

MOTILITAS, VIABILITAS, ABNORMALITAS SPERMATOZOA DAN pH SEMEN SAPI BALI DALAM PENGECER SARI AIR TEBU-KUNING TELUR YANG DISIMPAN DALAM WAKTU YANG BERBEDA

Motility, Viability, Spermatozoa Abnormality, and pH of Bali Cattle Semens in Another-Yellow Water Driller Stored in a Different Time

Fransiskus X. Manehat^{1*)}, Agustinus A. Dethan²⁾, Paulus K. Tahuk³⁾

^{1,2,3)}**Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Timor
Jl. Eltari Km 09 Kelurahan Sasi, Kefamenanu-Kabupaten TTU-NTT 85613**

*Corresponding Author : ferrymanehat@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa sapi Bali yang diencerkan menggunakan sari air tebu-kuning telur. Penelitian ini telah dilaksanakan di kandang dan Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Timor pada bulan Agustus-September 2020. Semen ditampung dari seekor ternak sapi bali jantan dewasa kelamin umur \pm 4,5 tahun dengan kondisi sehat. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 ulangan. Masing-masing perlakuan adalah T₁: semen 0,075 ml + 0,3 ml bahan pengencer sari air tebu kuning telur dan disimpan selama 24 jam, T₂: semen 0,075 ml + 0,3 ml bahan pengencer sari air tebu kuning telur dan disimpan selama 48 jam, T₃: semen 0,075 ml + 0,3 ml bahan pengencer sari air tebu kuning telur dan disimpan selama 72 jam, T₄: semen 0,075 ml + 0,3 ml bahan pengencer sari air tebu kuning telur dan disimpan selama 96 jam. Variabel yang diukur adalah motilitas individu, viabilitas, abnormalitas spermatozoa, dan pH semen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan T₄ pada lama simpan 96 jam masih menunjukkan nilai rata-rata yang baik dengan nilai motilitas individu spermatozoa sebesar 45%, viabilitas spermatozoa sebesar 77,3%, abnormalitas spermatozoa sebesar 12,5% dan pH semen 6,6. Dapat disimpulkan bahwa penggunaan pengencer sari air tebu-kuning telur berdampak positif karena mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa selama 96 jam.

Kata Kunci : Semen Sapi Bali, Sari Air Tebu dan Kuning telur, Motilitas individu dan Viabilitas, Abnormalitas Spermatozoa dan pH semen

ABSTRACT

This study aims to determine the quality of Bali cattle spermatozoa diluted using sugarcane juice-egg yolk. This research was carried out in the stables and Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Timor in August-September 2020. Semen was collected from an adult male bali cattle, aged \pm 4.5 years in healthy condition. The method used in this study is an experimental method using a completely randomized design consisting of 4 treatments and 5 replications. Each treatment was T₁: 0.075 ml semen + 0.3 ml of egg yolk sugarcane juice diluent and stored for 24 hours, T₂: semen 0.075 ml + 0.3 ml of diluent for egg yolk cane juice and stored for 48 hours, T₃: semen 0.075 ml + 0.3 ml of diluent for egg yolk

sugarcane juice and stored for 72 hours, T4: semen 0.075 ml + 0,3 ml of egg yolk sugarcane juice diluent and stored for 96 hours. The variables measured were individual motility, viability, spermatozoa abnormalities, and semen pH. The results showed that the T4 treatment on a shelf life of 96 hours still showed a good average value with individual spermatozoa motility values of 45%, spermatozoa viability of 77.3%, spermatozoa abnormalities of 12.5% and semen pH 6.6. It can be concluded that the use of cane juice-egg yolk diluent has a positive impact because it is able to maintain the viability of spermatozoa for 96 hours.

Keyword: Bali cattle Semen, Sugarcane Juice and Egg Yolk, Individual Motility and Viability, Spermatozoa Abnormality and pH.

PENDAHULUAN

Kualitas spermatozoa sangat mempengaruhi tingkat keberhasilan Inseminasi Buatan (IB). Kualitas spermatozoa setelah penampungan akan mengalami penurunan apabila tidak ditangani dengan baik. Salah satu metode yang digunakan untuk mempertahankan kualitas spermatozoa yang baru ditampung adalah dengan menambahkan bahan pengencer agar dapat mempertahankan kualitas spermatozoa tersebut.

Bahan pengencer yang baik adalah bahan pengencer yang murah, sederhana, praktis dibuat dan memiliki masa simpan yang lebih lama. Syarat yang harus dipenuhi oleh setiap bahan pengencer adalah harus dapat menyediakan nutrisi bagi spermatozoa sehingga spermatozoa mampu bertahan hidup lebih lama, mampu memperbanyak volume semen, harus menjadi penyangga bagi spermatozoa, harus memungkinkan spermatozoa dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun bagi spermatozoa, mampu mempertahankan tekanan osmotik ataupun keseimbangan elektrolit dan dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan pengencer semen adalah tebu. Tebu merupakan

salah satu tanaman sejenis rumput yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat dan memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi. Sari air tebu murni mengandung sukrosa sebesar 9,8% yang berfungsi sebagai sumber energi dan sebagai sumber makanan bagi spermatozoa sehingga mampu menunjang kehidupan spermatozoa dan gula invert sebesar 0,7% (Kultsum, 2009). Namun pada sari air tebu tidak memiliki lipoprotein dan lesitin yang berfungsi sebagai pelindung dan pertahanan spermatozoa pada penurunan suhu secara mendadak, untuk itu pada bahan pengencer sari air tersebut perlu ditambahkan kuning telur sebagai bahan untuk memenuhi lipoprotein dan lesitin sehingga menjadi bahan pengencer yang komplit dan dapat mempertahankan kualitas spermatozoa setelah diencerkan.

