

**KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN DENGAN PENAMBAHAN
VITAMIN C DAN E PADA BAHAN PENGECER
SITRAT KUNING TELUR**

SKRIPSI

Oleh

**AGUS NURWAHID
1914141019**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

FROZEN SEMEN QUALITY OF BRAHMAN CATTLE WITH THE ADDITION OF VITAMIN C AND E IN DILUENT MATERIAL EGG YOLK CITRATE

By

Agus Nurwahid

This study aims to determine the effect of the addition of vitamins C and E with egg yolk citrate diluent on Brahman cattle semen. This research was conducted from January 23 to February 03, 2023 at the Regional Technical Service Unit Laboratory of the Poncowati Artificial Insemination Center, Terbanggi Besar District, Central Lampung Regency, Lampung Province. Semen used was fresh semen from 4-year-old Brahman cattle. This study used a completely randomized design (CRD) with four treatments namely P0: egg yolk citrate diluent as control, P1: egg yolk citrate diluent + vitamin C 0.2 g/100 ml, P2: egg yolk citrate diluent + vitamin E 0.41 g/100 ml, P3: egg yolk citrate diluent + vitamin C 0.2 g/100 ml + vitamin E 0.41 g/100 ml. Each treatment was repeated six times. Data on fresh semen quality and after equilibration of each treatment were analyzed descriptively, while post thawing sperm quality was analyzed statistically using Analysis of Variance at the 5% level and continued using the smallest real difference test (BNT). The results of this study can be concluded that the addition of vitamin C, vitamin E, and a combination of both in egg yolk citrate diluent had a very significant effect ($P < 0.01$) on post thawing sperm motility in frozen semen of Brahman cattle and no significant effect ($P > 0.05$) on the percentage of live spermatozoa and spermatozoa abnormalities; The use of antioxidant vitamin C 0.2 g/100 ml egg yolk citrate diluent had the best effect on spermatozoa motility in frozen semen of Brahman cattle at $48.50 \pm 0.84\%$ compared with vitamin E 0.41 g/100 ml at $41.50 \pm 1.70\%$ and the combination of both at $40.17 \pm 1.33\%$.

Keywords: Brahman Cattle, Semen, Egg Yolk Citrate, Vitamin C, Vitamin E

ABSTRAK

KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN DENGAN PENAMBAHAN VITAMIN C DAN E PADA BAHAN PENGECER SITRAT KUNING TELUR

Oleh

Agus Nurwahid

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C dan E dengan bahan pengencer sitrat kuning telur pada semen sapi Brahman. Penelitian ini dilaksanakan pada 23 Januari sampai dengan 03 Februari 2023 di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Poncowati, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Semen yang digunakan berupa semen segar dari pejantan sapi Brahman yang berumur 4 tahun. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan yaitu P0: pengencer sitrat kuning telur sebagai kontrol, P1: pengencer sitrat kuning telur + vitamin C 0,2 g/100 ml, P2: pengencer sitrat kuning telur + vitamin E 0,41 g/100 ml, P3: pengencer sitrat kuning telur + vitamin C 0,2 g/100 ml + vitamin E 0,41 g/100 ml. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak enam kali. Data kualitas semen segar dan setelah ekuilibrisasi dari masing-masing perlakuan dianalisis secara deskriptif, sedangkan kualitas sperma *post thawing* dianalisis statistika menggunakan *Analisis of Variance* dengan taraf 5% dan dilanjutkan menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT). Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasi keduanya pada bahan pengencer sitrat kuning telur berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas spermatozoa *post thawing* pada semen beku sapi Brahman dan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase spermatozoa hidup dan abnormalitas spermatozoa; Penggunaan antioksidan vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer sitrat kuning telur memiliki pengaruh terbaik terhadap motilitas spermatozoa pada semen beku sapi Brahman sebesar $48,50 \pm 0,84\%$ dibandingkan dengan pemberian vitamin E 0,41 g/100 ml sebesar $41,50 \pm 1,70\%$ dan kombinasi keduanya sebesar $40,17 \pm 1,33\%$.

Kata kunci : Sapi Brahman, Semen, Sitrat Kuning Telur, Vitamin C, Vitamin E

**KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN DENGAN PENAMBAHAN
VITAMIN C DAN E PADA BAHAN PENGECER
SITRAT KUNING TELUR**

Oleh

Agus Nurwahid

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PETERNAKAN**

pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**JURUSAN PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN
DENGAN PENAMBAHAN VITAMIN C
DAN E PADA BAHAN PENGECER
SITRAT KUNING TELUR

Nama : Agus Nurwahid

NPM : 1914141019

Program Studi : Peternakan

Fakultas : Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



Sri Suharyati, S.Pt., M.P.
NIP 19680728 199402 2 002



drh. Madi Hartono, M.P.
NIP 19660708 199203 1 004

2. Ketua Jurusan Peternakan

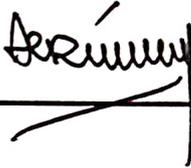


Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.
NIP 19670603 199303 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Sri Suharyati, S.Pt., M.P.



Sekretaris : drh. Madi Hartono, M.P.



Penguji
Bukan Pembimbing : Siswanto, S.Pt., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian




Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 31 Mei 2023

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis berupa skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Sarjana) baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lain;
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan pembimbing;
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis dari publikasi orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dan disebutkan nama pengarang serta dicantumkan dalam Pustaka;
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini, serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi.

Bandar Lampung, 08 Juni 2023

Yang Membuat Pernyataan



Agus Nurwanid
NPM 1914141019

Riwayat Hidup

Penulis dilahirkan di Desa Margoyoso, Kecamatan Sumberejo, Kabupaten Tanggamus pada 11 Oktober 2000, sebagai anak pertama dari 3 bersaudara melalui pasangan Bapak Ramono dan Ibu Suparmini. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN 1 Talang Beringin, Kecamatan Pulau Panggung pada 2013, pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Sumberejo pada 2016, dan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Sumberejo pada 2019. Pada tahun yang sama, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Peternakan, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Sebuah karunia dari Allah SWT yang patut disyukuri karena dapat menuntut ilmu di Universitas Lampung. Penulis melaksanakan magang kerja di Industri penetasan ayam PT. JAPFA HATCHERY SUKAJAWA, Lampung Tengah. Magang kerja pemeliharaan ayam Broiler di Kandang *Teaching Farm Closed House* Unila. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode I pada 10 Januari–20 Februari 2022 di Pekon Karang Agung, Kecamatan Semaka, Kabupaten Tanggamus. Pada 4 Juni sampai 12 Juli 2022, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Juang Jaya Abdi Alam, Kecamatan Sidomulyo, Kabupaten Lampung Selatan dan melaksanakan penelitian pada 23 Januari–03 Februari 2023 di Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

Selama masa studi, penulis mengikuti beberapa organisasi untuk mengasah *softskill* yang meliputi Forkom Bidikmisi sebagai anggota bidang Sosial

Masyarakat (Sosmas) sekaligus Ketua Angkatan Bidikmisi Unila tahun 2019, Racana Pramuka Universitas Lampung, dan anggota Himpunan Mahasiswa Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penulis juga dipercayai menjadi ketua komunitas Pecinta Unggas dan Kewirausahaan (PUNGGAWA) dengan melaksanakan berbagai program sosial kampanye gizi dan *tour farm*. Selain itu, penulis juga aktif mengikuti organisasi eksternal kampus diantaranya Keluarga Mahasiswa Nahdlatul Ulama (KMNU) Unila tahun 2022 sebagai Ketua Umum, PMII Rayon Pertanian Komisariat Universitas Lampung, dan Ikatan Purna Ambalan Sukanda Laksma sebagai wadah silaturahmi antar alumni Pramuka di SMAN 1 Sumberejo, Tanggamus.

Penulis pernah mengikuti perlombaan Musabaqoh Syarhil Qur'an (MSQ) dan Musabaqoh Maulid Nabi (MMN) tingkat Universitas sebagai juara 2, perlombaan Essay, *bussines pland competition*, olahraga, Program Mahasiswa Wirausaha (PMW) yang didanai oleh kampus Universitas Lampung, kegiatan sosial kemasyarakatan, dan berbagai kegiatan pengabdian bersama dosen.

MOTTO HIDUP

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

QS. Al-Insyirah (94): 5

“Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi orang lain.”

Hadits Riwayat Ath–Thabrani

“Bekerjalah untuk duniamu seolah-olah engkau akan hidup selamanya
dan bekerjalah untuk akhiratmu seolah engkau mati esok pagi”

Hadits Riwayat Ibnu Umar R.A

“Segala yang diikhlasakan akan kembali dalam bentuk lain”

Maulana Jalaluddin Rumi

“Kalau belum bisa baik, minimal punya l'tikad untuk terus dan terus
menjadi lebih baik”

Mr. Ramono

SANWACANA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kualitas Semen Beku Sapi Brahman dengan Penambahan Vitamin C dan E pada Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur”. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini dapat selesai karena adanya dukungan dari berbagai pihak.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.–selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.–atas izin yang diberikan;
2. Bapak Dr. Ir. Arif Qisthon, M.Si.–selaku Ketua Jurusan Peternakan–atas arahan dan bimbingan yang diberikan;
3. Ibu Sri Suharyati, S. Pt., M.P.–selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Ka. PS Peternakan–atas persetujuan, arahan, dan bimbingan dalam menyusun skripsi;
4. Bapak drh. Madi Hartono, M.P.–selaku Dosen Pembimbing Anggota–atas arahan dan bimbingan dalam menyusun skripsi;
5. Bapak Siswanto, M.Si.–selaku Dosen Pembahas–atas kritik dan saran yang membangun dalam penyusunan skripsi;
6. Ibu Dian Kurniawati S. Pt., M.Sc.–selaku Dosen Pembimbing Akademik atas persetujuan, arahan, perhatian, bimbingan, dan nasihat;
7. Pak Syam, Bu Murti, Mba Riska, Mba Fauziah, Mba Iva, Pak Des, Mas Yasir dan seluruh petugas UPTD BIB Poncowati atas izin, pengalaman, pembelajaran, bimbingan dan bantuan serta ilmu yang diberikan selama penelitian;

