

## **Pengaruh Penambahan Glukosa pada Pengencer Masa Kriopreservasi**

### *The Effect of Adding Glucose to Andromed Diluent on Limousin Cow Semen During The Cryopreservation Period*

**M. Nuralamsyah, Musdalifa Mansur, Armayani M**

Prodi Peternakan, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Sidenreng Rappang

Alamat Email: [musdalifa.mansur@gmail.com](mailto:musdalifa.mansur@gmail.com)

#### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi glukosa dalam pengencer AndroMed terhadap kualitas spermatozoa sapi limousin serta untuk mengetahui konsentrasi glukosa yang terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi limousine selama kriopreservasi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 taraf perlakuan dan 4 kali ulangan yaitu, 0%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, dan 1%. Parameter yang diamati yaitu Motilitas Spermatozoa, Viabilitas Spermatozoa, Abnormalitas Spermatozoa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan penambahan glukosa berpengaruh sangat nyata terhadap Motilitas Spermatozoa, Perlakuan dengan penambahan glukosa 1% menghasilkan Motilitas yang lebih tinggi, Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan penambahan glukosa berpengaruh sangat nyata terhadap Viabilitas Spermatozoa. Perlakuan dengan penambahan glukosa 1% menghasilkan Viabilitas yang lebih tinggi, Penambahan glukosa tidak berpengaruh nyata terhadap Abnormalitas Spermatozoa setelah masa kriopreservasi, Disimpulkan bahwa: Suplementasi glukosa dalam pengencer andromed berpengaruh terhadap viabilitas dan motilitas setelah masa kriopreservasi namun tidak berpengaruh terhadap abnormalitas setelah masa kriopreservasi, Dan Presentase glukosa yang terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi limousine selama kriopreservasi adalah penambahan glukosa 1%.

**Kata Kunci:** Glukosa, Kriopreservasi, Spermatozoa, Sapi Limosin

#### **ABSTRACT**

*This study aims to determine the effect of glucose supplementation in andromed diluent on the quality of limousine cow sperm during the cryopreservation period and to determine the best glucose concentration in maintaining the quality of limousine cow spermatozoa during the cryopreservation period. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatment levels and 4 replications, namely, 0%, 0.125%, 0.25%, 0.5%, and 1%. The parameters observed were Spermatozoa Motility, Spermatozoa Viability, Spermatozoa Abnormalities. The results of this study show that the glucose addition treatment has a very significant effect on the motility of spermatozoa. The treatment with the addition of 1% glucose produces higher motility. The results of this study show that the glucose addition treatment has a very significant effect on the viability of the spermatozoa. Treatment with the addition of 1% glucose resulted in higher viability. The addition of glucose had no significant effect on spermatozoa abnormalities after the cryopreservation period. It was concluded that: Glucose supplementation in Andromed diluent had an effect on viability and motility after the cryopreservation period but had no effect on abnormalities after the cryopreservation period. And The best glucose percentage in maintaining the quality of limousine cow spermatozoa during cryopreservation is the addition of 1% glucose.*

**Keyword:** Glucose, Cryopreservation, Spermatozoa, Limousine Cow

#### **PENDAHULUAN**

Ternak sapi merupakan salah satu sumber daya penghasil bahan makanan berupa daging dan susu yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan penting artinya di dalam kehidupan masyarakat. Sapi potong dipelihara dengan tujuan utama sebagai penghasil bahan makanan berupa daging. Penyediaan daging sapi di Indonesia belum

mencukupi kebutuhan konsumsi masyarakat yang terus meningkat. Salah satu penyebabnya adalah laju pertumbuhan populasi manusia yang tinggi namun tidak diikuti oleh laju pertumbuhan populasi sapi potong (Siregar et al., 2009). Mutu genetik sapi potong dapat menentukan produksi daging yang dihasilkan. Untuk itu, diperlukan upaya perbaikan mutu genetik

ternak, khususnya sapi lokal dengan memanfaatkan teknologi seperti inseminasi buatan (IB).

