

PENGARUH BEBERAPA METODE THAWING TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI SIMENTAL

THE EFFECT OF SOME THAWING METHODS ON THE QUALITY OF SIMENTAL COW FROZEN CEMENTS

Junianto Wika Adi Pratama, Dian Ayu Kartika Sari, Miarsono Sigit

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Corresponding author : juniantowap@uwks.ac.id

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh beberapa suhu air thawing dan lamanya thawing terhadap kualitas semen beku sapi Simmental. Metode penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap multifaktor dengan perlakuan suhu air thawing 26°C, 37°C, 42°C dan lama thawing 10 detik, 15 detik dan 20 detik. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analysis of Variance (Anova). Bila terdapat perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata pada masing-masing perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) antara lama thawing dan suhu thawing terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa, tetapi tidak terdapat interaksi antara suhu dan waktu thawing ($P > 0,05$). Suhu thawing 37°C dan waktu thawing 20 detik menunjukkan viabilitas dan motilitas spermatozoa paling tinggi sehingga dapat memberikan kualitas terbaik semen beku sapi Simmental untuk inseminasi buatan.

Kata kunci : Sapi Simental, Suhu Thawing, Lama Thawing, Spermatozoa

ABSTRACT

The study aimed to determine the effect of several temperatures of thawing water and the length of thawing on the quality of Simmental frozen semen. This research method was an experimental study used a multifactorized completely randomized design with treatment of thawing water temperature 26°C, 37°C, 42°C and long thawing 10 seconds, 15 seconds and 20 seconds. The data obtained were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA). If there are differences in the real or very significant influence on each treatment, then Duncan's multiple distance test is continued. The results showed that there was a significant effect ($P < 0.05$) between the duration of thawing and thawing temperature on sperm motility and viability, but there was no interaction between temperature and thawing time ($P > 0.05$). Thawing temperature of 37 ° C and thawing time of 20 seconds showed the highest viability and motility of sperm so that it could provide the best quality of Simmental cow frozen semen for artificial insemination.

Keywords : Simental Bull, Thawing temperature, Length of Thawing, Sperm

PENDAHULUAN

Sapi Simmental adalah tipe sapi pedaging yang mempunyai struktur perototan yang lebih besar dan tebal bila dibandingkan sapi peranakan ongole atau sapi lokal lainnya. Sapi Simmental memiliki rambut tubuh yang berwarna coklat tua, kecuali di sekitar kepala berwarna putih serta lutut ke bawah. Bentuk tubuh sapi jenis ini adalah besar, panjang, padat dan kompak. Keunggulan dari sapi jenis ini yakni pertumbuhan badannya yang sangat cepat, meskipun diberi pakan yang berkualitas sedang. Kelemahannya sapi ini tidak tahan panas, sehingga perlu diberikan peneduh bila dilepas di lahan peternakan

Sapi Simmental ini digolongkan ke dalam *Bos Taurus*, dikembangkan pertama kali di Perancis, secara genetik Sapi

Simmental adalah sapi potong yang berasal dari wilayah beriklim dingin, merupakan sapi tipe besar, mempunyai volume rumen yang besar, voluntary intake (kemampuan menambah konsumsi di luar kebutuhan yang sebenarnya) yang tinggi dan *metabolic rate* yang cepat, sehingga menuntut tata laksana pemeliharaan lebih teratur (Sayoko dkk., 2007).

Sapi jenis Simmental ini merupakan salah satu yang merajai pasar-pasar sapi di Indonesia dan merupakan sapi primadona untuk penggemukan, karena perkembangan tubuhnya termasuk cepat, bisa sampai 1,1 kg/hari saat masa pertumbuhannya.