8. Bapak Ramono, Ibu Suparmini, Sindi, Holil, dan seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan baik moril maupun materil, do'a, motivasi, semangat dan nasihat;
9. Hanip, Fatma, Mahfud, Eri sebagai tim penelitian semen atas kerjasama, perjuangan, perhatian, bantuan, dukungan, canda tawa, suka duka selama menyelesaikan penelitian dan skripsi;
10. Penghuni Kost Angan Saka/HIMARAH, Mas Arip, Tegar, Malhan, Arya, Galih, Rio, Fajriko, Alan atas canda tawa dan motivasinya.
11. Rekan rekan organisasi KMNU, PMII, FORKOM Bidikmisi/KIP K, Himapet, PUNGGAWA atas kerjasamanya dalam menciptakan rumah yang nyaman untuk berproses dan belajar.
12. Mas Imam, Mba Ayu, Mas Rozak, Mas Andi, Erna, Arifa, tim Radar Pertanian, dan Radar Edukasi yang telah banyak mendukung dan memberi ruang seluas-luasnya untuk belajar.
13. Rekan-rekan seperjuangan Meilita, Santoso, Jefri, Nayla, Gita, Isnaini, Rafida, Khoirunnisa, Sinta, dan teman-teman seperjuangan Peternakan Angkatan 2019, kakak tingkat, dan adik tingkat atas segala pembelajaran, motivasi, do'a, dan dukungannya.

Semoga seluruh pihak yang telah membantu penulis mendapatkan pahala dari Allah SWT dan penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 14 Januari 2023

Penulis,

Agus Nurwahid

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pemikikiran.....	4
1.5 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Sapi Brahman.....	7
2.2 Inseminasi Buatan	8
2.3 Kualitas Semen	9
2.3.1 Motilitas spermatozoa	12
2.3.2 Persentase hidup spermatozoa.....	12
2.3.3 Abnormalitas spermatozoa	13
2.4 Sitrat Kuning Telur (SKT).....	13
2.5 Vitamin C.....	14
2.6 Vitamin E	15
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	17
3.2.1 Alat penelitian	17
3.2.2 Bahan penelitian	18
3.3 Rancangan Penelitian.....	18

3.4	Peubah yang Diukur	18
3.5	Pelaksanaan Penelitian	19
3.5.1	Pembuatan sitrat kuning telur	20
3.5.2	Penampungan semen segar	21
3.5.3	Pemeriksaan kualitas semen segar.....	22
3.5.4	Pengenceran semen segar	23
3.5.5	<i>Printing straw</i>	23
3.5.6	<i>Filling dan sealing</i>	23
3.5.7	Ekuilibrasi.....	24
3.5.8	<i>Test</i> setelah ekuilibrasi.....	24
3.5.9	Proses <i>pre freezing</i> dan <i>freezing</i>	25
3.5.10	Pemeriksaan spermatozoa <i>post thawing</i>	25
3.6	Analisis Data	27
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1	Kualitas Semen Segar Sapi Brahman	28
4.2	Kualitas Semen Sapi Brahman setelah Ekuilibrasi	32
4.3	Kualitas Semen Sapi Brahman <i>Post Thawing</i>	34
4.3.1	Motilitas spermatozoa	35
4.3.2	Persentase hidup spermatozoa.....	36
4.3.3	Abnormalitas spermatozoa.....	37
V.	SIMPULAN DAN SARAN	39
5.1	Simpulan	39
5.2	Saran.....	39
	DAFTAR PUSTAKA	40
	LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kualitas semen segar sapi Brahman.....	28
2. Hasil evaluasi mikroskopis spermatozoa setelah ekuilibrasi	32
3. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa <i>post thawing</i>	35
4. Hasil pengamatan persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i>	36
5. Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa <i>post thawing</i>	37
6. Hasil <i>Analysis of Variance</i> motilitas spermatozoa <i>post thawing</i>	49
7. Hasil <i>Analysis of Variance</i> persentase hidup spermatozoa <i>post thawing</i>	49
8. Hasil <i>Analysis of Variance</i> abnormalitas spermatozoa <i>post thawing</i>	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sapi Brahman	7
2. Alur pelaksanaan penelitian.....	19
3. Pembuatan bahan pengencer	50
4. Penampungan semen	50
5. Gerakan massa segar ++	50
6. Proses <i>pre-freezing</i> dan <i>freezing</i>	51
7. Spermatozoa hidup	51
8. Spermatozoa mati	52
9. Spermatozoa abnormal	52

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Kebutuhan daging sebagai sumber protein hewani semakin meningkat selaras dengan pertambahan jumlah penduduk. Menurut Badan Pusat Statistik (2022), konsumsi daging sapi dan kerbau di Indonesia pada tahun 2022 diperkirakan sebesar 695,39 ribu ton dengan jumlah penduduk sekitar 274,86 juta jiwa. Berdasarkan data tersebut ketersediaan daging sapi dan kerbau di Indonesia mengalami defisit sebesar 258,69 ribu ton, karena produksi daging sapi dan kerbau sebesar 436,70 ribu ton. Berbagai upaya dilakukan pemerintah untuk meningkatkan populasi sapi dan kerbau di Indonesia agar tercipta swasembada daging nasional, misalnya peluncuran program Sapi Kerbau Komoditas Andalan Negeri (SIKOMANDAN), pembinaan terhadap peternak, perkawinan silang (*cross breed*) untuk meningkatkan mutu genetik ternak, perbaikan manajemen pemeliharaan, termasuk pengembangan teknologi di bidang peternakan.

Salah satu teknologi yang berkembang di bidang peternakan untuk meningkatkan populasi ternak adalah teknologi Inseminasi Buatan (IB). Teknologi IB merupakan teknologi reproduksi generasi pertama yang masih terus digunakan dalam proses pemuliaan ternak unggul. Menurut Sayuti dkk. (2011), IB adalah salah satu teknologi yang diaplikasikan secara luas untuk mendorong swasembada daging sapi. Pelaksanaan IB pada sapi lebih aplikatif dilaksanakan dibandingkan pada kerbau, kambing maupun domba. Jenis *straw* sapi yang digunakan berasal dari bangsa sapi-sapi lokal seperti sapi Bali dan Peranakan Ongole (PO) maupun sapi-sapi luar seperti sapi Simental, Frisian Holstein (FH), Limousin, dan Brahman.

Straw sapi Brahman merupakan salah satu *straw* yang diminati peternak. Sapi Brahman dinilai sebagai sapi unggul yang memiliki persentase karkas yang cukup tinggi, dan dapat hidup pada kondisi lingkungan yang kurang subur karena mudah beradaptasi dengan pakan yang sederhana. Hal ini selaras dengan Hadi dan Ilham (2002) yang menyatakan bahwa sapi Brahman banyak diminati oleh *feedloter* karena memiliki penambahan bobot badan harian dan persentase karkas lebih tinggi dengan komponen tulang lebih rendah dibanding sapi lokal.

Keberhasilan program IB ditentukan oleh empat faktor utama yaitu kualitas semen, kesuburan ternak betina, keterampilan teknisi, dan pengetahuan zooteknik peternak (Toelihere, 1993). Kualitas semen adalah faktor penting yang harus diperhatikan dalam keberhasilan IB, sehingga diperlukan bahan khusus yang dapat digunakan untuk menambah volume dan mempertahankan kualitas semen. Bahan khusus tersebut adalah pengencer. Salah satu bahan pengencer yang biasa digunakan adalah Sitrat Kuning Telur (SKT). Menurut Toelihere (1993), selain harganya murah, kuning telur banyak mengandung nutrisi untuk kebutuhan hidup spermatozoa serta terdapat *phospatidhyl choline* yang dipercaya mampu melindungi membran spermatozoa dengan memulihkan kehilangan fosfolipid, adanya lesitin, dan lipoprotein yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dan sel spermatozoa.

Penurunan kualitas spermatozoa dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Menurut Herdis dkk. (2005), peroksida lipid menyebabkan kerusakan pada membran plasma spermatozoa. Reaksi peroksida dapat merusak spermatozoa dalam proses pengolahan semen disebabkan adanya kontak antara semen dan oksigen (O_2). Proses tersebut dapat menghasilkan radikal bebas dan hidrogen peroksida. Radikal bebas jika bereaksi dengan asam lemak tak jenuh akan menghasilkan lipid peroksida. Kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dan peroksida lipid ini dapat menurunkan tingkat motilitas dan daya hidup spermatozoa. Reaksi peroksidasi lipid dapat dihambat dengan suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (antioksidan) (Wijaya, 1996). Antioksidan yang dapat digunakan adalah vitamin C (asam askorbat) dan vitamin E (α tokoferol). Hal ini selaras

dengan Suryohudoyo (2000) yang mengatakan bahwa rantai radikal bebas dapat diputus dengan adanya antioksidan. Vitamin C mempunyai kemampuan menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid, sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas spermatozoa. Menurut Mayes (1995), vitamin E mempunyai kemampuan memindahkan hidrogen fenolat pada radikal bebas dari asam lemak tidak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi sehingga dapat memutuskan berbagai rantai reaksi radikal bebas. Hal serupa juga dikemukakan Beconi dkk. (1993) bahwa secara *in vitro* vitamin E mampu melindungi membran sel melawan peroksidasi lipid dengan cara menangkap radikal bebas. Namun, sampai saat ini belum ada bukti dan belum diketahui seberapa jauh pengaruh kombinasi penggunaan vitamin C dan vitamin E pada bahan pengencer Sitrat Kuning Telur (SKT) terhadap kualitas semen beku sapi Brahman. Penggunaan kombinasi vitamin C dan E pada sitrat kuning telur diharapkan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa, persentase spermatozoa hidup, dan meminimalisir abnormalitas spermatozoa sapi Brahman sehingga dapat mendukung tingkat keberhasilan program IB.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

- 1) mengetahui pengaruh penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasi keduanya dalam pengencer Sitrat Kuning Telur (SKT) pada semen beku sapi Brahman;
- 2) mengetahui perlakuan penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasi keduanya dalam pengencer Sitrat Kuning Telur (SKT) yang terbaik pada semen beku sapi Brahman.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada petugas Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Poncowati, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung untuk menggunakan kombinasi

dosis vitamin C dan vitamin E pada bahan pengencer Sitrat Kuning Telur (SKT) agar mendapatkan semen beku yang berkualitas sehingga terjadi efisiensi produksi *straw* dan menunjang keberhasilan teknologi Inseminasi Buatan (IB).