IB atau kawin suntik pada sapi adalah suatu cara atau teknik untuk memasukkan semen yang telah dicairkan dan telah diproses terlebih dahulu yang berasal dari ternak jantan ke dalam saluran alat kelamin betina dengan menggunakan metode dan alat khusus yang disebut 'insemination gun'. Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu teknik untuk menghasilkan sapi unggul serta perbaikan mutu genetik (Pasino et al., 2020). IB dapat memperbaiki mutu genetik ternak karena dapat mengoptimalkan penggunaan bibit pejantan unggul secara lebih luas dalam jangka waktu yang lama (Feradis, 2010).

Perkembangan peternakan sapi di Indonesia secara umum masih sangat memprihatinkan. Sebagian besar produksi daging sapi di Indonesia hampir seluruhnya diperoleh dari peternakan rakyat (78%). Sisanya dari impor, sekitar lima % berupa daging sapi dan 17% ternak hidup (Soehadji, 2000 dalam Saleh et al. 2014). Pola pemeliharaan ternak di Indonesia akan tetap didominasi oleh usaha peternakan berskala kecil dengan karakteristik sebagai berikut: (1) Rata-rata kepemilikan ternak rendah (2) Ternak digunakan sebagai tabungan hidup (3) Ternak dipelihara dalam pemukiman padat penduduk dan dikandangan di belakang rumah (4) Terbatas lahan pemeliharaan sehingga pakan harus dicari di kawasan yang seringkali jauh dari rumah; (5) Usaha beternak dilakukan secara turun temurun (6) Jika tidak ada modal untuk membeli, peternak menggaduh dengan pola bagi hasil.

Salah satu upaya untuk meningkatkan usaha ternak di Indonesia adalah dibentuknya Sekolah Peternakan Rakyat (SPR). Program SPR diharapkan dapat menjadi media transfer ilmu pengetahuan dan teknologi untuk membangun kesadaran peternak dalam

menjalankan usaha ternak untuk meningkatkan dan mengembangkan wawasan, pengetahuan, berpikir kreatif dan inovatif serta mendorong tindakan kolektif dengan didampingi oleh pakar dan akademisi yang berkompeten dari berbagai disiplin ilmu (Zakiah et al., 2017).

IB atau kawin suntik pada sapi adalah suatu cara atau teknik untuk memasukkan semen yang telah dicairkan dan telah diproses terlebih dahulu yang berasal dari ternak jantan ke dalam saluran alat kelamin betina dengan menggunakan metode dan alat khusus yang disebut 'insemination gun'. IB dapat memperbaiki mutu genetik ternak karena dapat mengoptimalkan penggunaan bibit pejantan unggul secara lebih luas dalam jangka waktu yang lama (Feradis, 2010).

Andromed merupakan salah satu pengencer komersial berbahan dasar tris yang paling populer digunakan untuk pengencer semen beku sapi. Andromed® merupakan bahan pengencer komersial terdiri dari fosfolipid, tris-(hidroksimetil)-aminometan, asam sitrat, fruktosa, gliserol, tilosin tartrat, gentamisin sulfat, spektinomisin, dan linkomisin (Minitub, 2001). Penggunaan andromed sebagai pengencer sering dikombinasikan dengan larutan NaCl atau akuades dengan perbandingan 1:4 (Herold et al., 2006)

Sapi Limousin merupakan salah satu jenis sapi potong yang sedang dikembangkan di Indonesia. Sapi Limousin berasal dari benua Eropa yang banyak ditemukan di negara Perancis. Sapi Limousin yang dipelihara peternak Indonesia adalah Peranakan Limousin yang merupakan hasil persilangan dengan Peranakan Ongole (PO), Brahman, Hereford dan jenis sapi lainnya (Syamsul dan Ruhyadi, 2012). Sapi yang memiliki ukuran tubuh besar akan menghasilkan pertumbuhan yang optimal dan menghasilkan bobot karkas yang tinggi.

Bobot hidup akan mempengaruhi bobot karkas, bobot karkas berhubungan dengan luas urat daging mata rusuk, luas urat daging mata rusuk bukanlah satu-satunya indikator yang mempengaruhi bobot karkas. Bobot Karkas dapat juga dipengaruhi oleh tingkat umur dan kondisi tubuh ternak (Andi Fachruddin, 2012).

