

**PENGARUH PEMBERIAN JENIS KUNING TELUR YANG BERBEDA
PADA PENGECER SITRAT TERHADAP KUALITAS SEMEN
BEKU SAPI BRAHMAN**

(Skripsi)

Oleh

**MAHFUD RIVAI
1914141008**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN JENIS KUNING TELUR YANG BERBEDA PADA PENGECER SITRAT TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN

Oleh

MAHFUD RIVAI

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

Kata kunci: kuning telur ayam ras biasa, kuning telur omega 3, kuning telur herbal, pengencer sitrat, kualitas semen, sapi Brahman.

ABSTRACT

EFFECT OF DIFFERENT EGG YOLK TYPES IN CITRATE DILUENT ON SEMEN QUALITY FROZEN BRAHMAN CATTLE

By

MAHFUD RIVAI

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

Keywords: regular breed egg yolk, omega 3 breed egg yolk, herbal breed egg yolk, citrate diluent, semen quality, Brahman cattle.

**PENGARUH PEMBERIAN JENIS KUNING TELUR YANG BERBEDA
PADA PENGECER SITRAT TERHADAP KUALITAS SEMEN
BEKU SAPI BRAHMAN**

Oleh

MAHFUD RIVAI

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PETERNAKAN

pada

**Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN JENIS KUNING
TELUR YANG BERBEDA PADA
PENGECER SITRAT TERHADAP
KUALITAS SEMEN BEKU SAPI BRAHMAN**

Nama Mahasiswa : **Mahfud Rivai**

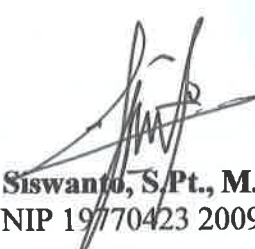
Nomor Pokok Mahasiswa : 1914141008

Jurusan : **Peternakan**

Fakultas : **Pertanian**

MENYETUJUI,

1. **Komisi Pembimbing**


Siswanto, S.Pt., M.Si.
NIP 19770423 200912 1 002


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 : **Siswanto, S.Pt., M.Si.**



Sekretaris : **drh. Madi Hartono, M.P.**



**Penguji
Bukan Pembimbing** : **Sri Suharyati, S.Pt., M.P.**



2. Dekan Fakultas Pertanian

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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 21 Juni 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, 20 Juli 2023

Yang Membuat Pernyataan



Mahfud Rivai

NPM 1914141008

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Mesuji pada tanggal 13 Agustus 1999 sebagai anak kedua dari dua bersaudara, hasil buah cinta dari pasangan Bapak Nursyahbani dan Ibu Sukayamah. Penulis menyelesaikan pendidikan taman kanak-kanak pada 2007 di Tk Dharma Wanita Simpang Pematang, pendidikan sekolah dasar pada 2013 di SD Negeri 1 Simpang Pematang, pendidikan menengah pertama pada 2016 di Madrasah Tsanawiah Negeri 1 Mesuji, pendidikan menengah atas pada 2019 di Madrasah Aliyah Negeri 1 Mesuji. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada 2019 melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri.

Selama masa perkuliahan penulis pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Desa Labuhan Makmur, Kecamatan Way Serdang, Kabupaten Mesuji, Provinsi Lampung pada 2022. Pada 2022 penulis melaksanakan Praktek Umum di peternakan Rukun Amrih Sentosa *Farm*. Pada tahun 2023 penulis melaksanakan penelitian di Balai Inseminasi Buatan poncowati, Lampung.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif di kepengurusan Himpunan Mahasiswa Peternakan (HIMAPET) dan aktif pula pada kegiatan pengabdian masyarakat bersama bapak dan ibu dosen Jurusan Peternakan. Penulis juga aktif di kegiatan memanah dan berkuda (*Horseback Archery*) di *Stable* Kuda Siger Horse Lampung pada 2021. Penulis juga aktif menjadi Badan Pengurus Harian Masjid Ulul Ilmi pada 2022. Penulis juga pernah menjadi Asisten Dosen matakuliah Mikrobiologi Peternakan dan asisten dosen mata kuliah Teknologi Reproduksi pada 2023.

MOTTO

“Sebaik-baiknya manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”

(HR. Ahmad).

"Memulai dengan penuh keyakinan
Menjalankan dengan penuh keikhlasan,
Menyelesaikan dengan penuh kebahagiaan."

(Rivai)

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah: 5-6)

"Usaha dan doa tergantung pada cita-cita. Manusia tiada memperoleh
selain apa yang telah diusahakannya."

(Jalaluddin Rumi)

SANWACANA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Jenis Kuning Telur Yang Berbeda Pada Pengencer Sitrat Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Brahman. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini dapat selesai karena adanya dukungan dari berbagai pihak.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih 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 Pembahas sekaligus Ketua. Program Studi Peternakan--atas masukan, arahan, dan bimbingan dalam menyusun skripsi ;
4. Bapak Siswanto S. Pt., M.Si.--selaku Dosen Pembimbing Utama sekaligus Pembimbing Akademik --atas bimbingan, arahan, nasehat, kritik dan saran yang membangun dalam penyusunan skripsi ;
5. Bapak drh. Madi Hartono, M.P.--selaku Dosen Pembimbing Anggota--atas arahan, nasihat dan bimbingan dalam menyusun skripsi ;
6. Ditjend Kemenristekdikti --atas beasiswa Bidik Misi yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan Pendidikan Sarjana Peternakan ;
7. Bapak Syam, Ibu Murti, Mba Riska, Mba Fauziah, Mba Iva, Bapak Des, Mas Yasir, Mas Ridho, dan seluruh petugas UPTD BIB Poncowati--atas pengalaman, pembelajaran, bimbingan, dan bantuan serta ilmu yang diberikan selama penelitian;

8. Bapak Nursyahbani, Ibu Sukayamah, kak irul, dan seluruh keluarga besar yang selalu memberikan dukungan baik moral maupun materi, semangat, perhatian, kasih sayang, doa, nasihat, motivasi dan nasihat
9. Eri, Hanif, Agus Nurwahid, Tegar dan Fatma sebagai tim penelitian semen atas kerjasama, perjuangan, perhatian, bantuan, dukungan, canda tawa, dan suka duka selama menyelesaikan penelitian dan skripsi ;
10. Ayu Angiana, Ilham, Hani, Quantum, Dini, Amel dan Andika sebagai teman dan sahabat seperjuangan KKN yang selalu memberikan doa, dukungan, canda tawa, perhatian, dan semangat ;
11. Ami Mia Sajida, Papap, Ustadz hanif, Coach Rasyid dan Coach Salim sebagai teman dan keluarga baru di Bandar Lampung yang selalu memberikan doa, dukungan baik moral maupun materi, nasihat, perhatian, canda tawa, suka duka, dan semangat ;
12. 13. Rekan – rekan pelatihan berkuda dan memenah Siger Horse Rio, Riyan, Hanip, Tegar, Eri, Denita, Tina, Nisa, dan Irma yang telah banyak mendukung dan memberikan ruang seluas-luasnya untuk belajar;
13. Rekan-rekan seperjuangan Krisna, Salim, Laras, Kusmanto dan teman – teman seperjuangan Peternakan Angkatan 2019, kakak tingkat dan adik tingkat atas segala pembelajaran, motivasi, doa, dan dukungannya.

