

PERBEDAAN KUALITAS SEMEN DAN PRODUKSI SEMEN BEKU PADA BERBAGAI BANGSA SAPI POTONG

Abd Al Karim Khalifa Mabrok Zamuna, Trinil Susilawati, Gatot Ciptadi dan Marjuki

Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

E-mail : trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan produksi semen beku pada berbagai bangsa sapi potong dan untuk mengetahui produksi semen pada masing-masing individu pada bangsa yang sama. Penelitian dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Daerah Ungaran Jawa Tengah Indonesia. Materi yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah catatan produksi semen yang terdiri kualitas semen segar dan jumlah straw semen beku pada bulan Januari sampai Desember tahun 2014 sebanyak 39 ekor sapi yang terdiri dari 18 ekor sapi Simental, 8 ekor sapi Limousin, 8 ekor PO dan 5 ekor sapi Brahman. Pengencer yang dipergunakan adalah skim kuning telur. Metode yang dipergunakan adalah studi kasus dengan rancangan acak kelompok. Variabel yang diamati adalah Volume semen, Konsentrasi, Motilitas individu, total spermatozoa dan total spermatozoa yang motil. Hasilnya menunjukkan volume sapi Limousin yang terbanyak = $7,2 \pm 1,3$ ml, diikuti oleh sapi simental = $6,8 \pm 1,6$ ml, sapi PO = $6,1 \pm 1,2$ ml dan yang paling sedikit adalah sapi Brahman = $4,2 \pm 1,8$ ml. Rata-rata volume semen pada berbagai bangsa terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi Simental = $57,8 \pm 13,05$ %, Sapi Limousin = $61,17 \pm 1,37$ %, sapi PO = $63,5 \pm 6,62$ % dan Brahman = $44,8 \pm 25,33$ %, Rata-rata persentase motilitas pada berbagai bangsa tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Rata-rata Total spermatozoa dan total spermatozoa yang motil pada sapi Simental adalah $9.320,3 \pm 2.461,2$ and $5.532,9 \pm 2.314,2$; Sapi Limousin = $11.266,9 \pm 1.159,6$ dan $7.908,9 \pm 3.851,2$; Sapi PO = $8.995,1 \pm 2.860,8$ dan $5.651,6 \pm 2.418,4$, Sapi Brahman = $6.189,3 \pm 22,6$ dan $3.053,3 \pm 4.356,6$. Rata-rata kedua parameter ini tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada berbagai bangsa sapi ($P > 0,05$). Rata-rata produksi semen beku per hari pada sapi Simental $280,67 \pm 68,57$ straw ; sapi Limousin $315,6 \pm 44,32$ straw ; sapi PO $275,15 \pm 70,61$ straw dan sapi Brahman $225,18 \pm 59,74$ straw. Rata-rata produksi semen beku tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada berbagai bangsa sapi ($P > 0,05$). Volume semen, motilitas individu dan produksi semen beku harian masing-masing individu pada bangsa yang sama pada sapi Limousin, Simental, PO dan Brahman terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$).

Keyword: Sapi Limousin , Sapi Simental, Sapi PO dan Sapi Brahman

ABSTRACT

This study aims to determine differences in the production of frozen semen in various breed beef cattle and To determine the production of semen in each individual in the same breed. The study was conducted at the Center for Artificial Insemination Regional Ungaran at Central Java –Indonesia. The material used in this study is a record production of semen consisting fresh semen quality and the amount of frozen semen straw in January to December 2014, many as 39 bull consisting of 18 Simental bull, 8 Limousin bull, 8 Filial Ongole bull and 5 Brahman bull. The diluent used is skim yolk. The method used is a case study with a randomized block design. The variables measured were semen volume,

concentration, motility individual, total spermatozoa and total motile spermatozoa. The results show that the highest volume Limousine bull = $7,2 \pm 1,3$ ml, followed by the simental bull = $6,8 \pm 1,7$ ml, Filial Ongole bull = $6,1 \pm 1,2$ ml, and the least is Brahman bull = $4,2 \pm 1,8$ ml. The average volume of semen in various breed there is a significant difference ($P < 0,05$). The average percentage of sperm motility Simmental bull = $57,8 \pm 13,06\%$. Limousine bull = $61,17 \pm 1,37\%$, Filial Ongole bull = $63,5 \pm 7,08\%$ and Brahman = $44,8 \pm 25,33\%$. The average percentage of motility in various breed did not show significant differences ($P > 0,05$). The average total spermatozoa (000) and total motile spermatozoa (000) in Simmental bull is $9.320,3 \pm 2461,2$ and $5.532,9 \pm 2314,2$; Limousin bull = $11.266,9 \pm 1.159,6$ and $7.908,9 \pm 3.851,2$; Filial Ongole bull = $8.995,1 \pm 2.860,8$ and $5.651,6 \pm 2.418,4$, Brahman Bull = $6189,3 \pm 22,6$ and $3.053,3 \pm 43566$. An average of these two parameters did not show significant differences in various breed cattle ($P > 0,05$). Average production of frozen semen in Simmental bull = $280,7 \pm 68,6$ straw per day; Limousin bull = $315,6 \pm 44,32$ straw per day; Filial Ongole bull = $275,15 \pm 70,61$ straw per day, and Brahman bull = $225,18 \pm 59,74$ straw. Average production of frozen semen in various breed did not show significant differences ($P > 0,05$). Semen volume, motility individual and daily production of frozen semen of each individual in the same breed in Limousin, Simmental, PO and Brahman bull there is a highly significant difference ($P < 0,05$).

Keyword: Limousin bull, Simmental bull, Filial Ongole bull and Brahman bull

PENDAHULUAN

Produk peternakan adalah salah satu yang terpenting didalam pertanian dunia, sebagian besar populasi dunia membutuhkan produk daging, lemak, susu, produk olahan susu, telur dan wool oleh sebab itu produk peternakan perlu terus ditingkatkan (Ulvevadet and Hausner, 2011). Peningkatan produksi peternakan dibutuhkan berbagai teknologi dan terintegrasinya beberapa unsur pertanian lainnya (Tow, 2011).

Inseminasi Buatan (IB) pada sapi perah telah dilakukan di Asia pasifik lebih dari setengah abad yang lalu dan saat ini diprediksi lebih dari 75% sapi perah telah menggunakan teknologi reproduksi ini. IB yang dilakukan secara terus menerus akan meningkatkan produktifitas sapi potong, akan tetapi menggunakan IB juga dapat menghilangkan sifat ternak lokal dan menurunkan angka jarak beranak (Thornton, 2010). Inseminasi Buatan didalam pelaksanaannya terdiri dari koleksi semen, proses pembekuan dan deposisi semen pada alat reproduksi betina, sehingga memungkinkan spermatozoa untuk mengalami Fertilisasi

seperti halnya proses alami (Hopkins and Evans, 2003).

Spermatozoa semen beku mengalami kerusakan membran plasma dan membran akrosom, sehingga akan menyebabkan kematian spermatozoa sekitar 20-80% atau rata-rata 50% (Thornton, 2010). Bangsa, Umur, lingkungan serta sistem pemeliharaan sapi akan mempengaruhi kualitas semen, juga metode pengenceran dan pembekuan akan berpengaruh terhadap kualitas semen setelah pembekuan (Susilawati, 2013) and (Susilawati, 2011). Kualitas semen yang ditetapkan oleh standard Nasional Indonesia (SNI) pada semen segar yang dapat di bekukan adalah $\geq 70\%$ dan persentase motilitas $\geq 2+$. Balai Inseminasi Buatan Daerah Ungaran memproduksi semen beku dari berbagai bangsa sapi, sehingga data yang ada dapat digunakan untuk mengetahui kualitas semen dan produksi semen beku pada berbagai bangsa sapi potong.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Balai Inseminasi Buatan Daerah Ungaran Jawa Tengah .Jl. MT.Haryono No. 53 A. Sidomulyo-Ungaran. Semarang, Jawa Tengah.

Materi Penelitian

Materi yang dipergunakan didalam penelitian ini adalah catatan produksi semen yang terdiri kualitas semen segar dan jumlah straw semen beku pada bulan januari sampai desember tahun 2014 sebanyak 39 ekor yang terdiri dari 18 ekor Sapi Simental, 8 ekor sapi Limousin, 8 ekor PO dan 5 ekor sapi Brahman.

Metode Penelitian :

Metode yang dipergunakan adalah studi kasus dengan rancangan acak kelompok. Data yang diambil adalah data sekunder dari catatan produksi semen dan kualitas semen sapi Limousin, Simental, PO dan Brahman. Pengambilan adalah semua data dari bulan januari – desember 2014. Sapi dilakukan penampungan semen dan proses produksi semen beku 2 kali dalam satu minggu . Pengencer yang dipergunakan adalah skim kuning telur.

Variabel yang diamati adalah :

Volume semen

Volume diamati pada tabung reaksi bergaris yang dipergunakan saat penampungan semen (Susilawati, 2013)

Konsentrasi

Konsentrasi semen diamati menggunakan Spectrophotometer yang telah distandardisasi untuk penghitungan konsentrasi spermatozoa (Ax *et al*, 2008)

Motilitas individu

Motilitas individu spermatozoa dihitung dengan cara meneteskan semen pada objek glass kemudian ditutup dengan coverglass , diamati spermatozoa

yang bergerak progresif (maju kedepan) menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400X sebanyak 200 ekor spermatozoa (Ax *et al*, 2008; Bayemi *et al*, 2010, Boonkusol *et al*, 2010, Susilawati, 2013).

Total Spermatozoa

Total spermatozoa adalah konsentrasi X Volume semen (Susilawati, 2013).

Total Spermatozoa yang Motil

Total spermatozoa yang motil secara umum digunakan untuk mengevaluasi produksi semen yaitu Volume X Konsentrasi X persentase spermatozoa yang motil (Ax *et al*., 2008; Bayemi *et al*, 2010, Boonkusol *et al*., 2010)

Analisa Statistik

Data di proses menggunakan analisis of varian (ANOVA) untuk membedakan berbagai bangsa sapi dan individu sapi didalam satu bangsa sapi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku Pada Berbagai Bangsa Sapi Potong

Volume sapi Limousin yang terbanyak = $7,2 \pm 1,3$ ml, diikuti oleh by sapi simental = $6,8 \pm 1,6$ ml, sapi PO = $6,1 \pm 1,2$ ml dan yang paling sedikit adalah sapi Brahman = $4,2 \pm 1,8$ ml. Volume semen terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Menurut Melita *et al*., (2014) Volume semen adalah salah satu standard didalam uji kualitas semen. Ax *et al*., (2008) menjelaskan bahwa volume semen dipengaruhi oleh umur dan frekuensi penampungan. Volume semen sapi Limousin dan Simental lebih banyak dibandingkan dengan Sapi PO dan sapi Brahman , dan volume yang dihasilkan masih dalam ketegori normal, hal ini sesuai dengan pendapat Garner and Hafez (2008) bahwa volume semen berkisar antara 5 - 8 ml per ejakulasi. Hasil

penelitian Nyuwita dkk (2015). Volume semen sapi Simental pada umur yang berbeda antara umur 3 – 8 tahun menunjukkan perbedaan, semakin tua maka terjadi peningkatan hingga 9 ml per ejakulasi.

Salah satu parameter kualitas semen yang terpenting adalah persentase motilitas spermatozoa. Rata-rata persentase motilitas spermatozoa sapi Simental adalah $57,8 \pm 13,05$ %, sapi Limousin = $6,17 \pm 1,37$, sapi PO = $63,5 \pm 6,62$ % dan sapi Brahman = $44,8 \pm 25,33$ %, Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa persentase motilitas tertinggi adalah pada sapi PO diikuti oleh sapi Limousin, Simental and Brahman. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa rata-rata persentase motilitas tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Rata-rata persentase motilitas standard ISO adalah $>70\%$, sehingga sapi PO, Limousin, Simental dan Brahman banyak yang tidak memenuhi standar untuk di proses lebih lanjut. Hasil penelitian Nyuwita dkk (2015) persentase motilitas individu mengalami penurunan dengan bertambahnya umur antara 3 - 8 tahun pada sapi Simental.

Total spermatozoa yang terbanyak adalah sapi Limousin diikuti oleh sapi Simental, PO dan Brahman. Rata-rata total sperma (000) dan Total spermatozoa yang motil (000) pada sapi Simental adalah $9.320,3 \pm 2.461,2$ and $5.532,9 \pm 2.314,2$; Sapi Limousin adalah $11.266,9 \pm 1.159,6$ dan $7.908,9 \pm 3.851,2$; Sapi PO adalah $8.995,1 \pm 2.860,8$ dan $5651,6 \pm 2.418,4$, Sedangkan sapi Brahman adalah $6.189,3 \pm 22,6$ dan $3.053,3 \pm 4.356,6$. Berdasarkan hasil analisa statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Menurut pendapat Susilawati (2011) perbedaan produksi semen per bulan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu genetik, umur, berat badan, pakan dan kondisi lingkungan. Hasil penelitian Nyuwita dkk (2015) Total spermatozoa dan total spermatozoa yang motil pada sapi Simental mengalami

peningkatan dari umur 3 – 7 tahun , akan tetapi umur 8 tahun mengalami penurunan

Produksi semen beku dipengaruhi oleh beberapa faktor yang meliputi volume, konsentrasi dan motilitas spermatozoa pada semen segar. Rata-rata produksi semen beku harian yang terbanyak adalah bangsa sapi Limousine , diikuti oleh sapi Simental, sapi PO dan sapi Brahman. Rata-rata produksi semen beku per hari pada sapi Simental $280,67 \pm 68,57$ straw ; sapi Limousin $315,6 \pm 44,32$ straw ; sapi PO $275,15 \pm 70,61$ straw dan sapi Brahman $225,18 \pm 59,74$ straw. Hasil analisa statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($P > 0,05$). Hal ini sesuai dengan pendapat Susilawati (2011) Konsentrasi spermatozoa, volume dan persentase motilitas sebagai faktor yang menentukan produksi semen beku. Hasil penelitian Nyuwita dkk (2015) menunjukkan bahwa pada sapi simental produksi semen beku mengalami penurunan dengan bertambahnya umur antara 3-8 tahun.

Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku Pada Berbagai Individu Pada Bangsa yang Sama

Volume semen yang terbanyak pada sapi Simental adalah $10,51 \pm 2,41$ ml pada sapi “Sagola” sedangkan yang terendah adalah sapi “giant” dengan volume $3,95 \pm 0,97$ ml. Hasil Uji statistik menunjukkan bahwa diantara individu terdapat perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$). Volume semen yang terbanyak pada sapi Limousin adalah pada sapi dengan nama “enzo” yaitu $8,96 \pm 1,94$ ml, sedangkan yang paling sedikit pada sapi yang bernama “executive” yaitu $5,32 \pm 1,39$ ml . Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$). Volume semen yang terbanyak pada bangsa sapi PO adalah yang bernama “Suryolaras” dengan volume $8,21 \pm 1,34$ ml, sedangkan yang paling sedikit adalah sapi yang bernama “perkasa” yaitu $4,3 \pm 1,10$ ml. Hasil

analisa statistik menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,05$). Volume semen yang terbanyak pada sapi Brahman adalah sapi yang bernama "Brago" yaitu dengan volume $7,01 \pm 1,66$ ml, sedangkan yang terendah pada sapi yang bernama "Bravo" yaitu $2,71 \text{ ml} \pm 1,30$ ml. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa volume semen terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Menurut pendapat Garner and Hafez (2008) volume semen per ejakulasi berkisar antara 5 – 8 ml, sedangkan menurut Hafez (2008) antara 7 – 10 ml. Menurut pendapat Ax *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa volume semen dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu umur dan frekuensi penampungan semen. Hasil penelitian Nyuwita dkk (2015) volume semen sapi Simental berkisar antara 6,9 – 9,2 ml pada satu kali penampungan.

Persentase motilitas yang tertinggi pada sapi Simental adalah sapi dengan nama "Baranang" yaitu $73.19 \pm 2,43\%$, sedangkan yang terendah adalah pada sapi yang bernama "uranus" yaitu $41,66 \pm 25,4\%$. Hasil uji statistik menunjukkan rata-rata persentase motilitas antar individu pada bangsa sapi Simental terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Persentase motilitas yang tertinggi pada sapi Limousin pada sapi yang bernama "Stretch" yaitu $71.86 \pm 2,43\%$, sedangkan yang terendah adalah sapi yang bernama "enka" yaitu $20.97 \pm 21,73\%$. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa rata-rata persentase motilitas antar individu sapi Simental terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Persentase motilitas individu pada sapi PO yang tertinggi pada sapi yang bernama Suryolaras yaitu $71.13 \pm 2,71\%$, sedangkan yang terendah pada sapi yang bernama "Pathol" yaitu $50.35 \pm 19,64\%$. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa rata-rata persentase motilitas antar individu sapi PO terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Persentase motilitas individu pada sapi Brahman yang tertinggi pada sapi yang bernama "Brago" yaitu $69,65 \pm 5,99\%$,

sedangkan yang terendah sapi yang bernama "S Wiguno" yaitu $12,50 \pm 8,02\%$. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa rata-rata persentase motilitas antar individu sapi Brahman terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Chaiprasat *et al.*, (2006), melaporkan terjadi penurunan spermatozoa motil progresif seiring berkurangnya suhu *thawing*. Hasil penelitian Nyuwita dkk (2015) bahwa motilitas spermatozoa pada sapi simental pada umur yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata, yaitu antara 66,3 – 72,1 %.

Produksi semen beku per hari pada sapi Simental yang terbanyak pada sapi yang bernama "Sagola" yaitu $397,79 \pm 118,24$ dosis straw per hari, Sedangkan yang terendah adalah "Champion K "Bull" yaitu $154,50 \pm 65,75$ dosis straw. Sedangkan sapi yang bernama "Hansa", "Style" dan "charles" tidak pernah dapat diproduksi semen beku. Hasil Uji statistik menunjukkan bahwa rata-rata produksi semen beku per hari antar individu sapi Simental terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Produksi semen beku per hari pada sapi Limousin yang terbanyak pada sapi yang bernama "Stretch" yaitu $401.87 \pm 101,68$ dosis per hari, Sedangkan yang paling sedikit adalah sapi yang bernama "Enka" 200 ± 10 dosis straw perhari. Hasil Uji statistik menunjukkan bahwa rata-rata produksi semen beku per hari antar individu sapi Limousin terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Produksi semen beku per hari pada sapi PO yang terbanyak pada sapi yang bernama "Waluyoseto" yaitu $374.35 \pm 99,56$ dosis straw perhari, sedangkan jumlah yang paling sedikit adalah pada sapi yang bernama "Perkasa" yaitu sebanyak $197.03 \pm 60,13$ dosis straw per hari. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa rata-rata produksi semen beku per hari antar individu sapi PO terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Produksi semen beku per hari pada sapi Brahman yang terbanyak pada

sapi yang bernama “ Brago” yaitu 280,90 ± 85,11 dosis straw per hari, sedangkan yang terendah adalah sapi yang bernama “ Wiguno “ yang tidak pernah dihasilkan semen beku. Hasil Uji statistik menunjukkan bahwa rata-rata produksi semen beku per hari antar individu sapi Brahman terdapat perbedaan yang nyata (P<0.05). Hasil penelitian Nyuwita dkk (2015) menunjukkan bahwa produksi semen beku harian pada sapi Simental berkisar antara 236,6 – 318,7 straw per hari pada umur antara 3-8 tahun. Hafez (2008) produksi semen beku dipengaruhi oleh kualitas semen segar, pengencer semen dan proses pembekuan semen. Pengencer yang baik dapat mempertahankan kualitas semen dan melindungi membran spermatozoa dari proses coldshock. Menurut Susilawati (2011) pada proses pembekuan terjadi kerusakan fungsi dan struktur membran spermatozoa , sehingga setelah pembekuan banyak spermatozoa yang mengalami kematian. Menurut Salim dkk (2012) ketahanan spermatozoa pada proses pembekuan pada sapi lokal yaitu sapi Madura, Bali dan PO tidak menunjukkan perbedaan yang nyata sedangkan menurut Chandolia *et al.*, (1999) menjelaskan bahwa faktor genetik mempengaruhi ketahanan spermatozoa terhadap *heat shock* pada saat *thawing*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Kualitas semen segar dan produksi semen beku yang terbaik pada sapi Limousin sedangkan yang terendah adalah sapi Brahman
2. Kualitas semen segar dan produksi semen beku pada masing-masing individu didalam bangsa yang sama menunjukkan perbedaan .

