



Pengaruh Pemberian Jenis Kuning Telur yang Berbeda pada Pengencer Tris Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Brahman

The Effect of Different Types of Egg Yolk in Tris Diluent on the Quality of Frozen Semen of Brahman Cattle

Sri Suharyati^{1*}, Madi Hartono², Siswanto¹, Eri Febriyansar¹, Muhammad Mirandy Pratama Sirat²

¹ Study Program of Animal Husbandry, Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung. Jl. Soemantri Brodjonegoro 1, Bandar Lampung, 35145, Lampung, Indonesia

² Study Program of Animal Nutrition and Feed Technology, Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung. Jl. Soemantri Brodjonegoro 1, Bandar Lampung, 35145, Lampung, Indonesia

* Corresponding Author. E-mail address: sri.suharyati@fp.unila.ac.id

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 29 May 2024

Accepted: 25 June 2024

KATA KUNCI:

Kuning telur
Ayam ras
Pengencer tris
Kualitas semen beku
Sapi Brahman

KEYWORDS:

Egg yolk
Breed chicken
Tris diluent
Frozen semen quality
Brahman cattle

ABSTRAK

Penelitian ini dilaksanakan di Unit Pelayanan Teknis Daerah Balai Inseminasi Buatan Daerah Lampung, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung pada 25—30 Januari 2023. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian jenis kuning telur yang berbeda dan mengetahui jenis kuning telur yang terbaik pada pengencer tris terhadap kualitas semen beku sapi Brahman. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan 3 perlakuan jenis kuning telur dari ayam ras biasa, herbal dan omega 3 dengan 6 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis ANOVA pada taraf 5% dan atau 1%, jika berpengaruh nyata dilanjutkan *Duncan's Multiple Range Test*. Hasil penelitian menunjukkan pemberian jenis kuning telur yang berbeda dalam pengencer tris menunjukkan hasil tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa *post thawing*, berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap motilitas spermatozoa *post thawing* dan berpengaruh sangat nyata ($P<0,01$) terhadap persentase spermatozoa hidup *post thawing*. Kesimpulan penelitian ini bahwa pemberian kuning telur ayam ras biasa dan kuning telur ayam ras omega 3 pada pengencer tris memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa Sapi Brahman dibandingkan dengan pemberian kuning telur ayam ras herbal.

ABSTRACT

This study was conducted at the Regional Technical Service Unit for Artificial Insemination, Lampung District, Terbanggi Besar Subdistrict, Central Lampung Regency, Lampung Province, from January 25 to 30, 2023. The objective of this research was to determine the effect of different types of egg yolk and to identify the best type of egg yolk in tris diluent on the quality of frozen semen of Brahman cattle. The experimental design used was a Completely Randomized Design with three treatments: standard egg yolk, herbal egg yolk, and omega-3 enriched egg yolk, each with six replications. The data obtained were analyzed using ANOVA at the 5% and 1% significance levels, and if significant, further analyzed with *Duncan's Multiple Range Test*. The results showed that the different types of egg yolk in tris diluent had no significant effect ($P>0.05$) on

© 2024 The Author(s). Published by
Department of Animal Husbandry, Faculty
of Agriculture, University of Lampung in
collaboration with Indonesian Society of
Animal Science (ISAS).
This is an open access article under the CC
BY 4.0 license:
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

post-thaw spermatozoa abnormalities, had a significant effect ($P<0.05$) on post-thaw spermatozoa motility, and had a highly significant effect ($P<0.01$) on the percentage of live spermatozoa post-thawing. The conclusion of this study was that the addition of standard egg yolk and omega-3 enriched egg yolk in tris diluent has a better effect on the motility and percentage of live spermatozoa of Brahman cattle compared to the addition of herbal egg yolk.

1. Pendahuluan

Ternak merupakan sumber protein hewani yang sangat dibutuhkan oleh manusia untuk kelangsungan hidup manusia. Sapi Brahman salah satu komoditas ternak ruminansia penghasil daging yang unggul dan diminati peternak untuk dibudidayakan. Sapi Brahman memiliki postur yang besar dibandingkan dengan jenis sapi lokal dan juga sapi Brahman memiliki keunggulan yaitu sapi Brahman mudah beradaptasi di suhu yang panas memiliki daya tahan gigitan caplak dan makanan yang sederhana (Sudarmono dan Sugeng, 2008). Sapi Brahman cocok untuk dikembangkan di Indonesia agar dapat memenuhi kebutuhan produksi daging yang berkualitas. Produksi daging yang berkualitas dalam rangka memenuhi kebutuhan daging antara lain dapat dilakukan dengan memperbaiki manajemen pemeliharaan dan peningkatan mutu genetik ternak dengan cara inseminasi buatan (Rianto, 2004).

Program Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu upaya untuk menuju swasembada daging yang telah dicanangkan oleh pemerintah sebagai salah satu target dari pembangunan pertanian. Program IB dimaksudkan untuk meningkatkan mutu genetik dan meningkatkan populasi sapi potong (Supriyanto, 2016) melalui teknik mengawinkan ternak secara buatan dengan menempatkan semen yang sudah diencerkan ke dalam saluran reproduksi betina. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan inseminasi buatan yang saling berhubungan yaitu faktor ternak, ketetapan deteksi birahi, kualitas semen, dan keterampilan inseminator (Susilawati, 2011).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kualitas semen beku adalah penggunaan bahan pengencer. Bahan pengencer memiliki syarat yang harus dipenuhi yaitu mengandung zat yang tidak beracun bagi spermatozoa, memiliki kandungan nutrisi bagi hidup spermatozoa dalam proses penyimpanan yang lama, melindungi spermatozoa dari *cold shock*, dapat menghambat dan pengurangan reaksi peroksidasi lipid yang disebabkan aktivitas radikal bebas dan dapat menambah volume semen (Feradis, 2019).

Bahan pengencer yang sering digunakan yaitu tris kuning telur dengan komposisinya terdiri atas trisaminomethan, asam sitrat, laktosa, fruktosa, raffinosa, kuning telur, penisilin, streptomycin, *aquabidest*. Zat lesitin yang terkandung dalam kuning telur dapat melindungi membran sperma secara seluler (Amaliah, 2019). Tris dalam pengencer memiliki peran dasar untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa dan menurunkan tingkat kerusakan akromosom, sedangkan peran kuning telur sebagai sumber energi bagi spermatozoa karena mengandung glukosa (Rahman, 2021). Hal ini sesuai yang dikemukakan oleh Bintara *et al.* (2015) bahwa penggunaan tris kuning telur dalam pengencer semen dapat mempertahankan motilitas spermatozoa.