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

Bandar Lampung, 10 Juli 2023

Penulis,

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
1.4 Kerangka Pemikiran.....	4
1.5 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Sapi Brahman	7
2.2 Fisiologis Semen Sapi.....	8
2.3 Metabolisme Spermatozoa.....	9
2.4 Pengencer Semen	9
2.5 Pengencer Sitrat	10
2.6 Telur Ayam Ras Biasa	11
2.7 Telur Ayam Ras Omega 3.....	12
2.8 Telur Ayam Ras Herbal	13
2.9 Kualitas Semen	14
2.9.1 Motilitas	14
2.9.2 Persentase hidup semen	15
2.9.3 Abnormalitas.....	16
III. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat	18
3.2 Alat dan Bahan.....	18

3.3 Rancangan Penelitian.....	19
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Penampungan semen.....	20
3.4.2 Evaluasi semen segar	20
3.4.3 Pembuatan pengencer sitrat kuning telur	20
3.4.4 Penambahan pengencer.....	22
3.4.5 <i>Filling</i> dan <i>sealing</i>	22
3.4.6 <i>Ekuilibrasi</i>	22
3.4.7 Proses sebelum pembekuan	22
3.4.8 Penilaian sebelum pembekuan	23
3.4.9 Proses pembekuan.....	23
3.4.10 Evaluasi setelah pembekuan	23
3.5 Peubah yang Diamati	25
3.6 Analis Data.....	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1 Penilaian Kualitas Semen Segar Sapi Brahman.....	26
4.2 Penilaian Kualitas Semen Sebelum Pembekuan Sapi Brahman ...	29
4.3 Penilaian Kualitas Semen Beku Sapi Brahman	31
4.3.1 Motilitas spermatozoa pasca pembekuan.....	31
4.3.2 Persentase hidup spermatozoa pasca pembekuan	34
4.3.3 Abnormalitas spermatozoa pasca pembekuan	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1 Simpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan nutrisi telur ayam ras biasa	12
2. Komposisi bahan pengencer sitrat kuning telur	21
3. Kualitas semen segar sapi Brahman.....	26
4. Hasil penilaian sebelum pembekuan spermatozoa sapi Brahman.....	29
5. Motilitas spermatozoa pasca pembekuan.....	32
6. Persentase hidup spermatozoa pasca pembekuan	35
7. Abnormalitas spermatozoa pasca pembekuan	36
8. Hasil analisis ragam motilitas spermatozoa pasca pembekuan.....	45
9. Hasil analisis ragam persentase hidup spermatozoa pasca pembekuan .	45
10. Hasil analisis ragam abnormalitas spermatozoa pasca pembekuan	45
11. Hasil uji lanjut Duncan motilitas pasca pembekuan	45
12. Hasil uji lanjut Duncan persentase hidup spermatozoa pasca pembekuan	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sapi Brahman	7
2. Bagan prosedur pembuatan semen.....	19
3. Bahan pengencer berbagai jenis kuning telur	46
4. Viabilitas spermatozoa.....	46
5. Abnormalitas spermatozoa.....	46
6. Proses ekuilibrasi	47
7. Proses <i>filling and sealing</i>	47
8. Proses koleksi semen sapi Brahman	48
9. Hasil perhitungan konsentrasi spermatozoa.....	48

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sapi Brahman merupakan ternak sapi potong unggul yang dikenal masyarakat secara umum. Sapi Brahman berasal dari India yang merupakan keturunan dari sapi Zebu (*Bos Indicus*). Sapi Brahman tergolong sebagai salah satu sapi unggul, memiliki postur yang besar dibanding sapi lokal dan sapi Brahman memiliki keunggulan yaitu mudah beradaptasi terhadap suhu panas, makanan yang sederhana dan tahan gigitan caplak (Sudarmono dan Sugeng, 2009). Kondisi ini sangat cocok untuk dikembangkan di Indonesia sebagai upaya memenuhi kebutuhan daging.

Kebutuhan akan daging untuk konsumsi masyarakat di Indonesia selalu mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk. Peningkatan produksi akan berjalan baik jika diikuti dengan peningkatan kualitas dari ternak. Peningkatan kualitas Sapi Brahman di Indonesia dapat dilakukan melalui perbaikan manajemen pemeliharaan ternak dan peningkatan mutu genetik dengan Inseminasi Buatan (Rianto, 2004). Inseminasi buatan akan berhasil jika menggunakan semen yang berkualitas baik.

Kualitas semen yang baik akan didapatkan dari bibit pejantan yang unggul. Selain dari bibit pejantan yang diambil, semen yang berkualitas juga dipengaruhi oleh bahan pengencer yang digunakan. Penambahan bahan pengencer dilakukan untuk menjaga semen agar dapat mempertahankan motilitas dan daya tahan hidup lebih lama.

Bahan pengencer dapat digunakan untuk meningkatkan volume semen dan massa semen serta menjaga motilitas spermatozoa. Pengenceran merupakan cara yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas dan volume sperma selama penyimpanan. Bahan pengencer semen yang digunakan harus bisa mempertahankan viabilitas spermatozoa sebelum digunakan pada waktunya. Syarat bahan pengencer yang baik adalah harus dapat menyediakan nutrisi, *buffer*, anti *cold shock* dan krioprotektan yang bisa melindungi dalam proses pendinginan dan pembekuan (Toelihere, 1993). Pengencer semen juga harus memungkinkan spermatozoa bergerak secara progresif dan tidak bersifat racun.

Pengencer semen yang dapat digunakan diantaranya adalah tris kuning telur, sitrat kuning telur, susu skim dan andromed. Salah satu bahan pengencer yang bisa digunakan yaitu sitrat kuning telur. Sitrat kuning telur mengandung lesitin dan lipoprotein yang dapat digunakan sebagai bahan penyangga (*buffer*) yang dapat mempertahankan dan mengatur pH sekaligus mencegah semen dari efek *cold shock* akibat penurunan suhu yang mendadak. Pengencer sitrat kuning telur juga mengandung karbohidrat yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bagi spermatozoa.

Penggunaan kuning telur dari berbagai macam jenis telur dapat digunakan dalam pengencer, berbagai jenis kuning telur yang akan digunakan yaitu telur ayam ras biasa, telur ayam ras herbal dan telur ayam ras omega 3. Bahan pengencer sitrat kuning telur dari berbagai jenis kuning telur dapat digunakan karena memiliki jumlah kandungan yang berbeda (Wulansari dan Duchu, 2019). Telur herbal memiliki lebih banyak kandungan nutrisi dan memiliki lebih banyak manfaat dibandingkan dengan telur pada ayam ras biasa dan telur ayam ras omega 3 yaitu kaya akan kandungan antioksidan (Harimurti, 2019). Kelebihan lain dari telur herbal yaitu bebas residu antibiotik kimia. Kandungan pada telur herbal yang kaya antioksidan sangat bermanfaat bagi semen. Menurut Fitri *et al.* (2016), antioksidan dapat berfungsi sebagai penetralisir radikal bebas yang dapat merusak kualitas semen.

Telur ayam ras omega 3 memiliki kandungan omega 3 yang lebih banyak dibandingkan dengan telur ayam lainnya. Omega 3 memiliki asam lemak tak jenuh ganda yang dapat mempertahankan membran sel spermatozoa. Tambahan omega 3 yang terdapat di kuning telur ayam ras omega 3 pada bahan pengencer semen dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas semen beku (Nurcholis *et al.*, 2016). Lebih lanjut Nurcholis *et al.* (2016) menambahkan bahwa terdapat pula kandungan *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFA) pada telur omega 3 yang memiliki peran penting dalam menstabilkan plasma membran dan melindungi saat proses kriopreservasi.

Sampai saat ini belum dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian berbagai jenis kuning telur yang berbeda pada pengencer sitrat sehingga dilakukan penelitian dengan menggunakan berbagai jenis kuning telur yang berbeda terhadap kualitas semen beku sapi Brahman.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. mengetahui pengaruh pemberian berbagai jenis kuning telur pada pengencer sitrat terhadap kualitas semen beku sapi Brahman;
2. mengetahui jenis kuning telur dalam bahan pengencer sitrat yang memberi pengaruh terbaik terhadap kualitas semen beku sapi Brahman.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat kepada petugas laboratorium di berbagai Balai Inseminasi Buatan mengenai jenis kuning telur terbaik dalam pengencer sitrat sebagai bahan pengencer.