1.4 Kerangka Pemikiran

Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Toelihere (1993), keberhasilan program IB ditentukan oleh empat faktor utama yaitu kualitas semen, kesuburan ternak betina, keterampilan teknisi, dan pengetahuan zooteknik peternak. Kualitas semen dapat dipengaruhi oleh ternak maupun penanganan setelah semen di koleksi. Susilawati (2013) menyatakan bahwa kualitas semen sangat mempengaruhi keberhasilan IB.

Setelah dikoleksi semen akan diencerkan dengan bahan pengencer untuk menambah volume dan menjaga kualitas semen tersebut agar tidak mudah rusak. Menurut Susilawati (2013), untuk mempertahankan kualitas semen, digunakan bahan pengencer yang mengandung nutrisi yang dibutuhkan spermatozoa. Syarat bahan pengencer yaitu tidak mengandung racun, mengandung nutrisi, mempertahankan PH, dan dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock*, menghambat reaksi peroksidasi lipid akibat aktivitas radikal bebas, serta dapat menambah volume semen.

Salah satu pengencer yang biasa digunakan dalam proses pengenceran semen adalah Sitrat Kuning Telur (SKT). Menurut Evans dan Maxwell (1987), SKT memiliki banyak kelebihan yaitu toksisitas rendah, sebagai *buffer*, dan dapat mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, dapat melindungi dari *cold shock*, sebagai sumber energi semen disebabkan adanya gliserol, melindungi dari dehidrasi, dan dapat mencegah pertumbuhan mikroba. Triana (2005) menambahkan bahwa kuning telur mengandung tris aminometan, asam sitrat laktosa, fruktosa raffinosa, dan lain lain. Akan tetapi, adanya kuning telur dapat menyebabkan ketidakstabilan pada membran dan perubahan pada konsentrasi struktur matrik lipid akibat terjadi hidrolisis lesitin kuning telur

menjadi lisolesitin dan asam lemak yang dikatalis oleh enzim fosfolipase A yang disekresikan oleh kelenjar bulboethralis. Kerusakan semen juga dapat disebabkan adanya radikal bebas pada ikatan-ikatan kimia semen.

Menurut Julizan dkk. (2019), radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan yang secara normal dihasilkan dalam metabolisme sel. Radikal bebas dapat diminimalisir dengan penambahan antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E. Menurut Simanjuntak (2011), rangkaian reaksi dari radikal bebas oksigen terhadap lipid yang mengandung asam lemak tidak jenuh jamak menyebabkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid.

Reaksi peroksidasi lipid dapat dihambat dengan penambahan antioksidan, yakni suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (Wijaya, 1996).

Antioksidan yang telah digunakan adalah vitamin C (asam askorbat) dan vitamin E (α tokoferol). Suryohudoyo (2000) mengatakan bahwa vitamin C termasuk dalam antioksidan yang mampu memutus rantai reaksi radikal bebas. Selaras dengan Savitri dkk. (2014) vitamin C memiliki kemampuan untuk menguatkan kestabilan jaringan membran plasma terhadap peroksidasi yang terjadi pada saat pengolahan semen beku, karena ada kontak langsung dengan O_2 (oksigen) yang dapat menyebabkan kematian pada spermatozoa. Vitamin E mempunyai kemampuan memutuskan berbagai rantai reaksi radikal bebas sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat pada radikal bebas dari asam lemak tidak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Mayes, 1995). Menurut Beconi dkk. (1993), secara *in vitro* Vitamin E mampu melindungi membran sel melawan peroksidasi lipid dengan cara menangkap radikal bebas.

Penambahan berbagai dosis vitamin C dan vitamin E pada pengencer SKT berpengaruh dalam meningkatkan kualitas spermatozoa (motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas). Menurut Abdillah (2018), penggunaan antioksidan vitamin C dapat digunakan pada bahan pengencer SKT maupun andromed dan penggunaan sebesar 0,2 g/100 ml pada bahan pengencer SKT secara efektif mencegah peroksidasi lipid. Vitamin E juga dapat meningkatkan kualitas

spermatozoa pada semen beku. Menurut Hartono (2008), semakin besar dosis vitamin E dengan dosis terbesar 0,5 g/100 ml maka kualitas semen cair yang disimpan selama 18 jam semakin baik dengan dosis penambahan vitamin E yang optimal adalah 0,41g/100 ml. Connors dkk. (1992) menyatakan bahwa untuk meningkatkan efektivitas penggunaan antioksidan, akan lebih bermanfaat apabila digunakan lebih dari satu macam jenis antioksidan dan telah dibuktikan bahwa kombinasi dua antioksidan bersama-sama mampu menghambat terjadinya katalisis pada proses oksidasi.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

- 1) penambahan vitamin C, vitamin E dan kombinasi keduanya pada bahan pengencer SKT berpengaruh terhadap kualitas semen beku sapi Brahman (motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa);
- 2) terdapat perlakuan pengencer SKT yang paling baik terhadap kualitas semen beku sapi Brahman (motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Brahman

Sapi Brahman merupakan sapi keturunan sapi zebu atau *Bos Indicus* yang berasal dari India. Penyebaran sapi Brahman mulai dilakukan secara pesat di Amerika Serikat dan New Zealand setelah dilakukan seleksi dan peningkatan genetiknya, kemudian sapi Brahman dengan mutu genetik yang unggul diekspor ke berbagai negara termasuk Indonesia (Susilawati dkk., 2003). Sapi Brahman dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sapi Brahman

Sapi Brahman termasuk tipe sapi pedaging yang baik dari daerah tropis. Sapi Brahman dapat tumbuh dengan baik walaupun di daerah yang kurang subur. Hal ini terjadi karena pakan sapi Brahman cukup sederhana. Sapi Brahman memiliki karakteristik bobot badan sapi pejantan berkisar antara 724–996 kg, dan betina berkisar 453–634 kg. Tekstur kulit sapi Brahman longgar, halus, dan lemas dengan ketebalan sedang, ukuran punuk pada sapi jantan relatif besar, sedangkan pada yang betina lebih kecil (Warsito dan Andoko., 2013).

Klasifikasi Taksonomi Sapi Brahman Menurut Blakely dan Bade (1992) adalah:

Kingdom : *Chordata*;
Sub-Kingdom : *Vertebrata*;
Class : *Mamalia*;
Sub-Class : *Eutheria*;
Ordo : *Artiodactyla*;
Sub-ordo : *Ruminantia*;
Infra-Ordo : *Pecora*;
Family : *Bovidae*;
Genus : *Bos*;
Group : *Taurinae*;
Species : *Bos indicus*.

Keunggulan Sapi Brahman antara lain tahan terhadap panas tinggi, tahan terhadap Endo atau Ektoparasit, dapat menyesuaikan diri dengan pakan yang jelek, dan pertumbuhan badan relatif cepat serta persentase karkas tinggi. Ciri-ciri sapi Brahman yaitu tipe sapi potong, warna putih sedikit abu-abu, terdapat gelambir kulit dari rahang bawah hingga ujung dada bagian depan, badan besar, panjang, berpuncuk di atas bahu, kepala panjang dan telinga lebar agak turun dan paha besar (Syarifullah dan Bakar, 2013).

2.2 Inseminasi Buatan (IB)

Inseminasi Buatan (IB) merupakan teknologi reproduksi ternak yang dilakukan dengan cara memasukkan mani atau semen ke dalam alat kelamin hewan betina sehat dengan menggunakan alat inseminasi agar hewan tersebut menjadi bunting (Dirjen Peternakan dan Kesehatan Hewan, 2012). IB menjadi salah satu alat yang efektif dan efisien dalam mendukung peningkatan mutu genetik dan populasi ternak. Leboeuf dkk. (2000) menyatakan bahwa IB mempunyai peranan penting dalam *breeding*, khususnya dalam pemeliharaan secara intensif untuk meningkatkan produksi susu, daging dan bulu serta jumlah pedet per kelahiran. Keberhasilan IB dipengaruhi beberapa faktor yang harus diperhatikan.

Hastuti (2008), menyatakan tingkat keberhasilan IB dipengaruhi oleh empat faktor yang saling berhubungan dan tidak dapat dipisahkan satu dengan lainnya yaitu pemilihan sapi akseptor, pengujian kualitas semen, akurasi deteksi birahi oleh para peternak dan keterampilan inseminator.

2.3 Kualitas Semen

Kualitas semen merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB. Semen harus benar-benar dipastikan kualitasnya mulai dari segar hingga dibekukan untuk digunakan pada proses IB. Upaya untuk menjaga kualitas semen agar layak digunakan dapat dilakukan melalui pengujian baik secara makroskopis maupun mikroskopis.