Kualitas spermatozoa selama proses kriopreservasi akan mengalami penurunan yang signifikan apabila bahan pengencer yang digunakan tidak mampu memenuhi kebutuhan spermatozoa selama proses tersebut. Menurut Susilawati (2011) syarat penting yang harus dimiliki oleh setiap pengencer adalah mempunyai daya preservasi tinggi, mengandung unsur yang sifat fisik dan kimianya hampir sama dengan semen dan tidak mengandung zat yang bersifat racun bagi spermatozoa, dapat mempertahankan daya fertilisasi spermatozoa serta tidak terlalu kental sehingga menghambat fertilisasi. Pada ternak sapi keberhasilan fertilisasi tergantung pada kualitas spermatozoa dan ovum. Spermatozoa yang baik adalah persentase jumlah sperma yang motil, hal tersebut digunakan sebagai parameter di balai inseminasi untuk menentukan apakah pejantan tersebut baik atau tidak (Patel & Goyena, 2019).

Pengencer merupakan faktor penting bagi spermatozoa pasca ejakulasi, karena sperma akan mendapat suplai nutrisi dari bahan tersebut. Pengencer yang baik biasanya mengandung beberapa substansi penting seperti gula sederhana seperti glukosa, gliserol, kuning telur dan anti biotik (Holt, 2000). Selanjutnya, Purdy (2006) melaporkan bahwa gula sederhana dalam pengencer sangat penting untuk sumber energi pada spermatozoa. Berdasarkan hal tersebut maka kualitas spermatozoa dapat dipertahankan dengan baik tergantung dari pengencer, karena pengencer akan berinteraksi langsung dengan spermatozoa untuk dapat

memproteksi selama proses pendinginan, pembekuan dan pengenceran kembali (thawing). Evaluasi kualitas spermatozoa termasuk motilitas, acrosome integrity dan membrane integrity merupakan hal penting dalam rangka keberhasilan kebuntingan (Mehmood et al., 2008; Rota, et al., 2000). Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas spermatozoa sapi jantan pasca thawing dengan pengencer yang berbeda (Patel & Goyena, 2019). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi limousin *post thawing* di BIB Ungaran relatif rendah yaitu masing-masing 36% dan 48.2% (Lubis et al., 2011), demikian juga dengan peneliti lain yang menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa sapi limousin *post thawing* yaitu 40,97% menggunakan pengencer susu skim-kuning telur (Yahaq et al., 2019). Pengencer andromed dilaporkan lebih baik jika dibandingkan pengencer tris kuning telur dalam mempertahankan spermatozoa sapi Bali *post-thawing* (Salmah et al., 2021).

Karbohidrat sederhana seperti glukosa dapat ditambahkan dalam pengencer sebagai sumber energi dan krioprotektan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan glukosa menghasilkan kualitas spermatozoa babi *post-thawing* lebih baik jika dibandingkan fruktosa dan galaktosa (Gómez-Fernández et al., 2012). Keberadaan glukosa dalam pengencer dilaporkan memberikan efek krioprotektif yang lebih besar pada spermatozoa babi (Gómez-Fernández et al., 2012). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa penambahan glukosa dalam pengencer tris efektif meningkatkan kualitas semen beku domba garut (Rizal et al., 2006). Berdasarkan dari penelitian sebelumnya maka dilakukan penelitian penambahan Glukosa dalam Pengencer Semen sapi Limousine selama masa Kriopreservasi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei hingga Juni 2023 di Laboratorium Produksi Semen, Unit Pelaksana Teknis Pelayanan Inseminasi Buatan dan Produksi Semen, Kabupaten Maros. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan glukosa pada pengencer andromed terhadap sapi limousine selama masa kriopreservasi.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Vagina Buatan, Mikroskop Cahaya, Layar Monitor, Kaca Preparat, Kaca Penutup, Goblet, Rak Pembeku, Mesin Fealing, Kulkas, Mikropipet, Styrofoam, Water Bath, Gelas Erlenmeyer, Healing Table, Pinset, Sealing, Container Nitrogen cair. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Semen Sapi Limousin, Pengencer Andromed, Glukosa, Nitrogen Cair, Aquabidest, Air hangat, Tissue.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 taraf perlakuan dan 4 kali ulangan (K. Ratnayani et al., 2018) Taraf perlakuan yang digunakan adalah:

