

Efek Perbedaan Waktu Ekuilibrasi Sebelum Pembekuan terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Sapera Menggunakan Tris Kuning Telur

Difference Time Effect of Equilibration Before Freezing on The Quality of Spermatozoa Sapera Goats using Egg Yellow Tris

Danu Prayogo^{1*}, Suherni Susilowati², Ragil Angga Prastiya², Erma Safitri²,
Bodhi Agustono³

¹Bachelor of Veterinary Medicine, ²Department of Veterinary Reproduction, ³Department of Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, UNAIR C-Campus Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115.

*Corresponding author: danu.prayogo-2016@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh efek perbedaan waktu ekuilibrasi pada motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan membran plasma utuh spermatozoa kambing Sapera sebelum pembekuan. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan, yaitu waktu ekuilibrasi P1 (1 jam), P2 (3 jam), dan P3 (4 jam), masing-masing enam kali ulangan. Hasil motilitas menggunakan analisis statistik One Way Anova dilanjutkan dengan Uji Duncan adalah (P1) $71,50 \pm 3,94$, (P2) $66,00 \pm 2,60$, dan (P3) $60,33 \pm 2,42$. Hasil viabilitas adalah (P1) $83,00 \pm 6,16$, (P2) $75,17 \pm 4,70$, dan (P3) $69,00 \pm 3,40$. Hasil abnormalitas yaitu (P1) $2,50 \pm 0,55$, (P2) $3,33 \pm 1,18$, dan (P3) $6,50 \pm 2,88$. Sedangkan hasil dari membran plasma utuh adalah (P1) $79,50 \pm 8,50$, (P2) $72,67 \pm 5,28$, dan (P3) $65,67 \pm 3,78$. Kesimpulan penelitian menunjukkan bahwa hasilnya secara signifikan berbeda nyata ($p < 0,05$) antara waktu ekuilibrasi dan kualitas spermatozoa kambing Sapera sebelum pembekuan. Presentasi tertinggi dari motilitas, viabilitas dan membran plasma utuh pada waktu ekuilibrasi 1 jam, sedangkan presentasi abnormalitas terendah pada waktu ekuilibrasi 1 jam.

Kata kunci: ekuilibrasi, kambing sapera, kualitas spermatozoa

Abstract

This study aimed to examine the effect of time differences on motility, viability, abnormality, and intact plasma membrane of spermatozoa of Sapera goats before freezing. This study used a Completely Randomized Design (CRD) with three settings, namely the equilibration time P1 (1 h), P2 (3 h), and P3 (4 h), each of six replications. The results of motility using One Way Anova statistical analysis through the Duncan Test were (P1) 71.50 ± 3.94 , (P2) 66.00 ± 2.60 , and (P3) 60.33 ± 2.42 . The results of viability was (P1) 83.00 ± 6.16 , (P2) 75.17 ± 4.70 , and (P3) 69.00 ± 3.40 . Abnormal results was (P1) 2.50 ± 0.55 , (P2) 3.33 ± 1.18 , and (P3) 6.50 ± 2.88 . While the results of intact plasma membranes were (P1) 79.50 ± 8.50 , (P2) 72.67 ± 5.28 , and (P3) 65.67 ± 3.78 . The conclusion of the study showed significant results ($p < 0,05$) between the equilibration time and spermatozoa quality of Sapera goats before freezing. The highest presentation of motility, viability and overall plasma membrane was at an equilibration time of 1 h, while the lowest abnormality presentation was at equilibration time of 1 h.

Keywords: equilibration, sapera goats, spermatozoa quality

Received: 12 February 2021

Revised: 20 March 2022

Accepted: 12 October 2022

PENDAHULUAN

Kambing Sapera merupakan salah satu kambing yang ada di Indonesia merupakan hasil dari persilangan antara kambing Saanen jantan dan betina Peranakan Etawah (PE). Kambing

Sapera adalah kambing perah yang memiliki produktivitas dan kualitas susu yang baik (Praharani *et al.*, 2013). Persilangan antara dua jenis kambing antara PE dan Saanen menghasilkan spesies kambing Sapera yang memiliki sifat mudah beradaptasi terhadap iklim



di Indonesia serta memiliki postur tubuh yang cukup besar dan mampu memproduksi susu yang tinggi (Batubara *et al.*, 2016).