Kuning telur ayam dapat dijadikan bahan pengencer semen karena harganya murah dan mudah didapatkan, selain itu juga kuning telur memiliki banyak kandungan nutrisi yang akan dibutuhkan dalam bahan pengencer untuk dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa. Nutrisi yang terkandung dalam kuning telur diantaranya yaitu protein, vitamin, lemak dan mineral. Kuning telur juga mengandung lipoprotein dan lesitin yang akan mempertahankan dan melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*) dan integrasi selubung *lipoprotein*. Kuning telur umumnya digunakan dalam bahan pengencer tris ternak mamalia adalah 20% (Ducha *et al.*, 2012). Penggunaan kuning telur dalam pengencer semen juga dapat mengurangi kerusakan integritas membran spermatozoa (South *et al.*, 2023).

Kuning telur ayam herbal memiliki kandungan antibiotik alami dan antioksidan yang ada dalam kuning telur herbal yang berasal dari ramuan herbal yang diberikan pada ayam herbal, sehingga kuning telur herbal memiliki lebih banyak manfaat dibandingkan dengan telur pada ayam ras biasa dan telur omega. Telur herbal yang berasal dari ramuan herbal mengandung antibiotik alami sehingga telur herbal tidak mengandung antibiotik kimia yang terdapat pada kuning telur sebagai bahan pengencer tris. Telur herbal memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Antioksidan tersebut yang terdapat pada kuning telur herbal dapat mencegah radikal-radikal bebas (Fitri *et al.*, 2016).

Telur ayam Omega-3 merupakan produk inovasi dari telur dari ayam petelur yang diberikan pakan khusus untuk meningkatkan kandungan omega-3 pada telur ayam (Sulistiawati *et al.*, 2000). Telur omega mengandung Omega 3 yang memiliki asam lemak tak jenuh ganda yang dapat mempertahankan membran sel spermatozoa. Sumber dari omega 3 yang banyak ditemukan terdapat pada minyak ikan dan kandungan tertinggi

terdapat pada minyak ikan salmon. Tambahan omega yang terdapat pada pakan dan pada bahan pengencer semen dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas semen beku serta semen segar pada ternak domba (Nurcholis *et al.*, 2016). Penelitian penggunaan jenis kuning telur yang berbeda pada pengencer tris kuning telur pada semen sapi Brahman sampai saat ini belum dilakukan, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terkait hal tersebut terhadap motilitas spermatozoa, persentase spermatozoa hidup dan persentase abnormalitas spermatozoa.

2. Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari 2023 -- Februari 2023 di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis (UPT) Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Poncowati, Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

2.1. Materi

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah satu set vagina buatan, pompa tangan, batang pengaduk/*stickglass*, lubrikan/vaselin, termometer, tabung penampung semen, ternak pemancing, kertas label, alat tulis, kandang jepit/kandang kawin, bull master, sabun, sikat botol, buku catatan, pH meter, mikroskop cahaya binokuler Olympus CH30, layar monitor, *slide warmer*, gelas objek, gelas penutup, gelas Beaker, pipet, photometer SDM 6, cupet, mikropipet, timbangan digital analitik, kertas saring, gelas labu Erlemeyer, kapas, alat pemisah kuning telur, panci pemanas elektrik, tisu/lap, incubator, seperangkat mesin printingstraw otomatis (*easy coder*), mesin *filing sealing*, *flexible tube*, *box freezing*,udukan rak, rak straw, canister, termos air, globet, *timer*, corong, gayung, gunting, pinset, kontainer, dan *forceps*. Bahan yang digunakan saat penelitian yaitu semen segar sapi Brahman, air panas, NaCl fisiologis, tris, fruktosa, asam sitrat, kuning telur ayam ras biasa, kuning telur ayam ras herbal, kuning telur ayam ras omega 3, *aquabidest*, *glyserol*, alkohol 70%, water incubator, larutan eosin 2%, bahan pengencer, semen cone, N₂ cair, depo, air hangat, tris amino metan, penicilin, streptomycin.

2.2. Metode

2.2.1. Rancangan perlakuan

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan rancangan percobaan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan pada tiap perlakuan terdiri dari enam ulangan. P1: Kuning telur ayam ras biasa dalam pengencer tris; P2 : Kuning telur ayam ras herbal dalam pengencer tris dan P3 : Kuning telur ayam ras omega 3 dalam pengencer tris. Volume kuning telur yang ditambahkan sebanyak 25 ml dalam 100 ml pengencer. Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah motilitas spermatozoa, persentase spermatozoa hidup dan persentase abnormalitas spermatozoa.

2.2.2. Pelaksanaan penelitian

2.2.2.1. Pembuatan Pengencer Tris-Kuning Telur

Penggunaan pengencer Tris kuning telur pada penelitian ini ditujukan untuk mempertahankan kualitas spermatozoa sesuai dengan pernyataan Safitri *et al.* (2018) bahwa pengencer tris kuning telur yang digunakan pada pengencer semen sapi dapat mempertahankan motilitas dan viabilitas spermatozoa. Pembuatan pengencer tris kuning (telur ayam ras, telur herbal, dan telur omega) contoh untuk 100 ml bahan pengencer yaitu dengan 1) mencuci telur dengan air mengalir, lalu dikeringkan dan disterilisasi menggunakan alkohol 70%; 2) memisahkan kuning telur dengan putih telur menggunakan kertas saring; 3) menimbang bahan Tris amino metan 3,30 gr, asam sitrat 1,78 gr, fruktosa 1,25 gr, *Aquabidest* ditambahkan hingga 100 ml; memasukkan semua bahan tersebut ke dalam tabung Erlemeyer, lalu diaduk hingga homogen dengan menggunakan *stick glass*; 4) mensterilkan dengan cara memanaskan larutan pengencer di dalam air pada panci pemanas elektrik hingga mendidih, kemudian mendinginkan kembali hingga suhu 37°C; 5) membuat larutan antibiotika dengan menambahkan *aquabidest* pada penicilin 3 gr/3 juta IU sampai 10 ml dan pada streptomycin 1 gr hingga 10 ml; 6) menambahkan kedua larutan antibiotik ke dalam larutan pengencer dengan dosis penicilin 0,3 ml/100 ml larutan pengencer dan streptomycin 1ml/100 ml larutan pengencer; 7) menambahkan masing-masing jenis kuning telur (kuning telur ayam ras, kuning telur ayam herbal dan kuning telur ayam omega 3 sebanyak 25 ml; 8) mengaduk larutan pengencer sampai homogen kemudian disimpan di dalam *refrigerator* sampai

terbentuk endapan; 9) memisahkan endapan dan supernatan yang telah terbentuk dan endapannya dibuang; 10) mengambil supernatan sebanyak 94 ml, kemudian menambahkan 6 ml gliserol, sehingga didapatkan sebanyak 100 ml pengencer (BIBD Provinsi Lampung, 2021).