Keunggulan yang dimiliki kedua bahan pengencer tersebut adalah saling melengkapi nutrisi yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Keunggulan utama dari sari air tebu adalah mengandung sukrosa berupa pemecahan dua unit monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa yang berhubungan dengan ikatan glikolisis. Proses ini menghasilkan ATP dan ADP yang berfungsi sebagai energi penggerak spermatozoa dan berfungsi sebagai krioprotektan

intraseluler. Menurut Anwar (2011), kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang berfungsi sebagai pelindung membran sel spermatozoa. Sari air tebu-kuning telur dapat digunakan sebagai bahan pengencer semen karena kedua bahan ini merupakan sumber energi bagi spermatozoa untuk bergerak dan sebagai pelindung spermatozoa terhadap kejutan dingin dari perubahan suhu.

Sejauh ini penggunaan sari air tebu-kuning telur sebagai bahan

pengencer semen sapi Bali di Kabupaten TTU belum ada dan belum diketahui oleh peternak. Berdasarkan pemikiran tersebut maka telah dilakukan suatu kajian untuk mengetahui kemampuan sari air tebu-kuning telur sebagai pengencer dalam mempertahankan motilitas individu, viabilitas, abnormalitas spermatozoa dan pH semen sapi Bali. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kualitas spermatozoa sapi Bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan dari bulan Agustus-September 2020. Koleksi semen dilaksanakan di di Kandang Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Timor; dan semen hasil penampungan dievaluasi dan diencerkan di Laboratorium Fakultas Pertanian, Universitas Timor.

Ternak

Ternak yang digunakan dalam penelitian ini adalah seekor sapi bali jantan berumur \pm 4,5 tahun dengan berat badan 350 kg dan lingkaran scrotum sebesar 28 cm milik Prodi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Timor dan satu ekor ternak betina pemancing berumur \pm 4 tahun milik Bapak Rafael Barut.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah vagina buatan, gelas ukur, kertas aluminium foil, mikroskop, *cool box*, *refrigerator*, *hemacytometer*, tissue, cover gelas, pipet steril, gelas objek, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kertas indikator pH, *handcounter*, termos air panas, lampu

bunsen, timbangan digital, tabung erlenmeyer, parang steril, pisau steril, blender, saringan, meter, pita ukur, alat tulis dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 ml semen segar sapi bali, 40 ml sari air tebu, 20 ml kuning telur, penicillin, streptomisin, aquades, vaselin, larutan eosin, larutan hayem, alkohol 70% dan air panas.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen Laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 ulangan sehingga terdapat 20 satuan unit percobaan sebagai berikut;

- T1 : Bahan pengencer sari air tebu kuning telur + semen dan disimpan selama 24 jam
- T2 : Bahan pengencer sari air tebu kuning telur + semen dan disimpan selama 48 jam
- T3 : Bahan pengencer sari air tebu kuning telur + semen dan disimpan selama 72 jam
- T4 : Bahan pengencer sari air tebu kuning telur + semen dan disimpan selama 96 jam

Prosedur Penelitian

Tahap Persiapan

Persiapan awal yang dilakukan adalah menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan dalam penelitian. Setelah alat dan bahan lengkap maka langkah selanjutnya adalah menyiapkan ternak yang hendak ditampung semennya. Sebelum ditampung semennya ternak jantan terlebih dahulu distandarisasikan manajemen pakannya sehingga kualitas semen yang dihasilkan maksimal. Pakan yang diberikan berupa hijauan dan konsentrat dengan perbandingan 70 % : 30 %.

Hijauan yang diberikan pada ternak jantan berupa lamtoro dan rumput raja yang merupakan bahan pakan sumber protein dan serat; sedangkan konsentrat yang diberikan adalah campuran antara tepung jagung dan dedak halus yang merupakan bahan pakan sumber energi. Formulasi ransum disusun berdasarkan bobot badan ternak sapi yaitu 350 kg dan kebutuhan bahan kering (BK) ternak sapi yaitu 3% (Kearl, 1982) dan kandungan BK dari lamotoro, rumput raja, tepung jagung dan dedak halus adalah sebagai berikut : 29,9%, 21,27% , 86%, 86% (Hartadi *et al.*, 2005).

Pembuatan Bahan Pengencer Sari Air Tebu

Tebu yang digunakan dalam penelitian adalah jenis tebu kuning yang berumur 11 bulan berjumlah 2 batang dengan panjang 200-300 cm dan memiliki diameter batang 10-12 cm, panjang ruas antar buku 10-15 cm dan jumlah ruas perbatang sebanyak 20-25 ruas. Tebu dipanen dengan cara dipotong dari rumpunnya pada ruas pertama di atas permukaan tanah. Setelah tebu dipotong maka langkah selanjutnya adalah tebu dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air bersih. Setelah dibersihkan langkah selanjutnya adalah pisahkan kulit tebu menggunakan parang. Setelah itu cacah

tebu dengan panjang \pm 1,5 cm dan diblender. Setelah diblender airnya disaring menggunakan penyaring dan dimasukkan kedalam wadah yang telah disiapkan. Air tebu siap digunakan sebagai bahan pengencer.

Pembuatan Bahan Pengencer Kuning Telur

Telur yang digunakan adalah telur ayam kampung berjumlah 2 butir dengan kisaran berat 25-55 gram, memiliki bentuk oval, kondisi kerabang bersih dan warna kerabang kecoklatan serta jumlah kuning telur yang terkandung dalam setiap butirnya adalah 20-25 ml. Sebelum telur dipecahkan untuk diambil kuning telurnya, telur dicuci dan dibersihkan dengan alkohol sehingga telur terbebas dari cemaran bakteri. Setelah itu pecahkan sedikit kerabang bagian atas telurnya kemudian pisahkan putih telur dari kuning telur dengan cara kuning telur diletakkan diatas kertas saring untuk menghilangkan selaput putih telurnya. Setelah disaring kuning telur diaduk sampai merata kemudian dimasukkan kedalam wadah yang telah disiapkan dan kuning telur siap digunakan sebagai bahan pengencer.