Salah satu usaha menunjang peningkatan populasi kambing Sapera di Indonesia diperlukannya meningkatkan produktivitas kambing Sapera, hal itu bisa dilakukan melalui program pengembangan, perbaikan efisiensi reproduksi, perbaikan ternak serta tatalaksana pemeliharaan dan perawatan. Program pengembangan dapat dilaksanakan melalui persilangan maupun seleksi, Salah satu cara pendekatan tersebut melalui teknologi inseminasi buatan (IB). Leboeuf *et al.* (2000) menyatakan bahwa kualitas semen beku yang digunakan untuk Inseminasi buatan dipengaruhi oleh proses pembekuan. Masalah yang sering timbul pada proses pembekuan adalah pengaruh *cold shock* yang dapat merusak membran plasma spermatozoa, sehingga berakibat pada kematian spermatozoa pada saat pembekuan serta terjadi pembentukan kristal-kristal es (Afrilia, 2016). Proses ini dilakukan sebelum semen dibekukan yaitu pada suhu 5°C selama selang waktu 1 sampai 4 jam. Waktu ekuilibrisasi mempunyai waktu yang berbeda pada setiap jenis, individu, dan bangsa pejantan lainnya (kartina 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek waktu ekuilibrisasi terhadap kualitas semen kambing Sapera yang meliputi motilitas, abnormalitas, viabilitas dan membran plasma utuh spermatozoa serta berguna untuk bahan informasi dalam pembekuan semen kambing Sapera.

METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan satu ekor kambing Sapera milik bumi kesilir farm yang berumur 1,5 tahun dan penelitian ini dilaksanakan pada bulan desember tahun 2019 sampai januari tahun 2020. Penampungan semen menggunakan vagina buatan. Pemeriksaan kualitas semen kambing Sapera dilakukan di Laboratorium Universitas Airlangga di PSDKU Banyuwangi.

Pemeriksaan kualitas spermatozoa dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis, pemeriksaan makroskopis meliputi volume, bau,

warna, pH, dan konsistensi sedangkan pemeriksaan mikroskopis meliputi motilitas, parameter pengamatan motilitas dilakukan dengan spermatozoa diamati menggunakan mikroskop dengan membandingkan secara visual atau subjektif jumlah dari spermatozoa yang bergerak progresif dengan spermatozoa yang tidak bergerak secara progresif dan dinyatakan dalam bentuk persen.

Viabilitas merupakan hidup dan mati spermatozoa yang dapat dilihat menggunakan zat warna *eosin nigrosin* dengan ditandai penyerapan warna karena disebabkan rusaknya membrane plasma. Sehingga tidak berfungsinya dengan baik menyebabkan kepala spermatozoa terwarnai sedangkan spermatozoa yang hidup berwarna transparan atau tidak terwarnai.

Abnormalitas merupakan penyimpangan bentuk morfologi spermatozoa dari bentuk normalnya. Abnormalitas dibedakan menjadi 2 yakni abnormalitas primer dan abnormalitas sekunder. Abnormalitas primer ditandai dengan ukuran kepala *macrocephalic* atau *microcephali*, ekor ganda, kepala rangkap, ekor putus dan ekor melingkar. Sedangkan abnormalitas skunder dengan ditandai kepala tanpa ekor, bagian tengah melipat.

Konsentrasi dapat dilihat menggunakan alat spektrofotometer dengan memasukan NaCl fisiologis kedalam kuvet setelah ditera masukan semen kedalam kuvet dan diaduk hingga homogen kemudian di tera kembali di spektrofotometer lalu di tunggu hasilnya dengan hasil dapat dilihat pada kertas print pada alat, sedangkan membran plasma utuh dapat dilihat dengan larutan *hos test* spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggebu, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor yang lurus.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 6 kali pengulangan. Semen yang layak untuk di lanjutkan ke proses pengenceran menggunakan bahan tris kuning telur, dan dilakukan proses ekuilibrisasi dengan jumlah perlakuan 3 meliputi P1 dengan waktu ekuilibrisasi 1 jam, P2 dengan waktu ekuilibrisasi 3 jam dan P3 dengan waktu ekuilibrisasi 4 jam.

Pengumpulan data di analisis menggunakan uji Anova dan Duncan dengan variabel data pengamatan, motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan membran plasma utuh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kualitas semen segar kambing Sapera terdapat pada Tabel 1. Rata-rata volume semen kambing Sapera yang di peroleh pada penelitian ini lebih tinggi dibanding pada penelitian kambing Sapera yang berumur 2 tahun dengan volume 0,94 ml (Masyitoh, 2018). kambing Saanen berumur 4 tahun dengan rata-rata volume 0,97 (Kusuma, 2019), akan tetapi rata-rata volume kambing Sapera lebih rendah dari kambing Bligon yang berumur 3 tahun dengan rata-rata volume 1,24 ml (Umami dan Bintara, 2015). Perbedaan volume ini disebabkan oleh perbedaan spesies, umur, dan juga di pengaruhi oleh masing-masing individu, metode koleksi dan frekuensi dilakukan penampungan semen (Pratiwi, 2014).

Warna semen kambing Sapera yang diperoleh pada penelitian ini berwarna putih krem. Warna semen normal sesuai dengan pendapat Ningsih (2007), semen kambing memiliki warna putih hingga kekuningan atau krem, hal ini disebabkan karena adanya kandungan ribovlavin yang dihasilkan oleh kelenjar vesicularis (Krisnawati, 2002). Kehadiran darah dalam air mani ditunjukkan oleh warna merah muda dari semen dan dapat disebabkan oleh cedera atau penyakit pada penis atau saluran reproduksi (Matshaba, 2010).

Bau semen yang diperoleh pada penelitian ini adalah khas kambing yaitu prengus, hal ini sependapat dengan teori yang menyatakan bahwa semen dalam keadaan normal memiliki bau sesuai dengan bau khas tubuh hewan itu sendiri, bau busuk atau bau amis dapat terjadi apabila organ reproduksi atau saluran reproduksi kambing mengalami infeksi (Wibowo, 2013).

Derajat keasaman atau pH kambing Sapera yang di peroleh pada penelitian berkisar antara 6,5 - 7. Hasil ini lebih rendah dari hasil kambing Saanen umur 4 tahun dengan rata-rata 7 dan lebih rendah dari kambing Sapera yang berumur 2

tahun yaitu dengan rata-rata pH6,4 (Kusuma, 2019). pH semen kambing Sapera pada penelitian ini masih memnuhi kisaran antara pH 6-7. Derajat keasaman atau pH semen menentukan status hidup dan mati spermatozoa, semakin rendah atau semakin tinggi pH semen dari standar normal dapat menyebabkan spermatozoa cepat mati (Zulyazaini *et al.*, 2016).

Konsistensi semen kambing Sapera yang diperoleh pada penelitian ini adalah kental. Hasil ini sesuai dengan penelitian pada kambing Sapera oleh Masyitoh (2018) dan Kusuma (2019). Perbedaan konsistensi disebabkan oleh volume dan konsentrasi semen (Aerens *et al.*, 2012). Semen yang baik memiliki derajat konsistensi yang kental melebihi kekentalan susu sedangkan semen yang buruk derajat konsistensi hampir sama dengan air kelapa (Hafez, 2000).

Konsentrasi spermatozoa kambing Sapera pada penelitian ini dihasilkan dengan rata-rata 3.778 ± 232 menurut Syawal (2010) mengatakan bahwa kosentrasi normal rata-rata konsentrasi spermatozoa pada kambing yaitu berkisar 2.000 sampai 6.000 juta sel/ml menandakan bahwa konsentrasi kambing masih keadaan normal. Hasil ini sedikit lebih baik dari penelitian Masyitoh (2018), pada penelitian kambing Sapera. Perbedaan konsentrasi semen kambing Sapera dikarenakan faktor pakan yang diberikan dan umur. Menurut Dethan *et al*, (2010) gerakan massa spermatozoa kambing Sapera yang di peroleh pada penelitian ini rata-rata adalah (++++) yang menandakan spermatozoa bergerak membentuk gelombang besar dan *progresif*. Menurut Muzakkir, (2017) spermatozoa yang baik memiliki gerakan massa dan motilitas dengan daya gerak yang *progresif*, hal ini juga sesuai dengan pendapat Susilawati, (2011) yang menyatakan bahwa gerakan massa spermatozoa yang baik apabila terlihat membentuk gelombang yang besar, banyak, gelap, dan aktif seperti awan hitam.

Presentasi viabilitas spermatozoa kambing Sapera pada penelitian ini berkisar 89 - 95% dengan rata-rata $91 \pm 2,73$. Menurut Muzakkir *et al.* (2017) bahwa nilai viabilitas lebih tinggi dari motilitas, dikarenakan spermatozoa yang motil tidak bergerak progresif akan tetapi masih hidup

Tabel 1. Kualitas semen segar kambing Sapera

Kualitas	Rata-rata ± SD
Makroskopis	
Volume (ml)	1,07±0,10
Bau	Khas kambing
Warna	Krem
Derajat Keasaman (pH)	6,8±0,25
Konsistensi	Kental
Mikroskopis	
Motilitas (%)	85±3,16
Viabilitas (%)	91±2,73
Abnormalitas sekunder (%)	3,0±1,41
Konsentrasi (juta/ml)	3.778±232
Gerakan Massa	+++

Tabel 2. Rata-rata hasil ekuilibrasasi spermatozoa kambing Sapera

Perlakuan	Motilitas	Viabilitas	Abnormalitas	Membran Plasma Utuh
P1 (1jam)	71,50 ^a ±3,94	83,00 ^a ±6,16	2,50 ^a ±0,55	79.50 ^a ±8.50
P2 (3jam)	66,00 ^b ±2,60	75,17 ^b ±4,70	3,33 ^a ±1,18	72.67 ^{ab} ±5,28
P3 (4jam)	60,33 ^c ±2,4	69,00 ^c ±3,40	6,50 ^b ±2,88	65.67 ^b ±3,78

Superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$).

sehingga tidak terpapar saat proses fiksasi. Hasil ini lebih tinggi dari kambing Saanen (Kusuma, 2019). Hasil ini juga lebih tinggi dari viabilitas penelitian Kambing Sapera umur 2 tahun (Masyitoh, 2018). Viabilitas spermatozoa pada penelitian ini menandakan baik karena memiliki jumlah spermatozoa yang hidup tinggi dan spermatozoa mati kurang dari 15% (Bintara, 2011).

Presentasi Abnormalitas pada penelitian ini adalah 2-5%. Hasil ini lebih rendah dari penelitian kambing Sapera Kusuma (2019) dengan presentasi 4,2% dan Saanen rata-rata 4,3% abnormalitas spermatozoa kambing Sapera pada penelitian ini masih sesuai standar abnormalitas kurang dari 20% masih bisa untuk dilakukan perlakuan (Susilowati *et al.*, 2010).

Hasil analisis statistik Anova One Way dan dilanjutkan Uji Duncan pengaruh waktu ekuilibrasasi terhadap presentasi motilitas spermatozoa kambing Sapera setelah diberi perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara, waktu ekuilibrasasi 1 jam, 3 jam, dan 4 jam (Tabel 2). Waktu ekuilibrasasi adalah dimana waktu yang dibutuhkan spermatozoa untuk beradaptasi dengan pengencer agar saat pembekuan kematian spermatozoa dapat dicegah (Apriyanti, 2012).

Penelitian ini yang menunjukkan motilitas progresif spermatozoa waktu ekuilibrasasi 1 jam menunjukkan motilitas yang baik, dan ini sesuai dengan penelitian Suryani (2012) pada waktu 1 jam pada Domba Merino, dan pada kambing parda alpina (Penitente-Filho *et al.*, 2017), dan kambing Jamnapari pada waktu ekuilibrasasi 1 jam menghasilkan motilitas sebesar 83,24% (Ranjan *et al.*, 2015).

Penelitian ini menunjukkan bahwa sudah tercapainya keseimbangan gliserol untuk masuk kedalam membran plasma spermatozoa dan mengikat substrat yang terdapat dalam sel spermatozoa hanya mengandung nutrisi dan cadangan energi yang minimal namun masih sanggup digunakan sampai pencairan spermatozoa kembali. Urutan kedua dengan motilitas progresif dengan nilai rata-rata sebanyak 66,00% dengan waktu ekuilibrasasi 3 jam menunjukkan bahwa menurunnya motilitas dikarenakan sudah terbentuknya asam laktat sehingga menghasilkan motilitas progresif yang lebih rendah (Suryani, 2012). Motilitas yang tinggi pada spermatozoa juga membutuhkan energi yang tinggi, yang dihasilkan dari metabolisme mitokondria sehingga menyebabkan tingginya tingkat *reactive oxygen spesies* (ROS) sehingga

viabilitas spermatozoa akan menurun (Susilowati *et al.*, 2015).