P0 = pengencer andromed

P1 = pengencer andromed + glukosa 0,125%

P2 = pengencer andromed + glukosa 0,25%

P3 = pengencer andromed + glukosa 0,5%

P4 = pengencer andromed + glukosa 1%

Adapun prosedur penelitian ini yaitu:

### A. Pembuatan pengencer

Langkah pertama dalam tahapan penelitian ini adalah membuat pengencer terlebih dahulu dengan cara menyiapkan andromed, aquabidest dan gelas ukur. Mencampurkan andromed dan aquabidest dengan perbandingan 1:4 kemudian ditambahkan glukosa sesuai perlakuan dan dihomogenkan secara perlahan dan selanjutnya disimpan pada *water bath* pada suhu 32-35 °C (Susilawati, 2011).

### B. Koleksi semen

Koleksi semen merupakan tahapan pengambilan semen dari pejantan. Tahapan ini dilakukan dengan menyiapkan pejantan yang akan ditampung kemudian menyiapkan vagina buatan yang telah disterilisasi dan diisi air hangat ke dalam vagina buatan. Setelah vagina buatan siap maka selanjutnya dilakukan penampungan setelah pejantan telah melakukan *mounting* kemudian memasukkan organ reproduksi jantan ke dalam vagina buatan sehingga terjadi ejakulasi (Hanifi et al., 2016).

### C. Pengenceran dan pengemasan semen

Pengenceran semen dilakukan dengan menyiapkan gelas erlenmeyer, memasukkan pengencer 1 ml kedalam gelas erlenmeyer, memasukkan semen segar langsung ke dalam dasar tabung, memasukkan sisa pengencer sesuai dengan kebutuhan kemudian dihomogenkan secara perlahan selanjutnya diuji kualitasnya menggunakan mikroskop. Setelah pengenceran kemudian dilakukan pengisian dan printing straw yakni pemberian kode pejantan, kode produksi dan nama pejantan (Nur Jamiah Rangkuti et al., 2021).

### D. Ekuilibrisasi semen

Proses ini merupakan proses penyesuaian spermatozoa setelah penambahan pengencer dari suhu 3-5° C sampai suhu -140 °C, straw yang telah disusun di atas rak kemudian dimasukkan ke dalam kulkas selama 2-4 jam, kemudian dilakukan pengujian kualitas spermatozoa.

### E. Pre-freezing

Pada proses ini straw yang telah tersusun di atas rak straw diletakkan 10 cm di atas permukaan nitrogen cair dalam *styrofoam* selama 9-15 menit hingga suhu mencapai -140 °C.

### F. Pembekuan semen atau freezing

Pada proses ini semen yang telah

memalui proses pre-freezing akan dimasukkan ke dalam goblet dan direndam dalam nitrogen cair yang bersuhu -196 °C (Aini et al., 2014).

**G. Thawing semen**

Thawing semen merupakan proses pencairan kembali semen yang telah dibekukan. Semen dicairkan kembali pada suhu 37 °C selama 30 detik dalam *waterbath*. Kemudian dilakukan pengujian kualitas spermatozoa *post thawing*.

Adapun parameter penelitian ini adalah : Motilitas Spermatozoa, Viabilitas Spermatozoa, Abnormalitas Spermatozoa (Aini et al., 2014).

**H. Analisis Data**

Analisis data dilakukan dengan model matematika sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  : nilai pengamatan penggunaan berbagai level glukosa dan ulangan ke-j

$\mu$  : nilai rata-rata umum

$P_i$  : pengaruh perlakuan berbagai level glukosa

$\epsilon_{ij}$  : pengaruh galat percobaan dari perlakuan level glukosa ke-i pada ulangan ke-j

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**A. Motilitas Setelah Masa Kriopreservasi**

Motilitas individu merupakan salah satu syarat penilaian kualitas semen. Persentase spermatozoa yang motil (bergerak progresif) dapat digunakan sebagai ukuran kesanggupan untuk membuahi ovum (Saputra et al., 2017). Perhitungan motilitas spermatozoa lebih bersifat subyektif dibandingkan dengan viabilitas, oleh sebab itu untuk mengeliminir subyektifitas pengamat, maka perlu dilakukan pelatihan atau diuji lebih dari satu orang (Irvanto et al., 2020).