2.2.2.2. Penampungan semen

Sapi Brahman untuk dikoleksi semen terlebih dahulu dimandikan dan diberikan hijauan, selanjutnya disiapkan pejantan pemancing (*teaser*). Pejantan dikeluarkan dari kandang dan didekatkan dengan *teaser* untuk melakukan *false mounting* ± 3-5 kali yang bertujuan untuk meningkatkan libido pejantan. Semen pejantan dikoleksi menggunakan *Artificial Vagina* dan semen hasil penampungan segera dikirim ke laboratorium untuk dilakukan evaluasi kualitas semen (BIBD Provinsi Lampung, 2021).

2.2.2.3. Pemeriksaan kualitas semen segar

Pemeriksaan secara makroskopis dengan cara melihat fisik semen tersebut secara langsung yaitu warna, volume, kekentalan, bau, dan pH, dan mencatat hasil pemeriksaan semen secara makroskopis pada *log sheet* produksi semen beku (BIBD Provinsi Lampung, 2021) dan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi persentase motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa, persentase abnormalitas spermatozoa, dan konsentrasi spermatozoa) menggunakan mikroskop (Toelihere, 2006).

2.2.2.4. Penambahan bahan pengencer

Penambahan pengencer dilakukan dengan menambahkan pengencer tris kuning telur ke dalam semen yang telah ditempatkan dalam 3 bagian (tris kuning telur ayam ras biasa, tris kuning telur ayam ras herbal dan tris kuning telur ayam ras omega 3) dengan volume sama banyak kemudian mengaduk hingga merata (BIBD Provinsi Lampung, 2021). Volume bahan pengencer dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah pengencer (ml)} = \frac{\text{volume semen} \times \% \text{ motilitas} \times \% \text{ konsentrasi}}{\text{dosis straw}} - \text{volumesemen}$$

2.2.2.5. Penilaian sebelum pembekuan (*test before freezing*)

Penilaian sebelum pembekuan (*test before freezing*) dilakukan dengan cara 1) menyiapkan *object glass* kemudian meneteskan 1 tetes semen di atasnya; 2) menutup dengan *cover glass*; 3) mengamati motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa dan persentase abnormalitas spermatozoa di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan 200x; 4) penilaian minimal gerakan massa spermatozoa 2+ dan persentase hidup spermatozoa 55%; 4) mengeluarkan semen yang tidak memenuhi syarat (BIBD Provinsi Lampung, 2021).

2.2.2.6. Proses *prefreezing* dan *freezing*

Proses *prefreezing* dan *freezing* dilakukan dengan cara 1) menyiapkan *box sterofoam*, rak *straw*, N₂ cair, dan kontainer depo; 2) mengisi *box sterofoam* 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 -140°C; 4) memasukan *straw* ke dalam goblet berisi N₂ cair yang diletakkan di *box*; 5) melakukan proses pembekuan *straw* (*freezing*) dengan memindahkan goblet secara cepat pada canister dan memasukkan goblet berisi *straw* ke dalam kontainer depo sampai terendam N₂ cair dengan suhu -196°C (BIBD Provinsi Lampung, 2021).

2.2.2.7. Pemeriksaan motilitas spermatozoa setelah pembekuan selama 24 jam

Pemeriksaan motilitas setelah pembekuan (*post thawing*) dilakukan dengan cara 1) mengambil semen beku dengan pengencer tris kuning telur pada kemasan *straw* dari kontainer kemudian *thawing* dengan air yang bersuhu 35°C selama 10 detik; 2) meneteskan 1 tetes semen dari *straw* pada gelas obyek kemudian menutup dengan gelas penutup; 3) mengamati motilitas spermatozoa dengan mikroskop cahaya binokuler Olympus CH30 pada perbesaran sedang (400x); dan 4) melakukan penilaian motilitas spermatozoa dari 0 – 100% dengan membandingkan spermatozoa yang progresif dan spermatozoa tidak progresif (BIBD Provinsi Lampung, 2021). Sesuai dengan pernyataan Arifiantini dan Yusuf (2012) bahwa penggunaan tris kuning telur dalam pengencer semen

sapi dapat menghasilkan motilitas spermatozoa sebesar 48,74% diatas standar yang ditentukan oleh BSN (2021) tentang semen beku sapi minimum 40%.

2.2.2.8. *Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa*

Pemeriksaan persentase hidup spermatozoa semen beku perlakuan P1, P2 dan P3 menggunakan pewarnaan eosin 2% dengan prosedur 1) masing-masing semen perlakuan ditetaskan diatas gelas objek sebanyak 1 tetes (0,03 mL); 2) menambahkan pewarna eosin 2% dengan rasio yang sama sebanyak 1 tetes (0,03 mL); 3) menghomogenkan dengan cara menempatkan ujung gelas objek kedua didepan campuran semen dan eosin; 4) menarik gelas objek kedua ke arah campuran semen dan eosin kemudian mendorong ke depan hingga ujung gelas objek pertama; 5) memeriksa spermatozoa yang hidup dan mati dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler Olympus CH30 pada perbesaran sedang (400x) spermatozoa yang hidup tidak berwarna, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna merah atau merah muda; dan 6) menghitung persentase spermatozoa hidup yang didapat dari lima bidang pandang dengan rumus (BIBD Provinsi Lampung, 2021):

$$\text{Spermatozoa hidup (\%)} = \frac{\text{jumlah sperma hidup}}{\text{jumlah sperma diamati}} \times 100\%$$

