

**ANALISIS KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN DENGAN
PERBEDAAN JENIS KUNING TELUR PADA PENGENCER SITRAT**
*Analysis of the Quality of Frozen Brahman Bull Semen with Different Types of Egg Yolk in
Citrate Extender*

**Siswanto¹, Madi Hartono², Sri Suharyati¹, Mahfud Rivai¹, Muhammad Mirandy
Pratama Sirat²**

¹ Study Program of Animal Husbandry, Department of Animal Husbandry, Faculty of
Agriculture, University of Lampung, Indonesia

² Study Program of Animal Nutrition and Feed Technology, Department of Animal
Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung, Indonesia

*Corresponding Author: siswanto.1977@fp.unila.ac.id

ABSTRACT

This research was conducted at the Regional Technical Service Unit of Lampung Regional Artificial Insemination Center, Terbanggi Besar District, Central Lampung Regency, Lampung Province on 25–30 January 2023. The purpose of this study was to determine the effect of giving various types of chicken egg yolk and to determine the best type of egg yolk in citrate diluent on the quality of frozen semen of Brahman cows. This study used a Completely Randomized Design experimental design with 3 treatments, namely P1: citrate diluent + ordinary chicken egg yolk, P2: citrate diluent + omega3 chicken egg yolk. P3: citrate diluent + herbal chicken egg yolk, each treatment was done 6 repetitions. The data obtained were analyzed for variance at a real level of 5% and or 1% then followed by Duncan's test. The provision of various types of egg yolk in citrate diluent was significantly different ($P < 0.01$) on the percentage of spermatozoa motility and the percentage of live spermatozoa at the time of post-freezing, but not significantly different ($P > 0.05$) on spermatozoa abnormality. Conclusion of this study was common breed egg yolk in citrate diluent (P1) gave the best effect compared to omega 3 breed egg yolk and herbal breed egg yolk.

Keywords: *Chicken, Citrate diluent, Egg yolk, Semen quality, Brahman cattle.*

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung pada 25–30 Januari 2023. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian berbagai jenis kuning telur ayam dan mengetahui jenis kuning telur yang memberikan pengaruh terbaik pada pengencer sitrat terhadap kualitas semen beku sapi Brahman. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 perlakuan yaitu P1 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras biasa, P2 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras omega 3. P3 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras herbal, setiap perlakuan dilakukan 6 pengulangan. Data yang diperoleh dianalisis ragam pada taraf nyata 5 % dan atau 1% kemudian dilanjutkan uji Duncan. Pemberian berbagai jenis kuning telur pada pengencer sitrat berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase motilitas spermatozoa dan persentase hidup spermatozoa pada saat pasca pembekuan, namun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Kesimpulan penelitian ini bahwa jenis kuning telur ayam ras biasa pada pengencer sitrat (P1) memberikan pengaruh paling baik dibandingkan jenis kuning telur ayam ras omega 3 dan jenis kuning telur ayam ras herbal.

Kata kunci: Kuning telur, Ayam, Pengencer sitrat, Kualitas semen, Sapi Brahman.

PENDAHULUAN

Sapi Brahman termasuk dalam generasi sapi Zebu (*Bos Indicus*) dengan sifat unggul yaitu memiliki ukuran badan yang besar jika dibandingkan dengan sapi lokal dengan adaptasi tinggi terhadap kondisi lingkungan yang panas (Sudarmono dan Sugeng, 2009). Keunggulan Sapi Brahman ini sesuai dengan kondisi Indonesia yang tropis sehingga mudah untuk dikembangkan dalam rangka pemenuhan kebutuhan konsumsi daging nasional melalui peningkatan kualitas ternak melalui peningkatan kualitas budidaya dan mutu genetik melalui metode inseminasi buatan (Rianto, 2004).

Keberhasilan inseminasi buatan pada sapi dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi umur sapi, jarak waktu pelaporan hingga pelaksanaan inseminasi buatan, dan jenis pakan (Putri *et al.*, 2020). Selain ketiga faktor tersebut, kualitas pengencer semen juga mempengaruhi keberhasilan inseminasi buatan, seperti pendapat Kulaksiz *et al.* (2010) bahwa komposisi pengencer dapat memengaruhi nilai kualitas spermatozoa dengan mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan dan menghasilkan konsepsi tinggi (Kulaksiz *et al.*, 2010).

Pemilihan bahan pengencer yang tepat berperan terhadap kualitas hasil semen beku (Ariantie *et al.*, 2013) dengan memperpanjang hidup spermatozoa selama pengenceran hingga pembekuan (Susilawati, 2011) melalui perannya sebagai sumber energi dan mengontrol kontaminasi mikroba (Raheja *et al.*, 2018), memiliki sifat anti cekaman dingin, menyediakan nutrisi, sebagai *buffer* untuk normalitas nilai pH semen, dan krioprotektan untuk melindungi spermatozoa selama proses pendinginan hingga pembekuan (Toelihere, 1993).

Pengencer seperti tris dan asam sitrat adalah pengencer dari bahan kimia yang dapat mempertahankan kualitas

spermatozoa selama penyimpanan dengan fungsi utama sebagai *buffer* untuk mempertahankan pH (Bohlooli *et al.*, 2012; Susilawati dan Yekti, 2018). Bahan kimia untuk pengenceran semen membutuhkan keberadaan kuning telur didalamnya karena kuning telur mengandung asam amino yang berfungsi menjaga integritas selubung lipoprotein membran spermatozoa (Aboagla and Terada, 2004), dengan karbohidrat, vitamin dan mineral untuk mempertahankan kehidupan spermatozoa, serta lipoprotein dan lesitin untuk melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (Tarig *et al.*, 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis kualitas semen beku Sapi Brahman dengan penambahan tiga jenis kuning telur yang berbeda (telur ayam biasa, telur ayam omega 3 dan telur ayam herbal) pada pengencer sitrat.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Waktu penelitian pada Januari 2023 bertempat di Balai Inseminasi Buatan Provinsi Lampung yang merupakan salah satu unit pelayanan teknis daerah dibawah Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Lampung dengan lokasi di Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

Metode Penelitian

Peralatan penelitian meliputi satu set *artificial vagina*, tabung penampung semen berukuran 10 ml, kaca objek, kaca penutup, aluminium foil, kertas tisu, kertas saring (WhatmanTM), batang pengaduk, spektrofotometer (minitube®), timbangan digital (AdventurerTM Pro Ohaus®), microstirer (Thermolyne Cimarec®2), kertas pH, lemari pendingin, tabung steril 2 ml, tip pipet ukuran 100 µl dan 1000 µl, mikropipet, gelas Beker 250 ml, labu Erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 10 ml, 50 ml

dan 250 ml, straw sperma, mikroskop cahaya binokuler (Olympus CH30) terhubung pada layar dan computer, *cold top*, *incubator*, *container*, *stopwatch*, *thermometer*, gunting, pinset, mesin *filling and sealing*, pH meter, boks tempat *prefreezing*, *counter number*.

Bahan penelitian meliputi semen segar sapi Brahman, *sodium-sitrat*, telur ayam ras biasa, telur ayam ras herbal, telur ayam ras omega 3, antibiotik *Penicillin* 1000 IU, *Streptomycin* 1 ml, alkohol 70%, fruktosa, eosin 2%, nitrogen cair, gliserol dan *aquabidestilata*.

Rancangan Penelitian

Analisis kualitas semen beku sapi Brahman dengan perbedaan jenis kuning telur pada pengencer sitrat menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan enam repetisi. Perlakuan berupa perbandingan penggunaan tiga jenis kuning telur dengan konsentrasi 20% dalam pengencer sitrat yaitu kuning telur dari ayam ras biasa (P1); ayam ras omega 3 (P2) dan ayam ras herbal (P3).

Pelaksanaan Penelitian

Tahapan penelitian yaitu 1) pembuatan buffer pengencer; 2) proses pembuatan larutan pengencer sitrat-kuning telur tiap perlakuan; 3) koleksi semen segar sapi Brahman menggunakan *artificial vagina*; 4) Pengenceran semen segar dengan larutan sitrat kuning telur tiap perlakuan; 5) evaluasi kualitas makroskopik semen segar meliputi warna, volume, bau, dan konsistensi semen secara organoleptik; 6) evaluasi kualitas mikroskopik semen segar meliputi motilitas massa dan motilitas individu spermatozoa menggunakan mikroskop cahaya binokuler (Leica DM750) terhubung pada layar dan komputer dilengkapi dengan penghangat pada meja objek; 7) pengukuran konsentrasi spermatozoa menggunakan spektrofotometer (minitube®); 8) pengenceran semen segar menggunakan larutan pengencer tiap perlakuan; 9) *filling*

dan *sealing* dengan memasukkan semen encer tiap perlakuan kedalam straw; 10) *equilibrasi*; 11) proses ekuilibrasi; 12) evaluasi kualitas semen cair sebelum pembekuan meliputi motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa; 13) proses sebelum pembekuan; dan 14) evaluasi kualitas semen beku meliputi motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa.

Pembuatan buffer pengencer dilakukan dengan cara 1) menimbang 4,35 g Na-sitrat kemudian masukan kedalam tabung Erlenmeyer; 2) menambahkan fruktosa 3,75 g; 3) menambahkan *aquabidest* hingga 150 ml dan mengaduk hingga rata; 4) menambahkan antibiotik penicillin 3 ml dan streptomycin 1,5 ml kemudian mengaduk hingga merata.

Pembuatan pengencer dilakukan dengan cara 1) menakar gliserol sebanyak 6 ml; 2) menyiapkan telur segar dan membersihkan kulitnya menggunakan kapas beralkohol 70%; 3) memecahkan kulit telur hingga 1/3 -- 1/2 bagian dengan menggunakan pinset steril. Membuang semua cairan putih telur, kuning telur yang utuh dan terbungkus selaput vitelin dipindahkan ke atas kertas hisap untuk menghilangkan cairan putih telur yang tersisa; 4) memecahkan selaput vitelin dan mengalirkan kuning telur kedalam gelas ukur tanpa selaput vitelinnya sebanyak 30 ml; 5) menuangkan kuning telur dan gliserol yang telah ditimbang ke dalam tabung Erlenmeyer kemudian menambahkan larutan buffer sebanyak 114 ml dan mengaduk hingga rata (BIB Provinsi Lampung, 2012).

Koleksi semen segar dimulai dari persiapan tempat penampungan semen, vagina buatan, bull teaser, dan pejantan yang akan dikoleksi semennya. Koleksi semen dilakukan pada pagi hari karena pada pagi hari libido sapi pejantan lebih tinggi dibandingkan dengan siang hari. Pejantan yang akan ditampung semennya harus diberi makan dan dimandikan terlebih dahulu agar semen yang dihasilkan lebih

optimal dan tidak terkontaminasi kotoran yang ada di tubuh pejantan. Semen pejantan ditampung apabila penis berwarna merah dan keras kemudian pejantan telah melakukan false moulting 3 kali dan sudah mengeluarkan cairan aksesori (BIB Provinsi Lampung, 2012).

Pengenceran semen segar dilakukan dengan menambahkan pengencer sitrat kuning telur ke dalam semen yang telah ditempatkan dalam 3 bagian (sitrat kuning telur ayam ras biasa, sitrat kuning telur ayam ras herbal dan sitrat kuning telur ayam ras omega 3) dengan volume sama banyak kemudian mengaduk hingga merata (BIB Provinsi Lampung, 2012).

Filling dan sealing merupakan proses pengisian semen yang telah ditambahkan bahan pengencer ke dalam straw dengan menggunakan mesin *filling-sealing*. Secara otomatis mengisi ke dalam straw sebanyak 0,25 ml semen dengan konsentrasi sperma 25×10^6 sel/dosis (BIB Provinsi Lampung, 2012).

Proses ekuilibrisasi dilakukan dengan meletakkan straw berisi semen cair disimpan ke dalam *cool top*. Proses ini disebut ekuilibrisasi. Ekuilibrisasi merupakan waktu yang dibutuhkan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer supaya waktu pembekuan dapat mencegah kematian spermatozoa yang berlebihan. Ekuilibrisasi dilakukan di dalam mesin *cool top* selama 4 jam hingga suhu $4 - 5^{\circ}\text{C}$ (BIB Provinsi Lampung, 2012).