Peningkatan produktivitas peternakan sangat tergantung pada 3 aspek yaitu pakan, manajemen dan reproduksi. Upaya dalam

bidang reproduksi ternak antara lain dengan pelaksanaan inseminasi buatan. Pada tahun 2000 telah digalakkan pelaksanaan inseminasi buatan terhadap 1.160.200 ekor akseptor dari 5.395.800 ekor sapi betina produktif di Indonesia untuk mencapai program swasembada daging 2005. Namun, program ini belum dapat dicapai sehingga pemerintah kembali mencanangkan program swasembada daging sapi tahun 2017 melalui upaya khusus sapi induk wajib bunting (upsus siwab) dengan salah satu kegiatan pendukungnya adalah inseminasi buatan. Inseminasi buatan adalah salah satu teknik yang dikembangkan untuk meningkatkan populasi ternak. Hal ini dimungkinkan karena dari seekor pejantan yang terpilih diambil semennya untuk diinseminasikan pada sejumlah betina (Daud dan Suryawijaya, 2008).

Inseminasi buatan sebagai sebuah teknologi yang diterapkan dalam bidang peternakan mempunyai tantangan untuk menunjukkan keberhasilan kebuntingan. Keberhasilan kebuntingan ternak melalui program inseminasi buatan ditentukan beberapa faktor yaitu ternak pejantan, ternak betina, peternak dan pelaksana inseminasi buatan. Ternak pejantan mempengaruhi keberhasilan inseminasi buatan karena kualitas semen yang dihasilkan oleh ternak pejantan merupakan salah satu penentu keberhasilan perkawinan ternak (Daud dan Suryawijaya, 2008).

Fisiologis reproduksi ternak betina yang normal akan menghasilkan sel telur yang berkualitas baik sehingga diperoleh keberhasilan perkawinan yang tinggi. Peternak juga menjadi faktor yang penting, karena pengamatan berahi yang tepat oleh peternak akan menghasilkan ketepatan waktu perkawinan. Pelaksana inseminasi buatan mempunyai peran besar dalam keberhasilan inseminasi buatan, karena prosedur pelaksanaan inseminasi buatan mulai dari pengamatan berahi, handling semen beku, thawing semen beku sampai dengan pelaksanaan inseminasi sangat mempengaruhi keberhasilan perkawinan. Metode thawing semen beku menjadi salah satu faktor yang sangat menentukan karena menurut Evans and Maxwell (1976) thawing semen beku merupakan prosedur yang paling penting dalam inseminasi buatan. Hal ini dikarenakan penggunaan metode thawing yang tidak tepat akan menyebabkan kerusakan spermatozoa sehingga menurunkan kualitas semen. Di lain pihak metode thawing di beberapa pustaka sangat beragam sehingga mengakibatkan penggunaan metode thawing di lapangan

sangat beragam pula. Untuk menghasilkan kualitas semen yang baik Direktorat Jenderal Peternakan membuat standarisasi metode thawing yaitu penggunaan air suhu 37°C selama 30 detik. Namun, faktor kemudahan pelaksanaan menjadi pertimbangan inseminator dalam pelaksanaan thawing (Susilawati dkk.,1993).

Beberapa metode thawing yang dilaksanakan di lapangan antara lain dengan menggunakan air yang bersuhu 25°C, 37°C dan 45°C dengan lama thawing 15 detik, 20 detik dan 25 detik. Tujuan dari penelitian ini adalah memberikan gambaran tentang pengaruh metode thawing terhadap kualitas semen. Manfaat yang diharapkan adalah bertambahnya wawasan tentang penggunaan metode thawing dan pengaruhnya terhadap kualitas semen beku (Susilawati dkk.,1993).

Menurut Nani, spermatozoa yang baik sebanyak 25% harus bisa berenang dengan cepat menuju kedalam sel telur dan 30 % spermatozoa yang ada harus berbentuk normal.

Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan diatas maka rumusan masalah dalam penelitian ini yakni apakah suhu air thawing dan lamanya thawing berpengaruh terhadap kualitas semen beku (Straw) sapi Simmental?

Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh beberapa suhu air thawing dan lamanya thawing terhadap kualitas semen beku sapi Simmental.

Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini, yakni terdapat pengaruh suhu air thawing dan lamanya thawing terhadap kualitas semen beku sapi Simmental.

Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan yaitu memberikan informasi tentang pengaruh penggunaan beberapa suhu air thawing dan lamanya thawing terhadap kualitas semen beku sapi Simmental.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 14-15 Juni 2018 di Laboratorium Reproduksi Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan straw

pejantan Simental dengan menggunakan desain/ rancangan acak lengkap multifaktor dengan 2 macam perlakuan, yakni suhu air thawing 26°C, 37°C, 42°C dan lama thawing 10 detik, 15 detik dan 20 detik dengan 5 ulangan percobaan. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analysis of Varians (Anova). Bila terdapat perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata pada masing-masing perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pada penelitian pengaruh metode thawing terhadap kualitas (motilitas dan viabilitas) semen beku sapi Simmental diperoleh hasil sebagai berikut:

Motilitas Spermatozoa

Motilitas Spermatozoa merupakan gerak maju progresif spermatozoa yang digunakan sebagai salah satu parameter dalam menentukan kualitas spermatozoa. Motilitas atau daya gerak sangat dibutuhkan spermatozoa untuk mencapai tempat pembuahan saat menembus lapisan sel telur. Panas yang berlebihan dan bahan kimia atau benda asing lainnya akan menurunkan motilitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa didalam sautu sampel semen ditentukan secara keseluruhan atau rata-rata dari suatu populasi spermatozoa. (Toelihere, 1993). Data motilitas spermatozoa yang diperoleh dari beberapa metode thawing yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel1 Rata-rata persentase motilitas spermatozoa setelah thawing

| Waktu Thawing (detik) | Suhu Thawing (°C) | | | Rataan (%) |
|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 26°C | 37°C | 42°C | |
| 10 | 31,30 | 41,85 | 34,63 | 35,92 ^a |
| 15 | 39,30 | 57,80 | 53,28 | 50,16 ^b |
| 20 | 56,78 | 75,40 | 39,33 | 57,16 ^c |
| Rataan (%) | 42,43 ^a | 58,40 ^b | 42,40 ^a | |

Keterangan : Rataan perlakuan yang diikuti oleh huruf superskrip yang sama berarti tidak berbeda nyata pengaruhnya terhadap respon yang diamati ($P>0,05$) menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

Viabilitas Spermatozoa

Persentase spermatozoa hidup dapat dihitung dengan melihat reaksi spermatozoa terhadap warna tertentu, spermatozoa yang hidup tidak menyerap warna sedangkan yang mati akan menyerap warna (Salisbury and VanDemark, 1985). Uji viabilitas sel spermatozoa bertujuan untuk mengetahui status hidup atau mati pada spermatozoa dengan menggunakan prosedur pewarnaan Hoechst-Propidium Iodine (Hoechst-PI). Spermatozoa dengan kepala yang berwarna merah digolongkan kedalam spermatozoa mati, sedangkan spermatozoa dengan kepala transparan atau tidak berwarna digolongkan kedalam spermatozoa hidup.

Menurut Toelihere (1993), bahwa semen yang baik memiliki persentase viabilitas spermatozoa diatas 50%. Data hasil penelitian menunjukkan viabilitas spermatozoa yang diperoleh dari beberapa metode thawing yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 2 Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa setelah thawing

| Waktu Thawing (detik) | Suhu Thawing (°C) | | | Rataan (%) |
|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 26°C | 37°C | 42°C | |
| 10 | 31,68 | 42,15 | 35,20 | 36,34 ^a |
| 15 | 39,70 | 59,70 | 53,03 | 50,80 ^b |
| 20 | 57,18 | 74,98 | 39,53 | 57,21 ^c |
| Rataan (%) | 42,85 ^a | 58,94 ^b | 42,57 ^a | |

Keterangan : Rataan perlakuan yang diikuti oleh huruf superskrip yang sama berarti tidak berbeda nyata pengaruhnya terhadap respon yang diamati ($P>0,05$) menurut uji Duncan pada taraf nyata 5%.

Faktor lain yang dapat menyebabkan tingginya persentase viabilitas spermatozoa selain pada saat pembekuan dan thawing, juga pada saat perlakuan perhitungan spermatozoa hidup dan mati menggunakan pewarnaan diferensial.

Pembahasan

Motilitas Spermatozoa

Berdasarkan hasil dari analisis data diketahui bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($P<0,05$) antara waktu thawing dan suhu thawing terhadap motilitas spermatozoa, tetapi tidak terdapat interaksi antara waktu dan suhu thawing.