Menurut Centola (2018), uji makroskopis meliputi empat parameter yaitu volume, warna, kekentalan, dan pH. Pada umumnya volume semen bervariasi berdasarkan bangsa ternak yaitu sekitar 1–15 ml. Menurut Susilawati (2011), uji mikroskopis terdiri dari uji motilitas, konsentrasi, persentase hidup, dan uji morfologi (abnormalitas spermatozoa). Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas semen diantaranya adalah umur, bangsa ternak, genetik, lingkungan, pakan dan jenis pengencer yang digunakan. Penjelasan masing-masing faktor tersebut yaitu:

1) Umur

Kualitas semen dapat dipengaruhi oleh umur karena perkembangan testis dan proses spermatogenesis dipengaruhi oleh umur ternak. Spermatogenesis adalah proses pembentukan spermatozoa yang terjadi di dalam tubuli seminiferi. Proses spermatogenesis pada sapi berlangsung selama 55 hari dan berlangsung pertama kali ketika sapi berumur 10–12 bulan (Nuryadi, 2000). Produksi semen dapat meningkat sampai umur tujuh tahun. Pada masa awal pubertas kualitas spermatozoa cenderung tidak bagus karena fungsi organ reproduksi yang masih belum sempurna, sehingga jika semen tersebut digunakan untuk IB akan kecil kemungkinan terjadinya kebuntingan (Garner dan Hafez, 2000). Selaras dengan hal tersebut Mathevon dkk. (1998) juga menjelaskan bahwa pejantan yang terlalu muda (umur kurang dari 1 tahun)

atau terlalu tua akan menghasilkan semen yang lebih sedikit. Susilawati dkk. (2013) menyatakan bahwa pejantan yang berumur 2 sampai 7 tahun dapat menghasilkan semen terbaik dengan angka kebuntingan yang tinggi pada betina yang dikawini dibandingkan dengan pejantan yang berumur diluar interval tersebut.

2) Bangsa

Coulter dkk. (1997) dan Sprott dkk. (1998) menyatakan bahwa kualitas semen dapat dipengaruhi oleh bangsa sapi, karena terdapat perbedaan lingkaran skrotum yang berbanding lurus dengan produksi dan kualitas spermatozoa. Sprott dkk. (1998) menambahkan bahwa bangsa sapi *Bos taurus* mengalami dewasa kelamin lebih cepat bila dibandingkan dengan sapi *Bos indicus*. Persilangan dari dua bangsa sapi tersebut akan mencapai pubertas pada umur yang sama dengan induknya.

3) Genetik

Coulter dkk. (1997) dan Sprott dkk. (1998) menyatakan bahwa ukuran testis yang dapat diestimasi dengan panjang, berat dan lingkaran skrotum mempengaruhi produksi spermatozoa. Chondalia dkk. (1999) menyebutkan bahwa genetik juga mempengaruhi ketahanan sel spermatozoa terhadap *heat shock* pada saat *thawing*.

4) Lingkungan

Suhu lingkungan yang terlalu rendah atau terlalu tinggi dapat mempengaruhi organ reproduksi ternak jantan. Hal ini menyebabkan fungsi thermoregulatoris skrotum terganggu sehingga terjadi kegagalan pembentukan spermatozoa dan penurunan produksi spermatozoa. Pond dan W. Pond (1999) menyatakan jika suhu lingkungan terlalu panas spermatozoa yang diproduksi tidak dapat bertahan hidup dan menyebabkan sterilitas sapi jantan, sehingga manajemen saat pejantan stress perlu dilakukan untuk menjaga fertilitas spermatozoa.

Suhu normal di daerah testis berkisar 3°C di bawah suhu tubuh normal.

Musim dapat mempengaruhi kualitas semen pada ternak-ternak yang berada di daerah sub tropis. Perubahan musim karena perbedaan lamanya siang hari atau lamanya penyinaran dapat menghambat produksi FSH yang dapat menghambat produksi spermatozoa oleh testis (Hafez, 2008).

5) Pakan

Nutrisi sangat penting selama perkembangan sistem reproduksi sapi jantan muda. Meningkatkan jumlah nutrisi pada pakan akan mempercepat pubertas dan pertumbuhan tubuh (Sprot dkk., 1998). Pakan berpengaruh terhadap ukuran testis pada ternak jantan, pakan yang diberikan terlalu sedikit terutama pada periode sebelum masa pubertas dicapai dapat menyebabkan perkembangan testis dan kelenjar-kelenjar asesoris terhambat dan dapat memperlambat dewasa kelamin. Pada ternak dewasa kekurangan makanan dapat mengakibatkan gangguan fungsi fisiologis, baik pada testis maupun pada kelenjar asesorisnya dan dapat menurunkan libido sehingga produksi semen turun (Susilawati dkk., 2013). Persentase pemberian hijauan yang semakin banyak akan meningkatkan perbesaran ukuran skrotum sehingga akan mempengaruhi produksi semen.

6) Jenis Pengencer

Semen beku adalah semen segar yang diencerkan menurut prosedur tertentu, lalu dibekukan jauh di bawah titik beku air (Sayoko dkk., 2007). Upaya yang dilakukan untuk mendapatkan *straw* berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer semen yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan, maupun pada saat *thawing* (Aboagla dan Terada, 2004). Pengenceran dan penyimpanan bertujuan untuk menurunkan aktifitas metabolisme yang berlebihan agar dapat memperpanjang waktu hidup spermatozoa di dalamnya (Hafez, 2008). Bahan pengencer semen memiliki beberapa persyaratan yakni menyediakan zat makanan sebagai sumber energi spermatozoa, mampu mencegah *cold shock*, mengandung zat yang dapat menghentikan atau menghambat aktivitas bakteri yang terdapat dalam semen, berperan sebagai penyangga (*buffer*) untuk mencegah perubahan pH serta dapat mempertahankan keseimbangan tekanan osmotik dan elektrolit. Pengenceran semen adalah upaya untuk memperbanyak volume semen, mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai batas waktu penyimpanan tertentu pada kondisi penyimpanan di bawah atau di atas titik beku (Kusumaningrum dkk., 2002). Pengujian kualitas semen secara lebih mendalam dapat dilakukan dengan

bantuan mikroskop. Menurut Susilawati (2011), uji mikroskopis terdiri dari uji motilitas spermatozoa, konsentrasi spermatozoa, persentase hidup spermatozoa, dan uji morfologi (abnormalitas spermatozoa).

2.3.1 Motilitas spermatozoa

Pergerakan secara progresif atau gerakan aktif maju ke depan adalah pergerakan khas yang dimiliki spermatozoa dengan kualitas baik sedangkan gerakan mundur dan melingkar merupakan akibat dari stress karena suhu dingin (*cold shock*) (Feradis, 2010). Hal ini sesuai dengan pendapat Ismaya (2014) yang menyatakan bahwa pengamatan motilitas massa yang dijaga dengan suhu 37°C mempunyai kualitas spermatozoa dengan nilai sangat baik (+++), sedangkan persentase terendah ditemukan dengan suhu 25°C selama 7 detik yang diduga karena proses *thawing* terlalu cepat dan suhu air standar sehingga spermatozoa lebih banyak tidak bergerak maupun bergerak mundur. Standar Nasional Indonesia (SNI) memberikan syarat bahwa standar minimal motilitas untuk IB adalah 40% (Badan Standardisasi Nasional, 2017).

2.3.2 Persentase hidup spermatozoa

Persentase hidup spermatozoa dapat diketahui dengan cara pewarnaan menggunakan eosin yaitu dengan meneteskan larutan eosin pada semen dan diratakan, kemudian diangin-anginkan atau difiksasi dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop. Spermatozoa yang berwarna merah berarti mati, dan spermatozoa yang tidak berwarna atau transparan berarti hidup (Mulyono, 1998).

Zat warna eosin tidak dapat masuk ke dalam sel spermatozoa hidup, disebabkan oleh membran plasma spermatozoa hidup masih utuh atau belum mengalami kerusakan (Hunter, 1995). Permeabilitas dinding sel menjadi lebih tinggi setelah mati sehingga sel spermatozoa yang mati akan menghisap lebih banyak warna, dan sel spermatozoa hidup menghisap warna yang sangat sedikit (Partodiharjo,

1992). Semen yang baik memiliki persentase hidup spermatozoa di atas 50% (Toelihere, 1993).

2.3.3 Abnormalitas spermatozoa

Abnormalitas merupakan suatu penyimpangan morfologis yang dapat menurunkan fertilitas spermatozoa (Butar, 2009). Abnormalitas primer meliputi kepala yang terlampau besar (*macrocephalic*), kepala terlampau kecil (*microcephalic*), kepala pendek melebar, pipih memanjang, kepala rangkap, ekor ganda, bagian tengah melipat, membengkok, membesar, ekor melingkar, putus atau terbelah. Abnormalitas sekunder meliputi ekor yang putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah yang melipat (Toelihere, 1993). Abnormalitas sekunder disebabkan oleh gangguan pada spermatozoa setelah meninggalkan tubulus seminiferi contohnya seperti pada proses pematangan, gangguan mekanis akibat penanganan dan *temperature shock* (Susilawati, 1992). Makhzoomi dkk. (2007) menyatakan bahwa tingkat abnormalitas primer spermatozoa <10% dapat berpengaruh terhadap fertilitas.

2.4 Sitrat Kuning Telur (SKT)

Bahan pengencer sitrat kuning telur terdiri dari natrium sitrat monohidrat, kristal fruktosa, kuning telur, aquabides, antibiotik penisilin dan streptomisin. Sitrat kuning telur memiliki keunggulan yaitu mengandung lecitin dan lipoprotein yang dapat digunakan sebagai bahan penyangga (*buffer*) yang dapat mempertahankan dan mengatur pH semen juga mencegah terjadinya *cold shock* akibat penurunan temperatur yang mendadak (Pubiandara dkk., 2016).

Penambahan fruktosa berfungsi sebagai sumber energi spermatozoa. karbohidrat yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bagi spermatozoa.

Penambahan fruktosa sebagai karbohidrat sederhana dapat berfungsi sebagai nutrisi yang dapat digunakan oleh spermatozoa untuk melakukan aktivitas fisiologisnya sebelum spermatozoa dideposisikan ke alat kelamin betina (Savitri dkk., 2014).

Kuning telur berfungsi melindungi spermatozoa terhadap cekaman dingin dan sebagai sumber energi (Triana, 2005). Sudaryani (2003) dan Sarwono (1995) menyatakan bahwa komposisi 31% dari berat telur adalah bagian dari kuning telur dan memiliki komposisi gizi yang lebih lengkap dibanding putih telur yang terdiri dari air, protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin.

Protein telur termasuk sempurna karena mengandung semua jenis asam amino esensial dalam jumlah yang cukup seimbang (Haryanto, 2016). Kuning telur memiliki kandungan protein 17,0 gram, lemak 35,0 gram, karbohidrat 0,8 gram, dan energi 398,0 Kkal (Departemen Kesehatan RI, 2004). Kuning telur juga mengandung glukosa, vitamin yang larut dalam air dan larut dalam lemak sehingga menguntungkan bagi sel spermatozoa (Djanuar, 1985). Selain terjangkau dan mudah didapat, kuning telur banyak mengandung nutrisi untuk kebutuhan hidup spermatozoa serta terdapat *phospatidhyl choline* yang dipercaya mampu melindungi membran spermatozoa dengan memulihkan kehilangan fosfolipid, adanya lesitin dan lipoprotein yang bekerja mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein dan sel spermatozoa (Toelihere, 1993). Penambahan antibiotik berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri yang terdapat di dalam semen (Sukma, 2019).

2.5 Vitamin C

Antioksidan merupakan senyawa yang menghambat atau menunda reaksi oksidasi molekul dengan cara menghambat proses inisiasi atau propagasi reaksi oksidasi berantai (Maesaroh dkk., 2018). Vitamin C atau asam askorbat termasuk dalam antioksidan yang mampu memutus rantai reaksi radikal bebas (Suryohudoyo, 2000).

Vitamin C mempunyai kemampuan menguatkan kestabilan jaringan pelindung membran plasma terhadap peroksida lipid, sehingga dapat mempertahankan kualitas dan fertilitas spermatozoa (Savitri dkk., 2014). Berdasarkan penelitian Abdillah (2018) penambahan vitamin C sebesar 0,2 g/100 ml bahan pengencer

SKT dapat meningkatkan kualitas semen dan efektif mencegah peroksidasi lipid. Penelitian Yahaq dkk. (2019) dalam bahan pengencer yang berbeda juga menyebutkan bahwa penambahan vitamin C dengan dosis optimum penambahan vitamin sebanyak 250 mg/100ml dalam pengencer skim memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas *post thawing*, meskipun tidak berpengaruh nyata pada persentase hidup dan abnormalitas. Savitri dkk. (2014) juga menyebutkan bahwa penambahan Vitamin C dalam pengencer dapat mempertahankan persentase motilitas spermatozoa setelah ekuilibrisasi berkisar 55–58%.

Penambahan vitamin C yang terlalu banyak dapat merubah kondisi pH dalam pengencer semen, sehingga semen menjadi asam. Kondisi asam tersebut dapat meningkatkan persentase kematian sel spermatozoa. Kematian sel spermatozoa tersebut dikarenakan pada kondisi asam dapat meningkatkan tekanan osmotik pada cairan semen. Akibatnya dapat terjadi ketidakseimbangan tekanan osmotik antara di dalam dan di luar sel spermatozoa (Yahaq dkk., 2019). Menurut Aurich dkk. (1997), vitamin C dengan dosis 200 mg/100 ml pengencer mampu melindungi membran plasma spermatozoa dari kerusakan membran plasma akibat peroksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Connors dkk. (1992) menyatakan bahwa untuk meningkatkan efektivitas penggunaan antioksidan, akan lebih bermanfaat apabila digunakan lebih dari satu macam jenis antioksidan dan telah dibuktikan bahwa kombinasi dua antioksidan bersama-sama mampu menghambat terjadinya katalisis pada proses oksidasi.

2.6 Vitamin E

Reaksi peroksidasi lipid dapat dihambat dengan penambahan suatu zat yang dapat mengikat senyawa radikal bebas (antioksidan) (Wijaya, 1996). Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang digunakan untuk menghambat reaksi peroksidasi lipid (Putra dkk., 2019).

Vitamin E mempunyai kemampuan memutuskan berbagai rantai reaksi radikal bebas sebagai akibat kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat pada radikal bebas dari asam lemak tidak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Mayes, 1995). Menurut Beconi dkk. (1993), secara *in vitro* vitamin E mampu melindungi membran sel melawan peroksidasi lipid dengan cara menangkap radikal bebas.

Menurut Hartono (2008), semakin besar dosis vitamin E dengan dosis terbesar 0,5 g/100 ml maka kualitas semen cair yang disimpan selama 18 jam semakin baik. Pada pembekuan semen dosis penambahan vitamin E yang optimal adalah 0,41g/100 ml. Pada penelitian serupa Bebas dkk. (2016) juga menyatakan bahwa penambahan vitamin E 400 µg/ml dengan pengencer *Beltsville Thawing Solution* (BTS) pada suhu 15°C selama 96 jam mampu meningkatkan daya hidup dan motilitas spermatozoa.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Kegiatan

Penelitian ini dilaksanakan pada 23 Januari sampai dengan 03 Februari 2023 di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah (UPTD) Balai Inseminasi Buatan (BIB) Poncowati, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah tambang, selang untuk memandikan sapi, sekop, angkong, kandang jepit, *sprayer* NaCl, vagina buatan, tabung penampung berskala, labu didih dan penangas, timbangan digital analitik, *stick glass*, mikroskop, spatula, kapas, termometer, alat pemisah kuning telur, panci pemanas elektrik, gelas labu erlenmeyer, corong, gelas ukur dan tutupnya, aluminium foil, kertas saring, kertas label, tabung reaksi, pipet tetes, *cold top*, *incubator*, *container*, gunting, pinset, kertas tisu, *stopwatch*, *thermometer*, ember, mikroskop, spektrofotometer, seperangkat mesin *printing straw*, *micropipet*, mesin *filling* dan *sealing*, pH meter, *box sterofom*/tempat *prefreezing*, *counter number*,udukan dan rak *straw*, alat hitung, gelas kaca, gelas penutup, sabun, sikat, oven sterilisasi alat, kamera, dan alat tulis.

3.2.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian yaitu semen segar sapi Brahman, NaCl fisiologis, larutan eosin 2%, alkohol 70%, N₂ cair, vitamin C dan vitamin E, natrium sitrat, *aquabidest*, air panas, vaselin, *antibiotic penicillin* dan *streptomycin*, dan kuning telur ayam segar.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan penambahan dosis vitamin C dan E dalam pengencer Sitrat Kuning Telur (SKT) dan masing-masing perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 6 kali. Perlakuan yang diberikan yaitu:

P0 : SKT 100% tanpa Penambahan vitamin C dan vitamin E

P1 : SKT 100% + Vitamin C 0,2 g/100 ml

P2 : SKT 100% + Vitamin E 0,41 g/100 ml

P3 : SKT 100% + Vitamin C 0,2 mg/100 ml pengencer dan Vitamin E 0,41 g/100 ml

3.4 Peubah yang Diukur

Peubah yang diukur pada penelitian ini meliputi kualitas semen segar, setelah ekuilibrasi, dan *post thawing*. Peubah yang diukur pada semen segar meliputi:

- 1) volume;
- 2) warna;
- 3) konsistensi;
- 4) pH;
- 5) bau;
- 6) konsentrasi;
- 7) gerakan massa;
- 8) motilitas individu spermatozoa;
- 9) persentase spermatozoa hidup;

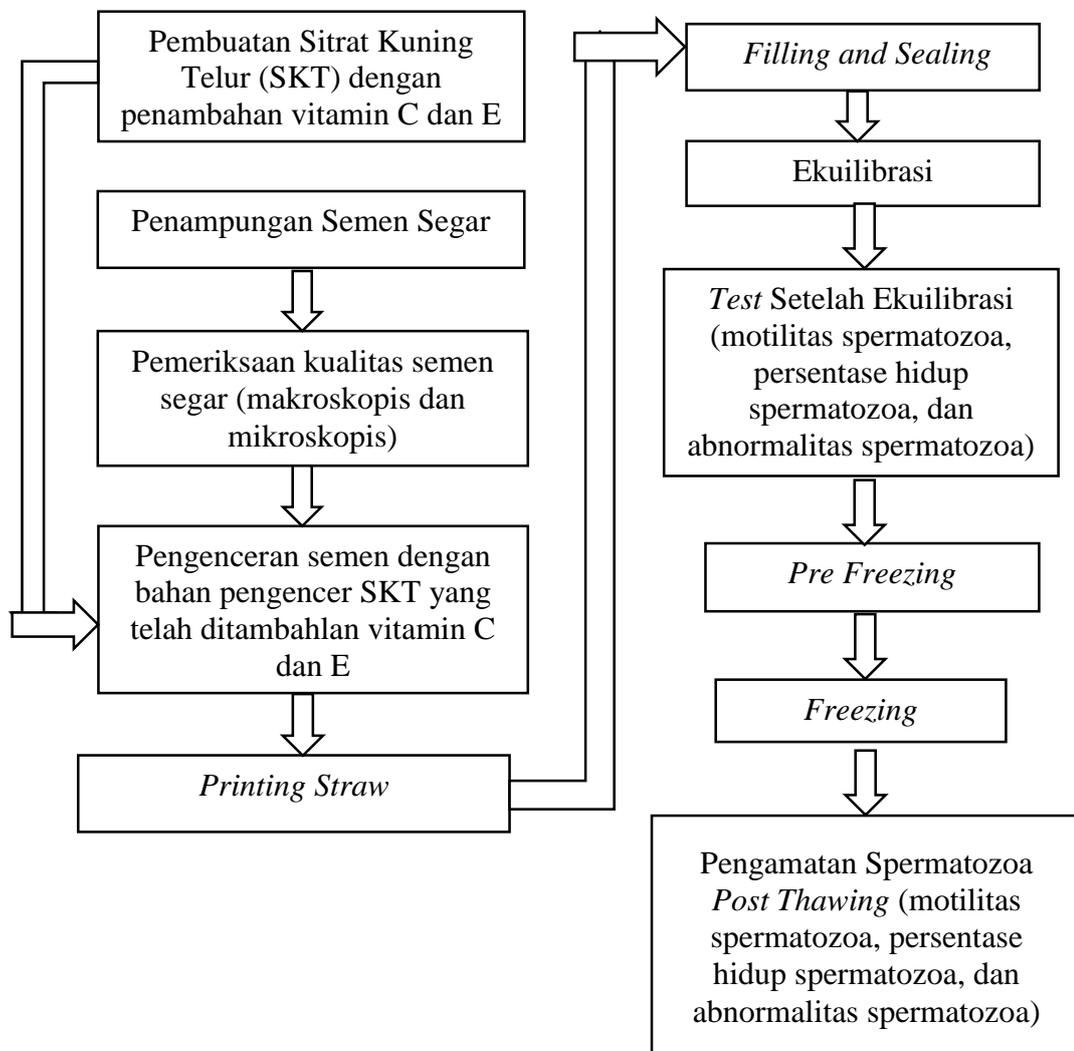
10) abnormalitas spermatozoa.