Proses sebelum pembekuan semen dilakukan dengan cara meletakkan straw menggunakan boks di atas uap nitrogen selama 10 menit pada kisaran suhu -1400°C . Boks yang digunakan untuk proses sebelum pembekuan diisi dengan nitrogen cair dengan batas ketinggian 10 cm. Jarak permukaan nitrogen cair dalam boks dengan straw ± 6 cm (BIB Provinsi Lampung, 2012).

Evaluasi semen cair Sapi Brahman untuk mengetahui motilitas spermatozoa, persentase hidup dan abnormalitas

spermatozoa. Syarat semen cair untuk dapat dilanjutkan menjadi semen beku yaitu minimal 55% dan gerakan individu minimal +2. Jika semen memenuhi kriteria maka akan dilakukan proses selanjutnya (BIB Provinsi Lampung, 2021).

Proses pembekuan semen dilakukan di dalam kontainer yang berisi nitrogen cair dengan temperatur -1960°C . Semen beku harus selalu terendam nitrogen cair (BIB Provinsi Lampung, 2021).

Evaluasi semen beku Sapi Brahman untuk mengetahui motilitas spermatozoa, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa (BIB Provinsi Lampung, 2021).

Evaluasi motilitas spermatozoa dilakukan dengan cara 1) menyiapkan air hangat pada water inkubator atau dalam termos air dengan suhu 37°C ; 2) mengambil 2 dosis semen beku lalu thawing dalam air hangat dengan suhu 37°C selama 30 detik; 3) keringkan dengan tisu, kemudian potong kedua ujung straw; 4) masukan larutan semen ke dalam mikrotub dan dihangatkan pada suhu sekitar 37°C ; 5) meneteskan di atas objek glass kemudian tutup dengan cover glass; 6) mengamati motilitas spermatozoa dengan mikroskop pada perbesaran 10×10 pada beberapa lapang pandang; 7) melakukan penilaian terhadap motilitas spermatozoa (membandingkan sperma yang progresif dan tidak progresif) (BIB Provinsi Lampung, 2021).

Evaluasi persentase hidup spermatozoa dilakukan dengan cara 1) meneteskan satu tetes eosin 2 % pada ujung gelas objek; 2) meneteskan semen beku dengan ukuran yang sama dengan pewarna pada ujung gelas objek yang sama; 4) menempelkan ujung gelas objek yang lain pada kedua cairan sehingga keduanya tercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek ; 3) memeriksa spermatozoa yang hidup dan mati menggunakan mikroskop pada perbesaran 10×40 . Spermatozoa yang hidup tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah atau merah muda (BIB

Provinsi Lampung, 2021). Menurut Kristanto (2004) menghitung spermatozoa yang hidup dengan rumus:

Hidup spermatozoa (%)

$$= \frac{\text{jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{jumlah spermatozoa yang dihitung}} \times 100 \%$$

Evaluasi persentase abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara 1) meneteskan satu tetes eosin 2 % pada ujung gelas objek; 2) meneteskan semen beku dengan ukuran yang sama dengan pewarna pada ujung gelas objek yang sama; 3) menempelkan ujung gelas objek yang lain pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek; 4) memeriksa spermatozoa yang abnormal menggunakan mikroskop pada perbesaran 10 x 40 dan menentukan abnormalitas Spermatozoa sesuai dengan kriteria yang ada (BIB Provinsi Lampung, 2021). Menurut Kristanto (2004) menghitung spermatozoa yang abnormal dengan rumus:

Abnormalitas spermatozoa (%)

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

Peubah yang diamati

Peubah penelitian ini adalah 1) motilitas individu spermatozoa; 2) persentase hidup spermatozoa; dan 3) persentase abnormalitas spermatozoa.

Analisis Data

Data dimasukkan dalam tabulasi kemudian dilakukan analisis sidik ragam (*Analysis of Variance/ANOVA*) dengan signifikansi 5% dan/atau 1%. Jika hasil ANOVA menunjukkan perbedaan nyata, dilanjutkan *Duncan Multiple Range Test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Kualitas Semen Segar Sapi Brahman

Semen segar yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari pejantan unggul Sapi Brahman berumur 4 tahun. Evaluasi semen segar dilakukan untuk menentukan apakah semen tersebut dapat digunakan untuk tahap selanjutnya dengan memperhatikan aspek makroskopik (warna, volume, bau, pH, dan konsistensi semen), serta mikroskopik (konsentrasi spermatozoa per ml semen, motilitas massa, motilitas individu, persentase spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa). Berdasarkan hasil evaluasi bahwa kualitas semen segar dari pejantan unggul sapi Brahman termasuk kategori baik dan dapat digunakan untuk proses pengenceran semen hingga pembekuan. Hasil evaluasi kualitas makroskopik dan mikroskopik semen segar disajikan pada **Tabel 1**.

1. Kualitas makroskopik semen segar

Hasil pemeriksaan kualitas semen segar pada **Tabel 1** menunjukkan warna semen segar berwarna putih susu sesuai pernyataan Feradis (2010), bahwa semen sapi normal berwarna krem keputih-putihan atau seperti susu dan keruh.

Volume semen yang dikoleksi sebanyak 7 ml. Hasil ini masih tergolong dalam keadaan normal meskipun volume semen yang dikoleksi masih lebih sedikit dari penelitian Setiono *et al.* (2015) dengan jenis sapi yang sama yaitu 11,4 ml. Volume semen sapi menurut Susilawati (2013) berkisar 1 – 15 ml dengan rata-rata antara 6 – 8 ml per ejakulasi yang jumlah semen segar tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi nutrisi, kesehatan ternak, ukuran testis, bangsa dan frekuensi koleksi semen.

Bau semen yang telah terkoleksi pada penelitian ini adalah bau khas sapi. Bau khas ini menunjukkan bahwa bau semen sapi dalam keadaan normal sesuai pernyataan Toelihere (1993) bahwa sapi

pejantan menghasilkan semen segar yang berbau khas.