2.2.2.9. *Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa*

Pemeriksaan abnormalitas spermatozoa semen beku perlakuan P1, P2 dan P3 menggunakan pewarnaan eosin 2% dengan prosedur 1) masing-masing semen perlakuan ditetaskan diatas gelas objek sebanyak 1 tetes (0,03 mL); 2) menambahkan pewarna eosin 2% dengan rasio yang sama sebanyak 1 tetes (0,03 mL); 3) menghomogenkan dengan cara menempatkan ujung gelas objek kedua didepan campuran semen dan eosin; 4) menarik gelas objek kedua ke arah campuran semen dan eosin kemudian mendorong ke depan hingga ujung gelas objek pertama; 5) mengeringkan preparat ulas dengan cara menggerakkan di atas nyala lilin atau pemanas Bunsen; 6) memeriksa spermatozoa yang abnormal ditandai dengan bentuk sperma tanpa kepala, kepala tanpa ekor, ekor melingkar, kepala ganda menggunakan mikroskop cahaya binokuler Olympus CH30

perbesaran sedang (400x); 7) menghitung spermatozoa abnormal yang didapat dari lima bidang pandang dapat dilakukan dengan rumus (BIBD Provinsi Lampung, 2021):

$$\text{Abnormalitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormalitas}}{\text{Jumlah spermatozoa yang terhitung}} \times 100$$

2.2.3. Analisis data

Data yang diperoleh dalam penelitian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf 5% dan atau 1%, jika hasil ANOVA menunjukkan pengaruh berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan Uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Penilaian Kualitas Semen Segar Sapi Brahman

Semen segar yang digunakan dalam penelitian ini merupakan semen segar dari pejantan sapi Brahman yang berumur 3,5 tahun yang dikoleksi menggunakan *artificial vagina*. Penilaian kualitas semen segar dilakukan secara makroskopis (volume; bau; kekentalan; warna; pH dan konsentrasi) dan secara mikroskopis (motilitas massa; motilitas individu; abnormalitas dan persentase hidup spermatozoa). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semen segar yang diperoleh dari pejantan sapi Brahman dalam kategori baik (BIBD Provinsi Lampung, 2021) sehingga dapat dilakukan proses selanjutnya hingga pembekuan.

Tabel 1. Kualitas semen segar sapi Brahman

Parameter	Nilai
Volume (ml)	7
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Kental
Bau	Khas Sperma
pH	6,5
Motilitas (%)	70
Gerakan Masa (%)	++
Viabilitas (%)	90
Abnormalitas (%)	5
Konsentrasi (Juta/ml)	961

Keterangan: ++=Gerakan massa sperma cepat berupa gelombang tebal dan gelap

Hasil penelitian yang disajikan pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa volume semen sapi Brahman yang telah ditampung sebanyak 7 ml. Hasil pengamatan ini sesuai dengan pendapat Feradis (2010) yang menyatakan bahwa volume semen sapi berkisar 5 – 8 ml/ejakulasi dan Toelihere (1993) menambahkan bahwa volume semen sapi per-ejakulasi berkisar antara 1-15 ml. Jumlah semen segar yang dihasilkan berbeda-beda dipengaruhi oleh faktor genetik, kesehatan, nutrisi, bangsa sapi, ukuran testis pada masing-masing sapi dan frekuensi koleksi semen.

Warna semen sapi Brahman yang telah ditampung berwarna putih susu, hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) dan Affandy *et.al.*, (2007) yang menyatakan bahwa warna semen pada sapi umumnya berwarna putih susu dan krem. Komariah *et al.*, (2013) menambahkan bahwa warna semen pada sapi pejantan berkisaran antara krem sampai putih susu. Bau semen sapi Brahman yang tertampung berbau khas yang menunjukkan bahwa semen sapi Brahman yang tertampung tersebut normal sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) menyatakan bahwa sapi pejantan menghasilkan bau semen yang khas yang dimiliki terhadap sapi pejantan tersebut.

Konsistensi atau derajat kekentalan pada semen sapi Brahman yang tertampung menunjukkan kualitas kental. Hal ini sesuai dengan pendapat Komariah *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa semen yang normal memiliki derajat kekentalan dari sedang hingga sangat kental. Toelihere (1993) menambahkan bahwa kekentalan semen sapi pejantan dapat dilihat dengan cara menggoyangkan tabung yang berisi semen secara perlahan – lahan. Derajat keasaman atau pH semen sapi Brahman yang tertampung adalah 6,5. Sesuai dengan pendapat Butar (2009) yang menyatakan bahwa derajat keasaman semen segar pada sapi pejantan berkisaran 6,4 – 7,8.

Hasil pengamatan motilitas individu spermatozoa semen segar sapi Brahman yang dikoleksi sebesar 70% dengan pergerakan progresif. Pemeriksaan motilitas spermatozoa pada penelitian ini dilakukan sesuai dengan standar BSN (2021) dilakukan paling kurang 5 (lima) lapang pandang menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x atau 200x atau 400x dilengkapi meja penghangat pada suhu 37– 38°C. Motilitas individu semen segar berkisaran normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1981) yang menyatakan bahwa motilitas individu spermatozoa pada sapi berkisaran 50% -- 80% spermatozoa bergerak progresif. Motilitas massa atau gerakan massa spermatozoa pada semen sapi Brahman yang dikoleksi yaitu ++ yang berarti gerakan massa cepat berupa

gelombang tebal dan gelap (BIBD Provinsi Lampung, 2021). Hasil penelitian ini sudah sesuai dengan standar BSN, 2021 bahwa semen segar sapi yang digunakan untuk pembuatan semen beku memiliki motilitas spermatozoa progresif minimum 70 % (BSN, 2021)

Hasil pengamatan persentase hidup spermatozoa sapi Brahman pejantan yang ditampung yaitu 90%. Hasil tersebut masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Hafez (2000) yang menyatakan bahwa persentase hidup spermatozoa yang normal yaitu berkisaran lebih dari 50% untuk dapat dilakukan pembekuan pada spermatozoa yang akan digunakan dalam inseminasi.

Hasil pengamatan pada abnormalitas semen segar pada sapi Brahman yaitu sebesar 5%, sehingga pada morfologi normal sperma tersebut sebanyak 95% , yang diartikan sperma tersebut memiliki morfologi normal yang baik, maka hasil tersebut tidak berpengaruh terhadap fertilitas dan dapat diproses untuk pembuatan semen beku. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa abnormalitas belum mencapai 20%, maka semen tersebut masih dapat digunakan untuk inseminasi. SNI 4869-1:2021 bahwa semen segar sapi yang digunakan untuk menjadi semen beku harus memiliki jumlah abnormalitas maksimum 20% (BSN, 2021).

Konsentrasi semen sapi Brahman pejantan yang tertampung yaitu 961 juta/ml. Menurut Toelihere (1993), konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1000 –1800 juta/ml spermatozoa atau 800 – 2000 juta/ ml spermatozoa. Berdasarkan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis pada semen segar sapi Brahman pejantan yang tertampung dapat dikatakan baik dan dapat memenuhi standar sehingga dapat dilakukan proses selanjutnya untuk semen beku.

3.2. Penilaian Kualitas Semen Sapi Brahman Prefreezing

Prefreezing atau test sebelum pembekuan spermatozoa merupakan tahap setelah dilakukan penilaian terhadap kualitas semen segar jika semen segar tersebut layak dan memenuhi standar. Penilaian kualitas semen sapi Brahman ini terdapat tiga parameter yang dinilai yaitu persentase motilitas spermatozoa mencakup pergerakan spermatozoa pada layar pandang mikroskop, persentase abnormalitas yang mencakup jumlah struktural spermatozoa yang mengalami kelainan pada spermatozoa dan persentase hidup spermatozoa.

Tabel 2. Hasil penilaian setelah *prefreezing* spermatozoa sapi Brahman

Perlakuan	Penilaian (%)		
	Motilitas Spermatozoa	Hidup Spermatozoa	Abnormalitas Spermatozoa
	-----%-----		
P1	64,50±0,71	84,05±4,38	5,48±0,34
P2	64,00±1,41	82,86±3,37	6,90±0,34
P3	63,00±1,41	81,67±6,40	7,14±0,67

Keterangan: P1= Pengencer tris kuning telur ayam ras biasa; P2= Pengencer tris kuning telur ayam ras herbal; P3= Pengencer tris kuning telur ayam ras omega-3.

Hasil penilaian kualitas spermatozoa setelah *prefreezing* (**Tabel 2**) menunjukkan bahwa rata – rata motilitas spermatozoa untuk P1; P2; P3 yaitu $64,50 \pm 0,71\%$; $64 \pm 1,41\%$; dan $63,00 \pm 1,41\%$. Secara rata-rata, motilitas spermatozoa setelah *prefreezing* menunjukkan hasil hampir sama, hal ini menunjukkan bahwa pemberian jenis kuning telur dalam pengencer tris belum memberikan pengaruh selama proses *prefreezing*. Pada tahap *prefreezing* motilitas spermatozoa menunjukkan hasil 63 – 64%, hasil tersebut masih cukup baik sesuai pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa sapi pejantan fertil memiliki 50 – 80% motil aktif progresif. Apabila dibandingkan dengan motilitas semen segar, pada tahap setelah *prefreezing* mengalami penurunan motilitas. Penggunaan tris kuning telur dalam pengencer juga dapat meningkatkan kualitas spermatozoa, hal ini sesuai dengan pernyataan Novita et al. (2019) bahwa Persentase tris kuning telur sebesar 20% dalam pengencer semen dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa, motilitas individu dan konsentrasi spermatozoa.

Motilitas setelah *prefreezing* mengalami penurunan dibandingkan semen segar, hal tersebut disebabkan pada proses *prefreezing* mengalami penurunan suhu yang sangat rendah mencapai -140°C sehingga menyebabkan *cold shock* pada spermatozoa tersebut. Spermatozoa yang mengalami *cold shock* menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel spermatozoa tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat Morel (1999) yang menyatakan bahwa spermatozoa yang mengalami *cold shock* akan merubah membran plasma pada spermatozoa yang dari konfigurasi normal ke konfigurasi hesagonal sehingga dari perubahan tersebut dapat merusak membran plasma pada spermatozoa dan menurunkan dapat motilitas spermatozoa.

Penurunan motilitas *prefreezing* juga diduga disebabkan oleh penumpukan asam laktat yang tinggi yang merupakan hasil akhir metabolisme sel (Sinha et al., 1992). Sugarti et al., (2004) menambahkan bahwa proses pendinginan 5°C akan menyebabkan

penurunan motilitas spermatozoa akibat adanya asam laktat sisa metabolisme sel yang menyebabkan kondisi medium menjadi semakin asam dikarenakan penurunan pH. Rata-rata persentase spermatozoa hidup setelah *prefreezing* berada pada kisaran 81 – 84%, persentase ini masih dalam kisaran normal. Menurut Toelihere (1993), bahwa standar persentase untuk sel hidup spermatozoa beku yang baik yaitu berkisaran lebih dari 40%.

Penambahan kuning telur dari ketiga perlakuan menunjukkan hasil yang hampir sama selama proses *prefreezing* berlangsung. Hal ini diduga pada penggunaan jenis bahan pengencer tersebut memiliki kemampuan yang sama dalam melindungi spermatozoa saat proses *prefreezing*. Sesuai dengan pendapat Kurnia *etal.*, (2018) bahwa tidak berbeda nyata pada persentase spermatozoa hidup pada sapi yang diberikan bahan pengencer berbeda dapat diartikan sampai tahap *prefreezing*, jenis pengencer yang digunakan memiliki kemampuan yang sama dalam melindungi sel spermatozoa selama proses *prefreezing* berlangsung.

Penilaian persentase abnormalitas dilakukan untuk melihat fertilitas dari sperma tersebut. Kualitas spermatozoa ini dapat dilihat dari pemeriksaan abnormalitas. Spermatozoa yang mengalami kelainan (abnormal) tidak dapat membuahi sel telur pada sapi betina. Hal ini sesuai dengan pendapat Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa spermatozoa yang mengalami kelainan (abnormal) tidak dapat membuahi sel telur tanpa memandang abnormalitas tersebut terjadi dilama tubuliseminiferi di dalam epididimis atau perlakuan yang tidak sesuai terhadap ejakulat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata abnormalitas semen *prefreezing* untuk P1; P2 dan P3 adalah $5,48 \pm 0,34\%$; $6,90 \pm 0,34\%$ dan $7,14 \pm 0,67\%$. P1 memiliki nilai rata-rata abnormalitas yang lebih rendah dibandingkan dengan P2 dan P3. Akan tetapi dari ketiga perlakuan tersebut tidak berbeda nyata terhadap abnormalitas spermatozoa. Kelainan pada spermatozoa yang terjadi yaitu abnormal skunder berupa ekor putus, kepala putus, leher bengkok, ekor bengkok dan ekor melingkar serta abnormalitas primer berupa kepala kecil, kepala besar. Hal tersebut diduga akibat perubahan media hidup dari spermatozoa tersebut dan juga disebabkan oleh perubahan suhu pada proses *prefreezing* terjadinya pembentukan kristal-kristal es, sehingga menyebabkan perubahan struktur dari spermatozoa tersebut. Hasil rata-rata abnormalitas pada taraf 5 – 7% ini masih dikatakan normal dan dapat diproses menjadi semen beku, hal ini sesuai dengan pernyataan Toelihere (1993) yang menyatakan bahwa abnormalitas

spermatozoa belum mencapai 20% maka semen tersebut dapat digunakan untuk inseminasi.