Peubah yang diamati setelah ekuilibrasi dan *post thawing* yaitu:

- 1) motilitas individu spermatozoa;
- 2) persentase spermatozoa hidup;
- 3) persentase abnormalitas spermatozoa.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

Proses pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Alur pelaksanaan penelitian

3.5.1 Pembuatan sitrat kuning telur

Pembuatan bahan pengencer sitrat kuning dilakukan dengan cara:

- 1) membuat larutan natrium sitrat, dengan cara menimbang 2,8 g natrium sitrat dan 2,85 g glukosa, kemudian memasukkan ke dalam labu erlenmeyer lalu menambahkan aquades sampai 100 ml dan menghomogenkannya;
- 2) membersihkan telur ayam yang akan digunakan sebagai bahan pengencer dengan air lalu keringkan, selanjutnya membersihkan telur dengan alkohol 70% dan mengeringkannya kembali;
- 3) memecahkan telur dengan pisau yang bersih, kemudian memisahkan putih telur dari kuning telur;
- 4) menempatkan kuning telur yang masih utuh dan terbungkus selaput vitelin pada kertas saring, mengguling-gulingkan telur sehingga semua putih telur terserap;
- 5) memecahkan selaput vitelin kuning telur dan mengalirkan ke dalam gelas ukur;
- 6) mencampurkan larutan sitrat glukosa dengan kuning telur, dengan perbandingan 80% untuk sitrat glukosa dan 20% kuning telur;
- 7) menambahkan gliserol sebanyak 7% dari total volume pengencer serta menambahkan 0,001 g streptomisin dan 0,001 g penicillin dalam setiap ml pengencer;
- 8) melakukan pengenceran semen dengan rumus :

$$Z = \frac{(a \times b \times c)}{d}$$

Keterangan :

Z : volume semen setelah diencerkan

a : volume spermatozoa yang akan diencerkan

b : motilitas (%)

c : konsentrasi spermatozoa per ml

d : dosis IB

(Hartono dkk., 2020)

- 9) membagi pengencer SKT menjadi 4 bagian, dengan volume masing-masing sebanyak 100 ml;

- 10) menimbang dosis vitamin C dan E sesuai dengan perlakuan yang akan dilakukan:
 - P0 : pengencer SKT
 - P1 : pengencer SKT + vitamin C 0,2 g/100 ml
 - P2 : pengencer SKT + vitamin E 0,41 g/100 ml
 - P3 : pengencer SKT + vitamin C 0,2 g/100 ml + vitamin E 0,41 g/100 ml
- 11) mencampurkan vitamin C, vitamin E, dan kombinasi keduanya dengan SKT pada labu ukur sampai homogen;
- 12) memindahkan larutan ke dalam erlenmeyer, kemudian menyimpan larutan ke dalam lemari es dengan suhu 4–5°C, dan menutup tabung dengan menggunakan aluminium foil (BIB Poncowati, 2021)

3.5.2 Penampungan semen segar

Penampungan semen sapi Brahman dilakukan dengan cara:

- 1) membersihkan kandang dan memandikan sapi Brahman yang akan ditampung semennya dan memberikan pakan berupa konsentrat, mineral, kecambah (tauge), dan hijauan;
- 2) menyiapkan *artificial vagina* (AV) untuk menampung semen segar dan mengeluarkan sapi pemancing (*teaser*);
- 3) mengeluarkan pejantan yang akan dikoleksi semennya dari kandang;
- 4) mendekatkan sapi Brahman dengan *teaser* untuk merangsang libido;
- 5) mengawasi dan memberikan waktu sapi untuk melakukan *false mounting* sebanyak 3 kali yang bertujuan untuk meningkatkan libido;
- 6) menyemprotkan larutan NaCl pada preputium pejantan agar penis menjadi bersih dari kotoran dan mikroorganisme yang menempel;
- 7) menampung semen segar dengan memasukkan preputium ke dalam AV pada saat pejantan menaiki teaser;
- 8) mengirimkan semen yang telah ditampung ke laboratorium untuk dilakukan evaluasi (BIB Poncowati, 2021).

3.5.3 Pemeriksaan kualitas semen segar

Pemeriksaan semen segar sapi Brahman dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pelaksanaan pemeriksaan kualitas semen segar secara makroskopis dan mikroskopis yaitu:

1) pemeriksaan secara makroskopis

Pemeriksaan secara makroskopis dilakukan secara langsung dengan melihat tabung berupa volume, warna (putih susu, krem, kuning), kekentalan (encer, sedang, kental, bau (khas), mengukur pH semen dengan menggunakan pH meter, dan mencatat hasil pemeriksaan secara makroskopis pada *logsheet* produksi semen beku (BIB Poncowati, 2021).

2) pemeriksaan secara mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas, abnormalitas, konsentrasi dan persentase hidup mati spermatozoa dengan bantuan mikroskop (Toelihere, 2006). Proses pemeriksaan secara mikroskopis antara lain :

1. menyalakan mikroskop, layar monitor, dan slide warmer;
2. menyiapkan NaCl fisiologis 0,9% dalam *beaker glass*, *stick glass*, pipet, *objeck glass*, *cover glass* dan tissue;
3. melakukan pemeriksaan gerakan massa spermatozoa dengan meneteskan semen menggunakan *stick glass* di atas gelas obyek, kemudian melihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10 sambil mengatur jarak lensa dengan objek yang dilihat sehingga terlihat gerakan massa spermatozoa, dan dilakukan penilaian sebagai berikut:
 - 0 : tidak ada gerak spermatozoa maupun gerak massa spermatozoa
 - + : gerakan massa spermatozoa lemah berupa gelombang tipis dan jarang
 - ++ : gerakan massa spermatozoa cepat berupa gelombang tebal dan gelap
 - +++ : gerakan massa spermatozoa sangat cepat berupa gelombang gelombang tebal dan gelap

Semen segar yang layak diproses lebih lanjut adalah semen dengan nilai gerakan massa spermatozoa minimal (+ +);

4. melakukan pemeriksaan motilitas spermatozoa;
5. mengencerkan semen dengan NaCl Fisiologis (satu tetes semen ditambah 4 tetes NaCl sesuai kekentalan semen) kemudian ditutup dengan *cover glass*;
6. mengamati preparat di bawah mikroskop (perbesaran 20x10 dan 10x10);
7. mengamati motilitas spermatozoa dengan cara menilai spermatozoa yang bergerak maju dan dilakukan pada minimal 5 bidang pandang. Semen segar yang layak diproduksi adalah yang memiliki motilitas spermatozoa $\geq 70\%$ (BIB Poncowati, 2021).

3.5.4 Pengenceran semen segar

Pengenceran semen segar dilakukan dengan cara:

- 1) membagi semen menjadi 4 bagian;
- 2) mengukur kebutuhan pengencer yang diperlukan menggunakan mesin spektrofotometer;
- 3) mencampurkan secara perlahan semen segar ke dalam *beaker glass* berisi sitrat kuning telur yang telah disimpan dalam *incubator* dengan suhu 35°C;
- 4) memberikan rekording nama dan kode *Bull* yang dikoleksi semennya (BIB Poncowati, 2021).

3.5.5 Printing straw

Pada pelaksanaan penelitian proses *printing straw* sebagai pemberian identitas *straw* digantikan dengan penggunaan warna *straw* yang berbeda pada setiap perlakuan. P0 : Coklat, P1= Kuning, P2 : Hijau, dan P3 : Biru.

3.5.6 Filling and sealing

Proses *filling* dan *sealing* merupakan proses memasukkan semen yang sudah diencerkan ke dalam *straw*. Satu dosis IB berisi 0,25 ml semen dengan konsentrasi spermatozoa 25×10^6 sel/dosis. Proses *Filling and sealing* adalah sebagai berikut:

- 1) memasang *washer* (karet) pada jarum panjang dan jarum pendek (posisi karet harus rapat/menempel dengan kepala jarum);
- 2) memasang selang pada jarum (posisi selang hanya sampai setengah dari pangkal jarum) kemudian memasang *filling head* dan *suction head* pada tempatnya masing-masing;
- 3) memastikan posisi lubang jarum menghadap ke atas dan posisi selang antara jarum dan *valve* (katup/penjepit selang) dilonggarkan dan meletakkan semen cone pada tempatnya;
- 4) memasukkan *straw* ke dalam *straw hopper*;
- 5) memasukkan semen + pengencer ke dalam *semen cone* yang ada di samping *straw hopper*;
- 6) memosisikan *open* (MPP Uno) dan menekan tombol hijau (*on* atau *off*) tunggu beberapa saat kemudian tekan "*Start*";
- 7) mematikan mesin dengan menekan tombol hijau (*on* atau *off*) (BIB Poncowati, 2021).