Konsistensi semen sapi Brahman yang dikoleksi termasuk kategori kental. Menurut pendapat Toelihere (1993), evaluasi konsistensi semen segar dapat dilakukan dengan menggoyangkan tabung skala berisi semen secara perlahan, Semen sapi normal memiliki konsistensi kental. Konsistensi semen terdiri dari pekat, sedang dan encer (Wijayanto *et al.*, 2019). Konsistensi semen berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa, semakin kental konsistensi semen maka semakin tinggi konsentrasi spermatozoa didalamnya. Menurut Susilawati (2011) bahwa

konsistensi semen encer memiliki kisaran konsentrasi spermatozoa kurang dari 1.000 juta sel/mL semen, konsistensi sedang kisaran 1.000-1.500 juta sel/mL semen, dan konsistensi pekat lebih dari 1.500 juta sel/mL semen.

Derajat keasaman atau **pH semen** segar pada penelitian ini yaitu 6,5. pH semen diukur dengan cara mengambil sedikit semen segar menggunakan pipet dan diletakkan pada kertas lakmus. pH normal semen berikisar antara 6,4 – 7,8 (Ax *et al.*, 2008) sedangkan menurut Arifiantini (2016) pH semen segar antara 6,4--7,2. pH semen segar pada penelitian ini termasuk pH normal.

Tabel 1. Hasil evaluasi kualitas makroskopik dan mikroskopik semen segar Sapi Brahman.

Parameter	Nilai
Warna	Putih susu
Volume (ml)	7
Bau	Khas sapi
pH	6,5
Konsistensi	Kental
Konsentrasi (juta sel/mL)	961
Motilitas massa	++
Motilitas individu (%)	70
Spermatozoa hidup (%)	90
Abnormalitas (%)	5

Keterangan:

++ : Baik, terlihat gelombang massa tebal tetapi lambat berpindah tempat.

2. Kualitas mikroskopik semen segar

Penilaian **konsentrasi spermatozoa semen segar** penting dilakukan karena dapat digunakan sebagai indikator kualitas semen dan menentukan tingkat pengenceran yang diperlukan dalam proses pembuatan semen beku. Konsentrasi spermatozoa merujuk pada jumlah spermatozoa yang ada dalam unit volume tertentu atau per satu mililiter semen (Ismaya, 2014; Centola, 2018). Perhitungan konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini menggunakan alat spektrofotometer (Minitub®) dengan hasil konsentrasi spermatozoa dalam semen segar sebesar 961 juta sel/mL, termasuk normal sesuai pendapat Garner dan Hafez (2008), bahwa

konsentrasi spermatozoa semen segar sapi jantan antara 800–2.000 juta sel spermatozoa per mililiter. Konsentrasi spermatozoa semen segar pada penelitian ini lebih rendah dari penelitian Setiono *et al.* (2015) pada jenis sapi yang sama yaitu 1.613 juta/ml. Menurut Ismaya (2014), bahwa konsentrasi sperma dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi bahan pengencer yang digunakan, kedewasaan sapi jantan, libido, volume spermatozoa, dan faktor lingkungan seperti pakan dan kesehatan.

Hasil pemeriksaan **motilitas massa spermatozoa** pada penelitian ini mempunyai gerakan massa yang baik yaitu ++ (positif 2). Penilaian motilitas individu spermatozoa dilakukan dengan melihat

pergerakan spermatozoa secara berkelompok menggunakan mikroskop cahaya binokuler Olympus CH30 yang terhubung pada layar computer (BIB Provinsi Lampung, 2021). Hasil ini menunjukkan gelombang massa spermatozoa seperti awan tebal tetapi lambat berpindah tempat atau gelombang massa sedang tetapi cepat berpindah tempat (Arifiantini 2012).

Motilitas individu spermatozoa pada penelitian ini sebesar 70% dengan pergerakan progresif. Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan paling kurang 5 (lima) lapang pandang menggunakan mikroskop pembesaran 10x10 atau 20x10 atau 40x10 dilengkapi meja penghangat (heating table) suhu 37 °C – 38 °C (BSN, 2021) sesuai yang dimiliki oleh BIB Provinsi Lampung. Berdasarkan standar motilitas individu semen segar sapi yang digunakan oleh Balai Inseminasi Buatan Provinsi Lampung dan Balai Besar Inseminasi Buatan Singosari sehingga layak untuk diproses menjadi semen beku dengan persentase minimal sebesar 70% (BIB Lampung, 2021; BBIB Singosari, 2021).

Persentase motilitas individu pada penelitian ini sama seperti penelitian Setiono *et al.* (2015) dengan persentase sebesar 70%, tetapi lebih rendah dari penelitian Komariah *et al.* (2013), yaitu 80,16%. Motilitas individu spermatozoa tersebut tergolong baik, sesuai pendapat Susilawati (2013) bahwa motilitas individu spermatozoa diatas atau sama dengan 65% mengindikasikan fungsi testis dan epididimis yang subur dan memenuhi Standar Nasional Indonesia bahwa semen segar sapi yang digunakan untuk pembuatan semen beku memiliki motilitas

spermatozoa progresif minimum 70% (Badan Standarisasi Nasional, 2021)

Persentase hidup spermatozoa sapi Brahman yang terkoleksi yaitu 90% berarti bahwa terdapat 90% spermatozoa hidup didalam semen segar yang dikoleksi. Persentase spermatozoa hidup dalam semen sapi segar termasuk kategori baik jika memiliki persentase lebih dari 50% (Hafez, 2000). Persentase spermatozoa hidup akan selalu lebih tinggi daripada motilitas spermatozoa (Bearden dan Fuquay, 2000).

Abnormalitas spermatozoa dalam semen segar sapi Brahman pada penelitian ini sebesar 5%. Hasil ini menunjukan bahwa spermatozoa dengan morfologi normal sebanyak 95% dan termasuk dalam kategori baik. Berdasarkan Standar Nasional Indonesia dalam SNI 4869-1:2021 yang menyatakan bahwa semen segar yang digunakan untuk menjadi semen beku harus memiliki jumlah abnormalitas maksimum 20% (BSN, 2021). Ismaya (2014), menyatakan bahwa sapi dengan kualitas semen dan daya konsepsi termasuk rendah apabila persentase abnormalitas spermatozoa lebih dari 20% dan jika abnormalitas mencapai 30 – 35% dapat berakibat sapi menjadi infertil.

Evaluasi Kualitas Semen Cair Sebelum Pembekuan Sapi Brahman

Evaluasi spermatozoa sebelum pembekuan menjadi salah satu parameter evaluasi yang pertama dilakukan setelah semen dinyatakan layak untuk diproses lebih lanjut dengan mengetahui persentase motilitas individu, hidup dan abnormalitas spermatozoa. Hasil penilaian kualitas semen cair Sapi Brahman sebelum pembekuan disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil evaluasi kualitas semen cair sapi Brahman sebelum pembekuan

Perlakuan	Evaluasi		
	Motilitas Individu Spermatozoa	Hidup Spermatozoa (%)	Abnormalitas Spermatozoa
P1	64,00 ± 1,41	84,50 ± 5,05	6,40 ± 1,01
P2	62,50 ± 3,54	83,30 ± 3,37	5,70 ± 1,35
P3	60,50 ± 3,54	81,00 ± 3,37	6,00 ± 0,34

Keterangan: P1 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras. P2 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras omega 3. P3 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras herbal.

Hasil evaluasi semen cair sebelum pembekuan terjadi penurunan motilitas spermatozoa dibandingkan dengan saat evaluasi semen segar. Penurunan ini terjadi akibat suhu yang menurun drastis hingga mencapai minus 140°C, sehingga spermatozoa mengalami cekaman dingin. Cekaman dingin tersebut dapat menyebabkan kematian spermatozoa akibat adanya perubahan media hidup spermatozoa seperti pembentukan kristal es maupun perubahan tekanan osmotik (Herdiawan, 2004). Namun, pada tahap ini, spermatozoa masih tergolong baik dan bisa dilanjutkan ke tahap selanjutnya, hal ini sesuai dengan standar motilitas sebelum pembekuan yaitu 55% (Balai Inseminasi Buatan Provinsi Lampung, 2021).

Hasil penilaian sebelum pembekuan didapatkan rata-rata nilai motilitas spermatozoa individu sebesar 60,5–64%. Hasil penelitian ini lebih rendah dibandingkan penelitian Komariah *et al.* (2013), pada beberapa jenis sapi seperti Sapi Limousin dengan rata-rata motilitas spermatozoa sebesar 63,44 ± 3,22%, sapi Simmental sebesar 65,12 ± 5,53%, dan sapi FH sebesar 63,12 ± 3,53%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Salim *et al.* (2012), bahwa semen dari berbagai jenis dan spesies ternak dapat menghasilkan kualitas yang berbeda-beda.

Perlakuan P1 memiliki nilai motilitas individu yang cenderung lebih tinggi 1,5–3,5% dibandingkan dengan P2 dan P3. Hal ini diduga karena adanya perbedaan tekanan osmotik pada setiap perlakuan. Perlakuan penambahan kuning telur ayam

ras biasa memiliki tekanan osmotik yang isotonis. Sedangkan pada perlakuan penambahan kuning telur ayam ras herbal dan kuning telur ayam ras omega 3 yang memiliki tekanan osmotik yang lebih tinggi sehingga menyebabkan peningkatan tekanan osmotik yang disebut dengan hipertonik. Akibat yang ditimbulkan dari hal ini adalah munculnya gejala *osmotic shock* pada spermatozoa yang dapat merusak organel intraseluler, mengakibatkan penurunan motilitas dan kematian spermatozoa. Menurut Tambing *et al.* (2003), kerusakan organel intraseluler menyebabkan metabolisme terganggu dan pada akhirnya terjadi penurunan motilitas dan penurunan spermatozoa hidup.

Hasil penilaian persentase hidup spermatozoa saat sebelum pembekuan berada pada kisaran 81,0--84,5%. Meskipun mengalami penurunan dibandingkan pada saat segar hasil ini masih berada dalam kisaran normal. Menurut Toelihere (1993), standar persentase sel hidup sperma beku yang baik yaitu <50%. Penurunan persentase spermatozoa hidup pada saat sebelum pembekuan disebabkan adanya penumpukan asam laktat yang tinggi sebagai hasil akhir metabolisme. Penumpukan asam laktat yang tinggi menyebabkan banyak spermatozoa yang mati (Sinha *et al.*, 1992).

Perlakuan P1 memiliki persentase hidup spermatozoa cenderung lebih tinggi 1,2–3,5% dibandingkan P2 dan P3 (**Tabel 2**). Hal ini diduga karena pada perlakuan penambahan kuning telur ayam ras omega

3 terdapat kadar asam lemak yang lebih tinggi sehingga mengganggu laju dari spermatozoa. Terganggunya laju spermatozoa dapat menyebabkan spermatozoa kekurangan energi, sehingga terjadi penurunan persentase spermatozoa hidup (Harimurti, 2019).

Berdasarkan hasil evaluasi abnormalitas spermatozoa semen cair sebelum pembekuan memiliki persentase antara 5,7–6,4 %. Abnormalitas spermatozoa mengalami peningkatan dibandingkan saat segar yang berada pada persentase 5%. Peningkatan abnormalitas tersebut diduga terjadi akibat pengaruh penurunan pH semen, tekanan osmotik dan efek *cold shock* yang berlangsung dari proses semen segar hingga sebelum pembekuan. Hal ini sesuai dengan pendapat Solihati *et al.* (2008), bahwa abnormalitas disebabkan karena kejutan suhu dingin dan ketidak seimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama penyimpanan.

Evaluasi Kualitas Semen Beku Sapi Brahman

Evaluasi kualitas semen beku menjadi salah satu evaluasi yang penting untuk dilakukan, pada evaluasi ini berkaitan dengan kelayakan semen untuk di inseminasikan kepada sapi betina. Evaluasi semen beku meliputi persentase motilitas individu, hidup dan abnormalitas spermatozoa.

1. Motilitas individu spermatozoa semen beku

Hasil rata-rata persentase motilitas spermatozoa pasca pembekuan berada pada kisaran 40,8 – 51,7% (**Tabel 3**). Hasil tersebut mengalami penurunan dibandingkan saat penilaian sebelumnya meskipun mengalami penurunan motilitas pada tahap ini berada dalam kategori baik dan masuk dalam standar semen beku sapi

sesuai Standar Nasional Indonesia dalam SNI 4869-1:2021 (BSN, 2021) yang menyatakan bahwa semen beku sesudah dicairkan kembali (*post thawing*) pada suhu 37 °C sampai dengan 38 °C selama 30 detik harus menunjukkan motilitas progresif minimum 40%.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam terhadap motilitas spermatozoa pasca pembekuan yaitu berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) hal ini menunjukkan bahwa pada masing-masing perlakuan terdapat perbedaan nilai yang signifikan. Hal ini diduga terjadi akibat adanya perbedaan nilai kandungan nutrisi yang ada pada masing-masing perlakuan, sehingga pada masing-masing pengencer memiliki perbedaan dalam mempertahankan kualitas motilitas spermatozoa selama proses pembekuan. Penambahan kuning telur ayam ras biasa pada pengencer sitrat memberikan pengaruh terhadap motilitas spermatozoa saat pasca pembekuan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan pemberian kuning telur ayam ras omega 3 dan pemberian kuning telur ayam ras herbal.

Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap motilitas spermatozoa perlakuan P1 nyata lebih tinggi dibanding dengan P2 dan P3, P2 lebih tinggi dibandingkan P3. Berdasarkan uji lanjut *Duncan* saat pasca pembekuan Penambahan kuning telur ayam ras biasa pada pengencer sitrat memberikan pengaruh terhadap motilitas spermatozoa sebesar 51,67% dan hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan pengencer kuning telur ayam ras omega 3 dan kuning telur ayam ras herbal dengan nilai 45,8% dan 40,8%. Hal ini diduga karena adanya perbedaan kandungan nutrisi yang ada masing-masing perlakuan menyebabkan adanya perbedaan tekanan osmotik.

Tabel 3. Hasil evaluasi persentase motilitas individu spermatozoa semen beku Sapi Brahman.

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
	-----(%)-----		
1	55	55	40
2	45	50	45
3	50	45	40
4	55	45	45
5	50	40	35
6	55	40	40
Total	310	275	245
Rerata±SD	51,70±4,08^c	45,80±5,85^b	40,80±3,76^a

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$); P1 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras, P2 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras omega 3. P3 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras herbal.

Perlakuan penambahan kuning telur ayam ras biasa memiliki kandungan nutrisi yang lebih ideal sehingga pengencer semen berada pada kondisi yang isotonis. Berbeda dengan pada perlakuan penambahan kuning telur ayam ras omega 3 dan perlakuan penambahan kuning telur ayam ras herbal yang berada pada keadaan hipertonis. Perlakuan penambahan kuning telur ayam ras omega 3 memiliki jumlah kadar lemak yang tinggi yang dapat meningkatkan tekanan osmotik sehingga terjadi keadaan yang hipertonis sedangkan pada perlakuan penambahan kuning telur ayam ras herbal berada pada keadaan hipertonis yang disebabkan akibat kandungan antioksidan yang lebih tinggi.

Keadaan isotonis pada pengencer semen dapat mempengaruhi motilitas spermatozoa karena laju spermatozoa akan terhambat jika pengencer yang digunakan tidak dalam keadaan isotonis. Hal ini sesuai dengan pendapat Fauziah (2014), yang menyatakan bahwa Jika pengencer sangat pekat maka aktivitas sperma untuk bergerak akan lambat. Pada perlakuan P2 memiliki motilitas lebih rendah dibandingkan dengan P1 hal ini diduga karena pada perlakuan kuning telur ayam ras omega 3 memiliki kandungan kadar lemak yang tinggi. Sehingga *Low-density* lipoprotein yang tersusun atas fosfolipid yang sebagian besar terdiri atas asam

dokosaheksaenoat ini menyebabkan ketidakstabilan membran plasma sehingga transport nutrisi ke dalam sel dan transport ion dari dan ke dalam sel terganggu, akibat selanjutnya adalah terganggunya proses metabolisme sehingga spermatozoa kehilangan motilitas (Astuti, 2009).

Perlakuan pemberian kuning telur ayam ras herbal yang memiliki nilai paling rendah. Hal ini diduga karena pada kuning telur ayam ras herbal memiliki kandungan antioksidan yang tinggi dibandingkan jenis kuning telur yang lain. Tingginya antioksidan alami yang ada kemudian ditambah dengan antioksidan yang ada pada larutan *buffer* menjadi terlalu banyak, karena menurut Gordon (1990), besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi, menurutnya menambahkan pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Akibat dari prooksidan tersebut menyebabkan ketidakseimbangan yang menimbulkan elektron tidak berpasangan semakin banyak dan tidak dapat menstabilkan radikal bebas yang sehingga kematian spermatozoa tersebut tetap terjadi.

2. Hidup spermatozoa semen beku

Hasil evaluasi persentase hidup spermatozoa pasca pembekuan disajikan

pada **Tabel 4**. Hasil rata-rata persentase hidup spermatozoa saat pasca pembekuan pada perlakuan P1 yaitu 81,7 %, sedangkan pada perlakuan P2 dan P3 yaitu berturut-turut 79,0% dan 76,6%. Berdasarkan hasil tersebut pada semua perlakuan berada dalam kategori baik. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) standar persentase sel hidup sperma beku yang baik yaitu >50%. Persentase hidup spermatozoa akan lebih tinggi dari nilai motilitas hal ini karena pada spermatozoa yang hidup belum tentu motil, tetapi sejumlah spermatozoa yang tidak motil terkadang masih hidup (Campbell *et al.*, 1977).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan

berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase hidup spermatozoa pasca pembekuan. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari masing-masing perlakuan. Hal ini diduga karena adanya perbedaan kandungan nutrisi yang ada pada masing-masing perlakuan sehingga hasil yang didapatkan berbeda. Tingginya hasil persentase hidup spermatozoa yang didapatkan ini berarti kandungan nutrisi yang ada pada masing-masing perlakuan masih dapat mempertahankan kualitas persentase hidup spermatozoa selama pembekuan.

Tabel 4. Hasil evaluasi persentase hidup spermatozoa semen beku Sapi Brahman.

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
	------(%)-----		
1	81,0	81,0	81,0
2	83,3	81,0	76,2
3	81,0	78,5	78,5
4	81,0	78,5	73,8
5	83,3	76,1	76,2
6	81,0	78,5	73,8
Total	490,46	473,8	459,53
Rerata±SD	81,70±1,23^c	79,00±1,79^b	76,6±2,78^a

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,05$); P1 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras biasa, P2 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras omega 3. P3 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras herbal.