Tabel 1. Motilitas Masa Kriopreservasi

Perlakuan	Ulangan				Total	rata-rata
	1	2	3	4		
P0	49	50	51	48	198	49,5
P1	52	52	51	52	207	51,75
P2	51	52	53	53	209	52,25
P3	55	54	56	54	219	54,75
P4	56	57	58	59	230	57,5
Grand total					<b>1063</b>	53,15

Sumber : Data ini diperoleh dari uji anova

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan glukosa berpengaruh sangat nyata terhadap motilitas setelah masa kriopreservasi. Perlakuan yang menghasilkan persentase motilitas paling tinggi setelah pengenceran yaitu kontrol dan glukosa 1%. Hal ini tidak sesuai dengan penelien sebelumnya yang mengatakan (Mirajuddin et al., 2021) bahwa penambahan glukosa dalam pengencer cenderung menurunkan motilitas

progresif spermatozoa sapi Donggala yang disimpan selama 3 hari.

Pada sapi Bali, ditemukan bahwa penambahan glukosa 2% dalam pengencer skim antibiotik kuning telur menghasilkan viabilitas yang setelah equilibrasi yaitu 61.36% (Mukminat et al., 2014) lebih tinggi dari penggunaan 1% glukosa dalam penelitian ini. Hal ini mungkin disebabkan perbedaan jenis pengencer dan jenis sapi yang digunakan.

**B. Viabilitas Spermatozoa Setelah Masa Kriopreservasi**

Viabilitas merupakan salah satu indikator penentukualitas semen, penilaian persentase viabilitas spermatozoa dapat menggunakan pewarnaan eosin negrosin. Spermatozoa yang hidup akan

berwarna terang, sedangkan spermatozoa yang mati akan berwarna ungu karena menyerap eosin negrosin. Spermatozoa yang mati mengalami kerusakan membran sel sehingga menyerap zat warna eosin yang diberikan (Rf & Dh, 2019).

Tabel 2. Viabilitas Spermatozoa Setelah Masa Kriopreservasi

Perlakuan	Ulangan				Total	rata-rata
	1	2	3	4		
P0	61,76	61,27	62	63	248,03	62,0075
P1	70,47	69,37	70,81	70,28	280,93	70,2325
P2	71,29	75,81	70,81	76	293,91	73,4775
P3	74,29	75,81	76,19	73,7	299,99	74,9975
P4	79,14	79,55	79,82	80,82	319,33	79,8325
Grand total					<b>1442,19</b>	72,1095

Sumber : Data ini diperoleh dari olah data anova

Hasil dari penelitian ini diketahui bahwa penambahan glukosa yang menghasilkan persentase viabilitas tertinggi yaitu pada penambahan glukosa 1%, Dengan presentase 79,8325%, penelitian ini sangat berbedah dari penelian sebelumnya (Pambudi et al., 2015) yang mengatakan bahwa penambahan 0.6% glukosa merupakan level ideal dalam mempertahankan kualitas spermatozoa kalkun selama penyimpanan suhu 5 °C, namun peningkatan level glukosa hingga 0.9% justru menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa.

Pada sapi Bali, ditemukan bahwa penambahan glukosa 2% dalam pengencer skim antibiotik kuning telur menghasilkan viabilitas yang setelah equilibrasi yaitu 61.36%

(Mukminat *et al.*, 2014) lebih rendah dari penggunaan 1% glukosa dalam penelitian ini. Hal ini mungkin disebabkan perbedaan jenis pengencer dan jenis sapi yang digunakan.

**C. Abnormalitas Spermatozoa Setelah Masa Kriopreservasi**

Abnormalitas adalah salah satu indikator dalam menentukan kuliatas spermatozoa secara fisik. Spermatozoa merupakan kelainan yang terjadipada morfologi spermatozoa. Presentase abnormalitas yang tinggi pada spermatozoa dapat menyebabkan infertilitas, karena spermatozoa yang memiliki struktur sel abnormal dapat menjadi salah satu faktor penghambat dalam proses fertilitas (Mahfud et al., 2019).