Hasil uji Duncan pada suhu thawing 26°C dan 42°C tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) terhadap persentase motilitas spermatozoa dengan persentase 42,43% dan 42,40%, tetapi pada suhu thawing 37°C menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0,05$) dengan persentase motilitas spermatozoa lebih tinggi yaitu 58,40%. Hal ini sesuai dengan pendapat Daud dan Suryawijaya (2008), yang menyatakan bahwa suhu thawing yang terlalu rendah dan tinggi menyebabkan penurunan motilitas dari spermatozoa, karena terjadi tekanan osmotik pada spermatozoa sehingga konfigurasi lipid protein membran spermatozoa menjadi tidak seimbang dan tidak sesuai dengan kondisi fisiologis motilitas spermatozoa saat thawing sehingga daya gerak atau motilitas spermatozoa menjadi rendah. Suhu thawing 37°C lebih ideal untuk spermatozoa hidup karena persentase motilitas spermatozoa lebih tinggi dari pada suhu thawing 26°C dan 42°C. Pada suhu 37°C tidak menunjukkan penurunan panas secara drastis secara konduksi, konveksi dan evaporasi ke

lingkungan, sehingga pada saat thawing semen beku dapat mencair secara sempurna dan motilitas spermatozoa menjadi lebih baik. Hal ini sesuai dengan yang diungkapkan oleh Pramunico (2003), bahwa pada suhu 37°C belum terjadi tekanan osmotik secara ekstrim pada membran spermatozoa sehingga motilitas spermatozoa dapat lebih aktif.

Persentase motilitas spermatozoa pada waktu thawing 10, 15 dan 20 detik menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P<0,05$). Hasil waktu thawing 10 detik menunjukkan motilitas spermatozoa yang rendah yaitu 35,92%. Hal ini disebabkan waktu thawing yang singkat, kristal-kristal es belum mencair secara sempurna sehingga akan menghambat motilitas spermatozoa secara aktif. Sesuai dengan pernyataan Pramunico (2003) bahwa kristal-kristal es yang terdapat pada semen beku disebabkan oleh suhu simpan semen beku yang sangat rendah pada nitrogen cair dengan suhu -196°C yang dapat mengakibatkan sel spermatozoa akan mengalami dehidrasi, sehingga organ mitokondria dan lisosom mengalami kerusakan dan mengganggu proses metabolisme yang mengakibatkan spermatozoa akan berhenti bergerak karena kurang pasokan energi.

Hasil waktu thawing 15 dan 20 detik adalah 50,16% dan 57,16%. Pada waktu thawing tersebut menunjukkan hasil motilitas spermatozoa diatas 50% dan waktu thawing 20 detik merupakan yang terbaik karena dapat memberikan persentase motilitas spermatozoa lebih tinggi. Hal ini disebabkan kristal-kristal es pada semen beku telah mencair dengan sempurna dan kondisi fisiologis spermatozoa juga lebih baik, sesuai dengan pendapat Partodiharjo (1992) bahwa dinding membran spermatozoa tetap terjaga sehingga motilitas spermatozoa menjadi lebih aktif.

Viabilitas Spermatozoa

Berdasarkan hasil dari analisis data diketahui bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) antara waktu thawing dan suhu thawing terhadap viabilitas spermatozoa, tetapi tidak terdapat interaksi antara waktu dan suhu thawing.

Hasil uji Duncan pada suhu thawing 26°C dan 42°C tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) terhadap persentase viabilitas spermatozoa dengan persentase 42,85% dan 42,57%, tetapi pada suhu thawing 37°C menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dengan persentase viabilitas spermatozoa lebih tinggi yaitu 58,94%.

Suhu thawing yang terlalu rendah yaitu suhu 26°C menghasilkan persentase viabilitas spermatozoa yang rendah karena kondisi dari membran spermatozoa yang rusak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yudhaningsih (2004), bahwa suhu yang rendah akan mengakibatkan substansial vital dalam spermatozoa bocor sehingga enzim intraseluler, lipoprotein, ATP, Kalium intraseluler dan fosfolipid berkurang dan menyebabkan kerusakan pada membran plasma spermatozoa, sehingga persentase dari viabilitas spermatozoa menjadi menurun.