Pembuatan Bahan Pengencer Sari Air Tebu-Kuning Telur

Setelah bahan pengencer sari air tebu dan kuning telur siap digunakan maka langkah selanjutnya adalah pembuatan pengencer sari air tebu-kuning telur. Langkah pertama dalam pembuatan bahan pengencer sari air tebu-kuning telur adalah 40 ml sari air tebu dimasukkan ke dalam tabung *erlenmeyer* kemudian masukkan 20 ml kuning telur lalu homogenkan.

Setelah sari air tebu dan kuning telur tercampur merata maka langkah selanjutnya adalah masukkan 0,5 gram penicilin dan 0,5 gram streptomisin yang berfungsi sebagai antibiotik dan 40 ml aquades sebagai pelarut hingga volume pengencer sari air tebu-kuning telur mencapai 100 ml lalu

dihomogenkan. Setelah semua bahan tercampur rata maka bahan pengencer sari air tebu-kuning telur siap digunakan.

Proses Persiapan Vagina Buatan

Proses persiapan vagina buatan dimulai dari pemasangan selongsong karet tipis ke dalam tabung luar kemudian ujung selongsong karet tipis ditarik ke kiri dan ke kanan lalu dipasang pada bibir tabung luar. Kedua ujung selongsong karet tipis dieratkan pada tabung luar menggunakan karet gelang. Setelah itu pasang Corong dari karet tipis disalah satu ujung dari tabung dan dieratkan dengan karet gelang,

Tabung penampung dipasang di ujung corong karet tersebut dan dieratkan menggunakan karet gelang. Setelah itu masukkan air hangat dengan suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ melalui lubang yang ada hingga penuh. Setelah itu isi udara dengan cara ditiup melalui lubang udara yang ada hingga vagina buatan keras dan rapat lalu oleskan vaselin sebagai pelicin $\pm 3/4$ bagian tabung dan vagina buatan siap digunakan.

Proses Penampungan Semen

Sebelum ditampung semennya ternak jantan perlu dimandikan terlebih dahulu agar ternak jantan menjadi lebih segar. Penampungan semen dilakukan dengan cara ternak betina pemancing dimasukkan ke dalam kandang jepit. Kurang lebih satu jam sebelum ditampung semennya pejantan didekatkan ke betina pemancing untuk mempertinggi libido ternak jantan, sehingga kualitas dan kuantitas semen yang dihasilkan bisa maksimal. Jika pejantan pertama kali naik, jangan langsung ditampung semennya, tetapi penis dibelokkan sehingga penis tidak masuk ke vagina betina pemancing dan akhirnya pejantan akan turun dengan sendirinya. Setelah menaiki untuk ketiga atau keempat kalinya maka penampungan semen dilakukan dengan cara mengarahkan vagina buatan ke penis pejantan hingga penis pejantan masuk ke dalam vagina buatan dan

mengeluarkan semen ke dalam vagina buatan tersebut. Setelah ditampung maka langkah selanjutnya adalah mengevaluasi semen segar tersebut untuk mengetahui kualitas dari semen tersebut.

Evaluasi Semen Segar

Evaluasi semen segar sangat penting dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas semen dan kelayakan semen secara keseluruhan baik secara makroskopis maupun mikroskopis sebelum melakukan pengenceran.

Evaluasi secara makroskopis meliputi:

Volume semen

Volume semen yang tertampung dapat dievaluasi secara langsung pada tabung penampung yang berskala. Volume semen dianggap normal jika volume semen hasil penampungan berkisar antara 1-15 ml.

Warna semen

Warna semen dievaluasi dengan melihat secara langsung sesaat setelah penampungan semen dilakukan. Warna semen dianggap normal jika warnanya krem atau putih kekuningan.

Bau semen

Bau semen dievaluasi dengan cara mencium bau semen pada tabung penampung setelah penampungan. Bau semen dianggap normal apabila semen yang ditampung memiliki bau kas ternak itu sendiri.

pH semen

pH semen dievaluasi menggunakan kertas indikator. pH dianggap normal jika pH semen yang dihasilkan memiliki kisaran antara 6,0-7,8. yaitu menunjukkan warna hijau dan jika pH asam maka kertas indikator akan berwarna kuning atau merah sedangkan jika pHnya basa maka kertas pH akan berwarna biru atau ungu.

Konsistensi

Konsistensi atau tingkat kekentalan dievaluasi dengan cara menggoyangkan tabung yang berisi semen secara perlahan-lahan sehingga

terlihat gerakan permukaan semen di dalam tabung. Semakin tinggi tingkat kekentalannya maka kualitas semen tersebut juga semakin baik.

Evaluasi secara mikroskopis :

Motilitas massa spermatozoa

Motilitas massa spermatozoa diamati sesuai kutipan Dethan *et al* (2010) yaitu dengan cara meletakkan semen sebanyak satu tetes di atas *objek glass* tanpa ditutup *cover glass* kemudian diamati di bawah mikroskop perbesaran 100 kali.

Kualitas semen dapat ditentukan berdasarkan penilaian gerakan massa adalah sebagai berikut:

1. Sangat baik (+++) jika gerakan spermatozoa terlihat membentuk gelombang-gelombang besar, banyak, gelap, tebal dan aktif serta bergerak cepat berpindah-pindah tempat
2. Baik (++) bila gerakan spermatozoa terlihat seperti gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban
3. Cukup (+) bila tidak terlihat gerakan spermatozoa seperti gelombang tapi hanya terlihat gerakan individual aktif progresif.
4. Buruk (Necrospermia, 0) jika hanya sedikit atau tidak terlihat gerakan individual spermatozoa sama sekali.