3.3. Penilaian Kualitas Semen Beku Sapi Brahman Post Thawing

Penilaian kualitas semen postthawing motility merupakan salah satu pemeriksaan lebih lanjut untuk mengevaluasi semen beku. Evaluasi semen beku ini berkaitan dengan kelayakan semen yang telah dinilai. Apabila semen tersebut layak maka semen tersebut akan digunakan dalam inseminasi, dan sebaliknya jika semen beku tersebut tidak layak maka semen beku tersebut tidak akan digunakan dalam inseminasi. Penilaian post thawing motility (post thawing) mencakup tiga pengamatan yaitu pengamatan terhadap motilitas spermatozoa, persentase hidup spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa.

3.3.1. Motilitas spermatozoa post thawing

Motilitas spermatozoa merupakan penentu dari kelayakan kualitas spermatozoa setelah pembekuan. Motilitas spermatozoa atau pergerakan spermatozoa sangat mempengaruhi kemampuan membuahi sel telur. Pergerakan yang progresif pada spermatozoa memiliki peran yang sangat penting dalam proses fertilisasi (Susilawati *et al.*, 2003).

Tabel 3. Motilitas spermatozoa *post thawing*.

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
	-----%-----		
1	45,00	45,00	45,00
2	45,00	40,00	45,00
3	45,00	40,00	45,00
4	45,00	40,00	45,00
5	45,00	40,00	40,00
6	45,00	40,00	40,00
Total	270,00	245,00	260,00
Rerata±SD	45,00±0,00^b	40,83±2,04^a	43,33±2,58^b

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

Hasil rata-rata persentase motilitas spermatozoa *post thawing* (**Tabel 3**) pada kisaran baik dan dapat digunakan untuk inseminasi buatan. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa motilitas individu spermatozoa setelah *post thawing* pada pengencer tris dengan penambahan berbagai jenis kuning telur yang berbeda memberikan pengaruh nyata

($P < 0,05$) terhadap motilitas individu spermatozoa. Penambahan kuning telur ayam ras biasa pada pengencer tris memiliki nilai rata-rata tertinggi yaitu sebesar 45% dan pada penambah kuning telur ayam ras herbal dan kuning telur ayam ras omega3 yaitu sebesar $40,83 \pm 2,04\%$ dan $43,33 \pm 2,58\%$ terhadap motilitas spermatozoa. Hasil penelitian ini sesuai dengan SNI 4869-1:2021 bahwa semen beku sapi sesudah dicairkan kembali (*post thawing*) pada suhu 37-38 °C selama 30 detik harus menunjukkan motilitas progresif minimum 40% (BSN, 2021).

Uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) menunjukkan bahwa pada perlakuan P1 dan P3 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) akan tetapi perlakuan P1 dan P3 berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap perlakuan P2. Hal ini diduga karena pada P1 dan P3 memiliki kandungan zat yang lebih stabil (keadaan isotonis) dibandingkan dengan kandungan zat pada kuning telur ayam ras herbal dan pada P2 terdapat kandungan herbal dalam kuning telur herbal menyebabkan tingkat kekentalan larutan pengencer menjadi lebih tinggi sehingga terjadinya hipertonic. Tingginya kandungan antioksidan alami pada kuning telur herbal dan ditambahnya antioksidan yang terdapat pada larutan *buffer*, sehingga antioksidan dalam pengencer tris kuning telur ayam Ras Herbal tersebut memiliki konsentrasi antioksidan yang lebih tinggi. Menurut Gordon (1990), konsentrasi antioksidan yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi pada laju oksidasi sehingga aktivitas antioksidan sering lenyap bahkan antioksidan yang tinggi bisa menjadi prooksidan, sehingga terjadinya ketidakseimbangan yang menimbulkan elektron tidak berpasangan semakin banyak dan tidak dapat menstabilkan radikal bebas yang menyebabkan kematian spermatozoa tersebut tetap terjadi. Menurut Murti (2022) menyatakan bahwa kuning telur herbal memiliki aktivitas antioksidan 52,24%. Hufail (2017) menambahkan bahwa aktivitas antioksidan pada telur ayam ras tidak aktif.

Berdasarkan data hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadinya penurunan motilitas spermatozoa pada setiap tahapan proses dalam pembekuan, akan tetapi data penelitian ini masih dikatakan dalam kisaran yang normal serta masuk dalam standar yang telah ditetapkan untuk kualitas semen beku. Widiastuti (2001) menyatakan bahwa pernyataan tersebut merupakan hal yang dapat terjadi karena reaksi peroksidasi sudah berlangsung sebelum dilakukannya penambahan antioksidan. Hal ini karena reaksi peroksidasi berlangsung setelah semen diejakulasikan.

3.3.2. Persentase hidup spermatozoa post thawing

Persentase hidup spermatozoa hasil penelitian disajikan pada **Tabel 4**. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa persentase hidup spermatozoa pada pengencer tris berbagai jenis kuning telur berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase hidup spermatozoa. Perlakuan P1 persentase hidup lebih tinggi dari perlakuan P2 dan P3 yaitu sebesar $81,75 \pm 1,56\%$ dan diikuti perlakuan P3 yaitu sebesar $80,95 \pm 1,41\%$, sedangkan pada P2 memiliki persentase hidup paling rendah yaitu sebesar $78,41 \pm 2,06\%$.

Tabel 4. Persentase hidup spermatozoa *post thawing*

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
	-----%-----		
1	84,29	82,38	83,33
2	82,86	78,10	81,43
3	80,95	77,14	80,48
4	80,00	76,67	79,05
5	80,95	77,62	80,95
6	81,43	78,57	80,48
Total	490,48	470,48	485,71
Rerata\pmSD	81,75\pm1,56^b	78,41\pm2,06^a	80,95\pm1,41^b

Keterangan: Superskrip huruf kecil yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ($P < 0,01$). P1=Pengencer tris kuning telur ayam ras biasa; P2=Pengencer tris kuning telur ayam ras herbal; P3=Pengencer tris kuning telur ayam ras omega-3.

Uji lanjut DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) menunjukkan bahwa pada perlakuan P1 dan P3 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) akan tetapi pada perlakuan P1 dan P3 berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap perlakuan P2. Hal ini diduga karena pada P1 dan P3 memiliki kandungan zat yang lebih stabil (keadaan isotonis) dibandingkan dengan kandungan zat pada kuning telur ayam ras herbal dan pada perlakuan P2 terdapat kandungan herbal dalam kuning telur menyebabkan larutan pengencer menjadi hipertonik yang diakibatkan tingginya aktivitas kandungan antioksidan alami pada kuning telur herbal dan ditambahkannya aktivitas antioksidan yang terdapat pada larutan *buffer*, sehingga aktivitas antioksidan dalam pengencer tris kuning telur ayam ras herbal tersebut memiliki konsentrasi antioksidan yang lebih tinggi. Menurut Gordon (1990), konsentrasi antioksidan yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi pada laju oksidasi sehingga aktivitas antioksidan sering lenyap bahkan antioksidan yang tinggi bisa menjadi prooksidan, sehingga terjadinya ketidakseimbangan yang menimbulkan elektron tidak berpasangan semakin banyak dan tidak dapat menstabilkan radikal bebas yang menyebabkan kematian spermatozoa tersebut tetap terjadi.

3.3.3. Abnormalitas spermatozoa post thawing

Abnormalitas spermatozoa merupakan penentu dari kelayakan kualitas spermatozoa setelah pembekuan. Abnormalitas spermatozoa atau kelainan spermatozoa sangat mempengaruhi kemampuan membuahi sel telur. Spermatozoa yang mengalami abnormal tidak dapat membuahi sel telur pada sapi betina. Menurut Toelihere (1993), setiap spermatozoa yang mengalami kelainan atau abnormal tidak dapat membuahi sel telur, tanpa melihat apakah abnormalitas tersebut terjadi sudah lama di tubuli seminifer, dalam epididimis ataupun dari perlakuan yang tidak sesuai terhadap ejakulatif. Hasil pemeriksaan abnormalitas spermatozoa disajikan pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Abnormalitas spermatozoa post thawing

Ulangan	Perlakuan		
	P1	P2	P3
	-----%-----		
1	9,52	10,48	8,57
2	8,10	9,05	9,05
3	8,10	9,05	8,57
4	9,05	10,48	10,00
5	9,52	11,43	10,00
6	9,05	9,05	8,57
Total	53,33	59,52	54,76
Rerata±SD	8,89±0,65	9,92±1,02	9,13±0,70

Keterangan: P1=Pengencer tris kuning telur ayam ras biasa; P2=Pengencer tris kuning telur ayam ras herbal; P3=Pengencer tris kuning telur ayam ras omega-3.

Hasil penelitian menunjukkan ketiga perlakuan memiliki hasil yang sama yaitu tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa ketiga jenis kuning telur yang digunakan dalam pengencer tris tidak memberikan pengaruh selama proses pembekuan semen berlangsung. Hal tersebut diduga karena adanya kerusakan membran plasma akibat terjadinya *cold shock* serta adanya perubahan pada tekanan osmotik yang dapat mengubah bentuk fisik dari spermatozoa tersebut. Kelainan pada spermatozoa yang terjadi yaitu abnormal sekunder berupa ekor putus, kepala putus, leher bengkok, ekor bengkok dan ekor melingkar serta abnormalitas primer berupa kepala kecil, kepala besar. Menurut Siswanto dalam Setiono (2015), peningkatan kejadian spermatozoa ekor melingkar, menurunkan persentase spermatozoa hidup dan menurunkan integritas membran plasma spermatozoa merupakan tanda dari adanya tekanan osmotik.

Berdasarkan hasil rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa pada semen beku sapi Brahman (Tabel 6) pada perlakuan P1 abnormalitas lebih rendah dari perlakuan P2

dan P3 yaitu sebesar 8,89% dan diikuti perlakuan P3 yaitu sebesar 9,13% , sedangkan pada P2 memiliki persentase abnormal paling tinggi yaitu sebesar 9,92%.

Berdasarkan hasil rata-rata abnormalitas spermatozoa (**Tabel 5**) pada masing-masing dari perlakuan yaitu berkisar 8,89—9,92%. Hasil rata-rata abnormalitas spermatozoa dari ketiga perlakuan tersebut masih dalam kisaran normal, karena jumlah rata-rata abnormalitas yang baik yaitu tidak melebihi dari kisaran 20% abnormalitas spermatozoa pada sapi. Hal ini sesuai dengan pendapat Teoihere (1993) yang menyatakan bahwa jika abnormalitas belum mencapai 20%, maka semen tersebut layak untuk digunakan dalam inseminasi.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini bahwa pemberian kuning telur ayam ras biasa dan kuning telur ayam ras omega 3 pada pengencer tris memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap motilitas dan persentase hidup spermatozoa Sapi Brahman dibandingkan dengan pemberian kuning telur ayam ras herbal.

4.2. Saran

Penggunaan kuning telur pada bahan pengencer tris terhadap kualitas spermatozoa sapi Brahman disarankan menggunakan kuning telur ayam ras biasa dikarenakan pada hasil penelitian kuning telur ayam ras biasa memiliki nilai yang lebih tinggi terhadap persentase motilitas dan persentase viabilitas spermatozoa dibandingkan dengan kuning telur ayam ras herbal dan kuning telur ayam ras omega-3.