Tabel 3. Abnormalitas Spermatozoa Setelah Masa Kriopreservasi

Perlakuan	Ulangan				Total	rata-rata
	1	2	3	4		
P0	13	10	14	11	48	12
P1	10	12	10	10	42	10,5
P2	18	15	12	11	56	14
P3	21	18	11	12	62	15,5
P4	13	17	10	11	51	12,75
Grand total					<b>259</b>	12,95

Sumber : Data ini diperoleh dari olah data anova

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan glukosa tidak berpengaruh nyata terhadap abnormalitas spermatozoa setelah ekulibrasi. Abnormalitas spermatozoa pada semua perlakuan dalam penelitian ini lebih rendah dari penelitian sebelumnya (Indriani et al., 2013) yaitu 16.07% pada sapi Limousin yang diencerkan dengan CEP-2 kuning telur (Rf & Dh, 2019). Abnormalitas pada penelitian ini masih layak untuk diinseminasikan karena hasil yang didapatkan dibawah 20%. Sesuai dengan pernyataan McAuliffe et al. (2010) dan Perry et al. (2002) maksimal abnormalitas yang disarankan untuk spermatozoa sapi adalah 20%.

## PENUTUP

### Kesimpulan

Suplementasi glukosa dalam pengencer andromed berpengaruh terhadap viabilitas dan motilitas setelah masa kriopreservasi namun tidak berpengaruh terhadap abnormalitas setelah masa kriopreservasi.

Presentase glukosa yang terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa sapi limousine selama kriopreservasi adalah penambahan glukosa 1%.

### Saran

Untuk pengambilan data motilitas spermatozoa sebaiknya menggunakan alat *Computer-Assisted Sperm Analysis* (CASA) untuk mendapatkan data yang lebih lengkap.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aini, K., Suharyati, S., & Hartono, M. (2014). Pengaruh Jarak Straw dengan Nitrogen Cair pada Proses Pre Freezing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(3), 62-70.
- Andi Fachruddin. (2012). pengertian sapi limousin. *, 8.5.2017*, 2003-2005.
- Feradis. (2010). *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Alfabeta.
- Gómez-Fernández, J., Gómez-Izquierdo, E., Tomás, C., Mocé, E., & De Mercado, E. (2012). Effect of different monosaccharides and disaccharides on boar sperm quality after cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 133(1-2), 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.06.010>
- Hanifi, H., Ihsan, M., & Susilawati, T. (2016). Pengaruh Lama Ekuilibrasi Pada Proses Pembekuan Terhadap Kualitas Semen Sapi Wagyu Menggunakan Pengencer Andromed. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 17(1), 31-41. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2016.017.01.4>
- Indriani, Susilawati, T., & Wahyuningsih, S. (2013). Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. *Jurnal Veteriner September*, 14(3), 379-386.
- Irvanto, R., Hardijanto, H., Paramita, W., Susilowati, S., Damayanti L, T., & Safitri, E. (2020). Kualitas Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Dari Semen Afkir Sapi Limousin Pada Pengencer Susu Skim Kuning Telur Sitrat Dengan