Suhu thawing yang terlalu tinggi yaitu suhu 42°C menghasilkan persentase viabilitas spermatozoa yang paling rendah dari semua suhu yang diuji yaitu 42,57%. Pada suhu 42°C akan lebih lama menyesuaikan ke suhu lingkungan melalui, konduksi, konveksi dan evaporasi. Sientje (2003) menyatakan bahwa apabila suhu air thawing lebih tinggi daripada suhu lingkungan maka sebagian panas akan hilang dari suhu air karena diserap oleh lingkungan yang suhunya lebih rendah dari suhu air thawing sehingga mengakibatkan pada saat thawing, suhu air akan mengalami penurunan di lingkungan tersebut melalui transfer panas dengan cara konveksi terhadap suhu lingkungan maka akan menyebabkan penurunan persentase spermatozoa hidup. Suhu tinggi juga menyebabkan proses metabolisme pada spermatozoa menjadi lebih cepat sehingga spermatozoa lebih cepat kehabisan energi dan menghasilkan asam laktat yang tinggi akibat peroksidasi lipid yang menyebabkan spermatozoa lebih cepat mati.

Pada suhu thawing 37°C menunjukkan viabilitas spermatozoa sebesar 58,94%. Pada suhu tersebut belum menyebabkan tekanan osmotik secara ektim pada spermatozoa sehingga permeabilitas membran tetap utuh sehingga persentase viabilitas spermatozoa tinggi. Menurut Yudhaningsih (2004) bahwa permeabilitas membran dari spermatozoa utuh

dan berfungsi baik, maka pewarna tidak akan bisa masuk ke dalam spermatozoa, sehingga persentase viabilitas spermatozoa tinggi.

Persentase viabilitas spermatozoa pada waktu thawing 10, 15 dan 20 detik menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$). Hasil waktu thawing 10 detik menunjukkan viabilitas spermatozoa yang rendah yaitu 36,34%. Waktu thawing 10 detik termasuk waktu thawing yang singkat sehingga akan mempengaruhi stabilitas membran spermatozoa sehingga segmen intraseluler seperti mitokondria dan lisosom dapat berubah dengan cepat menjadi kristal-kristal es yang dapat menyebabkan permeabilitas pada dinding membran spermatozoa tidak berfungsi dengan baik sehingga zat warna dapat masuk ke dalam spermatozoa tanpa terkontrol. Datta *et al.* (2009) menyatakan apabila terjadi perubahan suhu yang tidak sesuai secara ekstraseluler, maka permeabilitas fosfolipid akan rusak sehingga fluiditas membran menjadi terganggu dan dapat mematikan sel spermatozoa.

Hasil waktu thawing 15 dan 20 detik adalah 50,80% dan 57,21%. Pada waktu thawing tersebut menunjukkan hasil viabilitas spermatozoa di atas 50%, meskipun berbeda nyata dan waktu thawing 20 detik merupakan yang terbaik karena dapat memberikan persentase viabilitas spermatozoa yang lebih tinggi daripada waktu thawing 15 detik. Hal ini disebabkan dinding membran spermatozoa masih berfungsi dengan baik sehingga zat warna tidak dapat masuk ke dalam spermatozoa, maka spermatozoa akan tampak transparan sehingga diperoleh persentase viabilitas spermatozoa yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yudhaningsih (2004) bahwa permeabilitas membran dari spermatozoa utuh dan berfungsi baik, maka pewarna tidak akan bisa masuk ke dalam spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata ($P < 0,05$) antara lama thawing dan suhu thawing terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa, tetapi tidak terdapat interaksi antara suhu dan waktu thawing. Suhu thawing 37°C dan waktu thawing 20 detik menunjukkan viabilitas dan motilitas spermatozoa paling tinggi sehingga dapat memberikan kualitas terbaik semen beku sapi Simmental untuk inseminasi buatan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai abnormalitas spermatozoa dengan suhu dan waktu thawing seperti penelitian ini dan para inseminator disarankan untuk melakukan thawing dengan lama thawing 20 detik dan suhu thawing 37°C bila akan melakukan inseminasi buatan dengan menggunakan semen beku sapi Simmental.

