

PENGARUH PENGHILANGAN RAFINOSA DALAM PENGECER TRIS AMINOMETHANE KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SEMEN KAMBING BOER SELAMA SIMPAN DINGIN

Abdul Rhochim¹⁾, Muhammad Ade Salim²⁾, Nurul Isnaini³⁾ dan Trinil Susilawati³⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²⁾ Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

Email: trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRACT

The objective of this research was to examine the effect of removal raffinose in tris aminomethane egg yolk diluents to semen quality of Boer goat during chilled preservation. This research was carried out at Animal Reproduction Laboratory and Sumber Sekar Laboratory, Animal Husbandry Faculty, Brawijaya University from December 11th 2016 to January 31th 2017. Semen diluent was divided into two groups, there were P0 (80% Tris Aminomethane + 20% Egg Yolk); and P1 (80% Tris Aminomethane (without raffinose) + 20% Egg Yolk). Parameter of this research was motility percentage, viability percentage, and abnormality percentage. Data of this research was analyzed using paired design t test. The result showed that after five days chilled preservation, was different ($P < 0,05$) on the average motility percentage between P0 ($39,50 \pm 9,26\%$) and P1 ($43,50 \pm 6,26\%$). There was significantly different ($P < 0,01$) on the average viability percentage between P0 ($45,86 \pm 15,66\%$) and P1 ($46,38 \pm 15,32\%$). There was significantly different ($P < 0,01$) on the average abnormality percentage between P0 ($1,76 \pm 0,60\%$) and P1 ($2,31 \pm 0,75\%$). Total motile sperm count after 5 days chilled preservation was different ($P < 0,05$) in P0 treatment and not different ($P > 0,05$) in P1 treatment compared to the expectation value of 40 million sperm/ml. The conclusion of this research was the tris aminomethane egg yolk diluent without raffinose could protect of Boer goat semen quality during chilled preservation.

Keywords: boer goat semen, tris aminomethane, raffinose, chilled preservation

PENDAHULUAN

Populasi kambing di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 2% pada tahun 2015 lebih besar dibandingkan peningkatan populasi ditahun 2014 sebesar 0,75% (Ditjennak, 2016), namun populasi kambing didominasi oleh kambing lokal. Kambing Boer merupakan kambing tipe pedaging yang memiliki karakteristik baik seperti, konformasi tubuh bagus, pertumbuhan yang cepat, kualitas daging yang sangat baik, fertilitas tinggi dan kemampuan beradaptasi yang baik (Zhanget *al.*, 2008; Erasmus, 2000). Kambing Boer dapat dikembangkan di Indonesia untuk meningkatkan populasi kambing. Kambing Boer juga dapat disilangkan dengan kambing lokal untuk memperbaiki produktivitas ternak lokal.

Persilangan itu sendiri adalah perkawinan antara ternak kambing jantan unggul dengan kambing betina lokal dari rumpun yang berbeda.

Alawiyah dan Hartono (2006) menyatakan bahwa IB merupakan salah satu cara yang dapat meningkatkan populasi dan kualitas genetik kambing Boer. Umumnya teknik IB menggunakan semen beku dan semen cair. Penggunaan semen beku mengalami berbagai kendala yakni persentase hidup spermatozoa rendah, mahalnya tabung nitrogen dan ketersediaan nitrogen cair kurang. Penggunaan semen cair merupakan pilihan tepat untuk menggantikan semen beku akibat rendahnya kualitas dan beberapa faktor lain. Semen cair akan mengalami penurunan kualitas selama penyimpanan

suhu dingin jika tidak ditambah bahan pengencer yang tepat.