3.5.7 Ekuilibrase

Pelaksanaan ekuilibrase dilakukan dengan cara:

- 1) memastikan *cool top* dalam keadaan hidup dan dengan suhu 2°–6° C;
- 2) memasukkan *straw* yang telah melewati proses *filling* dan *sealing* yang telah dihitung ke dalam *cool top* selama minimal 4 jam;
- 3) mengeluarkan *straw* dan mematikan mesin *cool top* selesai digunakan (BIB Poncowati, 2021).

3.5.8 Test setelah ekuilibrase

Pengamatan kualitas semen setelah ekuilibrase dilakukan dengan cara:

- 1) menyiapkan *object glass* kemudian meneteskan semen di atas *object glass* dan menutup dengan *cover glass*;
- 2) mengamati objek di bawah mikroskop dengan perbesaran 200× atau 100×;

- 3) melakukan pengecekan terhadap motilitas, persentase spermatozoa hidup dan abnormalitas spermatozoa (BIB Poncowati, 2021).

3.5.9 Proses *pre-freezing* dan *freezing*

Proses *pre-freezing* dan *freezing* dilakukan dengan cara:

- 1) menyiapkan *box sterofom* dengan ukuran panjang 52 cm, lebar 37 cm dan 30 cm dengan ketebalan minimal 2 cm, dudukan rak *straw*, N₂ cair, dan depo kontainer;
- 2) mengisi *box sterofom* dengan N₂ cair sampai kedalaman 7 cm dari dasar *box*;
- 3) meletakkan rak *straw* di atas dudukan dengan jarak *straw* dan permukaan N₂ cair sekitar 3–4 cm selama 10 menit untuk menurunkan suhu *straw* menjadi minus 140°C;
- 4) memasukan *straw* ke dalam goblet berisi N₂ cair yang diletakkan di *box*;
- 5) memindahkan *goblet* secara cepat pada *canister* dan memasukan goblet berisi *straw* ke dalam depo kontainer sampai terendam N₂ cair dengan suhu -196°C. (BIB Poncowati, 2021).

3.5.10 Pemeriksaan spermatozoa *post thawing*

Pemeriksaan spermatozoa *post thawing* terdiri dari pemeriksaan motilitas spermatozoa, persentase spermatozoa hidup, dan abnormalitas spermatozoa.

Tatalaksana dari masing-masing pemeriksaan spermatozoa *post thawing* yaitu:

- 1) pemeriksaan motilitas spermatozoa setelah pembekuan

Pemeriksaan motilitas spermatozoa *post thawing* dilakukan dengan cara:

1. menyiapkan air hangat pada *water incubator* atau dalam termos air dengan suhu 37°C;
2. mengambil semen beku lalu *thawing* dalam air hangat dengan suhu 37°C selama 30 detik;
3. mengeringkan dengan tisu, lalu potong kedua ujung *straw*;
4. memasukkan larutan semen ke dalam *mikrotube* dan dihangatkan pada suhu sekitar 37°C;

5. meneteskan semen di atas objek glass kemudian tutup dengan cover glass;
6. melihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 10 pada beberapa lapang pandang;
7. mengamati motilitas spermatozoa menggunakan mikroskop pembesaran 10 x 40 dan diamati secara subjektif;
8. melakukan penilaian dengan cara membandingkan spermatozoa yang bergerak progresif dengan gerakan lain yang tidak progresif dan dinyatakan dalam persentase antara 0–100% dengan standar minimal kualitas semen beku adalah motilitas spermatozoa 40% (BIB Poncowati, 2021). Selaras dengan Hafez (2008), motilitas spermatozoa pada sapi yang baik berkisar antara 40–75%.

2) pemeriksaan persentase spermatozoa hidup

Pemeriksaan persentase spermatozoa hidup dilakukan dengan cara:

1. meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas objek;
2. meneteskan semen beku dengan pengencer sitrat kuning telur yang telah ditambahkan berbagai dosis vitamin;
3. menempelkan ujung gelas objek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek;
4. mengeringkan preparat ulas dengan cara menggerakkan di atas nyala lilin atau pemanas bunsen;
5. memeriksa spermatozoa yang hidup dan mati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran sedang (10 × 40) spermatozoa yang hidup tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah atau merah muda jumlah spermatozoa yang dihitung minimal 210 sel (BIB Poncowati, 2021)
6. Menurut Mumu (2009), cara menghitung persentase spermatozoa hidup dapat dilakukan dengan rumus:

$$\text{Spermatozoa hidup (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel spermatozoa hidup}}{\text{Jumlah sel spermatozoa keseluruhan}} \times 100 \%$$

3) Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara:

1. meneteskan satu tetes eosin 2% pada ujung gelas objek;
2. meneteskan semen beku yang telah dicampur dengan bahan pengencer SKT secara berturut-turut (P0, P1, P2, dan P3);
3. menempelkan ujung gelas objek yang lain atau ujung gelas penutup pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek dan mengeringkan preparat ulas di atas nyala lilin atau pemanas bunsen;
4. memeriksa spermatozoa yang abnormal ditandai dengan bentuk spermatozoa tanpa kepala, kepala tanpa ekor, ekor melingkar, kepala ganda dengan perbesaran sedang (10×40) (BIB Poncowati, 2021).

Menurut Hartono dkk. (2020), jumlah minimal spermatozoa yang harus dihitung agar didapat proporsi yang memuaskan adalah 200 sel dan jika lebih banyak sel yang dihitung maka akan semakin baik. Menurut Ridwan (2002), penghitungan spermatozoa abnormal dapat dilakukan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Spermatozoa abnormal} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{Jumlah spermatozoa yang diamati}} \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data kualitas semen yang diperoleh saat segar dan setelah ekuilibrisasi dari masing-masing perlakuan dan kontrol dilakukan analisis deskriptif, sedangkan kualitas spermatozoa *post thawing* dianalisis statistika menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf 5% dan jika berpengaruh nyata dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui antioksidan yang memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas semen.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan:

- 1) penambahan vitamin C, vitamin E, dan kombinasi keduanya pada bahan pengencer SKT berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap motilitas spermatozoa *post thawing* pada semen beku sapi Brahman, dan tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase spermatozoa hidup dan abnormalitas spermatozoa;
- 2) penggunaan antioksidan vitamin C 0,2 g/100 ml pengencer SKT memiliki pengaruh terbaik terhadap motilitas spermatozoa pada semen beku sapi Brahman dibandingkan dengan pemberian vitamin E 0,41 g/100 ml dan kombinasi keduanya.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan maka dapat diberikan saran kepada petugas Balai Inseminasi Buatan agar menambahkan antioksidan vitamin C 0,2 g/100 ml pada bahan pengencer SKT untuk meningkatkan kualitas spermatozoa pada semen beku sapi Brahman di Balai Inseminasi Buatan yang menggunakan bahan pengencer SKT.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, L. 2018. Pengaruh Penambahan Antioksidan Vitamin C dan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur dan Andromed terhadap Kualitas Spermatozoa Beku Domba Ekor Gemuk. Disertasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Aboagla, E. M. E. and T. Terada. 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology*. 62(6): 1160–172.
- Aeren, D. C. C. 2013. Perbedaan Kuantitatif dan Kualitatif pada Semen Segar Berbagai Bangsa Sapi Potong. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang.
- Aini, K., S. Suharyati, dan M. Hartono. 2014. Pengaruh jarak *straw* dengan nitrogen cair pada proses *pre freezing* terhadap kualitas semen beku sapi Limousin. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2(3): 62–70.
- Armangun, A. F., K. Uly, J. N. Kihe, H. L. Belli, and W. M. Nalley. 2022. Kualitas semen sapi bali dengan penambahan Vitamin C dan mineral Zn (Zink) dalam pengencer sitrat kuning telur. *Jurnal Nukleus Peternakan*. 9(2): 176–186.
- Aurich, J. E., U. Schoneher, H. Hoppe, and C. Aurich. 1997. Effect of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled stored stallion semen. *Theriogenology*. 48(1): 185–192.
- Badan Pusat Statistik. 2022. Kebutuhan Daging dalam Negeri Tahun 2022. Peternakan Dalam Data. Jakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2017. Semen Beku Sapi. BSN Press. Jakarta.
- Bebas, W., G. L. Buyona, dan M. K. Budiasa. 2016. Penambahan Vitamin E pada pengencer BTS terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace pada penyimpanan 15°C. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1): 1–7.