1.4 Kerangka Pemikiran

Inseminasi buatan pada ternak dilakukan untuk menghasilkan ternak sapi yang memiliki kualitas yang baik. Proses memasukan semen ke dalam saluran reproduksi betina agar terjadinya kebuntingan tanpa dilakukan perkawinan alami. Keberhasilan IB dipengaruhi oleh beberapa faktor yang saling berkaitan yaitu kualitas semen yang digunakan, betina akseptor, keterampilan inseminator dan deteksi birahi oleh peternak (Susilawati, 2013).

Pentingnya menjaga kualitas semen agar tetap baik maka diperlukan upaya untuk mempertahankan kualitas semen. Untuk itu, dibutuhkan bahan yang dapat menjaga kualitas semen. Bahan pengencer mengandung nutrisi yang dibutuhkan spermatozoa. Pengenceran semen bertujuan untuk meningkatkan volume dan tidak menurunkan kualitas semen tersebut. Syarat bahan pengencer yang baik 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 (Susilawati, 2013).

Bahan pengencer yang digunakan haruslah dapat memenuhi fungsi dan syarat sebagai bahan pengencer agar tidak terjadi kerusakan sel dan penurunan kualitas semen. Salah satu komponen yang ditambahkan dalam bahan pengencer haruslah bersifat krioprotektan yang nantinya berperan dalam pembekuan semen (Toelihere, 1993). Terdapat dua macam krioprotektan yaitu krioprotektan intraseluler dan krioprotektan ekstraseluler. Krioprotektan intraseluler digunakan untuk proses pembekuan semen. Bahan krioprotektan intraseluler contohnya adalah gliserol dan etilen glikol sedangkan untuk krioprotektan ekstraseluler contohnya yaitu kuning telur, susu sapi segar dan susu skim.

Bahan pengencer semen yang dapat digunakan, salah satunya yaitu sitrat kuning telur. Penggunaan sitrat kuning telur sebagai pengencer semen dapat meningkatkan volume dan mempertahankan kualitas semen sehingga persentase

kebuntingan ketika melakukan IB akan lebih tinggi (Toelihere, 1993). Pengencer sitrat berperan sebagai *buffer* yang berfungsi untuk mempertahankan pH selama proses penyimpanan suhu dingin untuk preservasi daya tahan hidup dan fertilitas spermatozoa (Garner dan Hafez, 2008). Ditambah dengan kuning telur yang mengandung lesitin dan lipoprotein yang dapat mencegah efek *cold shock* akibat penurunan suhu yang tiba-tiba.

Kuning telur mengandung kolesterol dan karoten yang menstimulasi aktivitas *dehidrogenase suksinat*, malat dan *gliserol dehidrida fosfat* spermatozoa. Kuning telur juga mengandung komponen yang bekerja sebagai substrat oksidasi, pelindung enzim *sulfhidril* dan faktor *aglutinat* dalam plasma semen (Salisbury dan Vandemark, 1985). Pengencer kuning telur mengandung lipoprotein dan fosfolipid yang mempertahankan serta mencegah kerusakan membran spermatozoa pada proses pembekuan.

Radikal bebas yang ada pada ikatan senyawa semen dapat menyebabkan kerusakan pada semen, untuk itu dibutuhkan senyawa antioksidan yang dapat digunakan untuk menetralkan radikal bebas. Radikal bebas dapat diminimalisir dengan penambahan antioksidan (Arnanda dan Nuwarda, 2019). Kandungan antioksidan yang tinggi pada telur herbal berfungsi sebagai penetralisir radikal bebas. Adanya radikal bebas dapat merusak kualitas dari semen (Fitri *et al.*, 2016). Telur herbal juga terbebas dari residu antibiotik kimia, karena hanya menggunakan ramuan herbal dalam proses pemeliharannya. Terdapat zat bioaktif yang terkandung dalam ramuan herbal yang dapat menjadi antioksidan (Gusna, 2017).

Telur omega memiliki kandungan *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFA) dan *Docosahexaenoic Acids* (DHA) yang memiliki peran penting dalam metabolisme energi, menstabilkan plasma membran dan beberapa fungsi yang diperlukan untuk fertilisasi pada spermatozoa, asam lemak tersebut sangat penting untuk mempertahankan membran spermatozoa, motilitas spermatozoa dan kelangsungan hidup spermatozoa (Argov *et al.*, 2013). Proses kriopreservasi semen akan

menyebabkan kerusakan pada membrane spermatozoa oleh karena itu dibutuhkan perlindungan pada proses kriopreservasi. Menurut Nurcholis *et al.* (2016), kandungan PUFA dan Kandungan DHA yang berasal dari omega 3 dapat meningkatkan daya perlindungan membran plasma spermatozoa dari *cold shock*.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

1. terdapat pengaruh berbagai jenis kuning telur pada pengencer sitrat terhadap kualitas semen beku sapi Brahman;
2. terdapat jenis kuning telur dalam bahan pengencer sitrat yang memberikan pengaruh terbaik terhadap kualitas semen beku sapi Brahman.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Brahman

Sapi Brahman merupakan sapi yang berasal dari India yang merupakan keturunan dari Sapi Zebu (*Bos Indicus*). Ciri khas sapi Brahman adalah berpunuk besar dan berkulit longgar, gelambir dibawah leher sampai perut lebar dengan banyak lipatan-lipatan, telinga panjang menggantung dan berujung runcing (Pane, 1990). Bentuk tubuh sapi Brahman tersaji pada Gambar 2.



Gambar 1. Sapi Brahman

Menurut Blakely dan Bade (1992), sapi Brahman memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut :

Phylum : *Chordata*;

Sub-phylum : *Vertebrata*;

Clas : *Mamalia*;

Sub-class : *Eutheria*;
Ordo : *Artiodactyla*;
Infra-ordo : *Pecora*;
Family : *Bovidae*;
Genus : *Bos*;
Group : *Taurinae*;
Species : *Bos indicus*;

Sapi Brahman adalah tipe sapi potong dengan persentase karkas 45--50 %. Bobot sapi Brahman jantan berkisar antara 800--1100 kg, sedangkan betinanya sekitar 500--700 kg. Saat lahir, anak sapi Brahman berbobot 30 kg dengan pertumbuhan bobot harian dapat mencapai 0,83--1,5 kg (Santoso dan Andoko, 2012).

2.2 Fisiologis Semen Sapi

Semen merupakan zat cair yang keluar dari tubuh melalui penis sewaktu kopulasi. Semen terdiri dari bagian yang ber-sel dan bagian yang tidak bersel. Sel-sel hidup yang bergerak disebut spermatozoa dan yang cair tempat sel bergerak dan berenang disebut seminal plasma (Yendraliza, 2008). Spermatozoa adalah sel kelamin (gamet) yang diproduksi di dalam testis melalui proses spermatogenesis yang bersama-sama dengan plasma semen akan dikeluarkan melalui saluran kelamin jantan untuk membuahi sel telur (Toelihere, 1993).

Plasma semen merupakan sarana transportasi saat melewati saluran saluran reproduksi jantan ketika ejakulasi, mengaktifkan medium untuk sperma non motil dan sebagai bahan penyangga yang kaya kandungan nutrisi serta berperan membantu sperma tetap hidup setelah dipindahkan kedalam saluran kelamin betina (Evans dan Maxwell, 1987). Spermatozoa merupakan komponen terpenting dari semen yang mempunyai fungsi utama dalam pembuahan. Setiap hewan memiliki sifat semen yang berbeda-beda, perbedaan tersebut terletak pada volume, kekentalan, pH, konsentrasi, warna dan baunya (Toelihere, 1993).

Spermatozoa normal terdiri dari kepala dan ekor, kepala berbentuk oval memanjang lebar dan datar, berisi materi inti dan kromosom DNA yang bersenyawa protein untuk membawa informasi genetik (Hafez, 1993).