Tris aminomethane kuning telur merupakan salah satu pengencer yang dapat ditambahkan dalam semen. Pada pengencer tris aminomethane kuning telur mengandung krioprotektan ekstraseluler berupa kuning telur yang mengandung lesitin dan lipoprotein yang dapat melindungi spermatozoa dari *cold shock*, sumber energi berupa laktosa, fruktosa dan rafinosa (Ducha dkk., 2013). Penambahan rafinosa pada tris aminomethane dilaporkan mampu mempertahankan kualitas spermatozoa dengan baik seperti, rafinosa pada semen beku kambing (Suwarso, 1999), domba garut (Rizal dkk., 2006) dan semen kuda (Ariantie dkk., 2014). Penggunaan rafinosa mengalami berbagai kendala antara lain harganya mahal dan bahan sulit didapat (impor) namun fungsi rafinosa dapat digantikan oleh sakarida lain untuk sumber energi dan kuning telur sebagai krioprotektan ekstraseluler. Susilawati (2013) menyatakan bahwa syarat tambahan lain bahan pengencer antara lain pembuatannya mudah, tidak menghalangi uji kualitas dan harganya terjangkau.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penghilangan rafinosa dalam pengencer tris aminomethane kuning telur terhadap motilitas individu, viabilitas, abnormalitas spermatozoa kambing Boer selama simpan dingin.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi dan Laboratorium Sumber Sekar Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya di Desa Sumber Sekar, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang pada 11 Desember 2016 sampai 31 Januari 2017.

Materi penelitian yang digunakan yaitu semen segar kambing Boer sebanyak 3 ekor yang berumur 3,5-4,5 tahun. Persyaratan semen segar yang digunakan yaitu semen yang mempunyai motilitas individu $\geq 70\%$ dan motilitas massa $\geq 2+$. Kuning telur (KT) yang digunakan berasal dari telur segar ayam ras petelur dengan umur telur < 3 hari.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen laboratorium dengan 2 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan penelitian yaitu P0 (Tris Aminomethane 80% + Kuning Telur 20%) dan P1 (Tris Aminomethane 80% (tanpa rafinosa) + Kuning Telur 20%). Variabel penelitian yang diamati yaitu variabel bebas berupa pengencer dan variabel tidak bebas adalah kualitas semen. Parameter yang diamati meliputi persentase motilitas individu, persentase viabilitas, persentase abnormalitas, dan total spermatozoa motil.

Data dianalisis dengan statistik deskriptif dan diuji lebih lanjut menggunakan uji t berpasangan. Parameter total spermatozoa motil dan motilitas individu mendekati nilai 40% saat simpan dingin diuji menggunakan *Pearson's Chi Square*. Nilai harapan untuk motilitas individu minimal sesuai SNI yaitu 40% (BSN, 2014). Nilai harapan untuk total spermatozoa motil sebesar 40 juta spermatozoa/ml.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengamatan Kualitas Semen Segar Kambing Boer

Semen segar setelah ditampung dilakukan pemeriksaan kualitas secara makroskopis yang meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH. Pemeriksaan secara mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi. Hasil rata-rata pengamatan kualitas semen segar kambing Boer dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Kualitas Semen Segar

Parameter	Rataan±SD
Makroskopis	
Volume (ml/ejakulasi)	1,14±0,13
Warna	Putih kekuningan
Bau	Khas
pH	7,00±0,00
Konsistensi	kental
Mikroskopis	
Motilitas Massa	+++
Motilitas Individu (%)	89,00±0,02
Viabilitas (%)	87,00±6,75
Abnormalitas (%)	0,77±0,28
Konsentrasi (juta/ml)	4.350,40±1.100,42

Pengamatan kualitas semen segar kambing Boer secara makroskopis dalam penelitian menunjukkan hasil yang normal. Volume semen didapatkan sebesar 1,14±0,13 ml/ejakulasi. Warna semen putih kekuningan. Warna semen putih kekuningan disebabkan oleh sekresi pigmen riboflavin oleh kelenjar vesikularis (Ihsan,2013). Bau semen adalah khas. Suyadi dkk., (2012) menyatakan bahwa semen normal umumnya mempunyai bau yang khas disertai bau dari ternak tersebut. Rataan pH semen 7,00±0,00. Konsistensi semen segar yang didapatkan adalah kental. Susilawati (2013) menyatakan bahwa konsistensi berkorelasi positif dengan konsentrasi spermatozoa. Penilaiannya bisa encer (<1000.10⁶ spermatozoa/ml semen), sedang (1000.10⁶-1500.10⁶ spermatozoa/ml semen) dan pekat (>1500.10⁶ spermatozoa/ml semen).

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan motilitas massa semen segar saat penelitian sebesar +++. Hasil pengamatan tersebut sesuai dengan laporan Alawiyah dan Hartono (2006) dan Ihsan (2011) bahwa motilitas massa semen kambing Boer sebesar +++. Persentase motilitas individu didapatkan sebesar 89,00±0,02%. Dilaporkan oleh Ihsan (2011) bahwa rataan persentase motilitas individu semen segar kambing Boer sebesar 82±5,7%, Alawiyah dan Hartono (2006) sebesar 90% dan Hartono (2006) sebesar 86,25%. Semen yang memiliki

nilai motilitas individu tinggi akan memberikan peluang fertilisasi yang lebih besar dibandingkan dengan semen motilitas rendah (Suyadi dkk., 2012). Persentase viabilitas semen segar kambing Boer berkisar 87,00±6,75%. Persentase abnormalitas selama penelitian diperoleh rata-rata sebesar 0,77±0,28%. Garner and Hafez (2008) menyatakan bahwa umumnya persentase abnormalitas spermatozoa kambing berkisar 5-20%. Rataan konsentrasi spermatozoa kambing Boer hasil pengamatan menggunakan *haemocytometer* selama penelitian sebesar 4.350,40±1.100,42 juta/ml. Hasil tersebut sesuai dengan laporan Agustian dkk. (2014) bahwa konsentrasi spermatozoa kambing Boer sebesar 4.190±1.590,31 juta/ml, Alawiyah dan Hartono (2008) sebesar 4.242,50 juta/ml.

Persentase Motilitas Spermatozoa selama Simpan Dingin

Pengamatan motilitas individu dilakukan pada pada jam ke-0, jam ke-1 jam ke-2 dan seterusnya hingga persentase motilitas individu sebesar 30%. Persentase motilitas individu dinilai dengan mengamati jumlah spermatozoa yang bergerak progresif pada mikroskop perbesaran 400 kali. Rataan persentase motilitas individu spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase Motilitas Individu Spermatozoa

Perlakuan/Waktu	Motilitas (%)	
	P0	P1
Jam ke-0	82±3,32	81± 3,74
Jam ke-1	81,5±2,42	81,5±3,37
Jam ke-2	81±3,16	80,5±2,84
Jam ke-3	80,5±2,84	79,5±3,69
Hari 2*	75 ± 2,36	73,5 ± 3,37
Hari 3*	65,5±7,62	66±3,94
Hari 4*	51,5±9,73	55,5±8,32
Hari 5*	39,5±9,26	43,5±6,26
Hari 6*	10,55±9,85	12,5±11,61

Keterangan:

P0 : 80% Tris Aminomethane + 20% Kuning Telur

P1 : 80% Tris Aminomethane (tanpa rafinosa) + 20% Kuning Telur

* : Berbeda nyata antara P0 dan P1 ($P < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 2, dapat dijelaskan bahwa semakin lama penyimpanan pada suhu dingin, motilitas spermatozoa akan mengalami penurunan. Pada penyimpanan jam ke-0 sampai jam ke-3 motilitas individu spermatozoa tidak mengalami penurunan yang drastis, sedangkan pada penyimpanan hari ke-2 sampai hari ke-6 motilitas individu spermatozoa menurun dengan tajam. Penurunan motilitas individu selama penyimpanan diduga akibat pengaruh zat toksik yang ditimbulkan oleh spermatozoa mati terhadap spermatozoa yang masih hidup. Yulnawati dan Setiadi (2005) menyatakan bahwa zat toksik yang ditimbulkan oleh spermatozoa mati maupun yang berasal dari bahan pengencer yang mengalami oksidasi akibat penyimpanan dapat menyebabkan tingginya radikal bebas yang dapat merusak keutuhan membran plasma spermatozoa dan berdampak negatif pada metabolisme yang mengakibatkan kematian spermatozoa.

Motilitas individu spermatozoa pada penyimpanan jam ke-0 sampai jam ke-3 P0 lebih tinggi dibandingkan dengan P1 namun, tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) antara kedua perlakuan tersebut. Pada penyimpanan hari 2, terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

antara ke dua perlakuan dimana P0 lebih tinggi dibandingkan P1. Terdapat perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) pada penyimpanan hari ke-2 sampai hari ke-6 antara ke dua perlakuan tersebut, yang mana P1 lebih baik dari P0. Hal ini diduga terjadi perubahan tekanan osmotik akibat penambahan rafinosa. Suwarso (1999) menyatakan bahwa semakin tinggi penambahan rafinosa akan meningkatkan tekanan osmose pengencer, sehingga akan lebih kuat menarik keluar air dari dalam sel dan kejadian dehidrasi terjadi lebih serius sehingga menurunkan motilitas individu spermatozoa. Krioprotektan golongan karbohidrat akan menambah tekanan osmotik pada pengencer dan mengubah sifat mekanik pengencer melalui peningkatan viskositas (Vishwanath and Shanon, 2000). Selama penambahan krioprotektan, spermatozoa terkena lingkungan hipertonis menyebabkan spermatozoa menyusut karena pengeluaran air intraseluler melalui membran plasma (Si *et al.*, 2006).

Persentase Viabilitas Spermatozoa selama Simpan Dingin

Persentase viabilitas spermatozoa diamati melalui perubahan warna spermatozoa setelah diulas menggunakan pewarna *eosin negrosin*. Spermatozoa

yang hidup ditandai dengan warna yang masih terang atau tidak menyerap warna karena membran spermatozoa dalam keadaan baik sedangkan spermatozoa mati akan menyerap warna akibat rusaknya

membran spermatozoa. Hasil ulasan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali. Rataa persentase viabilitas spermatozoa selama simpan dingin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase Viabilitas Spermatozoa

Perlakuan/Waktu	Viabilitas (%)	
	P0	P1
Jam ke-0**	77,7±9,32	78,5±6,5
Jam ke-1**	77,57±4,52	78,73±7,62
Jam ke-2*	76,57±7,11	77,6±5,88
Jam ke-3**	75,85±2,43	77,6±5,16
Hari 2**	72,78±7,76	72,3±6,61
Hari 3**	69,97±8,27	68,33±4,14
Hari 4*	55,61±11,71	58,1±13,9
Hari 5**	45,86±15,66	46,38±15,32
Hari 6**	17,07±10,19	19,99±10,49

Keterangan:

P0 : 80% Tris Aminomethane + 20% Kuning Telur

P1 : 80% Tris Aminomethane (tanpa rafinosa) + 20% Kuning Telur

* : berbeda nyata antara P0 dan P1 (P<0,05)

** : berbeda sangat nyata antara P0 dan P1 (P<0,01)

Pada Tabel 3 terlihat bahwa spermatozoa yang disimpan pada suhu dingin akan mengalami penurunan viabilitas seiring dengan semakin lama penyimpanan. Semakin lama spermatozoa disimpan pada suhu dingin maka viabilitas akan menurun secara drastis. Hal ini diduga akibat perubahan pH yang terjadi pada pengencer. Solihati dkk. (2006) menyatakan bahwa metabolisme spermatozoa dalam keadaan anaerob menghasilkan asam laktat yang kian tertimbun dan menurunkan pH semen yang akhirnya menurunkan viabilitas spermatozoa.

Secara umum viabilitas spermatozoa pada P1 lebih tinggi dibandingkan dengan P0. Hasil uji t berpasangan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata (P<0,05) pada waktu simpan jam ke-2 dan hari ke-4 dan ada waktu simpan jam ke-0, jam ke-1, jam ke-3, hari ke-2, hari ke-3, hari ke-5 dan hari ke-6 terdapat perbedaan yang sangat nyata (P<0,01) antara P0 dan P1. Berdasarkan hal tersebut dapat

diterangkan bahwa P1 mampu mempertahankan viabilitas spermatozoa kambing Boer dibandingkan dengan P0. Hal ini diduga penambahan rafinosa pada pengencer mengakibatkan suasana hipertonis yang mengganggu tekanan osmotik. Dalam kondisi tekanan osmotik yang hipertonis memberikan efek buruk terhadap kelangsungan hidup spermatozoa (Santos *et al.*, 2007). Nurlia dkk. (2016) menyatakan bahwa semakin tinggi penambahan dosis rafinosa dalam pengencer tris aminomethane kuning telur semakin rendah persentase spermatozoa hidup, yang diakibatkan peningkatan tekanan osmotik yang menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa. Penggunaan karbohidrat disakarida atau trisakarida sebagai krioprotektan pada pengencer akan lebih meningkatkan suasana dehidrasi osmotik atau hipertonis dibandingkan dengan monosakarida (Tunceret *et al.*, 2011).

Persentase Abnormalitas Spermatozoa selama Simpan Dingin

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu parameter yang dapat menentukan tingkat fertilitas spermatozoa. Pengamatan abnormalitas

spermatozoa dilakukan dengan membuat preparat ulas menggunakan pewarna eosin negrosin kemudian diamati pada mikroskop perbesaran 400 kali. Rataan abnormalitas spermatozoa selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4

Tabel 4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa

Perlakuan/Waktu	Abnormalitas (%)	
	P0	P1
Jam ke-0**	1,7±0,63	1,93±0,90
Jam ke-1**	1,2±0,82	1,84±0,83
Jam ke-2*	1,11±0,54	1,39±1,08
Jam ke-3**	1,46±0,71	1,43±0,57
Hari 2**	1,34±0,62	1,78±1,05
Hari 3**	1,35±0,67	1,68±0,77
Hari 4*	1,66±0,62	1,98±0,68
Hari 5**	1,76±0,6	2,31±0,75
Hari 6**	2,40±0,71	2,56±1,05

Keterangan:

P0 : 80% Tris Aminomethane + 20% Kuning Telur

P1 : 80% Tris Aminomethane (tanpa rafinosa) + 20% Kuning Telur

* : berbeda nyata antara P0 dan P1 (P<0,05)

** : berbeda sangat nyata antara P0 dan P1 (P<0,01)

Secara umum persentase abnormalitas spermatozoa pada P1 lebih tinggi dibandingkan P0. Hal ini mengindikasikan bahwa P0 lebih baik dalam mempertahankan normalitas spermatozoa selama simpan dingin. Hasil uji t berpasangan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata (P<0,01) pada waktu simpan jam ke-0, jam ke-1, jam ke-3, hari ke-2, hari ke-3, hari ke5 dan hari ke-6. Pada waktu simpan jam ke-2 dan hari ke-4 terdapat perbedaan yang nyata (P<0,05) antara P0 dan P1. Wiratri dkk. (2014) menyatakan bahwa abnormalitas spermatozoa akan mengalami peningkatan yang disebabkan oleh spermatogenesis dari ternak tersebut dan perlakuan setelah penampungan semen seperti, penanganan semen segar, pencampuran semen dengan pengencer dan pada saat pembuatan ulasan. Kerusakan spermatozoa atau abnormalitas spermatozoa saat pembuatan ulasan pada *object glass* dapat ditandani dengan

patahnya ekor spermatozoa dan spermatozoa yang tidak memiliki ekor (Firdausi dkk., 2014).

Semen cair dengan perlakuan pengencer P0 maupun P1 memiliki persentase abnormalitas yang rendah sehingga dapat digunakan untuk IB. Persentase abnormalitas spermatozoa masih dalam kisaran normal yaitu kurang dari 20% yang mengindikasikan semen cair tersebut dapat digunakan untuk IB meskipun telah lama disimpan pada suhu dingin. Semen cair yang memiliki persentase abnormalitas spermatozoa dibawah 20% masih tergolong baik (Nugroho dkk., 2014). Ax *et al.* (2008) menyatakan bahwa spermatozoa dengan persentase abnormalitas lebih dari 20% tidak dapat digunakan untuk IB.

Total Spermatozoa Motil

Peluang terjadinya fertilisasi ditentukan oleh jumlah spermatozoa motil progresif yang ada dalam suatu ejakulat.

Suatu ejakulat ataupun semen beku dan semen cair haruslah memiliki total spermatozoa motil yang optimal untuk terjadinya fertilisasi (Salim dkk., 2012). Susilawati (2013) menyatakan bahwa total spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan volume semen dengan

konsentrasi kemudian dikalikan dengan persentase motilitas individu spermatozoa. Rataan total spermatozoa motil semen cair yang disimpan selama 5 hari menunjukkan P1 lebih baik dari P0. Rataan hasil perhitungan total spermatozoa motil dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan Total Spermatozoa Motil pada Pendinginan Hari ke-5

Perlakuan	Total Spermatozoa Motil (juta/ml)
P0*	39,5±9,26
P1	43,5±6,26
Nilai Harapan	40,0

Keterangan:

P0 : 80% Tris Aminomethane + 20% Kuning Telur

P1 : 80% Tris Aminomethane (tanpa rafinosa) + 20% Kuning Telur

* : berbeda nyata (P<0,05)

Analisis data menggunakan *Pearson's Chi Square* pada hari 5 dengan nilai harapan 40 juta spermatozoa/ml menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) pada P0, *Chi Square* hitung lebih besar dari *Chi Square* tabel 0,05. Semen cair pada P0 tidak dapat digunakan untuk IB. Pada P1 tidak terdapat perbedaan yang nyata (P>0,05), *Chi Square* hitung kurang dari *Chi Square* tabel 0,05. Semen cair pada P1 dapat diaplikasikan untuk IB karena menunjukkan hasil total spermatozoa motil yang lebih besar dari nilai harapan 40 juta spermatozoa/ml.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pengencer tris aminomethane kuning telur tanpa rafinosa mampu mempertahankan kualitas semen kambing Boer selama simpan dingin sampai hari ke-5 ditinjau dari motilitas individu, viabilitas, abnormalitas spermatozoa dan total spermatozoa motil.

Saran

Penelitian lebih lanjut sebaiknya mengaplikasikan untuk IB sehingga diketahui fertilitas semen cair yang diencerkan dengan pengencer tris aminomethane kuning telur tanpa rafinosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian M. F. , M. N. Ihsan dan N. Isnaini. 2014. Pengaruh Lama Simpan Semen dengan Pengencer Tris Aminomethane Kuning Telur Pada Suhu Ruang Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer. *J. Ternak Tropika*. 15(2): 1-6.
- Alawiyah, D. dan M. Hartono. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Boer. *J.Indon.Trop.Anim.Agric.* (31): 8-14.
- Ariantje, O. S., T. L. Yusuf, D. Sajuthi dan R. I. Arifiantini. 2014. Kualitas Semen Cair Kambing Peranakan Etawah dalam Modifikasi Pengencer Tris dengan Trehalosa dan Rafinosa. *Jurnal Veteriner*. 15(1): 11-22.
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, Hafez, and M. Bellin. 2008. Semen Evaluation in Farm Animal. 7th Edition. Edited By Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA: 365-370.