- Beconi, M. T., C. R. Francia, N. G. Mora, and M. A. Affranchino. 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservation. *Theriogenology*. 40(4): 841–851.
- BIB Poncowati. 2021. Petunjuk Teknis Pengolahan Semen Beku. Lampung Tengah. Provinsi Lampung.
- Blakely, J and H. Bade. 1992. Ilmu Peternakan IV. Terjemahan B. Srigandono. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Butar, E. 2009. Efektifitas Frekuensi Exercise terhadap Peningkatan Kualitas Semen Sapi Simmental. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara.
- Bunga, V. D., T. Susilawati, dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas semen Sapi Limousin pada pengencer yang berbeda selama pendinginan. *Journal of Tropical Animal Production*. 15(1): 13–20.
- Candra, K. Y. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum L.*) terhadap Viabilitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) yang diberi Paparan Asap Rokok. Disertasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Centola. 2018. Kesuburan Sapi Ternak Bali Jantan di Besipae, Timor. Laporan Hasil Penelitian. Fapet Undana. Kupang.
- Chandolia, R. K., E. M. Reinersten, and P. J. Hansen. 1999. Lack of breed differences in responses of bovine spermatozoa to heat shock. *Journal Dairy Sciene*. 82(12): 2617–2619.
- Connors, K. A, G., C. Amidon, and J. J Stella. 1992. Stabilitas Kimiawi Sediaan Farmasi. Terjemahan Didik Gunawan. Jilid 1 Edisi 2. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Coulter, G. H., R. B. Cook, and J. P. Kastelic. 1997. Effects of dietary energy on scrotal surface temperature, seminal quality and sperm production in young beef bulls. *Journal Animal Science*, 75(6): 1048–1052.
- Departemen Kesehatan RI. 2004. Daftar Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Dethan, A. A., Kustono, dan H. Hartadi. 2010. Kualitas dan kuantitas spermatozoa kambing Bligon jantan yang diberi pakan rumput gajah dengan suplementasi tepung darah. *Bulletin Peternakan*. 34: 145–153.
- Dirjen Peternakan dan Kesehatan Hewan. 2012. Pedoman Optimalisasi Inseminasi Buatan (IB) Tahun 2012. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementrian Pertanian. Jakarta.

- Djanuar. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Evans, G. W. and M. C Maxwell. 1987. Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths. London.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In: E. S. E. Hafez dan B. Hafez (Eds.). *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Williams dan Wilkins. USA.
- Hadi, P. U. dan N. Ilham. 2000. Peluang Pengembangan Usaha Pembibitan Ternak Sapi Potong di Indonesia dalam Rangka Swasembada Daging 2005. PSE. Bogor.
- Hafez, E. S. E. 2008. *Reproduction in Farm Animal*. 7 Th Ed. Lippincott Williams And Walkins. South Carolina.
- Hartono, M. 2008. Optimalisasi penambahan Vitamin E dalam pengencer sitrat kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen kambing Boer. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 33(1): 11–19.
- Hartono, M., S. Suharyati, P.E. Santosa, dan Siswanto. 2020. Buku Penuntun Praktikum Teknologi Reproduksi Ternak. Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Haryanto, B. 2016. Pengaruh konsentrasi putih telur terhadap sifat fisik, kadar antosianin dan aktivitas antioksidan bubuk instan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dengan metode foam mat drying. *Jurnal Kesehatan*. 7(1): 1–8.
- Hastuti, D. 2008. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan sapi potong ditinjau dari angka konsepsi dan service per conception. *Mediagro*. 4(1): 12– 20.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *JITV*. 9(2): 98–107.
- Herdis, T. M., I. Supriatna, B. Purwantara, dan R. T. S. Adikara. 2005. Optimalisasi kualitas semen cair Domba Garut (*Ovis aries*) melalui penambahan maltosa ke dalam pengencer semen tris kuning telur. *Media Kedokteran Hewan*. 21(2): 88–93.
- Hunter, R. H. F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

- Hoesni, F. 2017. Pengaruh penggunaan metode *thawing* yang berbeda terhadap kualitas spermatozoa semen sapi perah berpengencer tris sitrat kuning telur. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. 13(4): 118–126.
- Ismaya. 2014. Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau. UGM Press. Yogyakarta.
- Putra, I. M. H., W. Bebas, dan M. K Budiasa. 2019. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi Vitamin E pada pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa puyuh. *Buletin Veteriner Udayana*. 11(1): 58–64.
- Julizan, N., S. Mimunah, D. Dwiyantri, dan J. Al-Anshori. 2019. Validasi penentuan aktifitas antioksidan dengan metode DPPH. *Jurnal Kandaga*. 1(1): 41–45.
- Kusumaningrum, D. A., P. Situmorang, A. R. Setioko, T. Sugiarti, E. Triwulanningsih, dan R. S. G. Sianturi. 2002. Pengaruh jenis dan aras krioprotektan terhadap daya hidup spermatozoa entog. *JITV*. 7(4): 244–250.
- Leboeuf, B., B. Restall and S. Salamon. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Journal Animal Reproduction Science*. 62 (1–3): 113–141.
- Maesaroh, K., D. Kurnia, dan J. Al-Anshori. 2018. Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. *Chimica et Natura Acta*. 6(2): 93–100.
- Makhzoomi, A., N. Lundeheim, M. Haard, and H. Rodriguez-Martinez. 2007. Sperm morphology and fertility of progeny-tested ai Swedish Dairy Bulls. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 6(8): 975–980.
- Mathevon, M., M. Buhr and J. C. M. Dekkers. 1998. Environmental, management and genetic factors affecting semen production in Holstein Bulls. *Jurnal Dairy Science*. 81(12): 3321–3330.
- Mayes, P. A. 1995. Struktur dan Fungsi Vitamin yang Larut dalam Lemak. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Mulyono, S. 1998. Teknik Pembibitan Kambing dan Domba. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Mumu, M. I. 2009. Viabilitas semen sapi simental yang dibekukan menggunakan krioprotektan gliserol. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. 16(2): 172–179.
- Nursyam. 2007. Perkembangan IPTEK bidang reproduksi ternak untuk meningkatkan produktivitas ternak. *JITV*. 21(4): 145–152.

- Nuryadi. 2000. Dasar-Dasar Reproduksi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan ke-3. Penerbit Mutiara Sumber Widia. Jakarta.
- Pond, K. and W. Pond. 1999. Introduction to Animal Science. John Willey dan Sons, Inc. USA.
- Pratiwi, R. I., S. Suharyati, dan M. Hartono. 2014. Analisis kualitas semen beku sapi simmental menggunakan pengencer andromed dengan variasi waktu *pre freezing*. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2(3). 8–15.
- Pubiandara, S., S. Suharyati, dan M. Hartono. 2016. Pengaruh penambahan dosis rafinosa dalam pengencer sitrat kuning telur terhadap motilitas, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa sapi Ongole. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 4(4): 292–299..
- Qisthon, A. dan S. Suharyati. 2007. Pengaruh penggunaan naungan terhadap kualitas semen kambing Peranakan Ettawa. *Animal Production*. 9(1): 73–78.
- Ridwan, 2002. Fertil life dan Periode Fertil Spermatozoa Ayam Buras Pasca Inseminasi Buatan. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Savitri, F. K., S. Suharyati, dan Siswanto. 2014. Kualitas semen beku sapi Bali dengan penambahan berbagai dosis Vitamin E pada bahan pengencer skim kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2(3): 30 –36.
- Sarwono. 1995. Pengawetan dan Pemanfaatan Telur. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sayoko, Y., M. Hartono, dan P. E. Santosa. 2007. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Persentase Spermatozoa Hidup Semen Beku Sapi pada Berbagai Inseminator di Lampung Tengah. Kumpulan Abstrak Skripsi Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung, Lampung.
- Sayuti, A., T. Armansyah, dan T. N. Siregar. 2011. Penentuan waktu terbaik pada pemeriksaan kimia urin untuk diagnosis kebuntingan dini pada sapi Lokal, *Jurnal Kedokteran Hewan*. 5(1): 23 –26.
- 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.

- Simanjuntak, K. 2011. Pengaruh diet tinggi lipid terhadap timbulnya penyakit. *Bina Widya*. 22(4): 191–199.
- Situmorang, P. 2002. Pengaruh Penambahan Kolesterol terhadap Daya Hidup Spermatozoa Sapi, Itik, dan Entog. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor, 30 September –1 Oktober 2002. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Bogor.
- Sprott, L. R., T.A. Thrift, and B. B Carpenter. 1998. Breeding Soundness of Bulls. Agricultural Communications. The Texas A and M University System.
- Sudaryani, T. 2003. Kualitas Telur. Cet 4. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sukma, A. S. 2019. Pengaruh Suplementasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis dengan Berbagai Antibiotik pada Bahan Pengencer Tris Kuning Telur terhadap Kualitas Semen *Post-Thawing* dan Fertilitas Kambing Boer. Disertasi. Universitas Andalas. Aceh.
- Suryohudoyo. 2000. Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler. CV. Infomedika. Jakarta.
- Susilawati. 2011. Buku Pintar Beternak dan Bisnis Sapi Perah. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Susilawati, T., Suyadi, N. Nuryadi, Isnaini, dan S. Wahyuningsih. 1993. Kualitas Semen Sapi Fries Holland dan Sapi Bali pada Berbagai Umur dan Berat Badan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Susilawati, T., P. Srianto, Hermanto, dan E. Yuliani. 2003. Inseminasi Buatan dengan Spermatozoa Beku Hasil *Sexing* pada Sapi untuk Mendapatkan Anak dengan Jenis Kelamin Sesuai Harapan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Suyadi dan Susilawati. 1992. Pengantar Fisiologi Reproduksi LUW Animal Husbandry Project. Universitas Brawijaya. Malang.
- Syaifullah, H. dan A. Bakar. 2013. Beternak Sapi Potong. Infra Pustaka. Tangerang Selatan.
- Triana, I. N. 2005. Pengaruh Pemberian Hormon MPA (*Medroxy Progesteron Acetate*) *Intra Vaginal Sponges* terhadap Birahi dan Ovulasi pada Kambing Kacang. Skripsi. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung.

- Warsito S. S. T. dan A. Andoko. 2013. *Beternak Kambing Unggul*. Agromedia. Jakarta.
- Wijaya, A. 1996. Radikal Bebas dan Paramater Status Antioksidan. Forum Diagnostikum No.1. Lab Klinik Prodia. Jakarta.
- Yahaq, M. A., Y. S. Ondho, dan Sutiyono. 2019. Pengaruh Vitamin C dalam pengencer semen sapi Limousin yang dibekukan. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 14(4): 380–386.
- Zamuna, K. K., T. Susilawati. G. Ciptadi. dan M. Marjuki. 2015. Perbedaan kualitas semen dan produksi beku pada berbagai bangsa sapi potong. *Journal of Tropical Animal Production*. 16 (2): 01–06.