2.3 Metabolisme Spermatozoa

Menurut Mann (1964), reaksi yang menghasilkan energi di dalam semen hanya berlangsung pada spermatozoa. Menurut Toelihere (1993), energi untuk motilitas spermatozoa berasal dari perombakan *Adenosin Triphosphat* (ATP) di dalam selubung mitokondria melalui reaksi-reaksi penguraiannya menjadi *Adenosin Diphosphat* (ADP) dan *Adenosine Monophosphate* (AMP). *Adenosin Triphosphat* (ATP) adalah energi yang diperlukan sebagai sumber energi bagi sel spermatozoa, ATP akan di konversikan menjadi ADP yang menghasilkan 7.000 kalori per mol energi. Kemudian Toelihere (1993), melanjutkan bahwa dalam kebanyakan aktivitas fisiologik, sumber energi tersebut didapatkan dari hidrat arang atau lemak.

Ditemukan empat bahan organik di dalam semen yang dapat dipakai secara langsung atau tidak langsung oleh spermatozoa sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup dan motilitasnya. Bahan-bahan tersebut adalah fruktosa, sorbitol, GPC dan plasmalogen. Dalam pengaplikasiannya, keempat bahan tersebut dapat digunakan secara langsung apabila tersedia oksigen yang secara normal terdapat dalam semua bagian saluran kelamin betina.

2.4 Pengencer Semen

Menurut Herdis dan Kusuma (2003), pengencer yang sering digunakan untuk pengenceran semen adalah Tris-kuning telur, sitrat-kuning telur, susu segar-kuning telur, susu skim-kuning telur, AndroMed, dan laktosa-kuning telur. Karbohidrat yang terkandung di dalam bahan pengencer mempunyai beberapa fungsi yaitu sebagai sumber energi, mengatur tekanan osmotik dan sebagai krioprotektan ekstraseluler (Herdis *et al.*, 2008).

Pengenceran semen bertujuan untuk meningkatkan dan memperbanyak volume semen serta menunjang daya hidup spermatozoa. Syarat bahan pengencer semen yaitu memiliki kandungan nutrisi yang baik yang dijadikan sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa (Toelihere, 1993).

Menurut Arifiantini dan Yusuf (2006), bahan pengencer yang mengandung kuning telur, susu skim dan susu sapi segar dapat melindungi spermatozoa selama proses pendinginan dan pembekuan. Untuk menghasilkan semen beku yang berkualitas tinggi dibutuhkan bahan pengencer seperti *buffer* dan krioprotektan yang dapat melindungi dan mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pendinginan, pembekuan dan *thawing*. Kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang berfungsi untuk mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein spermatozoa.

Menurut Rizal dan Herdis (2008), untuk meminimalkan kerusakan sel dapat dilakukan dengan menambahkan zat tertentu ke dalam pengencer semen. Salah satu komponen yang dapat ditambahkan ke dalam bahan pengencer adalah krioprotektan. Krioprotektan terdiri atas dua macam, yaitu krioprotektan intraseluler dan krioprotektan ekstraseluler. Krioprotektan intraseluler contohnya adalah gliserol dan etilen glikol. Ekstraseluler contohnya adalah kuning telur, susu sapi segar dan susu skim.

Bahan pengencer mengandung zat-zat makanan yang berfungsi sebagai sumber energi dan tidak bersifat racun bagi spermatozoa, dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*), menghambat pertumbuhan mikroba serta bersifat sebagai penyangga (Salisbury, 1985).

2.5 Pengencer Sitrat

Sodium sitrat merupakan bahan pengencer yang mengandung *buffer* yang mempunyai peran sebagai penyangga atau mempertahankan pH selama proses penyimpanan suhu dingin dalam pengencer kuning telur untuk preservasi daya

tahan hidup dan fertilitas spermatozoa (Garner dan Hafez, 2008). Sitrat berfungsi mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit. *Buffer* berfungsi sebagai penyangga, menjaga keseimbangan pH. Penggunaan pengencer sitrat perlu ditambahkan juga kuning telur, karena di dalam kuning telur terdapat lipoprotein dan lesitin yang dapat mengurangi efek *cold shock* bagi spermatozoa, sehingga kerusakan pada saat pengenceran, pendinginan dan pembekuan berkurang.

Gliserol dalam pengencer berfungsi sebagai *cryoprotectant* yaitu perlindungan spermatozoa terhadap efek letal pada saat pembekuan. Kuning telur dan susu melindungi spermatozoa dari kerusakan yang disebabkan oleh peroksidasi lipid (Jones dan Mann, 1977).

2.6 Telur Ayam Ras Biasa

Kuning telur dapat dijadikan bahan pengencer semen karena selain harganya yang murah dan mudah didapat, kuning telur sendiri mempunyai banyak kandungan nutrisi diantaranya protein, vitamin, mineral, lemak di mana komponen ini juga ada pada semen dan dibutuhkan oleh spermatozoa. Kuning telur juga mempunyai kandungan lipoprotein dan lesitin yang akan mempertahankan dan melindungi spermatozoa dari integrasi selubung lipoprotein dan juga melindungi dari kejutan dingin (*cold shock*). Penggunaan kuning telur pada preservasi semen ternak mamalia umumnya adalah 20 % (Ducha *et al.*, 2012).

Telur ayam Ras utuh terdiri atas beberapa komponen, yaitu air 66 % dan bahan kering 34 % yang tersusun atas protein 12 %, lemak 10 %, karbohidrat 1 %, dan abu 11 %. Di dalam bahan kering terdapat kandungan protein, lemak dan abu yang hampir sama banyak, yang paling sedikit adalah kandungan karbohidrat. Kuning telur adalah salah satu komponen yang mengandung nutrisi terbanyak dalam telur. Kuning telur mengandung air sekitar 48% dan lemak 33% (Akoso, 1993). Kandungan nutrisi telur ayam ras biasa dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kandungan nutrisi telur ayam ras biasa

Komponen (satuan)	Jumlah	Komponen (satuan)	Jumlah
Egg shell (%)	10,5	Calcium (mg)	56,0
Egg yolk (%)	31,0	Magnesium (mg)	12,0
Egg white (%)	58,5	Iron (mg)	2,1
Water (g)	74,5	Phosphorus (μ g)	180,0
Energy (Kcal)	162,0	Zinc (mg)	1,44
Protein (g)	12,1	Thiamine (mg)	0,09
Carbohydrates (g)	0,68	Riboflavin (mg)	0,3
Lipids (g)	12,1	Niacin (mg)	0,1
Saturated fatty acids (g)	3,3	Folic acid (μ g)	65,0
Monounsaturated fatty acids (g)	4,9	Cyanocobalamin (μ g)	66,0
Polyunsaturated fatty acids (g)	1,8	Pyridoxine (mg)	0,12
Cholesterol (mg)	410,0	Retinol equivalents (μ g)	227,0
Iodine (μ g)	12,7	Potassium (mg)	147,0
Tocopherols (μ g)	1,93	Carotenoids (μ g)	10,0
Selenium (μ g)	10,0	Cholecalciferol (μ g)	1,8

Sumber: Miranda *et al.*(2015)

Khasiat kuning telur terletak pada lipoprotein dan lesitin yang terkandung di dalamnya yang bekerja mempertahankan dan melindungi integrasi selubung lipoprotein dari sel spermatozoa. Kuning telur juga mengandung glukosa, yang lebih suka digunakan oleh sel-sel spermatozoa sapi untuk metabolisme daripada fruktosa yang terdapat di dalam semen, sebagai protein, vitamin yang larut di dalam air maupun yang larut di dalam minyak dan mungkin memiliki viskositas yang mana ini menguntungkan bagi spermatozoa (Feradis, 2010).

2.7 Telur Ayam Ras Omega 3

Telur omega-3 merupakan telur yang kandungan omega-3 nya jauh lebih besar dari telur biasa. Asam lemak tak jenuh ganda atau omega 3 sangat berperan dalam mempertahankan membran sel spermatozoa pada khususnya ternak ruminansia. Menurut Nichols *et al.* (2014), minyak ikan salmon mengandung *Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)* 35,5%, *Saturate Fatti Acids (SFA)* sebanyak 1970 mg, *Eicosa Pentaenoic Acid (EPA)* 180 mg dan *Docosahexaenoic Acids (DHA)* 120 mg. Selain pada minyak, omega 3 dapat ditemukan juga pada produk hewani seperti omega 3 pada telur ayam omega 3. Telur ayam omega 3 mengandung 31,18% PUFA, 31 mg DHA dan 2966 mg SFA (Polat *et al.*, 2011).

Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) memiliki peran penting dalam metabolisme energi, menstabilkan plasma membran dan beberapa fungsi yang diperlukan untuk fertilisasi pada spermatozoa. Menurut Zachut *et al.* (2011), spermatozoa mamalia memiliki rantai panjang *polyunsaturated* asam lemak dari keluarga n-3, khususnya *docosahexaenoic acid* (DHA ; C22 : 6n-3). Asam lemak tersebut sangat penting untuk integritas membran spermatozoa, motilitas spermatozoa dan kelangsungan hidup spermatozoa. Jumlah omega 3 –PUFA di spermatozoa dan pada plasma membran menurun dengan bertambahnya usia pada ternak. Sehingga meningkatnya kerentanan rusaknya sperma menjadi mudah (Argov *et al.*, 2013).

Proses kriopreservasi semen akan menyebabkan kerusakan pada membran spermatozoa oleh karena itu dibutuhkan perlindungan pada proses kriopreservasi. Menurut Nurcholis *et al.* (2016), kandungan PUFA dan Kandungan DHA yang berasal dari omega 3 dapat meningkatkan daya perlindungan membran plasma spermatozoa dari *cold shock*.

2.8 Telur Ayam Ras Herbal

Ramuan herbal berfungsi sebagai antibiotik alami yang dapat meningkatkan ketahanan tubuh unggas. Terdapat zat bioaktif yang terkandung dalam ramuan herbal dapat menjadi antioksidan dan dapat mempengaruhi kadar lemak (Gusna, 2017). Ramuan herbal yang mengandung zat bioaktif yang bersifat antibakteri diantaranya *fenol*, *alichin* dan *terpenoid* yang dapat merusak dinding sel bakteri. Mekanisme kerja dalam membunuh mikroba dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak atau menghambat sintesis membran sel (Cowan, 1999).

Bahan pengencer sitrat memerlukan kuning telur yang berkualitas baik sebagai bahan pengencer semen yang dapat memenuhi kebutuhan nutrisi semen tersebut. Telur herbal kaya akan antioksidan alami yang tinggi, kolesterol yang rendah, tidak memicu alergi dan bebas dari bakteri *Salmonella* (Harimurti, 2019).

Tingginya antioksidan yang terdapat pada telur herbal sangat baik untuk semen. kandungan antioksidan berfungsi sebagai penetralisir radikal-radikal bebas yang dapat merusak kualitas semen (Fitri *et al.*, 2016). Kandungan lain yang dimiliki telur herbal diantaranya rendah lemak jenuh, kaya antioksidan alami, fraksi protein yang tinggi, mengandung omega 3, 6 dan 9, kaya akan *flavonoid* dan *fosfolipid*. (Harimurti, 2019).

2.9 Kualitas Semen

2.9.1 Motilitas

Motilitas atau daya gerak spermatozoa umumnya digunakan sebagai ukuran kesanggupan membuahi suatu sampel semen. Panas yang berlebihan dan bahan kimia atau benda asing lainnya akan menurunkan daya gerak sel kelamin jantan. Motilitas spermatozoa di dalam suatu sampel semen ditentukan secara keseluruhan atau sebagai rata-rata dari suatu populasi sperma (Toelihere, 1993).

Motilitas diamati berdasarkan persentase spermatozoa yang mati dan kualitas pergerakannya, walaupun spermatozoa tidak memerlukan kemampuan dari tempat deposisi semen ke tempat fertilitas namun motilitas diperlukan pada bagian tertentu misalnya pada saat melewati mukosa uterus (Hunter, 1995).

Menurut Arifiantini *et al.* (2010), motilitas adalah gerak maju kedepan dari spermatozoa secara progresif, gerakan progresif (maju kedepan) menjadi patokan yang diperhitungkan. Sperma yang bergerak berputar-putar atau bergerak di tempat apalagi tidak bergerak sama sekali tidak bisa dijadikan sebagai tolak ukur penilaian kualitas semen. Motilitas spermatozoa yang layak untuk dilakukan IB yaitu minimal 40 %. Sedangkan persentase hidup dibawah 40% tidak lagi dilakukan pengamatan (Hafez, 1993).

Gerak individu spermatozoa dapat diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x pada suhu yang dijaga konstan 37° C dengan menggunakan *cover glass* kemudian menentukan proporsi (persentase) spermatozoa yang bergerak progresif (Susilawati, 2011). Menurut Toelihere (1993), mengklasifikasikan gerak individu spermatozoa mulai dari pergerakan progresif atau gerak maju yang merupakan gerak terbaik, gerak mundur dan gerak melingkar sering merupakan tanda-tanda *cold shock*, gerakan berayun atau berputar-putar di tempat sering terlihat pada semen yang tua, kemudian apabila spermatozoa banyak yang berhenti bergerak dianggap mati. Gerakan maju yang kuat pada spermatozoa merupakan indeks daya hidup yang penting dalam populasi spermatozoa.

Penilaian motilitas individu ini dilihat berdasarkan pada spermatozoa yang bergerak progresif kedepan (pergerakan mundur dan melingkar tidak ikut disertakan) dibandingkan dengan spermatozoa yang diam di tempat (Toelihere, 1993; Garner dan Hafez, 2008; Susilawati, 2013; Ismaya, 2014).

Gerakan spermatozoa normal pada umumnya adalah pergerakan progresif atau gerakan aktif maju ke depan. Gerakan melingkar dan gerakan mundur merupakan tanda-tanda akibat dari *cold shock*. Gerakan berputar di tempat sering terlihat pada semen yang sudah tua, apabila banyak spermatozoa yang telah berhenti bergerak maka dianggap mati (Feradis, 2010).

2.9.2 Persentase hidup semen

Sperma yang hidup dapat diketahui dengan pengecatan atau pewarnaan dengan menggunakan *eosin*. *Eosin* dapat dibuat dari serbuk eosin yang dilarutkan dalam *aquadest* dengan konsentrasi 1 : 9, kemudian sperma ditetesi dengan larutan *eosin* dan diratakan, kemudian di angin-anginkan, setelah itu dilihat di bawah mikroskop. Sperma yang tercat atau berwarna merah berarti sperma itu mati, sedangkan yang tidak terwarnai atau tidak tercat berarti sperma itu hidup (Mulyono, 1998).

Pengamatan yang dilakukan terhadap jumlah spermatozoa hidup dari satu lapangan pandang dan dinyatakan dalam persen dengan prinsip metode pewarnaan *eosin* yakni terjadinya penyerapan zat warna *eosin* pada spermatozoa yang mati pada saat pewarnaan tersebut dilakukan. Hal ini karena membran pada spermatozoa yang mati tidak *permeable* (tidak selektif) terhadap zat warna atau memiliki afinitas yang rendah sehingga menyebabkan spermatozoa yang mati berwarna merah (Partodihardjo, 1992).

Perbedaan zat warna antara sel-sel sperma yang mati dan yang hidup digunakan untuk melindungi jumlah sperma hidup secara objektif pada waktu semen segar dicampur dengan zat warna (*eosin* 2%). Sel-sel sperma yang hidup tidak atau sedikit sekali menghisap warna sedangkan yang mati akan mengambil warna karena permeabilitas dinding meningkat sewaktu mati. Tujuan pewarnaan diferensial adalah untuk mengetahui persentase sel-sel sperma yang mati dan yang hidup (Hafez, 1993). Toelihere (1993) menyatakan bahwa standar persentase sel hidup sperma beku yang baik yaitu diatas 50%.

2.9.3 Abnormalitas

Toelihere (1993) mengklasifikasikan abnormalitas dalam abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer meliputi kepala yang terlampau besar (*macrocephalic*), kepala terlampau kecil (*microcephalic*), kepala pendek melebar, pipih memanjang, *piriformis*, kepala rangkap, ekor ganda; bagian tengah melipat, membengkok, membesar, bertaut *abaxial* pada pangkal kepala dan ekor melingkar, putus atau terbelah. Abnormalitas sekunder termasuk ekor yang putus, kepala tanpa ekor, bagian tengah yang melipat, adanya butiran-butiran protoplasma proksimal atau distal dan akrosom yang terlepas.

Setiap spermatozoa yang abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa memandang apakah abnormalitas tersebut terjadi di dalam tubuli seminiferi, dan epididimis atau oleh perlakuan yang tidak legeartis terhadap ejakulat. Selama abnormalitas spermatozoa belum mencapai 20% dari contoh semen, maka semen

tersebut masih dapat dipakai untuk inseminasi (Toelihere, 1993). Kelainan bentuk sperma diakibatkan oleh *cold shock*, panas, sinar X dan ketidak seimbangan nutrisi yang dapat mempengaruhi spermatogenesis. Kualitas semen yang baik memiliki jumlah sperma abnormal 5--15 % (Campbell dan Lasley, 1977) kemudian Partodihardjo (1992), juga menyatakan bahwa abnormalitas yang lebih dari 20% menunjukkan kualitas spermatozoa yang jelek.

Dari hasil pemeriksaan Susilawati *et al.* (2003) abnormalitas spermatozoa ditemukan berupa kepala tanpa ekor, lebih lanjut bahwa abnormalitas morfologi spermatozoa diklasifikasikan pada lima kategori yaitu: ekor, bentuk kepala abnormal, bentuk ekor abnormal, bentuk morfologi sel spermatozoa yang dilaporkan oleh Hafez (2000) berpengaruh terhadap pembuahan, jika jumlah abnormalitas spermatozoa terlalu tinggi maka akan menurunkan fertilitasnya.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada 25--30 Januari 2023 di Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Poncowati Lampung, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah: vagina buatan, tabung penampung berskala, labu didih dan penangas, timbangan elektrik, spatula, gelas ukur, kertas label, kertas *whatman*, *waterbath erlenmeyer*, tabung reaksi, pipet tetes, *cold top*, *incubator*, *container*, gunting, pinset, kertas tisu, *stopwatch*, thermometer, mikroskop, *spektrofotometer*, *micropipet*, mesin *filling and sealing*, pH meter, *boks tempat prefreezing*, *counter number*, alat hitung., kaca preparat , gelas penutup, kamera, aluminium foil, oven sterilisasi alat, rak straw, mikro pipet dan alat tulis.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: Semen segar sapi Brahman, , sodium sitrat, *aquabidestilata*, air hangat, NaCl fisiologis, lubrikan, telur ayam Ras biasa, telur ayam Ras herbal, telur ayam Ras omega 3, antibiotik *Penicillin 1000 IU*, antibiotic *streptomycin* 1 ml, alkohol 70%, fruktosa, eosin 2%, nitrogen cair dan gliserol.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan. Setiap perlakuan dilakukan 6 pengulangan. Perlakuan yang dicobakan adalah penambahan berbagai jenis kuning telur pada pengencer sitrat sebagai berikut :

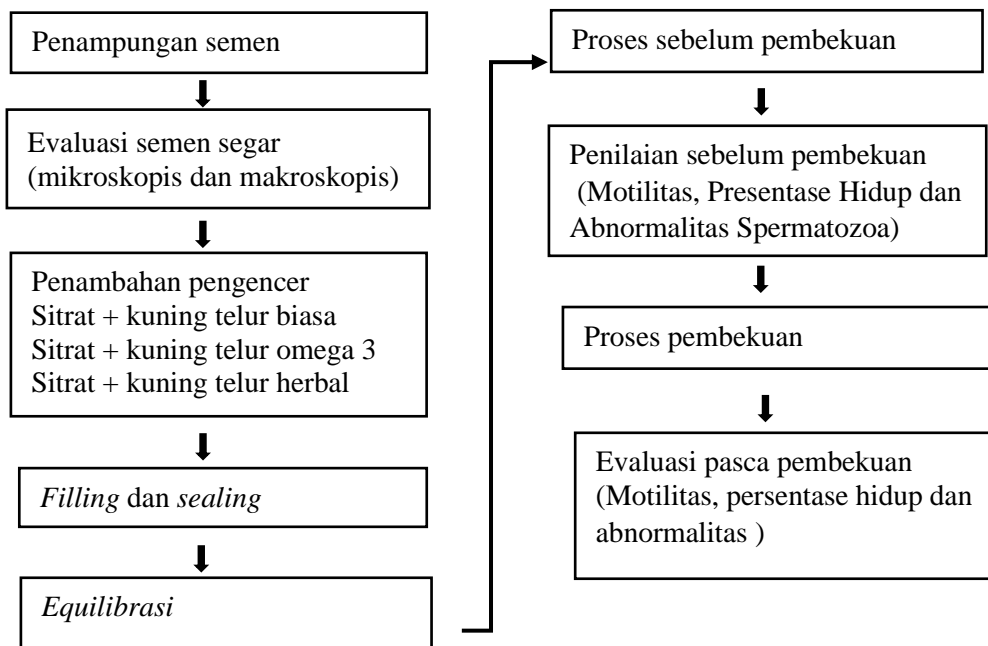
P1 : kuning telur ayam ras biasa dalam pengencer sitrat

P2 : kuning telur ayam ras omega 3 dalam pengencer sitrat

P3 : kuning telur ayam ras herbal dalam pengencer sitrat

3.4 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium UPTD-BIBD Lampung yang meliputi proses pembuatan pengencer sitrat kuning telur, penampungan semen, pemeriksaan kualitas semen segar, dan pemeriksaan kualitas semen beku berupa motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa, dan abnormalitas spermatozoa. Proses pengujian kualitas semen yang dilakukan di UPTD BIB Poncowati Lampung dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bagan prosedur pengujian kualitas semen

3.4.1 Penampungan semen

Proses penampungan semen dimulai dari persiapan tempat penampungan semen, vagina buatan, *bull teaser*, dan pejantan yang akan dikoleksi semennya.

Penampungan semen dilakukan pada pagi hari karena pada pagi hari libido sapi pejantan lebih tinggi dibandingkan dengan siang hari. Pejantan yang akan ditampung semennya harus diberi makan dan dimandikan terlebih dahulu agar semen yang dihasilkan lebih optimal dan tidak terkontaminasi kotoran yang ada di tubuh pejantan. Semen pejantan ditampung apabila penis berwarna merah dan keras kemudian pejantan telah melakukan *false moulting* 3 kali dan sudah mengeluarkan cairan aksesori.

3.4.2 Evaluasi semen segar

Semen segar yang didapatkan setelah ditampung dari pejantan segera dilakukan penilaian. Evaluasi semen dilakukan untuk mengetahui semen yang ditampung layak untuk dilakukan proses selanjutnya. Evaluasi semen meliputi pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi, dan pH sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi gerakan massa, motilitas, abnormalitas, konsentrasi dan persentase hidup mati spermatozoa.

Semen yang memenuhi syarat apabila motilitas ≥ 70 %, persentase hidup spermatozoa >50 % dan persentase abnormalitas tidak lebih dari 20% diencerkan dengan pengencer.

3.4.3 Pembuatan pengencer sitrat-kuning telur

Pembuatan pengencer sitrat kuning telur dilakukan dengan pembuatan *buffer* dan pembuatan pengencer. Komposisi bahan pengencer sitrat kuning telur terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi bahan pengencer sitrat kuning telur

Bahan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
Na Sitrat (g)	2,9	2,9	2,9
Fruktosa (g)	2,5	2,5	2,5
Penisilin (100.000 IU/ 100 ml)	0,3	0,3	0,3
Streptomisin (ml)	0,1	0,1	0,1
Gliserol (ml)	0,6	0,6	0,6
Kuning telur (ml)	20	20	20
Aquabides (ml)	74	74	74

Sumber : Balai Inseminasi Buatan Lembang, 2016

Keterangan : P1 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras biasa.

P2 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras omega 3.

P3 : pengencer sitrat + kuning telur ayam ras herbal

3.4.3.1 Pembuatan *buffer*

Pembuatan *buffer* dilakukan dengan cara:

1. menimbang 4,35 g Na-sitrat kemudian masukan kedalam tabung erlenmeyer;
2. menambahkan fruktosa 3,75 g;
3. menambahkan aquabidest hingga 150 ml dan mengaduk hingga rata.
4. menambahkan antibiotik penicillin 3 ml dan streptomycin 1,5 ml kemudian mengaduk hingga merata.

3.4.3.2 Pembuatan pengencer.

Pembuatan pengencer dilakukan dengan cara:

1. menakar gliserol sebanyak 6 ml;
2. menyiapkan telur segar dan membersihkan kulitnya menggunakan kapas beralkohol 70%;
3. memecahkan kulit telur hingga $\frac{1}{3}$ -- $\frac{1}{2}$ bagian dengan menggunakan pinset steril. Membuang semua cairan putih telur, kuning telur yang utuh dan terbungkus selaput vitelin dipindahkan ke atas kertas hisap untuk menghilangkan cairan putih telur yang tersisa;
4. memecahkan selaput vitelin dan mengalirkan kuning telur kedalam gelas ukur tanpa selaput vitelinnya sebanyak 30 ml;

5. menuangkan kuning telur dan gliserol yang telah ditimbang ke dalam erlenmeyer kemudian menambahkan larutan buffer sebanyak 114 ml dan mengaduk hingga rata.

(BIB Poncowati, 2012)

3.4.4 Penambahan pengencer

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

3.4.5 *Filling dan sealing*

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

3.4.6 *Ekuilibrasi*

Semen yang telah terisi ke dalam straw kemudian disimpan ke dalam *cool top*. Proses ini disebut ekuilibrasi. *Ekuilibrasi* merupakan waktu yang dibutuhkan spermatozoa sebelum pembekuan untuk menyesuaikan diri dengan pengencer supaya waktu pembekuan dapat mencegah kematian spermatozoa yang berlebihan. *Ekuilibrasi* dilakukan di dalam mesin *cool top* selama 4 jam hingga suhu $4--5^{\circ}$ C.

3.4.7 Proses sebelum pembekuan

Proses sebelum pembekuan semen dilakukan dengan cara meletakkan straw menggunakan boks di atas uap nitrogen selama 10 menit pada kisaran suhu -140° C. Boks yang digunakan untuk proses sebelum pembekuan diisi dengan dengan

nitrogen cair dengan batas ketinggian 10 cm. Jarak permukaan nitrogen cair dalam boks dengan straw ± 6 cm. (BIB Poncowati, 2012).

3.4.8 Penilaian sebelum pembekuan

Penilaian sebelum pembekuan dilakukan untuk mengetahui motilitas individu, persentase spermatozoa hidup dan abnormalitas. Pada penilaian sebelum pembekuan motilitas yang digunakan sesuai syarat IB yaitu minimal 55% dan gerakan individu minimal +2. Jika semen memenuhi kriteria maka akan dilakukan proses selanjutnya (BIB Poncowati, 2021).

3.4.9 Proses pembekuan

Proses pembekuan merupakan proses membekukan semen yang telah melewati proses sebelum pembekuan. Proses pembekuan dilakukan di dalam kontainer yang berisi nitrogen cair dengan temperatur -196°C . Semen beku harus selalu terendam nitrogen cair (BIB Poncowati, 2021).

3.4.10 Evaluasi pasca pembekuan

3.4.10.1 Pemeriksaan motilitas spermatozoa pasca pembekuan

Pemeriksaan motilitas dilakukan dengan cara :

1. menyiapkan air hangat pada water inkubator atau dalam termos air dengan suhu 37°C ;
2. mengambil 2 dosis semen beku lalu thawing dalam air hangat dengan suhu 37°C selama 30 detik;
3. keringkan dengan tisu, kemudian potong kedua ujung straw.
4. masukan larutan semen ke dalam mikrotub dan dihangatkan pada suhu sekitar 37°C ;
5. meneteskan diatas *objek glass* kemudian tutup dengan *cover glass*;

6. mengamati motilitas spermatozoa dengan mikroskop pada perbesaran 10 x 10 pada beberapa lapang pandang;
7. melakukan penilaian terhadap motilitas spermatozoa (membandingkan sperma yang progresif dan tidak progresif) (BIB Poncowati, 2021).

3.4.10.2 Pemeriksaan persentase spermatozoa hidup pasca pembekuan

Pemeriksaan persentase spermatozoa hidup dilakukan dengan cara :

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

Menurut Kristanto (2004) menghitung spermatozoa yang hidup dengan rumus:

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

3.4.10.3 Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa pasca pembekuan

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa dilakukan dengan cara :

1. meneteskan satu tetes eosin 2 % pada ujung gelas objek;
2. meneteskan semen beku dengan ukuran yang sama dengan pewarna pada ujung gelas objek yang sama;
3. menempelkan ujung gelas objek yang lain pada kedua cairan sehingga keduanya bercampur, kemudian didorong ke ujung gelas objek ;
4. memeriksa spermatozoa yang abnormal menggunakan mikroskop pada perbesaran 10 x 40 dan menentukan abnormalitas Spermatozoa sesuai dengan kriteria yang ada.

Menurut Kristanto (2004) menghitung spermatozoa yang abnormal dengan rumus :

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

3.5 Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati yaitu :

1. motilitas spermatozoa minimal;
2. persentase spermatozoa hidup minimal;
3. abnormalitas spermatozoa.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *analysis of varian* (ANOVA) pada taraf 5% dan atau 1 %. Apabila hasil anova menunjukkan pengaruh berbeda nyata, maka analisis akan dilanjutkan uji lanjut menggunakan Uji *Duncan*.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. pemberian berbagai jenis kuning telur pada pengencer sitrat berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase motilitas spermatozoa dan persentase hidup spermatozoa saat pasca pembekuan, namun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa;
2. jenis kuning telur ayam ras biasa pada pengencer sitrat memberikan pengaruh terbaik dibandingkan jenis kuning telur ayam ras omega 3 dan jenis kuning telur ayam ras herbal.

5.2 Saran

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

DAFTAR PUSTAKA

- Akoso, B. T. 1993. Manual Kesehatan Unggas. Kanisius. Yogyakarta.
- Argov, A. N., K. Mahgrethe, Y. Zeron, and Z. Roth. 2013. Variation in lipid profiles within semen compartments the bovine model of aging. *Theriogenology*. 80 (7) : 712 --721.
- Arifiantini R.I. 2016. Pengembangan Teknik Produksi Semen Beku Sapi di Indonesia. IPB Press. Bogor.
- Arifiantini R.I. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Ternak. IPB Press. Bogor.
- Arifiantini, R. I. and B. Purwantara . 2010. Motility and viability of Friesian Holstein spermatozoa in three different extender stored at 50⁰ C. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. 35 (4) : 222--226.
- Arifiantini, R. I. dan T. L. Yusuf. 2006. Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen sapi Frisien Holstein. *Jurnal Majalah Ilmiah Peternakan*. 9 (3) : 89--93.
- Arnanda, Q. P. dan R. F. Nuwarda. 2019. Penggunaan radiofarmaka teknesium-99m dari senyawa *glutation* dan senyawa flavonoid sebagai deteksi dini radikal bebas pemicu kanker. *Farmaka*. 17 (2) : 236--243.
- Astuti, S.W., S. Dwi, dan Ismaya. 2009. Pengaruh Aras Kuning Telur dan Jenis Agen Kryoprotektan dalam Pengencer Tris terhadap Kualitas dan Fertilitas Spermatozoa Domba Lokal. Thesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Badan Standardisasi Nasional. 2005. Semen Beku Sapi. BSN. Jakarta.
- Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung Tengah. 2021. Standar Operasional Prosedur. BIBD Lampung Tengah. Lampung.
- Balai Inseminasi Buatan Poncowati. 2012. Standar Operating Procedure (SOP) Produksi Mani Beku. Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Lampung UPTD Balai Inseminasi Buatan. Lampung.