Daftar Pustaka

- Affandy, L., D.M. Dikman, dan Aryogi. 2007. *Petunjuk Teknis Manajemen Perkawinan Sapi Potong*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Loka Penelitian Sapi Potong. Grati, Pasuruan. <https://repository.pertanian.go.id/items/179dcb55-9b8a-4a99-a886-c44c19152bee>
- Amaliah, R. 2019. *Perbandingan Pengencer Tris Kuning Telur Ayam Kampung dan Itik Terhadap Kualitas Semen Sapi Brahman Post-Thawing*. Disertasi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar. <https://repository.unhas.ac.id/id/eprint/4848/>
- Arifiantini, R.I., dan T.L. Yusuf. 2006. Keberhasilan penggunaan tiga pengencer dalam dua jenis kemasan pada proses pembekuan semen Sapi Frisien Holstein. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 9(3). <https://ojs.unud.ac.id/index.php/mip/article/view/1718>

- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2021. SNI 4869-1:2021 *Semen Beku – Bagian 1: Sapi*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta
- [BIBD] Balai Inseminasi Buatan Daerah Provinsi Lampung. 2021. *Standar Operasional Prosedur*. Lampung Tengah
- Bintara, S., D. Maharani, I.G. Suparta, J.H.P. Sidadolog, Sumadi, S. Eleuser, A. Batubara. 2015. *Sperm Quality of Gembrong Goat in Bali, East Java and North Sumatera after Extended with Citrate-egg Yolk, Tris-egg Yolk and Andromed®*. The 6th International Seminar on Tropical Animal Production Integrated Approach in Developing Sustainable Tropical Animal Production October 20-22, 2015, Yogyakarta. <https://journal.ugm.ac.id/istaproceeding/article/view/30713>
- Ducha, N., T. Susilawati., Aulanniam., W. Sri, dan P. Mulyoto. 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. DOI: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2012.979.985>
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta. Bandung. <https://cvalfabeta.com/product/bioteknologi-reproduksi-pada-ternak/>
- Fitri, N.L., R.E. Susetyarini, L. Waluyo. 2016. Pengaruh ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap kadar SGPT dan SGOT mencit putih jantan (*Mus musculus*) hiperglikemia yang diinduksi aloksan sebagai sumber belajar biologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 2 (2): 180-187. DOI: <https://doi.org/10.22219/jpbi.v2i2.3763>
- Gordon, M. H. 1990. *The Mechanism Of Antioxidants Action In Vitro*. Elsevier Applied Food Science Series. Springer. London. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-0753-9_1
- Gusna., B. 2017. *Pengaruh Ramuan Herbal Labio-1 terhadap Kualitas Interior Ayam Ras Petelur Strain Isa Brown*. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanudin. Makasar.
- Hafez, E.S.E. 2000. *Semen evaluation in reproduction in farm animals*. 7 th edition. USA.
- Hufail, I. 2017. *Kajian organoleptik dan aktifitas antioksidan pada telur berkelium selama penyimpanan*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Pasundan. Bandung. <https://repository.unpas.ac.id/14497/>
- Kurnia. A., Soeparna, R. I. Arifiantini, dan R. Hidayat. 2016. Fertilitas semen beku dalam tris kuning telur dan skim yang diberi omega-3 pada sapi Simmental dengan ransum berlimbungan seng dan selenium minimal. *Jurnal Veteriner*, 19(2):251-262. DOI: <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.2.251>
- Morel, D., C.G. Mina 1999. *Equine Artificial Insemination*. Wallingford. Cabi Pub. <https://archive.org/details/equineartificial0000davi>
- Jannah, S.L., M. Lamid, M. Sukmanadi, M. A.A. Arif, S. Chusniati, I.S. Hamid, R. Solfaine. 2022. Potensi pemberian probiotik terhadap peningkatan berat badan, konsumsi, dan konversi pakan ayam petelur fase pre layer. *Media Kedokteran Hewan*, 33(2): 96-104. <https://doi.org/10.20473/mkh.v33i2.2022.96-104>
- Novita, R., T. Karyono, dan Rasminah. 2019. Kualitas Semen Sapi Brahman pada Persentase Tris Kuning Telur yang Berbeda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 14(4): 351-358. DOI: <https://doi.org/10.31186/jspi.id.14.4.351-358>
- Nurcholis, R.I. Arifiantini, M. Yamin. 2016. Kriopreservasi semen domba garut menggunakan tris kuning telur yang disuplementasi omega-3 minyak Ikan Salmon. *Jurnal Veteriner*, 17(2): 309-315. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jvet/article/view/22135>

- Rahman., Y.,G. 2021. *Viabilitas Semen Sapi Simmental Pasca Ekuilibrasi dengan Menggunakan Pengencer Tris KuningTelur dan Dosis Gliserol yang Berbeda*. Skripsi. Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riua. Pekanbaru. <https://repository.uin-suska.ac.id/53581/>
- Rianto. 2004. *Pemetaan Sentra Potensi Unggulan Komoditas Peternakan dan Perikanan*. Laporan Akhir. Kerjasama Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Kabupaten Blora dengan Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Safitri, A. T. Sardjito, P.A. Wibawati, I. Mustofa, A.L. Saputro, R.A. Prastiya. 2018. Kualitas semen segar sapi rambon banyuwangi dalam pengencer tris kuning telur dan susu skim kuning telur. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3): 62-67. DOI: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol1.iss3.2018.62-67>
- Setiono, N., S. Suharyati, 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. DOI: <http://dx.doi.org/10.23960/jipt.v3i2.p%25p>
- Sinha, S., B.C. Deka, M.K. Tamulu, and B.N. Borgohain. 1992. Effect of equilibration period and glycerol level in tris extender of quality of frozen goat semen. *Indian Vet. J.* 69 : 1107-1110.
- South, S., R.R.H. Rumende, A. Papu. 2023. Integritas membran spermatozoa manusia pada proses *sexing* dengan pemberian kuning telur. *Jurnal Bios Logos*, (13(3): 134-140. DOI: <http://dx.doi.org/10.35799/jbl.v13i3.52182>
- Sudarmono, A.S dan Y.B. Sugeng. 2009. *Sapi Potong*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sulistiawati, D., M.N. Chayanto, U. Santoso, Zuprizal. 2000. *Studi Komparatif Mutu dan Sifat Sensoris Telur Omega-3*. Seminar Nasional Industri Pangan, 1: 66-76.
- Supriyanto. 2016. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan program inseminasi buatan (IB) pada ternak sapi potong. *Jurnal Triton*, 7(2): 69-84. <https://jurnal.polbangtanmanokwari.ac.id/index.php/jt/article/view/34>
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. UB Press. Malang. <https://bookstore.ub.ac.id/shop/peternakan/spermatology/>
- Susilawati, T. 2011. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*, 12 (1): 15-24. <https://ternaktropika.ub.ac.id/index.php/tropika/article/view/109>
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung. <https://opac.perpusnas.go.id/DetailOpac.aspx?id=315628>
- Widiastuti, E. 2001. *Kualitas semen beku sapi FH dengan penambahan antioksidan vitamin C dan E*. Skripsi Fakultas Pertanian. Insitut Pertanian Bogor. Bogor. <https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/13105>