Motilitas individu

Penilaian motilitas individu diamati dengan mengambil satu tetes semen dan diletakkan di atas *objek glass* dan ditutup dengan *cover glass* kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Motilitas individual yang normal adalah minimal motilitasnya 70%.

Berdasarkan motilitas individual, maka penilaian terhadap kualitas spermatozoa adalah dengan skor 0-5 sebagai berikut:

- a. Nilai 0, jika spermatozoa imotil atau tidak bergerak
- b. Nilai 1, jika gerakan spermatozoa berputar di tempat

c. Nilai 2, jika gerakan spermatozoa melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang

d. Nilai 3, jika 50% -80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa

e. Nilai 4, jika spermatozoa bergerak secara progresif dan membentuk gelombang dengan 90% spermatozoa motil

f. Nilai 5, jika gerakan spermatozoa yang sangat progresif, membentuk gelombang yang sangat cepat dan menunjukkan 100% sperma motil.

Viabilitas spermatozoa

Viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan cara meneteskan satu tetes semen ke atas gelas objek lalu tambahkan satu tetes larutan eosin dan dicampur secara merata lalu dikeringkan di atas api Bunsen hingga kering dan membentuk preparat apus kemudian diamati menggunakan mikroskop pembesaran 10 x 40 kali. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap larutan eosin sehingga kepalanya bening sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap larutan eosin sehingga kepalanya berwarna merah.

Konsentrasi spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa adalah banyaknya spermatozoa yang terdapat dalam satu ml semen. Konsentrasi spermatozoa dapat diamati menggunakan Hemacytometer dengan cara menghisap semen sebanyak 0,5 ml menggunakan pipet hemacytometer, kemudian tambahkan larutan hayem hingga 101 ml yang berfungsi untuk mematikan spermatozoa. Lalu homogenkan spermatozoa dan larutan hayem dengan cara digoyang perlahan. Setelah itu teteskan ke kamar hitung hemacytometer dan dihitung pada lima titik menurut arah diagonal menggunakan mikroskop pembesaran 400 kali.

Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa dievaluasi menggunakan pewarnaan *eosin* dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan abnormalitas dilihat dari spermatozoa yang mempunyai bentuk abnormal seperti tidak ada kepala spermatozoa, bentuk kepala yang besar, ekor putus dan ekor melingkar.

Proses Pengenceran Semen

Setelah semen dievaluasi dan dinyatakan bahwa kualitas semen tersebut layak untuk diencerkan maka langkah selanjutnya adalah proses pengenceran semen. Langkah-langkah dalam pengenceran semen menggunakan sari air tebu-kuning adalah sebagai berikut: masukkan bahan pengencer sari air tebu-kuning telur sebanyak 0,3 ml ke dalam masing-masing tabung reaksi menggunakan mikropipet sebanyak 20 tabung reaksi kemudian masukkan semen hasil penampungan dan evaluasi tersebut sebanyak 0,075 ml ke dalam masing-masing tabung yang telah diisi bahan pengencer sari air tebu kuning telur menggunakan mikropipet lalu disimpan di dalam refrigerator atau kulkas dengan suhu 2-5⁰c lalu diamati sesuai perlakuan.

Evaluasi Semen Setelah Pengenceran

Evaluasi semen setelah pengenceran adalah evaluasi terkait motilitas individu spermatozoa, viabilitas spermatozoa, abnormalitas spermatozoa dan pH semen dilakukan pada 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam perunit percobaan.

Variabel Penelitian

Motilitas individu spermatozoa

Semen yang layak digunakan untuk keperluan IB harus memiliki motilitas individu minimal 70%. Motilitas individual spermatozoa dapat dihitung berdasarkan skor 0-5 dan memiliki kriteria sebagai berikut (Pubiandara, 2016):

- a. Nilai 0, jika spermatozoa imotil atau tidak bergerak
- b. Nilai 1, jika gerakan spermatozoa berputar di tempat
- c. Nilai 2, jika gerakan spermatozoa melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang
- Nilai 3, jika terlihat 50% -80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa
- d. Nilai 4, jika spermatozoa bergerak secara progresif dan membentuk gelombang dengan 90% spermatozoa motil
- e. Nilai 5, jika terlihat gerakan spermatozoa yang sangat progresif, membentuk gelombang yang sangat cepat dan menunjukkan 100% sperma motil

Viabilitas spermatozoa

Persentase spermatozoa hidup (PSH) dapat dihitung berdasarkan persamaan sebagai berikut (Dethan *et al.*, 2010):

$$\text{PSH} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total spermatozoa yang dihitung}} \times 100 \%$$

Abnormalitas Spermatozoa

Persentase abnormalitas spermatozoa (PAS) dapat dihitung berdasarkan persamaan berikut (Barek *et al.*, 2020):

$$\text{PAS} = \frac{\text{SA}}{\text{Y}} \times 100 \%$$

Keterangan;

SA: Spermatozoa Abnormal

Y: Total sperma yang dihitung

pH semen

pH semen diukur menggunakan kertas indikator pH dengan cara meneteskan semen ke atas kertas indikator lalu diamkan beberapa saat kemudian amati perubahan warna yang terjadi pada kertas indikator dengan cara membandingkan warna pada kemasan kertas indikator pH. Bila pH normal, maka warna kertas indikator adalah hijau namun jika pH asam maka kertas indikator pH akan berwarna kuning atau merah sedangkan jika pHnya basa maka

kertas indicator akan berwarna biru ataupun ungu.

Analisis Data

Data dari penelitian ini dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan menggunakan *Software Statistical Package For The Social Sciences* (SPSS. 20) dengan persamaan sebagai berikut, $Y_{ij} = \mu + \sigma_i + \epsilon_{ij}$, jika terdapat pengaruh yang nyata antar perlakuan maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan.

Keterangan :

Y_{ij} : Nilai pengamatan dari hasil perlakuan ke-i ulangan ke-j

μ : Nilai tengah umum (Population Mean)

σ_i : Pengaruh taraf perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh galat perlakuan ke-i ulangan ke-j

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Umum Penelitian

Sebelum ditampung semennya ternak jantan dimandikan terlebih dahulu agar ternak pejantan menjadi lebih segar sedangkan ternak betina dalam keadaan birahi sehingga lebih merangsang ternak jantan untuk ejakulasi. Semen ditampung menggunakan vagina buatan. Setelah semen ditampung hasilnya langsung di bawah ke laboratorium untuk melakukan evaluasi awal dengan tujuan untuk

mengetahui layak atau tidaknya semen tersebut diproses lebih lanjut dalam hal ini diencerkan. Setelah semen dievaluasi dan dinyatakan layak untuk diproses lebih lanjut maka semen diencerkan menggunakan bahan pengencer sari air tebu kuning telur yang telah disiapkan sesuai perlakuan. Proses pengambilan data dilakukan pada 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam setelah pengenceran.

Evaluasi Semen Segar Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Berdasarkan hasil evaluasi semen mikroskopis maka diperoleh data seperti segar secara makroskopis dan pada Tabel 4.

Tabel 4 Evaluasi semen segar secara makroskopis dan mikroskopis sebelum pengenceran.

No	Karakteristik	Hasil Pengamatan
1	Volume	2 ml
2	Warna	Krem
3	Bau	Kas semen sapi
4	pH	6,69
5	Konsistensi	Kental
6	Motilitas massa	++
7	Motilitas individu	80 %
8	Abnormalitas	4,5 %
9	Viabilitas spermatozoa	95 %
10	Konsentrasi spermatozoa	1. 200 juta sel sperma/ml semen

Keterangan : ++: Gerakan masa baik; terlihat gelombang-gelombang kecil, tipis, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.

Hasil evaluasi semen segar secara makroskopis dan mikroskopis (Tabel 4) menunjukkan bahwa secara kualitas semen layak digunakan untuk diproses lebih lanjut untuk pengenceran semen karena memiliki nilai viabilitas spermatozoa yang tinggi yaitu sebesar 95%, motilitas massa (++) , motilitas individu sebesar 80% dan konsentarsi

spermatozoa sebesar 1.200 juta sel sperma/ml semen hal ini sesuai pendapat Toelihere *et al.* (1985) yang menyatakan bahwa gerakan massa spermatozoa yang normal dan dapat diproses lebih lanjut jika gerakan massa berkisar antara (++) dan (+++) dan memiliki nilai motilitas individu di atas 40%.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Motilitas Individu Spermatozoa

Motilitas individu spermatozoa adalah tingkat pergerakan individual spermatozoa secara progresif dan merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan fertilitas seekor

pejantan karena semakin tinggi motilitas individu maka semakin tinggi pula fertilitas pejantan. Rataan motilitas individu dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 Rata-rata motilitas individu spermatozoa sapi bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur dan disimpan pada suhu 5⁰c.

Ulangan	Perlakuan			
	T1	T2	T3	T4
1	80	70	60	40
2	85	70	65	50
3	70	65	60	45
4	75	65	50	40
5	80	70	60	50
Jumlah	390	340	295	225
Rata-rata(%)	78± 5,7 ^a	68± 2,73 ^b	59± 5,47 ^c	45± 5,0 ^d

Keterangan: (a, b, c, d) superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh perlakuan berbeda nyata (P<0,05)

Pada Tabel 5 menunjukkan bahwa rata-rata motilitas individu spermatozoa dalam penelitian ini cenderung mengalami penurunan sesuai waktu simpan yang dikenakan. Rata-rata motilitas individu spermatozoa tertinggi terdapat pada perlakuan T₁(24 jam) sebesar 78 ± 5,7% dan diikuti perlakuan T₂ (48 jam) sebesar 68 ± 2,73%, perlakuan T₃(72 jam) sebesar 59 ± 5,47% dan terendah perlakuan T₄(96 jam) sebesar 45 ± 5,0%.

Analisis varians menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata (P<0,05). Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa perlakuan waktu T₁ (24 jam) memiliki motilitas lebih tinggi (P<0,05) dari perlakuan T₂, T₃ dan T₄. Hal ini menunjukkan bahwa pada

perlakuan T₁ dengan lama simpan 24 jam spermatozoa masih banyak mendapatkan suplai makanan dari bahan pengencer sari air tebu dan kuning telur sehingga tingkat motilitas spermatozoa masih tinggi. Hasil penelitian ini terlihat bahwa semakin lama semen cair ini disimpan semakin menurun motilitasnya. Hal ini terlihat dari hasil analisis statistik pada waktu terlama penyimpanan semen cair pada perlakuan T₄ (96 jam) terlihat mengalami penurunan motilitas yang signifikan yakni mencapai 45 ± 5,0%. Penurunan motilitas spermatozoa ini disebabkan oleh semakin berkurangnya cadangan makanan yang tersedia di dalam semen jika semen cair disimpan dalam waktu yang lama. Hal ini sesuai pendapat Simpson dan Russell

(1996) yang menyatakan bahwa penurunan motilitas individu spermatozoa disebabkan oleh semakin berkurang ketersediaan energi yang ada sehingga spermatozoa mengalami destabilisasi membran dimana terganggunya integritas membran yang disebabkan oleh penumpukan asam laktat. Destabilisasi membran akan meningkatkan permeabilitas membran terhadap ion kalsium di dalam mitokondria yang akan menurunkan sintesa ATP. Penurunan sintesa ATP ini mengakibatkan cadangan energi yang digunakan spermatozoa untuk bergerak akan berkurang sehingga motilitas spermatozoa akan menjadi lebih lambat. Hal ini didukung oleh Utomo dan Sumaryati (2000) yang berpendapat bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka nutrisi yang terdapat dalam bahan pengencer akan semakin menurun dan dapat menurunkan motilitas spermatozoa.

Meskipun demikian, perlakuan waktu terlama T₄ (96 jam) dalam penelitian ini menunjukkan motilitas

spermatozoa masih dikategorikan baik yaitu sebesar $45 \pm 5,0\%$. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh ketersediaan energi yang ada dalam bahan pengencer sari air tebu dan kuning telur yang digunakan. Menurut Toelihere (1993), spermatozoa akan lebih mudah menggunakan glukosa dalam metabolisme dibandingkan sumber energi lain yang terdapat dalam plasma semen. Selanjutnya Aisen *et al.*, (2002) menjelaskan bahwa, proses metabolisme spermatozoa dapat berlangsung dengan baik di dalam pengencer yang mengandung gula yang sudah didegradasi. Hasil penelitian ini juga didukung oleh Kultsum (2009) yang menyatakan bahwa, sukrosa yang terkandung di dalam sari air tebu sangat baik dalam mendukung dan menunjang kehidupan spermatozoa dalam hal menyediakan makanan bagi spermatozoa. Menurut Sastrodiharjo dan Resnawati (1999), semen yang layak digunakan untuk IB apabila persentase motilitas individunya di atas 40%.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk bertahan hidup setelah diencerkan dan merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa dari seekor pejantan. Semakin tinggi viabilitas spermatozoa maka semakin

tinggi peluang untuk terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi baik secara alam maupun buatan. Rataan viabilitas spermatozoa sapi bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur dan disimpan pada suhu 5 °C dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata viabilitas spermatozoa sapi bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur dan disimpan pada suhu 5 °C.

Ulangan	Perlakuan			
	T1	T2	T3	T4
1	84	77	80,5	82
2	80	81,5	77	87,5
3	86,6	79,5	85	70
4	89,5	88	79,5	65,5
5	93	80	81	81,5
Jumlah	433	406	403	386,5
Rata-rata(%)	$86,6 \pm 4,99^a$	$81,2 \pm 4,13^{ab}$	$80,6 \pm 2,90^{ab}$	$77,3 \pm 9,16^b$

Keterangan : ns (non significant)

Rata-rata viabilitas spermatozoa (Tabel 6) tertinggi terdapat pada perlakuan T₁ sebesar 86,6±4,99% dan diikuti perlakuan T₂ sebesar 81,2±4,13%, perlakuan T₃ sebesar 80,6±2,90% dan terendah perlakuan T₄ sebesar 77,3±9,16%. Hasil analisis varians menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata (P>0,05).

Jika dibandingkan dengan persentase viabilitas spermatozoa segar (95%) maka persentase viabilitas spermatozoa setelah diencerkan cenderung mengalami penurunan. Hal ini disebabkan oleh semakin berkurang kandungan nutrisi yang terkandung dalam bahan pengencer sari air tebu kuning telur dan semakin bertambahnya lama waktu penyimpanan sehingga persentase spermatozoa hidup yang dihasilkan juga menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Utomo dan Sumaryati (2000) bahwa lama waktu penyimpanan sangat mempengaruhi kualitas spermatozoa, semakin lama waktu penyimpanan maka nutrisi yang terdapat dalam bahan pengencerpun akan semakin berkurang.

Perlakuan waktu terlama T₄ (96 jam) dalam penelitian ini menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa masih layak digunakan untuk keperluan IB karena memiliki nilai sebesar 77,3 % sesuai pendapat Toelihere (1993) menyatakan bahwa, semen yang layak digunakan untuk IB harus memiliki persentase spermatozoa hidup di atas 50%. Hal ini disebabkan oleh komposisi

sari air tebu-kuning telur lebih lengkap kandungan nutrisinya seperti asam-asam amino, karbohidrat, vitamin dan mineral yang dapat berfungsi mempertahankan daya hidup spermatozoa, terutama lipoprotein, lesitin dan fruktosa yang terkandung di dalam sari air tebu-kuning telur yang berfungsi sebagai pelindung spermatozoa dari kerusakan selubung sel spermatozoa akibat *cold shock*. Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury *et al.*, (1985) bahwa, kualitas spermatozoa selama penyimpanan mengalami penurunan yang disebabkan karena *cold shock*, perubahan pH dan berkurangnya nutrisi yang terkandung dalam bahan pengencer. Selain itu sari air tebu-kuning telur merupakan pengencer yang lebih lengkap kandungan nutrisinya dibandingkan dengan pengencer lainnya sehingga menghasilkan daya tahan hidup spermatozoa yang lebih lama hingga 96 jam (T₄).

Susilawati (2011) menyatakan bahwa lipoprotein dan lesitin mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung membran plasma spermatozoa sehingga dapat menekan kerusakan membran plasma pada spermatozoa. Menurut Said *et al.* (2005), kuning telur mampu melindungi integritas membran plasma spermatozoa dari pengaruh *cold shock* pada penyimpanan suhu 5⁰C hingga 96 jam sehingga semen tersebut masih layak digunakan untuk inseminasi buatan.

Pengaruh Perlakuan Terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa adalah tingkat kelainan atau kerusakan fisik spermatozoa yang terjadi pada saat pembentukan spermatozoa di dalam tubuli simeniferi maupun karena proses transportasi spermatozoa melalui saluran-saluran organ kelamin ternak jantan. Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan kualitas spermatozoa

karena apabila persentase abnormalitasnya di atas 20% maka tingkat fertilitasnya rendah sehingga berpengaruh pada tidak terjadinya fertilisasi pada saat kopulasi (Bretzlaff, 1995). Rataan abnormalitas spermatozoa sapi bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur dan disimpan pada suhu 5⁰C dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rataan abnormalitas spermatozoa sapi bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur dan disimpan pada suhu 5 °c.

Ulangan	Perlakuan			
	T1	T2	T3	T4
1	7,5	12	9	13,5
2	6,5	13,5	15	9,5
3	9,5	17,5	12	11,5
4	5	12,5	15,5	10,5
5	6	5,5	11	15,5
Jumlah	34,5	61	62,5	60,5
Rata-rata (%)	6,9 ± 1,71 ^b	12,2 ± 4,32 ^a	12,5 ± 2,73 ^a	12,1 ± 2,40 ^a

Keterangan : ns (non significant)

Pada Tabel 7, rata-rata abnormalitas spermatozoa terendah pada perlakuan lama simpan T₁(24 jam) sebesar 6,9±1,71%, diikuti perlakuan T₄ (96 jam) sebesar 12,1±2,40%, perlakuan T₂(48 jam) sebesar 12,2±2,32% dan perlakuan T₃(72 jam) sebesar 12,5±2,73%. Hasil analisis varians menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh tidak nyata (P>0,05)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa abnormalitas terendah pada perlakuan lama simpan T₁ (24 jam) disebabkan oleh lipoprotein dan lesitin yang terkandung di dalam kuning telur yang mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung membran plasma spermatozoa dari kejutan dingin sehingga dapat menekan kerusakan membran plasma pada spermatozoa. Hal ini sesuai pendapat Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa lipoprotein dan lesitin mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung membran plasma spermatozoa sehingga dapat menekan kerusakan membran plasma pada spermatozoa. Menurut Said *et al.* (2005), kuning telur mampu melindungi integritas membran spermatozoa dari pengaruh *cold shock* pada penyimpanan suhu 5°C.

Peningkatan abnormalitas terjadi pada perlakuan T₂, T₃ dan T₄ diduga

karena semakin lama semen cair disimpan semakin berkurangnya ketersediaan makanan bagi spermatozoa dan terjadi ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama penyimpanan yang mempengaruhi perubahan fisik pada spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa juga dapat terjadi karena adanya pengaruh penurunan pH semen. Hal ini sesuai dengan pendapat Solihati *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa, abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh kejutan suhu dingin yang menyebabkan ketidakseimbangan tekanan osmotik sebagai akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung. Salisbury *et al.* (1985) berpendapat bahwa *cold shock* dan perubahan tekanan osmotik terhadap spermatozoa yang diejakulasikan menyebabkan perubahan pembentukan spermatozoa yang dapat menyebabkan abnormalitas. Herdis (2005) juga berpendapat bahwa proses pengolahan dan penyimpanan akan menyebabkan perubahan fisik pada *semen* yang mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Abnormalitas dari hasil penelitian ini masih dikategorikan rendah karena abnormalitas pada perlakuan lama simpan T₂ (48 jam), T₃ (72 jam) dan T₄ (96 jam) tidak melebihi 20%. dan masih layak digunakan untuk keperluan IB.

Hal ini sesuai pendapat Alawiyah dan Hartono (2006) yang menyatakan bahwa, semen dapat diencerkan dan dapat

digunakan untuk IB apabila nilai abnormalitasnya di bawah 20%.

Pengaruh Perlakuan Terhadap pH Semen

Derajat keasaman (pH) semen adalah tingkat keasam-basahan pada semen dan merupakan faktor yang memegang peranan penting dalam menentukan persentase motilitas,

viabilitas dan konsentrasi spermatozoa. Rataan pH semen sapi bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur dan disimpan pada suhu 5°C dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rataan pH semen sapi bali yang diencerkan dengan sari air tebu-kuning telur dan disimpan pada suhu 5^oc.

Ulangan	Perlakuan			
	T1	T2	T3	T4
1	6,37	6,69	6,56	6,56
2	6,81	6,69	6,59	6,53
3	6,79	6,57	6,69	6,59
4	6,91	6,67	6,67	6,54
5	6,86	6,69	6,57	6,58
Jumlah	33,74	33,31	33,08	32,8
Rata-rata	6,748 ± 0,216 ^a	6,662 ± 0,052 ^{ab}	6,616 ± 0,059 ^{ab}	6,56 ± 0,025 ^b

Keterangan : ns (non significant)

Rataan pH semen (Tabel 8) tertinggi terdapat pada perlakuan T₁ sebesar 6,748±0,216 dan diikuti perlakuan T₂ sebesar 6,662±0,052, perlakuan T₃ sebesar 6,616±0,059 dan terendah perlakuan T₄ sebesar 6,56±0,025. Hasil analisis varians menunjukkan bahwa perlakuan T₁ tidak berbeda dengan perlakuan T₂, T₃ dan T₄. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan pengencer sari air tebu-kuning telur mampu mempertahankan pH semen tetap berada pada kisaran normal semen sapi hingga 96 jam. Hal ini sesuai dengan pendapat Salisbury dan Van Demark (1985) bahwa, pH semen sapi normal berkisar antara 6,0 sampai 8,0. Hal ini diduga karena ketersediaan energi yang terkandung di dalam bahan pengencer sari air tebu kuning telur masih cukup untuk kebutuhan spermatozoa sehingga tidak memaksa spermatozoa untuk memproduksi asam laktat akibat metabolisme spermatozoa