- Bearden, H. J. and J. W. Fuquary. 2000. Applied Animal Reproduction. 5th ed. Prentice Hall. Upper saddle River. New Jersey.
- Blakely, J. dan D. H. Bade. 1992. Pengantar Ilmu Peternakan. Penerjemah: B. Srigandono. Cet. Ke-2. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Campbell, J. R. and J. F. Lasley. 1977. The Science of Animal that Serve Menkind. Tata Mc. Graw Hill Company. New Delhi.
- Centola, G. M. 2018. Semen Analisis. In. Skinner, M. K (ed). Encyclopedia of Reproduction. Publisher Elsevier Science Publishing Co Inc, USA.
- Cowan, M. M. 1999. Plant product as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*. 12 (4) : 564--582.
- Ducha, N., T. Susilawati, A. Aulani, S. Wahyuningsih, and M. Pangestu. 2012. Ultrastructure and fertilizing ability of Limousin bull sperm after storage in cep-2 extender with and without egg yolk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 15 (20) : 979-985.
- Evans, G. W. and M. C. Maxwell. 1987. Salamons Artificial Insemination of Sheep and Goat. Butterworths. London.
- Fauziah, S., Ismaya, dan S. Bintara. 2014. Pengaruh Aras Kuning Telur Angsa (*Anatidae anser*) dalam Pengencer Sitrat dan Lama Penyimpanan yang Berbeda terhadap Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas Sperma Kambing Bligon yang Disimpan pada Suhu 5⁰ C. Skripsi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Fitri, N. L., R. E. Susetyarini, and L. Waluyo. 2016. The effect of ciplukan (*Physalis angulata L*) fruit extract on SGPT and SGOT levels against white male mice (*Mus musculus*) hyperglycemia induced by alloxan as biology learning resources. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 2 (2) : 180--187.
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma. Reproduction in Farm Animal. 7th eds. Edited by Hafez ESE, Hafez, B. Baltimore. Lippincott & Williams. United States.
- Gordon, M. H. 1990. The Mechanism Of Antioxidants Action In Vitro. Elsevier Applied Science. London.
- Gusna, B. 2017. Pengaruh Ramuan Herbal Labio-1 terhadap Kualitas Interior Telur Ayam Ras Petelur Strain Isa Brown. Thesis. Universitas Hasanuddin. Makassar.

- Hafez, E. S. E. 2000. Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animals. 7th edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. USA.
- Hafez, E. S. E. 1993. Semen Evaluation. In: Reproduction in Farm Animal. 6 th edition. Lea and Febiger. Philadelphia. USA.
- Harimurti, S. 2019. Efek Pemberian Herbal Sekuntum terhadap Profil Protein Telur dan Tampilan Kesehatan Usus Ayam Petelur (Studi Kasus di Industri Peternakan Ayam Petelur Sekuntum Farm Lampung Timur). Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Herdiawan, I. 2004. Pengaruh laju penurunan suhu dan jenis pengencer terhadap kualitas semen beku domba Priangan. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*. 9 : 98-107.
- Herdis, M., Surachman, Yulnawati, M. Rizal, dan H. Maheshwari. 2008. Viabilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kerbau Belang pada penambahan maltosa dalam pengencer andromed. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. 5 (5) : 120--125.
- Herdis. dan I. Kusuma. 2003. Penggunaan control internal drugs release dan ovalumon dalam sinkronisasi berahi domba Garut. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 5 (5): 120--125.
- Holt, W. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science*. 62 (1) : 3--22.
- Hunter, R. H. F. 1995. Fisiologi dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Ismaya. 2014. Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Jones, R. and T. Mann. 1977. Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa. *Journal Reprod Fertil*. 50 (1) : 255 -- 260.
- Komariah, R. I. Arifiantini, dan F.W. Nugraha. 2013. Kaji banding kualitas spermatozoa sapi Simmental, Limousin, Friesian Holstein terhadap proses pembekuan. *Buletin Peternakan*. 37 (3) :143--147.
- Kristanto. 2004. Peranan Gliserol dan Fetal Bovine Serum dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mann, T. 1964. The Biochemistry of Semen. Methuen & Co. LTD. London.

- Miranda, J., P. R. Savedra, X. A. Vaquez, dan J. A. Rodriguez. 2015. Egg and egg-derived foods: Effects on human health and use as functional foods. *Journal Nutrients*. 7 : 706--729.
- Mulyono, S. 1998. Teknik Pembibitan Kambing dan Domba. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nichols, P. D., B. Glencross, J. Petrie, and S. Singh. 2014. Readilyavailable sources of long-chain omega-3 oils: Is farmed Australian seafood a better source of the good oil than wildcaught seafood. *Nutrients*. 6 (3) : 1063--1079.
- Nurcholis, R. I. Arifiantini. dan M. Yamin. 2016. Kriopreservasi semen domba Garut menggunakan tris kuning telur yang disuplementasi omega-3 minyak ikan Salmon. *Journal Veteriner*. 17 (2) : 309--315.
- Pane, I. 1990. Upaya peningkatan mutu genetik sapi Bali. Prosiding. Seminar Nasional Sapi Bali. Bali.
- Partodihardjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Polat, E. S., O. Citil, and M. Garip. 2013. Fatty acid composition of yolk of nine poultry species kept in their natural environment. *Animal Science Papers and Reports*. 31 (4) : 363--368.
- Rianto. 2004. Pemetaan Sentra Potensi Unggulan Komoditas Peternakan dan Perikanan. Kerjasama Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Kabupaten Blora dengan Fakultas Peternakan. Laporan Akhir. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan Pada Domba. Rineka Cipta. Jakarta.
- Salim, M. A., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi Bali, sapi Madura dan sapi PO. *Agripet*. 12 (2) : 14--19.
- Salisbury, G. W. dan N. L. Van Denmark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Penerjemah: R. Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Santoso, K., S. Warsito, dan A. Andoko. 2012. Bisnis Penggemukan Sapi. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Savitri, F. K., S. Suharyati, dan Siswanto. 2014. Kualitas semen beku sapi Bali dengan penambahan berbagai dosis Vitamin C pada bahan pengencer skim kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2 (3) : 30--36.

- Setiono, N., S. Suharyati, dan P. E. Santosa. 2015. Kualitas semen beku sapi Brahman dengan dosis krioprotektan gliserol yang berbeda dalam bahan pengencer tris sitrat kuning telur. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 3 (2) : 61--69.
- Sinha, S., B. C. Deka, M. K. Tamulu, and B. N. Borgohain. 1992. Effect of equilibration period and glicerol level in tris extender of quality of frozen Goat semen. *Indian Vet.* 69 : 1107--1110.
- Solihati, N., R. Idi, S. R. Darojah, M. Rizal, dan M. Fitriati. 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi Peranakan Ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5° C. *Animal Production*. 1 (10) : 22--29.
- Sudarmono, A. S. dan B. Sugeng . 2009. Sapi Potong. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. Universitas Brawijaya Press. 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.
- Tambing, S. N., M. R. Toelihere, T. L. Yusuf, B. Purwantara, P. Z. Situmorang, dan I. k. Utama. 2003. Kualitas semen beku kambing Saanen pada berbagai jenis pengencer. *Hayati*. 10 : 146--150.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa. Bandung.
- Wulansari, A. and N. Ducha. 2019. Effect of addition egg yolk of various poultry in the coconut water base diluent on the motility of Limousin bull spermatozoa at 4-5° C temperature storage. *Journal Lentera Bio*. 8 (3): 273--277.
- Yendraliza. 2008. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Suska Press. Pekanbaru.
- Zachut, M., A. Arieli, and U. Moallem. 2011. Incorporation of dietary n-3 fatty acids into ovarian compartments in dairy cows and the effects on hormonal and behavioral patterns around estrus. *Journal Reproduction*. 141(6): 833 - 840.