- Ditjennak. 2016. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan. Kementrian Pertanian.
- Ducha N, T. Susilawati, Aulaniam, S. Wahjuningsih. 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Refrigerator dalam Pengencer CEP-2 dengan Suplementasi Kuning Telur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 7(1):5-8.
- Erasmus, J. A. 2000. Adaptation to Various Environment and Resistance to Disease of The Improved Boer Goat. *Small Ruminant Research*. 36: 179-187.
- Firdausi P. A., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer Cep-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Santan. *J. Ternak Tropika*. 15(1): 21-30.
- Garner, D. L. and E. S. E Hafez. 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animals. 7th Edition. Edited By Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA. 7:96-109.
- Ihsan, M. N. 2011. Penggunaan Telur Itik Sebagai Pengencer Semen Kambing. *J. Ternak Tropika*. 12(1): 10-14.
- _____. 2013. Pembekuan Vitrifikasi Semen Kambing Boer dengan Tingkat Gliserol Berbeda. *J. Ternak Tropika*. 14(2): 38-45
- Nugroho, Y., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer Cep-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Kuning Telur dan Sari Buah Jambu Biji (*Psidium Guajava*). *J. Ternak Tropika*. 15(1):31-42
- Nurlia I. S. Suharyati dan M. Hartono. 2016. Pengaruh Penambahan Dosis Rafinosa dalam Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Motilitas Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Ongole. *Jurnal Imiah Peternakan Terpadu*. 4(3): 263-271.
- Rizal, M., Herdis, A. Boediono, A.S.Aku dan Yulnawati. 2006. Peranan Beberapa Jenis Gula dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku Domba Garut. *JITV*. 11: 123 – 130.
- Salim, M.A., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2012. Pengaruh Metode Thawing Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO. *Agripet*. 12(2): 14-20
- Santos M. R., F. M. Pastor, V. G. Macias, M. C. Estes, A. J. Soler, P. Paz, L. Anel and J. J. Garde. 2007. Extender Osmolality and Sugar Supplementation Excert a Complex Effect On The Cryopreservation of Iberian Red Derr (*Cervus Elaphus Hispanicus*) Epididymal Spermatozoa. *Theriogenology*. 67:738-763
- Solihati N., R. Idi, R. Setiawan, I. Y. Asmara dan B. I. Sujana. 2006. Pengaruh Lama Penyimpanan Semen Cair Ayam Buras pada Suhu 5°C Terhadap Periode Fertil dan Fertilitas Sperma. *Jurnal Ilmu Ternak*. 6(1): 7-11.
- Susilawati, T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak. UB Press. Universitas Brawijaya. Malang. ISBN: 978-602-203-458-2 Suwarso, 1999
- Suwarso. 1999. Peranan Raffinosa dalam Pengencer Tris-Sitrat Kuning Telur Terhadap Semen Beku Kambing Peranakan Etawa. Tesis.

- Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Suyadi, A. Rachmawati dan N. Iswanto. 2012. Pengaruh α -Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethane-Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 22(3):1-8.
- Tuncer P. B., S. Sariozkan, M. N. Bucak, P. A. Ulutas, P. P. Akalin, S. Buyukleblebici and F. Canturk. 2011. Effect of Glutamine and Sugars After Bull Spermatozoa Crypreservation. *Theriogenology*. 75: 1459-1465
- Vishwanath R. and P. Shanon. 2000. Storage of Bovine Semen in Liquid and Frozen State. *Animal Reproduction Science*. 62: 23-53
- Wiratri, V. D. B., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin pada Pengencer yang Berbeda Selama Pendinginan. *Jurnal Ternak Tropika*. 15(1): 13-20.
- Yulnawati dan M. A. Setiadi. 2005. Motilitas dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Epididimis Kucing Selama Penyimpanan Pada Suhu 4°C. *Media Kedokteran Hewan*. 21(3): 100-104.
- Zhang, C. L. Yang and Z. Shen. 2008. Variance Components and Genetic Parameter for Weight and Size at Birth in the Boer Goat. *Livestock Science*. 115: 73-79.