Saran

1. Sapi yang menghasilkan spermatozoa tetapi tidak mampu dilakukan pembekuan perlu di culling agar tidak membebani biaya pemeliharaan.
2. Perlu dilakukan perbaikan metode pembekuan dengan memperbaiki pengencer yang digunakan dan teknik pembekuan semen
3. Perlu penelitian lebih lanjut tentang faktor yang menyebabkan spermatozoa tidak mampu dibekukan walaupun kualitas awal memenuhi perysratan untuk pembekuan

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Balai Inseminasi Buatan Daerah Ungaran Jawa Tengah yang telah memfasilitasi pemberian data untuk digunakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ax, R.L., M. Dally, B.A. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez and M.E. Bellin, 2008. Semen evaluation in reproduction in farm animal 7th edition ed. by E.S.E Hafez and B Hafez. Blackwell Publisher, 365-375.
- Bayemi, P.H., I. Leinyuy, V.M. Nsongka, E.C. Webb and A.I. Ebangi, 2010. Viability of cattle sperm under different storage conditions in Cameroon. *Trop. Anim. Health Prod*, 42: 1779-1783.
- Boonkusol, D., K. Saikum and P. Ratanaphumma, 2010. Effect of extender and storage time in motility and ultrastructure of cooled-preserved boar spermatozoa. *Kasetsart J.Nat.Sci.Sci.*, 44: 582-589.
- Chaiprasat, S., Benjakul, W., Chartchue, A., Joemplang, P and Punyapornwithaya, V., 2006. Effect of Bull Semen Thawing Methods

- on Sperm Progressive Motility. Chiang Mai Veterinary Journal 4 (1) : 25 – 29.
- Chandolia, R. K., Reinertsen E. M and Hansen, P. J., 1999. Lack of Breed Differences in Responses of Bovine Spermatozoa to Heat Shock. Short Communication. Journal Dairy Sci. 82 : 2617 – 2619.
- Garner, D.L and Hafez , E.S.E. 2008 Spermatozoa and Seminal Plasma . In: Reproduction in farm animals. Hafez. E.S.E. 7th ed. Lippincott Williams and Wilkins. Awollers Kluwer Company. Philadelphia : 110 -125.
- Hafez, E.S.E., 2008. Preservation and cryopreservation of gametes and embryos. In: Reproduction in farm animals. Hafez. E.S.E. 7th ed. Lippincott Williams and Wilkins. Awollers Kluwer Company. Philadelphia: 431-442.
- Hopkins S.M and L.E. Evans, 2003. Veterinary Endocrinology And Reproduction, Fifth Edition, Srate Avenue USA, Blacwell Publising Company .
- Nyuwita. A, Susilawati .T, Isnaini .N. 2015. Kualitas semen segar dan produksi semen beku sapi simmental pada umur yang berbeda *J. Ternak Tropika* 16, No.1: 61-68,
- Salim, M.A. Susilawati, T dan Wahyuningsih W. 2012. Pengaruh Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO (Effect of thawing techniqueto quality frozen semen spermatozoa in bali, madura and PO cattle) *Jurnal Agripet* (12) 2: 14-19
- Susilawati T. 2011 Spermatologi. UB Press
- Susilawati (2013) Teknik Inseminasi Buatan . UB Press
- Thornton P.K (2010) Livestock production: recent trends, future prospects. *Philos Trans R Soc BBiol Sci* 365:2853–2867
- Tow . P ,2011, Rainfed Farming Systems, (USA : Amazon Media)
- Ulvevadet B and Hausner VH, (2011), Incentives and regulations to reconcile conservation and development: thirty years of governance of the Sami pastoral ecosystem in Finnmark Norway. *J Environ Manage* 92 (10): 2794–2802.