

**KUALITAS SPERMATOZOA *POST THAWING* SEMEN BEKU
SAPI BRANGUS DENGAN SUHU BERBEDA**



Oleh

SAGITA ANJANI RAINUNINGSIH

B1D018248

Diserahkan Guna Memenuhi Sebagian Syarat yang Diperlukan
untuk Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan pada
Program Studi Peternakan

FAKULTAS PETERNAKAN

UNIVERSITAS MATARAM

MATARAM

2023

JURNAL

**KUALITAS SPERMATOZOA *POST THAWING* SEMEN BEKU
SAPI BRANGUS DENGAN SUHU BERBEDA**

PUBLIKASI ILMIAH

Oleh

Sagita Anjani Rainungsih

B1D018248

Menyetujui:

Pembimbing Utama



Drh. Hj. Rodiah, M.Si
NIP. 196010181987032001

Diserahkan Guna Memenuhi Sebagian Syarat yang Diperlukan
untuk Mendapatkan Derajat Sarjana Peternakan pada
Program Studi Peternakan

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM**

2023

ABSTRAK

KUALITAS SPERMATOZOA *POST THAWING* SEMEN BEKU SAPI BRANGUS DENGAN SUHU BERBEDA

Oleh:

SAGITA ANJANI RAINUNINGSIH
B1D018248

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai suhu *thawing* terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi Brangus. Materi penelitian ini adalah semen beku sapi Brangus, dengan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 5 perlakuan yaitu P1 : 33°C, P2 : 35°C, P3 : 37°C, P4 : 39°C, P5 : 41°C dan 5 ulangan untuk setiap perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian's (ANOVA) hasil yang berbeda nyata diuji lanjut dengan uji Duncan's pada program SPSS 16. Variabel yang diamati meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu *thawing* yang berbeda memberikan pengaruh terhadap kualitas spermatozoa. Rataan motilitas P1 (37%) $37,00 \pm 4,00\%$, P2 (38%) $38,00 \pm 5,10\%$, P3 (44%) $44,00 \pm 3,73\%$, P4 (43%) $43,00 \pm 5,10\%$, P5 (36%) $36,00 \pm 3,73\%$. Rataan viabilitas P1 (31%) $31,20 \pm 19,28\%$, P2 (26%) $26,40 \pm 3,13\%$, P3 (62%) $62,40 \pm 8,19\%$, P4 (52%) $52,40 \pm 5,53\%$, P5 (24%) $24,00 \pm 6,02\%$. Rataan abnormalitas P1 (17%) $17,20 \pm 2,31\%$, P2 (17%) $17,20 \pm 2,03\%$, P3 (11%) $11,40 \pm 2,64\%$, P4 (11%) $11,60 \pm 1,49\%$, P5 (18%) $18,00 \pm 1,89\%$. Dari data tersebut disimpulkan bahwa suhu *thawing* yang berbeda berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa dan viabilitas spermatozoa tetapi tidak berpengaruh terhadap abnormalitas spermatozoa. Suhu yang memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas semen beku sapi Brangus adalah suhu 37°C.

Kata Kunci : Sapi Brangus, *thawing*, spermatozoa

ABSTRACT

SPERMATOOZA QUALITY OF *POST THAWING* SEMEN FROZEN BRANGUS BEEF WITH DIFFERENT TEMPERATURE

By :

**SAGITA ANJANI RAINUNINGSIH
B1D018248**

This study aims to determine the effect of various thawing temperatures on the quality of frozen semen spermatozoa of Brangus cattle. The material for this study was frozen semen of Brangus cattle, using a laboratory experimental study using a completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments, namely P1 : 33°C, P2 : 35°C, P3 : 37°C, P4 : 39°C, P5 : 41°C and 5 replicates for each treatment. The data obtained were analyzed using the analysis of variance's (ANOVA). Significantly different results were further tested with the Duncan's test in the SPSS 16 program. The observed variables included motility, viability and abnormalities of spermatozoa. The results showed that different thawing temperatures had an effect on the quality of spermatozoa. Average motility P1 (37%) $37.00 \pm 4.00\%$, P2 (38%) $38.00 \pm 5.10\%$, P3 (44%) $44.00 \pm 3.73\%$, P4 (43%) $43.00 \pm 5.10\%$, P5 (36%) $36.00 \pm 3.73\%$. Viability mean P1 (31%) $31.20 \pm 19.28\%$, P2 (26%) $26.40 \pm 3.13\%$, P3 (62%) $62.40 \pm 8.19\%$, P4 (52%) $52.40 \pm 5.53\%$, P5 (24%) $24.00 \pm 6.02\%$. The mean abnormality for P1 (17%) $17.20 \pm 2.31\%$, P2 (17%) $17.20 \pm 2.03\%$, P3 (11%) $11.40 \pm 2.64\%$, P4 (11%) $11.60 \pm 1.49\%$, P5 (18%) $18.00 \pm 1.89\%$. From these data it was concluded that different thawing temperatures had an effect on spermatozoa motility and spermatozoa viability but had no effect on spermatozoa abnormalities. The temperature that has the best effect on the quality of frozen semen of Brangus cattle is 37°C.

Keywords: Brangus cattle, thawing, spermatozoa.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sapi Brangus merupakan tipe sapi potong yang baik untuk dikembangkan. Sapi Brangus memiliki keunggulan pertumbuhan yang cepat, nafsu makan yang tinggi, merupakan tipe dwi guna yaitu penghasil daging dan susu, serta mudah beradaptasi dengan lingkungan (Adinata *et al.*, 2017). Usaha yang dilakukan untuk peningkatan populasi sapi Brangus melalui pemanfaatan teknologi reproduksi salah satunya adalah Inseminasi Buatan (IB). Program IB merupakan suatu cara perkawinan yang lebih efisien dan efektif dalam penggunaan semen pejantan unggul untuk membuahi sapi betina dalam jumlah banyak dibandingkan dengan perkawinan alam (Sumeidiana *et al.*, 2007).

Aplikasi teknologi IB ditujukan untuk meningkatkan mutu genetik ternak sehingga dapat menghasilkan produk berupa daging dan susu yang baik. Inseminasi buatan memungkinkan kesempatan penyebaran genetik dari sapi pejantan unggul melalui semen beku yang diproduksi Balai Inseminasi Buatan (BIB). Pengembangan IB diharapkan akan meningkatkan produktivitas serta kelahiran ternak sehingga kebutuhan daging dalam negeri terpenuhi (Ramliagam, 2004).

Tantangan dalam keberhasilan IB di lapangan adalah kualitas semen beku yang rendah serta keterampilan inseminator pada metode *thawing*. Kebanyakan inseminator kurang memperhatikan waktu *thawing* sehingga menyebabkan motilitas spermatozoa *post thawing* menurun dan terjadi kawin berulang (Pratiwi *et al.*, 2006). Indikator kualitas semen beku *post thawing* yang rendah antara lain persentase motilitas yang rendah dan terdapat banyak spermatozoa yang tidak

dapat bertahan hidup (Salim *et al.*, 2012).

Metode *thawing* semen beku menjadi salah satu faktor yang sangat menentukan karena penggunaan metode *thawing* yang tidak tepat akan menyebabkan kerusakan spermatozoa sehingga menurunkan kualitas semen (Evans dan Maxwell, 1976). *Thawing* merupakan pencairan kembali semen yang telah dibekukan sebelum dilakukan IB. Suhu dan lama *thawing* mempunyai pengaruh besar terhadap keadaan spermatozoa khususnya keutuhan spermatozoa dalam semen. Kombinasi suhu *thawing* yang baik adalah yang dapat mencegah kerusakan spermatozoa, sehingga tetap memiliki kemampuan membuahi ovum yang tinggi.

Pelaksanaan *thawing* di lapangan, sering ditemukan masih banyak belum sesuai standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku. *Thawing* sesuai SNI menggunakan air dengan suhu 37-38°C selama 30 detik. Ketidaksesuaian *thawing* dapat ditemukan dari hasil beberapa survey, petugas inseminator melakukan *thawing* dengan cara merendam straw di air sumur dari pada air hangat sedangkan air sumur belum tentu memiliki suhu yang stabil karena dapat terpengaruh beberapa faktor seperti lingkungan maupun cuaca.

Ketidaksesuaian *thawing* yang tidak berdasarkan SNI juga ditemukan pada Inseminator yang melakukan *thawing* dengan air ledeng atau air sumur dengan suhu 28°C. Air ledeng memiliki suhu berkisar 25-30°C, alasan penggunaan air ledeng sebagai media *thawing* karena lebih efektif. Inseminator juga melakukan *thawing* menggunakan air sumur yang di masukkan dalam botol dengan lama waktu 10-20 menit, sedangkan seharusnya menurut SNI yaitu *thawing* menggunakan suhu 37°C dengan waktu 30 detik. Alasan inseminator melakukan *thawing* di lapangan menggunakan suhu 28°C karena lebih efektif dan efisien serta inseminator terkadang tidak bisa membawa atau menyediakan air dengan suhu 37°C.

Metode *thawing* yang dikembangkan beragam. Deka dan Rao (1987) menyatakan bahwa suhu *thawing*

di atas 37°C akan meningkat daya hidup spermatozoa, tetapi bila melebihi batas waktu kritis akan bersifat fatal pada sel spermatozoa. Persentase motilitas tertinggi diperoleh pada suhu 37°C (Pace *et al.*, 1981). Suhu yang tinggi dalam media *thawing* akan menyebabkan proses metabolisme spermatozoa meninggi sehingga memerlukan energi yang tinggi pula (Soepriondho, 1985).

Berdasarkan latar belakang di atas maka dilakukan penelitian kualitas spermatozoa *post thawing* dari semen beku sapi Brangus menggunakan suhu *thawing* yang berbeda. Hasil penelitian ini diharapkan diperoleh suhu *thawing* yang menghasilkan kualitas spermatozoa sapi Brangus terbaik untuk IB.

Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh berbagai suhu *thawing* terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi Brangus di Balai Inseminasi Buatan Daerah Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat.
2. Pada suhu *thawing* berapakah yang menghasilkan kualitas spermatozoa sapi Brangus yang terbaik di Balai Inseminasi Buatan Daerah Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Tujuan dan Kegunaan Penelitian Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh berbagai suhu *thawing* terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi Brangus di Balai Inseminasi Buatan Daerah Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat.
2. Mengetahui suhu *thawing* yang menghasilkan kualitas spermatozoa sapi Brangus yang terbaik di Balai Inseminasi Buatan Daerah Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Kegunaan Penelitian

1. Memberikan informasi terkait suhu *thawing* yang baik terhadap kualitas spermatozoa semen beku sapi Brangus di Balai Inseminasi Buatan Daerah Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat sehingga dapat dijadikan acuan untuk penelitian selanjutnya.
2. Memberikan kontribusi dalam pengembangan dan keberhasilan dalam proses Inseminasi Buatan (IB).

MATERI DAN METODE

PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 25 Agustus 2022 sampai 25 September 2022, di Balai Inseminasi Buatan (BIB) Daerah Banyumulek, Kabupaten Lombok Barat, Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku sapi Brangus dan N2 cair.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cover glass*, *glass obyek*, tabung raksi, straw, mikropipet, *mini tube*, container N2 cair, rak tabung, *waterbath*, mikroskop, dan layar monitor LCD, *beakerglass*

Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah semen beku sapi Brangus sebanyak 25 straw yang diperoleh dari Balai Inseminasi Buatan (BIB) Daerah Banyumulek, Kabupaten Lombok Barat, Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan 5 perlakuan suhu *thawing* yang berbeda yaitu 33°C, 35°C, 37°C, 39°C, 41°C selama waktu *thawing* masing-masing 15 detik, dengan 5 kali ulangan.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan

5 perlakuan yaitu P1 dengan suhu thawing 33°C. P2 dengan suhu thawing 35°C, P3 dengan suhu thawing 37°C, P4 dengan Suhu 39°C, P5 dengan suhu 41°C. Masing-masing menggunakan lama waktu *thawing* 15 detik dengan pengulangan dilakukan sebanyak lima kali.

Proses Penelitian

a. Proses *Thawing*

Mempersiapkan semua alat dan bahan yang akan digunakan, straw diambil dari goblet dalam container yang berisi N2 cair, kemudian straw dimasukkan kedalam *waterbath* dengan suhu *thawing* sesuai dengan perlakuan yang diamati yaitu: 33°C P1, 35°C P2, 37°C P3, 39°C P4, 41°C P5, dengan masing-masing perlakuan selama 15 detik. Straw yang sudah dithawing dikeringkan dengan tissue kemudian memotong ujung straw sampai cairan dalam straw keluar lalu diteteskan di atas gelas objek. Selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop untuk mengetahui kualitas spermatozoa seperti motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Hal ini dilakukan untuk semua perlakuan secara berurutan (Susilowati *et al.*, 2010).

b. Pembuatan pewarna eosin-nigrosin

1. Menimbang eosin-nigrosin dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 2,5 g sodium citrate, 0,1 g eosin dan 0,5 g nigrosin.
2. Memasukkan semua bahan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan 10 ml aquades.
3. Semua bahan dihomogenkan menggunakan *magnetic*

stirrer.

4. Larutan diangkat dan dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring.
- c. Pemeriksaan Motilitas Progresif Spermatozoa Post *Thawing*

Pemeriksaan motilitas spermatozoa post *thawing*, memotong ujung straw kemudian teteskan semen kedalam gelas objek tutup dengan cover glass. Periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali, penilaian dilakukan dengan menghitung persentase spermatozoa yang pergerakannya progresif maju ke depan dibandingkan dengan yang tidak bergerak, sebanyak ± 100 spermatozoa dengan satuan persen (Ducha, 2018). Motilitas spermatozoa post *thawing* yang baik adalah di atas 40%. Nilai antara 25-40% masih dipertimbangkan, tetapi nilai di bawah 25% semen beku tidak dapat digunakan (Susilowati *et al.*, 2010).

Penilaian dapat diketahui melalui pengamatan visual dimana pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan merupakan gerakan terbaik. Gerakan melingkar atau gerakan mundur sering merupakan tanda-tanda cold shock, gerakan berayun atau berputar-putar ditempat sering terlihat pada semen tua dan apabila spermatozoa banyak berhenti bergerak maka dianggap mati (Sulistiawati, 2015).

d. Pemeriksaan viabilitas

Viabilitas spermatozoa dapat dihitung dengan cara meneteskan satu tetes semen ke atas gelas objek lalu ditambahkan satu tetes larutan eosin kemudian kedua larutan dihomogenkan, gelas objek kedua diambil lalu disinggungkan ujungnya pada campuran eosin dan semen sapi Brangus lalu preparat ulas dibuat pada glass objek ketiga kemudian dikeringkan selama 5-10 menit. Selanjutnya diperiksa dibawah

mikroskop dengan pembesar 10 × 40. Spermatozoa yang hidup tidak akan menyerap larutan eosin sehingga berwarna bening sedangkan spermatozoa yang mati akan menyerap larutan eosin sehingga kepalanya berwarna merah (Rumende, 2017).

Presentase spermatozoa hidup dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$v = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang hidup}}{\text{Total spermatozoa yang di amati}} \times 100\%$$

e. Pemeriksaan Abnormalitas

Abnormalitas spermatozoa diperiksa dengan menggunakan preparat apus yang sudah di buat untuk pemeriksaan viabilitas. Pengamatan abnormalitas dilihat dari spermatozoa yang mempunyai bentuk abnormal seperti tidak ada kepala spermatozoa, bentuk kepala yang besar, ekor putus dan ekor melingkar (Hidayat, 2018).

Variabel yang Diamati

1. Variabel tergantung meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa
2. Variabel bebas yaitu semen beku sapi brangus

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA (*Anilisa Of Varians*). Selanjutnya hasil analisis diuji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN
Pemeriksaan Kualitas Spermatozoa

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) adalah

ketersediaan semen beku. Semen beku yang akan digunakan untuk IB biasanya disimpan dalam container N2 cair yang mempunyai suhu -196°C. Oleh karena itu harus dilakukan thawing sebelum dilaksanakan IB. Suhu dan lama thawing mempunyai pengaruh besar terhadap kualitas spermatozoa. Untuk mengetahui kualitas spermatozoa salah satunya dengan melakukan uji mikroskopis yang meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Data motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa setelah thawing disajikan pada (Tabel 1) berikut :

Tabel 1. Hasil pemeriksaan spermatozoa semen beku dengan berbagai suhu thawing.

Variabel	Perlakuan				
	P1(33°C)	P2(35°C)	P3(37°C)	P4(39°C)	P5(41°C)
Motilitas	37,00 ± 4,00 ^{ab}	38,00 ± 5,10 ^{abc}	44,00 ± 3,73 ^c	43,00 ± 5,10 ^{bc}	36,00 ± 3,73 ^a
Viabilitas	31,20 ± 19,28 ^a	26,40 ± 3,13 ^a	62,40 ± 8,19 ^b	52,40 ± 5,53 ^b	24,00 ± 6,02 ^a
Abnormalitas	17,20 ± 2,31 ^b	17,20 ± 2,03 ^b	11,40 ± 2,64 ^a	11,60 ± 1,49 ^a	18,00 ± 1,89 ^b

Keterangan: Notasi yang berbeda ^{a-c} pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang berbeda nyata (P>0,05).

Motilitas Spermatozoa

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa semen beku yang digunakan memenuhi syarat untuk disimpan dan diinseminasikan. sesuai dengan Standar Nasioanal Indonesia (2017), yang menyatakan bahwa semen yang siap didistribusikan harus memiliki nilai motilitas sebesar 40%. Motilitas spermatozoa setelah thawing minimal 40 % jika kurang dari 40% maka semen beku tersebut tidak layak diinseminasikan. Perlakuan metode *thawing* pada semen beku sapi Brangus berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa (P<0,05). Evaluasi motilitas spermatozoa *post thawing* adalah salah satu parameter yang banyak digunakan untuk menentukan kualitas semen sapi yang akan digunakan untuk inseminasi. Syarat mininal motilitas semen *post thawing* agar semen dapat

dipergunakan dalam inseminasi buatan adalah 40% (Garner dan Hafez, 2000).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada perlakuan P3 dan P4 dengan suhu 37°C dan 39°C selama 15 detik memeperlihatkan persentase motilitas yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan pada perlakuan P1, P2, dan P5 dengan suhu 33°C, 35°C, dan 41°C selama 15 detik. Perlakuan P3 dan P4 yaitu suhu 37°C dan 39°C tidak ada perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Fachroerozi, 2014 yang menyatakan, persentase motilitas tertinggi diperoleh pada suhu *thawing* 37°C. Diduga pada kisaran suhu tersebut metabolisme spermatozoa berjalan sempurna karna sesuai dengan suhu fisiologis yang normal pada sapi. Pada suhu fisiologis, aktivitas reaksi enzimatik yang berlangsung selama metabolisme sel berlangsung optimal. Proses pembentukan dan pemanfaatan sumber energi kimiawi spermatozoa diantaranya digunakan untuk energi gerak berlangsung dengan baik. Hal ini termanifestasi pada motilitas spermatozoa. Menurut Einarsson (1992) proses *thawing* dapat mempengaruhi stabilitas dan fungsi-fungsi hidup membran sel spermatozoa.

Rataan motilitas spermatozoa pada P1 dan P2 mengalami penurunan, hal ini disebabkan karena perlakuan suhu *thawing* pada P1 dan P2 dengan suhu yang lebih rendah yaitu 33°C dan 35°C selama 15 detik. Pada suhu rendah pengeluaran krioprotektan sempurna tetapi metabolisme berjalan tidak optimal sehingga motilitas spermatozoa

yang dihasilkan mengalami penurunan. Perlakuan P5 dengan rataan motilitas spermatozoa juga mengalami penurunan, hal ini disebabkan suhu yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu 41°C selama 15 detik. Suhu *thawing* yang tinggi berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa karena pada proses *thawing* metabolisme berjalan dengan optimal tetapi proses pengeluaran krioprotektan tidak berlangsung sempurna dapat mengakibatkan keracunan bagi spermatozoa dan kerusakan spermatozoa sehingga menyebabkan penurunan motilitas spermatozoa.

Menurut Soepriondho (1985), suhu *thawing* yang tinggi dalam media *thawing* akan menyebabkan proses metabolisme spermatozoa meninggi sehingga memerlukan energi yang tinggi pula. Pada kondisi demikian menyebabkan spermatozoa akan cepat kehilangan energi sehingga berakibat kematian pada spermatozoa. Selain itu kurang tersedianya bahan makanan untuk kebutuhan hidup spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1985) bahwa bahan makanan yang cukup untuk spermatozoa sangat berguna mempertahankan laju penurunan motilitas spermatozoa.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa perlakuan pada suhu *thawing* 33°C secara signifikan berbeda nyata dengan suhu 37°C namun tidak berbeda nyata dengan suhu *thawing* 35°C dan 41°C. Hal ini disebabkan bahwa proses pencairan sebenarnya sudah dimulai semenjak dikeluarkan dari kontainer. Pengeluaran mini straw dari kontainer ini secara otomatis akan meningkatkan suhu (*thawing* alami) dari suhu beku menuju suhu ruang. Peningkatan motilitas secara signifikan terjadi pada suhu 37°C, sebagaimana disebutkan bahwa optimal motilitas oleh karena pengaruh suhu terjadi pada temperatur 37°C Peters and Ball (1995).

Pada suhu 33°C, 35°C, dan 41°C terjadi aktifitas metabolisme yang belum optimal sehingga akan menyebabkan pergerakan idividunya masih relatif terbatas. Pada suhu *thawing* 37°C dan 39°C pergerakan dicapai optimal oleh karena energi yang dihasilkan oleh metabolisme juga secara maksimal. *Thawing* pada air yang bersuhu 37°C - 39°C akan menghasilkan motilitas spermatozoa yang lebih baik dibanding suhu *thawing* yang lebih rendah. Proses metabolisme yang meningkat pada suhu 37°C tidak akan mengurangi substrat energi spermatozoa sehingga motilitas spermatozoa akan tinggi karena tidak kekurangan energi (Zenichiro *et al.* 2002).

Thawing dengan air yang bersuhu 37°C dapat membantu semen untuk melewati masa kritisnya dengan cepat karena suhu tersebut sama dengan temperatur tubuh ternak Laing (1970 dan Amin, 1999). Persentase motilitas spermatozoa tertinggi pada spermatozoa semen beku sapi Brangus yang di *thawing* pada suhu 37°C dan 39°C selama 15 detik (P3 dan P4) sebesar 44,0 %, dan 43,0 %. Hal ini disebabkan pada suhu dan waktu tersebut spermatozoa telah mencapai kondisi yang optimum. Persentase motilitas (P3 dan P4) tergolong sudah memenuhi persyaratan minimal yang digunakan dalam program IB yaitu harus memiliki persentase spermatozoa motil minimum 40 % Hafez (2008). Persentase motilitas terendah pada semen beku sapi Brangus yang di-*thawing* pada suhu 41°C (P5) sebesar 36,0 %. Rendahnya persentase motilitas P5 diduga disebabkan karena spermatozoa mulai mengalami

penurunan energi yang tersimpan untuk melakukan aktivitas motilitas (Pineda, 2003).

Sebagaimana dijelaskan oleh Ax *et al.* (2008) bahwa motilitas dipengaruhi oleh penyimpanan energi (ATP), umur sperma, maturasi sperma, agen aktif, biofisik, dan fisiologik, cairan suspensi dan adanya rangsangan atau hambatan. Penurunan motilitas ini diduga disebabkan proses metabolisme yang menyebabkan perubahan pada sifat-sifat fisiologis sehingga terjadinya penurunan persediaan energi pada spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat Kusumawati *et al.* (2015) bahwa selama proses metabolisme spermatozoa berlangsung menyebabkan persediaan energi (yang diperoleh dari penambahan larutan pengencer) semakin lama akan semakin berkurang yang mengakibatkan motilitas spermatozoa semakin lama akan semakin menurun.

Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas adalah daya hidup spermatozoa sebagai indikator kualitas spermatozoa Sukmawati *et al* (2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu *thawing* nyata mempengaruhi persentase viabilitas spermatozoa semen beku sapi Brangus ($P < 0,05$). *Thawing* yang dilakukan pada perlakuan P3, dan P4 memperlihatkan persentase viabilitas yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan pada perlakuan P1, P2, dan P4. Angka persentase pengamatan viabilitas terbaik pada perlakuan P3 dan P4 menghasilkan nilai pengamatan viabilitas yang tinggi yaitu 62,40% dan 52,40%. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Kusumawati, (2016) yang menyatakan persentase viabilitas tertinggi diperoleh pada suhu *thawing* 37°C dengan kisaran 60-80%.

Spermatozoa yang memiliki persentase hidup yang tinggi menandakan bahwa membran plasma masih utuh secara fisik, sehingga organel sel spermatozoa

akan terlindungi, kebutuhan zat-zat makan dan ion-ion untuk proses metabolisme tersedia. Metabolisme sel akan berlangsung baik jika membran plasma sel berada dalam keadaan yang utuh, sehingga mampu dengan baik mengatur lalu lintas substrat dan lektrolit masuk dan keluar dari sel.

Persentase hidup spermatozoa ditentukan oleh membrane plasma yang utuh. Membran plasma spermatozoa berfungsi untuk melindungi organel spermatozoa dan transport elektrolit untuk metabolisme spermatozoa Salmah, (2014). Membran plasma yang rusak dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dan metabolisme spermatozoa sehingga menyebabkan spermatozoa mati (Butarbutar, 2009). Metabolisme spermatozoa dapat mempengaruhi daya hidup spermatozoa karena pada spermatozoa yang memiliki aktivitas metabolisme tinggi mengasilkan asam laktat yang tinggi yang dapat membunuh spermatozoa Varasofiari *et al* (2013). Membrane plasma yang utuh memiliki korelasi dengan motilitas spermatozoa, semakin banyak membran plasma spermatozoa yang utuh maka semakin banyak spermatozoa yang hidup (Azzahra *et al.*, 2016).

Darnel *et al* (1990) menyatakan bahwa perubahan suhu yang tidak sesuai secara ekstraseluler, maka akan menyebabkan permiabilitas fosfolipid hidrofilik rusak dan fluiditas membran terganggu sehingga terjadi kematian spermatozoa. Menurut Chandler *et al* (1984) meningkatnya kecepatan perubahan pada saat *thawing* umumnya menghasilkan lebih banyak spermatozoa yang hidup.

Hal ini dapat dicapai apabila melakukan *thawing* dengan temperature air *thawing* yang cukup tinggi. Kecepatan perubahan selama *thawing* akan mengurangi tekanan terhadap spermatozoa karena spermatozoa melewati masa kritis (fasa transisi) dengan cepat sehingga spermatozoa yang hidup dan normal menjadi lebih banyak dan akibatnya angka konsepsi menjadi lebih baik.

Hasil penelitian Hidayatin (2002) menyatakan, bahwa dibutuhkan 50% spermatozoa yang hidup dan motil untuk dipakai dalam IB. Perlakuan P3 dan P4 menunjukkan bahwa persentase viabilitas dalam kisaran normal, yaitu $62,40 \pm 8,19\%$ dan $52,40 \pm 5,53\%$. Woli dkk. (2017) juga mengemukakan bahwa viabilitas merupakan tolak ukur paling penting untuk memperkirakan jangka waktu kehidupan spermatozoa ketika berada di dalam saluran reproduksi betina. Namun demikian Ma dkk.(2019) menjelaskan bahwa nilai viabilitas yang lebih tinggi dari pada nilai motilitas memberikan pengaruh nyata karena jumlah spermatozoa hidup mencerminkan spermatozoa motil progresif.

Abnormalitas Spermatozoa

Hasil penelitian abnormalitas *post thawing* spermatozoa semen beku sapi Brangus pada suhu berbeda didapatkan P3 dan P4 berbeda nyata dengan P1, P2, dan P5. Namun secara keseluruhan persentase abnormalitas spermatozoa dari kelima perlakuan memperoleh angka persentase abnormalitas semen beku dibawah 20%. Sesuai dengan SNI semen beku nasional (2005) yang merekomendasikan abnormalitas dibawah 20%, masih layak digunakan untuk IB.

Abnormalitas tertinggi dalam penelitian ini menunjukkan rata-rata 11,40% sehingga masih dapat dipergunakan untuk keperluan inseminasi buatan. Standar Nasional Indonesia (SNI) mensyaratkan bahwa semen sapi memiliki morfologi abnormalitas baik primer maupun skunder

< 20% (BSN, 2005). Pernyataan serupa juga dinyatakan oleh Balls and Peters (2004) di mana seekor pejantan tidak akan memiliki fertilitas yang tinggi apabila ditemukan spermatozoa abnormalitas sebesar >17%. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Makhzoomi dkk (2007) tentang abnormalitas juga menyebutkan bahwa tingkat abnormalitas primer spermatozoa <10% dapat berpengaruh terhadap fertilitas.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Suhu *thawing* yang berbeda memberikan pengaruh terhadap kualitas spermatozoa kecuali pada abnormalitas spermatozoa.
2. Suhu *thawing* yang memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas semen beku sapi Brangus adalah suhu 37°C selama waktu 15 detik.

Saran

1. Penelitian selanjutnya dapat menambahkan jenis sapi, karena seperti diketahui bahwa NTB memiliki beberapa jenis sapi atau dapat juga menggunakan ternak kecil seperti kambing dan domba.
2. Kepada pihak-pihak yang ingin melakukan penelitian yang serupa, diharapkan melakukan pengembangan jenis pemeriksaan sperma seperti vitalitas, morfologi, dan jumlah sperma.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2005. *Standard Nasional Indonesia Semen Beku Sapi*. Badan Standard Nasional ICS 65.020.30.
- Adinata, Y. S. dan Aryogi., 2017. *Identifikasi Fenotipik Sapi Peranakan Angus di Kabupaten Sragen.Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 53-61. <http://dx.doi.org/10/14334/pros.Semnas>.
- Arifiantini, R. I., dan B. Purwantara. 2010. *Motility and viability of friensian Holstein spermatozoa in three different extender stored at 5°C*. Jurnal of the Indonesia Tropical Animal Agriculture. Vol. 35 No. 4 Desember 2010.
- Arifiantini, M.I. 2004. *Proses Produksi Semen Beku Kerbau dengan sistem minitub*. Institut Pertanian Bogor.
- Arifiantini , R. I. dan F. Ferdian. 2006 *Tinjauan aspek morfologi dan morfometri spermatozoa yang dikoleksi dengan teknik masase*. J Vet. 7:83-91.
- Ax, R. L., Dally, M. R., Didion, B. A., Lenz, R. W., Love, C. C., Varner, D. D., ... Bellin, M. E. (2016). *Artificial Insemination.In Reproduction in Farm Animals (pp.376–389)*. <http://doi.org/10.1002/9781119265306.ch26>.
- Ax, R.L., M.R. Dally, B.A. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez, & M.E. Bellin. 2008. *Artificial Ainssemination*. In: *Reproduction In Farm Animals*. E.S.E Hafez and B. Hafez. (Edit). 7th ed. Blackwell Publishing. Australia.

- A Yoeti.Oka, 2010. *Dasar-dasar Pengertian Hospitality Pariwisata*, PT.Alumni,Bandung.
- Azzahra, F. Y., E. T. Setiatin, dan D. Samsudewa. 2016. *Evaluasi motilitas dan pesentase hidup semen segar sapi PO Kebumen pejantan muda*. Jurnal Sains Peternakan Indonesia. (2): 99-107.
- Barth, A.D. and R.J. Oko. 1989. *Abnormalitas Morpphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa (US): IowaState University Press. Pp 8-18.
- Bintara, S. 2011. *Rasio X:Y dan Kualitas Sperma pada Kambing Kacang dan Peranakan Ettawa*. Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. Sains Peternakan, 9(2):65-71.
- Blakely, J & D.H Bade. 1991. *Ilmu Peternakan edisi ke empat*. Terjemahan Bambang Sri Hardono. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Brezlaff, K. 1995. *Goat Breeding and infertility*.p. 169-207. In. J. Meredith (eds). *Animal Breeding and infertility*. Blackweel Science Ltd. Victoria, Australia.
- Butarbutar, E. 2009. *Efektifitas Frekuensi Exercise Terhadap Peningkatan Kualitas Semen Sapi Simental [Skripsi]*. Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara. Hal 23-50.
- Darnel and Depison, 1990. *Applied Animal Reproduction*. 2th Edition. Reston Pubblising Company Inc. A Prancitce Hall Company. Reston. Virginia.
- Deka, B.C. and A.R. Rao. 1987. *Effect of extenders and thawing methods on post thawing preservation of goat semen*. Indin Vet.J. 64;591-594.
- Delgado J. V, C. Barba, M.E. Camacho,FTPS-Sereno, A. Martinez, JL. Vege-Pla, 2001. *Livestock characterization in Spain*. Anim Genet Resour Information, 29:-18.
- 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.
- Djanuar.1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Dejarnette, J.M., D.A. Barnes., and C.E. Marshall. 2005. *Effects of Pre- and Post Thawing Thermal Insults on Viability Characteristics of Cryoprotectant Preserved Bovine Semen*. Theriogenology. 53 : 1225-1238.
- Ducha N, 2018. *The Test About Blood Cerum Capabilities in Maintaing the Quality of Bull Spermatozoa During Storage in CEP Diluent at Refrigerator Temperature*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 130.
- Einarsson, S. 1992. *Concluding Remarks*. In: *Influence thawing method on motility, and morphology of frozenstallion spermatozoa*. Bor K, B Colenbrander, A Fazelli, J Pallevliet and L Malmgren (eds.) Theriogenology VI. 48th. 1997.

- Pp.531-536.
- Evans, G. And W.M.C. Maxwell. 1987. *Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats*. London : *Buttherworths*.
- Fauzan, M., M. Hartono, dan P.E. Santosa. 2014. *Pengaruh suhu dan lama thawing di dataran rendah terhadap kualitas semen beku sapi Brahman*. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2(3):1-7.
- Feradis. 2010. *Reproduksi Ternak*. Alfabeta. Bandung.
- Fitriani, Eriani, K., dan Sari, W. 2010. *The Effect of Cigarettes smoke Exposed Causes Fertiliti of Male Mice (Mus Musculus)*. *Jurnal Natural*. 10.(2): 12-17.
- Frandsen, R.D. 1996. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In: *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed.
- E.S.E. Hafez and B. Hafez (eds). Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Gazali M. dan S. N. Tambing, 2002. *Ulasan kriopreservasi sel spermatozoa*. *Hayati*, 9. (1):27-32.
- Guntoro. S. 2002. *Membudidayakan Sapi Bali Potong*. Kanisius. Yogyakarta
- Kidwell, J. P. A. 1965. Study of The relation between body conformation and carcass quality. In fat calves. *J Anim. Sci*. 14 : 235.
- Hafez, E.S. E. 2000. Semen Evaluation dalam E.S.E Hafez (ed). *Reproduction In Farm Animal*. Lea and Febiger. Philadelphia. 144-164.
- Hafez, E. S. E. 2008. *Anatomy of female reproduction*. Ed pp. 29-55.
- Hafez, ESE 2008 *Preservation and Cryopreservation of Gamet and Embryos in Reproduction Farm Animal* ed by ESE Hafez 7th edition Blackwell Publishing: 431-442.
- Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction in farm animals*. 6th Ed. Philadelphia: Lea & Febiger. Part 4: Reproductive Failure.
- Hardijanto., S. Susilowati., T. Hernawati., T. Sardjito., dan T.W. Suprayogi. 2010. *Buku Ajar Inseminasi Buatan*. Airlangga Universitas Press. Surabaya.
- Hardjosubroto, W. 1994. *Aplikasi Pemuliaan perkebangbiakan Ternak di Lapangan*. P.T. Gramedia Widiasarana Indonesia, Jakarta.
- Hartati. Mariyono dan D.B. Wibowo. 2005. *Respons pertumbuhan sapi peranakan ongole dan silangan pada kondisi pakan berbasis low external input*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Hidayat N, Dasrul, Hamdan, Husnurrizal, Akmal M, dan Lubis TM, 2018. *Integritas Membran Plasma Spermatozoa Sapi Aceh Pasca Pembekuan dalam Media Sitrat Kuning Telur dengan Waktu Ekuilibrasi yang Berbeda*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(1): 110- 116.

- Hunter, R. H. F. 1995. *Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Ikhsan Putra, Syafrizal, dan Devi Dianti. 2019. *Pengaruh Frekuensi Pengambilan Straw Semen Beku Terhadap Motilitas Spermatozoa dan Angka Kebuntingan Inseminasi Buatan Sapi Turunan Simental*. Dinas Pertanian Kabupaten Tanah Datar; Fakultas Pertanian Universitas Tamansiswa Padang.
- Indriani, Susilawati T, dan Wayuningsih S, 2013. *Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limosin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket*. *Jurnal Veteriner*, 14(13): 379-386.
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada sapi dan kerbau*. Yogyakarta; Gadjah Mada University Press. 12.
- Isnaini, N. dan W. A. Fazrien. 2020. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Kerbau*. Malang: UB Press.
- Kusumawati, E.D., Leondro, H., Susilawati, T., & Isnaini, N. 2015. *Spermatozoa Viability of filial ettawa goat after sexing process*. In Proceeding International Seminar Improving Tropical Animal Production For Food Security. Unhalu Press. Kendari, 3-5 Noveber 2015. pp 127-130.
- Kusumawati E. D., H. Leondro, A. T. N. krisnaningsih, T. Susilawati, N. Isnaini and R. Widhad, 2016. *Kualitas spermatozoa semen beku sapi simental dengan suhu thawing yang berbeda*. *Jurnal ilmu peternakan*. Vol 26(3): 38-41.
- Kreplin, C. 2002. *Breeding Soundnees Evaluation of Bulls*. //http.www.fao.org Tanggal Akses : 10 Maret 2022.
- Laing, J.A., Melrose, D.R., Dawson, D.R., 1970. *Fertility and Infertility in Domestic Animals*, 3th ed. Baelliere Tindall and Cassel, London.
- Lanari MR, H. Taddeo, E. Domingo, MP. Centeno, L and Gallo, 2003. *Phenotypic differentiation of exterior traits in local Criollo goat population (Argentina)*. *Arch Tierz Dummerstorf*. 46:347-356.
- Ma MBL, Foeh MDFK, dan Gaina CD, 2019. *Pengaruh Pengencer Komersial terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Semen Babi Landrace yang Disimpan pada Temperatur Berbeda*. *Jurnal Veteriner Nusantara*: 2(2): 60-71.
- Maxwell, W.M.C. and S. Salamon. 1996. *Recent Progress in the preservation of ram semen*. *Anim. Reprod. Sci*. 42:55– 65.
- Metta M. S. Kanginakudru, N. Gudiseva, and J Nagaraja, 2004. *Genetic characterization of the indian cattle breeds, Ongole and Deoni (Bos indicus), using microsatellite markers – a preliminary study*. *BMC Genet*. 5-16.
- Noviana, M. J. S. 2016. *Uji Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali Jantan dengan Menggunakan Larutan Clorida (NaCl) yang Berbeda Level*. *Jurnal of animal Science*.

- 1(2) :28-29.
- Nuryadi dan Wahjuningsih, S. 2011. *Penampilan Reproduksi Sapi Pranakan Ongole dan Pranakan Limosin di Kabupaten Malang*. J. Ternak Troopika, 12 (1): 76-81.
- Oka IGL. 2010. *Conservation and genetic improvement of Bali Cattle*. Proc. Conservation And Improvement of World Indigenous Cattle. 110-117.
- Pace, M.M,J.J. Sullivan, F.I. Elliot, E.F. Graham, and G.H Coulter. 1981. *Effect of thawing temperature, number of spermatozoa and spermatozoal quality o fertility of bovine spermatozoa fackaged in 0,5ml french straw*. J. Anim. Sci. 53 (3) : 693-701.
- Pane, I. 1991. *Produktivitas dan Breeding Sapi Bali*. Proceeding Seminar Nasional Sapi Bali. Ujung Pandang, 2-3 September 1991. Ujung Pandang: Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, 50-69.
- Payne, W. J. A dan Wiliamson, G. 1993. *Pengantar Peternakan di Daerah Tropis*. Terjemahan: Darmajda D. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Peters, A.R. and P.J.H. Ball, 1995. *Reproduction in Cattle*. 2nd ed. Blackwell Science Ltd.
- Pineda, MH. 2003. *Male Reproduction System*. In Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5th Edition. Edited by Pineda MH. And Dooley MP. Ames Blackwell Publishing.
- Prastowo, S., Widi, T., & Widyas, N. (2017). *population using data from published studies*. IOP Conference Series: Preliminary analysis on hybrid vigor in Indonesian indigenous and crossbred cattle Materials Science and Engineering, 193(1), 012028. <http://doi.org/10.1088/1757-899X/193/1/012028>.
- Pratama JWA, Sari DAK, dan Sigit M, 2018. *Pengaruh Beberapa Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Simental*. Jurnal Ilmiah Fillia Cendikia: 3(2): 39-45.
- Pratiwi, W.C., L. Affandhy., dan D. Ratnawati. 2006. *Pengaruh Lama Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin dan Brahman*. Anim. Prod. Vol. 11 : 48-52.
- Purwantara B, Noor RR, Andersson G, and Rodriguez-Martinez H. 2012. *Banteng and Bali Cattle in Indonesia: Status and Forecasts*. Reprod Dom Anim 47 (Suppl. 1), 2–6.
- Putranti, O. D. 2016. *Disertasi. Pengaruh Penambahan Kafein pada Sperma Kauda Epididimis Sapi Bali Pasca Thawing Terhadap Fertilitas Secara Fertilisasi In Vitro*. Universitas Padjadjaran.
- Putri, H. P., Sumartono., Humaidah, N. 2019. *Pengaruh Berbagai Suhu Thawing Terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Sapi FH (Friesian Holstein)*. Jurnal Rekastawa Peternakan. Vol.2(1):95-98.
- Ramliagam. 2004. *BIB Lembang Pabrik*

- Sapi Unggul, Suplemen Pikiran Rakyat Khusus IPTEK.*
Cakrawala:Lembang.
- Riva J, R Rizzi, S Marelli. LG Cavalchini, 2004. *Body measurements in Bargamasca sheep.* Small Rumin Res. 55:221-227.
- Rumende RRH, Kalim H, Widodo MA, dan Djati MS, 2018. *Peningkatan Kualitas Spermatozoa dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll Melalui Pemberian Fosfolipid.* Jurnal Kedokteran Brawijaya: 23(2): 71-81.
- Salmah, N. 2014. *Motilitas, Presentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Pengenceran Andromed dan Tris Kuning* [Skripsi]. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makasar. Hal 37-38.
- 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 : 14-19.
- Salisbury, G.H. and N.L.V. Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Sapi (Physiology and Artificial Insemination of Cattle).* Diterjemahkan Oleh R. Djanuar. Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Sientje. 2003. *Stres Panas Pada Sapi Perah Laktasi.* IPB. Bogor.
- Situmorang, P. 2002. *The effects of Inclusion of Exogenous Phospholipid In Trisdiluent Containing A Different Level of egg Yolk on the Viability of bull Spermatozoa.* pusat penelitian dan pengembangan peternakan dan Badan Penelitian dan pengembangan pertanian, Bogor 7 (3) : 131-187.
- Standar Nasional Indonesia. 2017. *Semen Beku Bagian 1 (Sapi).* 4869-1:2017 Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. *Daya Tahan Spermatozoa Terhadap Proses Pembekuan Pada Berbagai Jenis Pejantan Unggul.* Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. JITV, 19(3):168-175.
- Sumeidiana, I., S. Wuwuh., dan E. Mawarti. 2007. *Volume Semen dan Konsentrasi Semen Sapi Simmental, Limousin dan Brahman di Balai Inseminasi Buatan Unggaran.* UNDIP: Semarang.
- Susilawati, T. (2013). *pedoman inseminasi buatan pada ternak.* Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Susilawati T, 2011. *Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi peranakan Ongole.* Jurnal Ternak Tropika. 12 (02) : 15-12.
- Susilowati, S., Hardijanto, T.W. SuprayogiSuprayogi, T. Sarjito, dandan T. Hermawati. 2010. *Petunjuk Praktikum Inseminasi Buatan.* Airlangga University Press. Surabaya. Hal 5-37.
- Soepriondho, Y. 1985 . *Pengaruh Waktu*

- dan Suhu Thawing Semen Beku terhadap Angka Konsepsi pada Ternak Kerbau.* Tesis. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak.* Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M. R. (1993a). *Fisiologi Reproduksi pada Ternak.* Bandung: Angkasa.
- Utomo, S dan Sumaryati. 2000. *Pengaruh suhu penyimpanan 5°C terhadap sperma Kambing dan Domba dengan pengencer susu skim.* Buletin pertanian dan peternakan 8 (2):70-79.
- Watson, P. F. 1996. *Cooling of Spermatozoa and Freezing Capacity.* *Reprod. Dom. Anim.* 31 : 135 – 140.
- Widyas, N., Nugroho, T., & Prastowo, S. (2017). *Rooms for genetic improvement in Indonesian Bali cattle population.* IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 193(1), 012037
<http://doi.org/10.1088/1757-899X/193/1/012037>.
- Woli SL, Kusumawati ED, dan Krisnaningsih ATN, 2017. *Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Ayam Kampung pada Suhu 50°C Menggunakan Pengencer dan Lama Simpan yang Berbeda.* *Jurnal Sains Peternakan:* 5(2): 138-144.
- Yulnawati, Herdis. 2009. *Kualitas semen cair domba Garut pada penambahan sukrosa dalam pengenceran Tris kuning telur telur.* *Jur II Ter Vet* 14 (1):45-49.
- Yulnawati, Afiati F, Rizal M, Arifiantini RI. 2013 *Gambaran Abnormalitas Spermatozoa Sapi Subtropis di Lingkungan Tropis.* Forum Komunikasi dan Seminar Nasional Peternakan. Puslit Bioteknologi LIPI, Cibinong.
- Zenichiro, K., Herliantien, dan Sarastina. 2002. *Teknologi Prosesing Semen Beku pada Sapi.* JICA-Balai Inseminasi Buatan Singosari. Malang.