DAFTAR PUSTAKA

- Adikarta, E. W. dan A. Listianawati. 2001. *The effect of temperature and storage life in post thawing frozen semen FH to the quality of post capacitation sperm*. J. Trop. Anim. Dev. Spec. Ed. April 2001. Hal. : 85-89.
- Blakely, J. dan Bade, D. H. 1992. *Ilmu Peternakan*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Coulter, G. H., R. B. Cook dan J. P. Kastelic. 1997. *Effects of dietary energy on scrotal surface temperature, seminal quality and sperm production in young beef bulls*. J. Animal Science 75 (6) : 1048-1052.
- Djanuar. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Evan, G., and W. M. C. Maxwell. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goat*. Sydney : Butterworths.
- Fatimah Siti. 2011. *Motilitas dan persentase hidup spermatozoa sapi Friesian Holstein post thawing dalam pengencer skim kuning telur, tris kuning telur dan andromed*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Fitry, 2017. *Harga Ternak Sapi Limosin Simental*. <http://www.agrobisnisinfo.com/2017/07/harga-ternak-sapi-limosin-simmental.html>. (diakses pada tanggal 10 maret 2017).
- Gasperz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Armico. Bandung.
- Hafez, E. S. E. 1987. *Reproduction in Farm Animal, 4th Edition, Lea and Fibiger*. Philadelphia, USA.
- Hafez, E. S. E. 2000. *Semen Evaluation in Reproduction In Farm Animals. 7th edition*. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland, USA.
- Islami, M.U. 2016. *Jumlah Sampel*. http://www.academia.edu/5740261/Jumlah_sampel. (diakses tanggal 10 Maret 2017).
- Mathevon, M., M. Buhr and J. C. M. Dekkers. 1998. *Environmental, management and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls*. Journal dairyScience 81 :3321-3330.
- Mulyono, S. 1998. *Teknik Pembibitan Kambing dan Domba*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nuryadi. 2000. *Dasar-Dasar Reproduksi Ternak*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Rahma, H. 2009. *Evaluasi Kualitas Sperma*. Bandung
- Samudewa Daud, dan Suryawijaya A. 2008. *Pengaruh Berbagai Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi, Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2008, Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Kampus Baru Tembalang Semarang*.
- Salisbury, G. W. and N. L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi (Physiologi and Artificial Insemination of Cattle)*. Diterjemahkan oleh Djanuar, R. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sayoko Y, M Hartono, dan Silotonga PE. 2007. *Faktor-faktor yang mempengaruhi persentase spermatozoa hidup semen beku sapi pada berbagai inseminator di Lampung Tengah*. Kumpulan Abstrak Skripsi Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Pertanian. Universitas Lampung, Lampung.
- Siratskii, I. Z. 1990. *Inheritance of reproductive ability of bulls*. Tsitol. Genet. 4:28- 34.

Siti Aminah, dan Zulgoyah Layla. 2000. *Teknik Menghitung Jumlah Sel Spermatozoa Yang Hidup Dari Semen Kambing Dengan Pewarna Eosin*. Balai Penelitian Ternak. Bogor.

Solihati Nurcholidah dan Kune Petrus. 2009. *Pengaruh jenis pengencer terhadap motilitas dan daya tahan hidup spermatozoa semen cair sapi Simmental*. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Bandung.

Sprott, L. R., T. A. Thrift dan B. B Carpenter. 1998. *Breeding soundness of bulls*. Agricultural Communications. The Texas A & M University System. www.jas.fass.org. Diakses pada tanggal 18 Mei 2013.

Susilawati, T., Suyadi, Nuryadi, N. Isnaini, , dan S. Wahyuningsih. 1993. *Kualitas semen sapi Fries Holland dan sapi Bali pada berbagai umur dan berat badan. Laporan Penelitian*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.

Toelihere, M.R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.

Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung.