol *et al.* 1998).

Kesimpulan

Penggunaan Minyak ikan lemuru (MIL) dan minyak sawit (MS) dapat meningkatkan kadar hormon testosteron di dalam plasma darah dan dapat meningkatkan kualitas semen pada burung puyuh (motilitas spermatozoa, morfologi sperma, viabilitas dan konsentrasi spermatozoa)

Daftar Pustaka

- Clarke, S. D., D. R. Romsos and G. A. Leveille. 1977 . Differential Effects of Dietary Methyl Ester of Long-Chain Saturated and Polyunsaturated Fatty Acid on Rat Liver and Adipose Tissue Lipogenesis. *Am. J. Nutrition*.107: 1170-1181.
- Estiasih, T. 1996 . Mikroenkapsulasi Konsentrat Asam Lemak Omega-3 dari Limbah Cair Pengalengan Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). Tesis Program Pascasarjana UGM, Yogyakarta.
- Hardjosubroto, W. and J. M. Astuti. 1993. *Buku Pintar Peternakan*. PT Gramedia Widiasarana Indonesia, Jakarta.
- Harper, H.A., V.W. Rodwel and P.A. Mayes. 1977. Biokimia. Edisi 17. tercemahan oleh M. Muliawan. Universitas Inonesia, Jakarta.
- Lake, P.E., 1983. *The Male in Reproduction in Physiology and Biochemistry of The Domestic Fowl*. Vol 3, Academic Press, London-New York, pp : 1413-1417.
- Linder, M. C. 1985. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan Pemakaian Secara Klinis*. UI Press, Jakarta.
- Marks, D.B., A.D. Marks dan C.M. Smith. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar (Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach)*. Alih bahasa : Pandit, B.U. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. pp. 658 : 716-717.
- Muryanti, Y. 2005. Kadar Testosteron Serum Darah dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus L.*) setelah diberi Ekstrak Biji Saga (*Abrus precatorius L.*), Tesis Fakultas Pascasarjana, Yogyakarta.
- Nalbandov. A.V. 1990. Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Alih Bahasa : Sunaryo Keman. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- NRC. 1994. Nutrien Requirement of Poultry. The 9th Ed. National Academic Press, Washington D. C., USA.
- Rettersol, K.T., B. Hugen, B. Woldseth and B.O. Christopherson. 1998. A comparative study of the metabolism of n-9, n-6 and n-3 fatty acids in testicular cells from immature rat. *Biochim. Biophys. Acta*. 1392 : 59-72.

- Suhadi, K. dan K.M. Arsyad. 1983. *Analisis Sperma*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Sulistiawati, D. 1998. Pengaruh Penggunaan Minyak Lemuru dan Sawit Dalam Ransum Terhadap Kinerja Ayam dan Kandungan Asam Lemak Omega-3 Dalam Telur. Tesis Fakultas Pascasarjana UGM, Yogyakarta.
- Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Penerbit Angkasa Bandung.
- Tranggono. 2001. Lipid dalam Perspektif Ilmu dan Teknologi Pangan. Pidato Pengukuhan Guru Besar Fak. Teknologi Pertanian UGM.
- Wahyu, J. 1997. Ilmu Nutrisi Unggas. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Weiss, T.J., 1983. Food Oils and Their Uses. Avi Publishing Company, Inc., Wesport, Connecticut.
- Wibowo, C.H. 1997. Pengaruh Pencucian Sel dan Penyimpanan Sperma Ayam Kampung Terhadap Fertilitas. Tesis Fakultas Pascasarjana UGM. Yogyakarta.