yang tinggi dan akan menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam karena penurunan pH. Kondisi tersebut menyebabkan perubahan kondisi asam yang bersifat racun bagi spermatozoa (Sugiarti *et al.*, 2004). Sumarsono (1998) juga berpendapat bahwa, spermatozoa sangat peka terhadap perubahan pH medium dari keadaan netral, terutama terhadap pH rendah. Toelihere (1993) menyatakan bahwa pH semen sangat dipengaruhi oleh metabolisme fruktosa plasma seminalis dan menghasilkan asam laktat dalam jumlah tinggi. Hardis dan Rizal (2008) juga berpendapat bahwa, pH semen semakin asam disebabkan oleh semakin tinggi asam laktat yang diproduksi oleh spermatozoa. Trianan (2006) menambahkan bahwa, semakin banyaknya asam laktat akan menjadi racun bagi kehidupan spermatozoa, akumulasi asam laktat akan menyebabkan perubahan pH sehingga daya tahan spermatozoa berkurang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa spermatozoa dapat bertahan hidup dalam pengencer

sari tebu- kuning telur sampai lama penyimpanan 96 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Alawiyah, D. dan M. Hartono. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan Pengencer *Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Boer*. *Jurnal Trop. Anim. Agric*, 31(1): 8-14
- Anwar, P. 2011. *Motilitasa dan Viabilitas Semen Sapi Bali yang diencerkan dengan Pengencer air Tebu yang berbeda*. Skripsi. Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Pekanbaru.
- Aisen, E.G., Medina, V.H., and Venturino. A. 2002. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram frozen semen in diferent trehalose concentrations. *Theriogenology*, 57: 1801-1808.
- Barek, M.E., Hine, T.M., Nalley, W.M., dan Belli, H.L. 2020. Pengaruh Penambahan Sari Wortel Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Bligon. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 7(2), 109-117.
- Brezlaff, K. 1995. *Goat Breeding and Infertility.p. 169-207. in. J. Meredith (eds). Animal Breeding and Infertility*. Blackweel Science Ltd. Victoria, Australia.
- Dethan, A.A., Kustono., dan Hari Hartadi. 2010. Kualitas dan Kuantitas Sperma Kambing Bligon Jantan Yang diberi Pakan Rumput Gajah Dengan Suplementasi Tepung Darah. *Buletin Peternakan*, 34(3) : 145-153
- Herdis. 2005. *Optimalisasi Inseminasi Buatan Melalui Aplikasi Teknologi Laserpunktur pada Domba Garut (Ovis Aries)*. Disertasi. Institut. Pertanian Bogor. Bogor
- Herdis., dan M. Rizal. 2008. *Inseminasi Buatan Pada Domba*. Rineka Cipta. Jakarta. 33-34, 39.
- Hartadi, H.S., Reksohaddiprodjo dan A. D. Tillman. 2005. *Tabel komposisi Pakan Indonesia untuk Indonesia*. Press. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Husin, N., Tatik S., dan K.Kearl. 1982. *Nutrien Requirement of Ruminant in Developing Countries*. Utah State University Logah. USA.
- Kultsum, U. 2009. *Pengaruh Variasi Nira Tebu (Saccharum officinarum) Dari Beberapa Varietas Tebu Dengan Penambahan Sumber Nitrogen(N) Dari Kedelai Hitam (Glycine soja) Sebagai Substrat Terhadap Efisiensi Fermentasi Etanol*. Skripsi Program Serjana S1. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Ibrahim Malik Malang.
- Pubiandara, S. 2016. *Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Motilitas, Persentase Spermatozoa Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Onggole*. Skripsi Program SerjanaS1Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Said, S., M. Gunawan, E.M. Kaiin, dan B. Tappa, 2005. *Daya Tahan*

- Spermatozoa Cair Sapi Simental yang Disimpan dalam Straw pada Temperatur 5°C*. Pusat Penelitian Bioteknologi. LIPI. Buletin Peternakan 16 (8) : 58-73
- Sastrodiharjo, S., dan H. Resnawati. 1999. *Inseminasi Buatan Ayam Buras : Meningkatkan Produksi Telur Mendukung Pengadaan DOC Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sumarsono, T. 1998. *Peningkatan Kualitas Spermatozoa Kerbau Lumpur dengan Penambahan Asam Aorbat dalam Pengencer Semen Beku*. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sugiarti, T., E. Triwlaningsih., P. Situmorang., R.G. Sianturi., dan D.A. Kusumaningrum. 2004. *Penggunaan Katalase dalam Produksi Semen Dingin Sapi*. Pros. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 4 – 5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan. Bogor. Hlm. 215 – 220.
- Susilawati, T. 2011. *Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole*. *J. Ternak Tropika*, 12(2); 15 - 24
- Solihati, N., R. Idi., S.D. Rasad., 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*, 10 (1): 22-29. ISSN: 1411- 2027.
- Simpson, P.B., and J.T. Russell. 1996. *Mitochondria Support Intosol 1,4,5-Tris-Phospate-Mediated Ca²⁺ Waves in Cultured Oligodendrocytes*. *J. Biol. Chem*, 267:23467-23470.
- Salisbury, G. W., dan N. L. Vandemark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Gadjah Mada Universitay Press.
- Triana, I.N. 2006. *Pengaruh Waktu Inseminasi Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Pascainseminasi Pada Kambing*. *Berk. Penel. Hayati*.11: 147-150.
- Toelihere, M. R. 1985. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Cetakan ke dua. Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Cetakan ke tiga. Angkasa. Bandung.
- Utomo, S., dan Sumaryati. 2000. *Pengaruh Suhu Penyimpanan 50 C Terhadap Sperma Kambing dan Domba Dengan Pengencer Susu Skim*. *Buletin Pertanian dan Peternakan*, 8 (2):70-79.