- Penambahan Berbagai Kadar Glukosa. *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction*, 7(2), 96. <https://doi.org/10.20473/ovz.v7i2.2018.96-101>
- K. Ratnayani, N. M., A. Dwi Adhi, S., & Gitadewi. (2018). Penentuan Kadar Glukosa dan Fruktosa pada Madu Randu dan Madu Kelengkeng dengan METODE Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*, 10, 77-86.
- Lubis, T. M., Putro, P. P., & Junaidi, A. (2011). Characteristics of frozen-thawed semen on Simmental and Limousin bulls in Ungaran, Indonesia. *Proceedings of The Annual International Conference Syiah Kuala University*, 1(1), 136-140.
- Mahfud, A., Isnaini, N., Puspita Anugra Yekti, A., Kuswati, K., & Susilawati, T. (2019). Kualitas Spermatozoa Post Thawing Semen Beku Sperma Y Hasil Sexing Pada Sapi Limousin. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 20(1), 1-7. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2019.020.01.1>
- McAuliffe, P., Johnston, P. H., Johnston, J., & Perry, V. E. A. (2010). *Ejaculators, Morphology and Microscopes*. Barton, ACT: Australian Cattle Veterinarian.
- Mirajuddin, Duma, Y., Mumu, M. I., Ladjama, M. R., A'Fia, N., Abas, A. M., & Ringgiallo, A. (2021). Effects of various diluents on the quality and shelf life of Donggala bull semen. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 902(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/902/1/012005>
- Mukminat, A., Suharyati, S., & Siswanto, S. (2014). Pengaruh penambahan berbagai sumber karbohidrat pada pengencer skim kuning telur terhadap kualitas semen beku sapi Bali. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(2), 87-92. <https://doi.org/10.23960/jipt.v2i2.p%25P>
- Nur Jamiah Rangkuti, Tatik Suteky, & Heri Dwi Putranto. (2021). Pengaruh Waktu Pre Freezing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali di UPTD IB Bengkulu. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan Dan Pendidikan Vokasi Pertanian*, 2(1), 165-176. <https://doi.org/10.47687/snppvp.v2i1.183>
- Pambudi, J. R., Budiasa, M. K., & Bebas, W. (2015). Dosis Glukosa Ideal pada Pengencer Kuning Telur Fosfat Dalam Mempertahankan Kualitas Semen Kalkun pada Suhu 5 ° C IDEAL GLUCOSE DOSAGE ON EGG YOLK PHOSPHATE BUFFER FOR MAINTAINING. *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(2), 104-110.
- Pasino, S., Waru, A. T., & Mirnawati. (2020). Peningkatan Produktivitas Sapi Betina Melalui Inseminasi Buatan Dengan Metode Rektovaginal. *Jurnal Peternakan Lokal*, 2(2), 39-45.
- Patel, & Goyena, R. (2019). Perbandingan Kualitas Spermatozoa Sapi Jantan Pasca Thawing Dengan Pengencer Yang Berbeda. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 15(2), 9-25.
- Perry, V. E., Phillips, N., Fordyce, G., Gardiner, B., Entwistle, K., Chenoweth, P., & Doogan, V. J. (2002). Semen collection and evaluation. In G. Fordyce (Ed.), *Bull Fertility: Selection & Management in Australia*. Brisbane: Australian Association of Cattle Veterinarians.
- Rf, P., & Dh, H. (2019). *Kualitas Semen Cair Kambing Boer selama Penyimpanan Suhu Ruang dengan Penambahan Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum sanctum)*. 334-344. <https://doi.org/10.14334/pros.sem.nas.tpv-2019-p.334-344>
- Rizal, M., Herdis, Boediono, A., Aku, A., & Yulnawati. (2006). Peranan Beberapa Jenis Gula dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku Domba Garut. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*, 11(2), 123-130.
- Salmah, N., Toleng, A. L., Yusuf, M., Masturi, Sahiruddin, Hasrin, & Masir, U. (2021). Motility, Viability, and Abnormality of the Frozen Bali Bull Semen with Andromed and Egg Yolk-Tris Extender. *Hasanuddin J. Anim. Sci.*, 3(1), 8-14. <https://doi.org/10.20956/hajas.v3i1.14171>
- Saputra, D., Ihsan, M., & Isnaini, N. (2017). Korelasi Antara Lingkar Skrotum

Dengan Volume Semen, Konsentrasi Dan Motilitas Spermatozoa Pejantan Sapi Bali. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 10(2), 59-68. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2017.018.02.9>

Siregar, S., Surya, & Amri. (2009). *Analisis Pendapat Peternak Sapi Potong di Kecamatan Stabat, Kabupaten Langkat*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara.

Susilawati, T. (2011). *Spermatology*. Malang: UB Press.

Yahaq, M. A., Ondho, Y. S., & Sutyono. (2019). Pengaruh penambahan vitamin C dalam pengencer semen sapi limousin yang dibekukan terhadap kualitas post thawing. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 14(4), 380-386. <https://doi.org/https://doi.org/10.31186/jspi.id.14.4.380-386>.

Zakiah, Z., Saleh, A., & Matindas, K. (2017). Gaya Kepemimpinan dan Perilaku Komunikasi GPPT dengan Kapasitas Kelembagaan Sekolah Peternakan Rakyat di Kabupaten Muara Enim. *Jurnal Penyuluhan*, 13(2), 133. <https://doi.org/10.25015/penyuluhan.v13i2.14977>.