Berdasarkan hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pengaruh perlakuan terhadap persentase hidup spermatozoa perlakuan P1 berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap P2 dan P3. Perlakuan P1 lebih tinggi dibandingkan P2 dan P3, dan Perlakuan P2 lebih tinggi dibandingkan dengan P3. Perlakuan P1 yang menggunakan kuning telur ayam ras biasa memiliki hasil penilaian persentase spermatozoa hidup yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan P2 dan P3 yang ditambahkan kuning telur ayam ras omega 3 dan kuning telur ayam ras herbal.

Tingginya kandungan antioksidan alami pada kuning telur ayam ras herbal dan ditambah dengan antioksidan yang terdapat pada larutan *buffer*, menyebabkan antioksidan pada pengencer sitrat kuning telur ayam ras herbal tersebut memiliki konsentrasi antioksidan yang lebih tinggi.

Menurut Savitri *et al.* (2014), bahwa dosis antioksidan yang terlalu banyak dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi yang menyebabkan aktivitas antioksidan menghilang bahkan antioksidan yang berlebihan dapat menjadi prooksidan yang menyebabkan ketidakseimbangan elektron

dan keadaan hipertonis. Keadaan yang hipertonis dapat menyebabkan *osmotic shock* yang dapat merusak organel intraseluler. Tekanan osmotik menyebabkan adanya perubahan osmolaritas larutan, sehingga terjadi perpindahan air di dalam sel ke dalam bahan pengencer karena konsentrasinya yang tinggi. mengakibatkan terjadinya dehidrasi dan mengalami kerusakan membran plasma yang dapat menyebabkan kematian spermatozoa (Setiono *et al.*,2015).

3. Abnormalitas spermatozoa semen beku

Hasil evaluasi persentase abnormalitas spermatozoa pasca pembekuan disajikan pada **Tabel 5**. Abnormalitas spermatozoa atau kelainan

spermatozoa mempengaruhi kualitas spermatozoa karena apabila tingkat abnormalitasnya tinggi maka kemampuan fertilisasinya akan rendah dan berpengaruh pada kemampuan membuahi sel telur. Spermatozoa yang mengalami abnormal tidak dapat membuahi sel telur pada sapi betina (Toelihere, 1993).

Hasil rata-rata abnormalitas spermatozoa masing-masing perlakuan berada dalam kategori yang baik karena jumlah rata-rata persentase abnormalitas yang dihasilkan tidak melebihi batas standar abnormalitas spermatozoa yaitu 20%. Hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia dalam Badan Standarisasi Nasional (2021) menyatakan bahwa semen sapi memiliki abnormalitas morfologi baik primer maupun sekunder di bawah 20%.

Tabel 5. Hasil evaluasi persentase abnormalitas spermatozoa semen beku Sapi Brahman.

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
	------(%)-----		
1	11,9	6,6	10,4
2	7,1	4,7	6,2
3	11,9	9,5	7,1
4	9,5	7,1	9,5
5	7,1	7,1	9,5
6	9,5	10,00	9,5
Total	57,1	45,2	52,3
Rerata±SD	9,20±2,13	7,50±1,94	8,70±1,67

Keterangan : P1 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras biasa. P2 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras omega 3, P3 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras herbal.

Hasil analisis sidik ragam terhadap abnormalitas spermatozoa pasca pembekuan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hasil tidak berbeda nyata pada abnormalitas spermatozoa ini dapat diartikan bahwa sampai dengan tahap pembekuan masing-masing perlakuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap abnormalitas semen beku. Hal ini terjadi karena adanya abnormalitas spermatozoa primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer akan tetap terjadi meskipun telah diberikan perlakuan

karena pada abnormalitas primer disebabkan oleh faktor genetik ternak, sedangkan abnormalitas spermatozoa sekunder masih dapat diminimalisir dengan diberikannya perlakuan.

Hasil pengamatan yang telah dilakukan ditemukan bahwa sebagian besar abnormalitas spermatozoa berupa leher bengkok, ekor bengkok dan ekor melingkar yang merupakan abnormalitas sekunder dan terdapat beberapa ditemukan abnormalitas primer berupa kepala besar(*macrocephalus*) atau kepala kecil

(*microcephalus*). Kelainan spermatozoa yang termasuk kelainan sekunder yaitu kepala saja (tidak ada ekor), leher bengkok, ekor melingkar, dan ekor bunting (Holt, 2000). Penyebab terjadinya abnormalitas sekunder diduga karena adanya perubahan suhu dingin yang tiba-tiba selama pembekuan. Hal ini sesuai dengan pendapat Garner dan Hafez (2008), abnormalitas sekunder terjadi selama proses penyimpanan atau kriopreservasi spermatozoa, sedangkan abnormalitas primer terjadi dikarenakan faktor keturunan dan pengaruh lingkungan yang buruk.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini bahwa jenis kuning telur ayam ras biasa (P1) adalah jenis kuning telur terbaik untuk digunakan pada pengencer sitrat karena mampu meningkatkan motilitas dan persentase hidup spermatozoa lebih tinggi dibandingkan jenis kuning telur ayam ras omega 3 dan ayam ras herbal.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk menggunakan jenis kuning telur ayam ras biasa pada pengencer sitrat, karena memberikan pengaruh yang lebih baik dibandingkan dengan jenis kuning telur ayam ras omega 3 dan kuning telur ayam ras herbal.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboagla, EME, and Terada T. 2004a. Effects of Egg Yolk during the Freezing Step of Cryopreservation on the Viability of Goat Spermatozoa. *Theriogenology*. 62(2):1160-117. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.01.013>
- Arifianti OS, Yusuf TL, Sajuthi D, and Arifiantini, RI. 2013. Effect of Glycerol and Dimethylformamide (DMF) Cryoprotectants on Buck Etawah Crossbreed Frozen Semen Using Modified Tris Diluents. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 18(4):239-250. <https://doi.org/10.14334/jitv.v18i4.327>
- Arifiantini R.I. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Ternak. IPB Press. Bogor.
- Arifiantini R.I. 2016. Pengembangan Teknik Produksi Semen Beku Sapi di Indonesia. IPB Press. Bogor.
- Astuti, S.D. 2009. Pengaruh Aras Kuning Telur dan Jenis Agen Kryoprotektan dalam Pengencer Tris Terhadap Kualitas dan Fertilitas Spermatozoa Domba Lokal. Thesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ax R.L., M. Dally, B.A. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez, dan M.E. Bellin. 2008. Semen Evaluation. Dalam: Hafez E.S.E (ed). *Reproduction in Farm Animals 7th Ed.* Lippincott Williams & Wilkins, USA
- Balai Inseminasi Buatan Provinsi Lampung. 2012. Standar Operasional Prosedur. Lampung Tengah
- Balai Inseminasi Buatan Provinsi Lampung. 2021. Standar Operasional Prosedur. Lampung Tengah.
- Balai Inseminasi Buatan Singosari. 2021. Evaluasi Kualitas Semen. Malang. <https://bbibsingosari.ditjenpkh.pertanian.go.id/page/evaluasi-kualitas-semen-103>
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2021. SNI 4869-1:2021 Semen Beku – Bagian 1: Sapi. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta

- Bearden, H.J. dan J.W. Fuquary. 2000. *Applied Animal Reproduction*. 5th ed. Prentice Hall. Upper Saddle River. New Jersey.
- Bohlooli S, Cedden F, PishJang J, Razzaghzadeh S, and Bozoğlu Ş. 2012. The Effect of Different Extenders on Post-thaw Sperm Viability, Motility and Membrane Integrity in Cryopreserved Semen of ZandiRam. *Journal of Basic Applied Scientific Research*. 2(2):1120–1123.
- Campbell, J.R. dan J.F. Lasley. 1977. *The Science of Animal that Serve Menkind* Tata Mc. 3 th Ed. Graw Hill. New Delhi.
- Centola, G.M. 2018. Semen Analysis. In: Skinner, M. K (ed). *Encyclopedia of Reproduction*. Publisher Elsevier Science Publishing Co Inc, USA.
- Fauziah, S. 2014. Pengaruh Aras Kuning Telur Ansa (Anatidae anser) dalam Pengencer Sitrat dan Lama Penyimpanan yang Berbeda Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas Sperma Kambing Bligon yang Disimpan pada Suhu 5⁰C. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta. Bandung.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2008. *Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animals*. 7th edition. Edited by E.S.E Hafez and B. Hafez. 2008. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland. USA.
- Gordon, M.H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro*. Elsevier Applied Science. London.
- Harimurti, S. 2019. Efek Pemberian Herbal Sekuntum Terhadap Profil Protein Telur dan Tampilan Kesehatan Usus Ayam Petelur (Studi Kasus di Industri Peternakan Ayam Petelur Sekuntum Farm Lampung Timur). Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animals*. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. USA.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *Jurnal ilmu Ternak dan Veteriner*. 9: 98-107.
- Holt, W. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science*. 62 (1): 3–22.
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Komariah, R.I. Arifiantini, dan F.W. Nugraha. 2013. Kaji banding kualitas spermatozoa sapi Simmental, Limousin, Friesian Holstein terhadap proses pembekuan. *Buletin Peternakan*. 37(3):143-147.
- Kulaksiz R, Çebi Ç, Akçay E, and Daşkin A. 2010. The Protective Effect of Egg Yolk from Different Avian Species during the Cryopreservation of Karayaka Ram Semen. *Small Ruminant Research*. 88(1):12-15. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.11.014>
- Putri, T.D., T.N. Siregar, C.N. Thasmi, J. Melia, M. Adam. 2020. Faktor-faktor yang memengaruhi keberhasilan inseminasi buatan pada sapi di Kabupaten Asahan, Sumatera Utara.

- Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu, 8(3): 111-119.
- Raheja N, Choudhary S, Grewal S, Sharma N, and Kumar N. 2018. A Review on Semen Extenders and Additives Used in Cattle and Buffalo Bull Semen Preservation. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6(3):239-245.
- Rianto. 2004. Pemetaan Sentra Potensi Unggulan Komoditas Peternakan dan Perikanan. Kerjasama Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Kabupaten Blora dengan Fakultas Peternakan. Laporan Akhir. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Salim, M.A., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh metode thawing terhadap kualitas semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *Agripet*. 12(2): 14-19.
- Savitri, F.K., S. Suharyati, dan Siswanto. 2014. Kualitas semen beku sapi bali dengan penambahan berbagai dosis vitamin C pada bahan pengencer skim kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. (3): 30–36.
- Setiono, N., S. Suharyati, dan P. E. Santosa. 2015. Kualitas semen beku sapi Brahman dengan dosis krioprotektan gliserol yang berbeda dalam bahan pengencer tris sitrat kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3(2): 61-69.
- Sinha, S., B.C. Deka, M. K. Tamulu, dan B.N. Borgohain. 1992. Effect of equilibration period and glicerol level in tris extender of quality of frozen Goat semen. *Indian Veteriner*. 69: 1107—1110.
- Solihati, N., R. Idi, S.R. Darojah, M. Rizal, dan M. Fitriati. 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi Peranakan Ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5° C. *Animal Production*. 1(10): 22—29.
- Sudarmono, A. S. dan B. Sugeng . 2008. Sapi Potong. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Susilawati T. 2011. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen Yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*. 12(2):15-24.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Susilawati T, dan Yekti APA. 2018. Teknologi Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Cair (Liquid Semen) (Cetakan Pertama). Universitas Brawijaya Press. Malang. 36-116.
- Tambing, S.N., Toelihere, B. Purwantara, dan I.k. Utama. 2003. Kualitas semen beku kambing Saanen pada berbagai jenis pengencer. *Hayati*. 10: 146-150.
- Tarig AA, Wahid H, Rosnina Y, Yimer N, Goh YM, Baiee FH, Khumran AM, Salman H, and Ebrahimi M. 2017. Effect of Different Concentrations of Egg Yolk and Virgin Coconut Oil in Tris-Based Extenders on Chilled and Frozen-Thawed Bull Semen. *Animal Reproduction Science*. 182:21-27. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.03.024>
- Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa. Bandung.

Wijayanto, F.S., Y.S. Ondho, E.T. Setiatin.
2019. Pengaruh Frekuensi
Penampungan Terhadap Kualitas
Semen Segar Sapi PO Kebumen yang
dievaluasi Secara Makroskopis dan
Mikroskopis. *Agromedia*, 37(2): 26-
33