Hasil analisis statistik Anova One Way dan dilanjutkan Uji Duncan pengaruh waktu ekuilibrase terhadap presentasi viabilitas spermatozoa kambing Sapera setelah diberi perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara, waktu ekuilibrase 1 jam (P1), 3 jam (P2), dan 4 jam (P3). Hasil dari penelitian ini yang menunjukkan viabilitas spermatozoa tertinggi terdapat pada waktu ekuilibrase 1 jam. Waktu ekuilibrase 1 jam pada penelitian ini sudah terjadi keseimbangan elektrolit dengan gliserol secara baik dan merata di dalam sel spermatozoa sehingga kerusakan selama proses pembekuan dapat diminimalisir. Membran plasma pada saat kondisi seperti ini menunjukkan kestabilan fungsi yang baik sehingga tidak mudah di tembus oleh zat warna pada saat uji viabilitas spermatozoa (Anggarsari, 2015). Menurut Susilowati., (2019) Penurunan suhu dan durasi penyimpanan menyebabkan penurunan viabilitas spermatozoa dikarenakan perubahan biokimia karena *cool shock*, gangguan osmotik dan kerusakan membran.

Pengaruh lama waktu ekuilibrase terhadap membran plasma utuh spermatozoa kambing Sapera setelah diberi perlakuan menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara, waktu ekuilibrase 1 jam (P1), 3 jam (P2), dan 4 jam (P3). Seperti halnya pada presentasi (viabilitas), pada penelitian ini menunjukkan bahwa keutuhan membran plasma utuh tertinggi didapatkan pada waktu ekuilibrase 1 jam, urutan kedua pada waktu 3 jam, dan urutan terendah pada waktu 4 jam. Keutuhan membran plasma memiliki korelasi dengan viabilitas spermatozoa, apabila membran plasma telah mengalami kerusakan, maka metabolisme spermatozoa akan terganggu sehingga menimbulkan spermatozoa kehilangan motilitasnya dan menyebabkan kematian (Rizal dan Herdis, 2008). Menurut Susilowati.,(2019) ROS memiliki peran yang penting dalam fosforilasi tyrosine, oksidasi sterol, dan penembusan kolesterol dari membran plasma dalam proses kapasitas spermatozoa dalam proses fertilisasi dan lemak dalam membran plasma spermatozoa kambing memiliki konsentrasi asam lemak tak jenuh yang lebih

tinggi di bandingkan ruminansia lainnya. Karena itu, dalam proses pendinginan, lemak dari membran plasma dapat rusak, yang mengakibatkan peroksidasi lipid.

Pengaruh lama waktu ekuilibrase terhadap abnormalitas spermatozoa kambing Sapera setelah diberi perlakuan menunjukkan bahwa waktu ekuilibrase 1 jam (P1) menunjukkan perbedaan nyata dengan waktu 4 jam (P3) waktu 3 jam (P2) juga menunjukkan perbedaan nyata pada waktu 4 jam (P3), sedangkan waktu ekuilibrase 3 jam (P2) tidak berbeda nyata dengan waktu 1 jam (P1). Hasil penelitian abnormalitas spermatozoa terendah terdapat pada perlakuan ekuilibrase selama 1 jam dan rata-rata abnormalitas tertinggi terdapat pada waktu ekuilibrase 4 jam. Perbedaan presentasi abnormalitas spermatozoa pada setiap perlakuan dikarenakan dalam larutan pengencer keseimbangan intraseluler dan ekstraseluler dengan spermatozoa tidak stabil karena adanya penurunan suhu pada saat ekuilibrase (Tuhu *et al.*, 2013).

Perbedaan tidak nyata pada data diatas diduga karena perbedaan waktu ekuilibrase yang lumayan besar, sehingga perbedaan rata-rata abnormalitas juga sangat besar dan juga bisa disebabkan suhu pada saat ekuilibrase. menurut Kartina, (2014) menyatakan bahwa rataan abnormalitas pada kambing Peranakan Etawah (PE) juga tidak berbeda nyata. Menurut Solihati *et al.* (2018) abnormalitas spermatozoa terjadi karena adanya suhu dingin dan tekanan osmotik yang tidak seimbang akibat dari proses metabolik yang terus menerus selama waktu penyimpanan pada suhu 5°C.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa terdapat efek perbedaan waktu ekuilibrase sehingga menghasilkan perbedaan kualitas spermatozoa kambing Sapera dimana presentasi motilitas dan viabilitas dan membran plasma utuh yang tertinggi terdapat pada waktu ekuilibrase 1 jam, dan presentasi abnormalitas yang paling rendah terdapat pada waktu ekuilibrase 1 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Bumi Kesilir Farm Banyuwangi yang telah memfasilitasi peneliti dalam penyediaan kambing Sapera.

DAFTAR PUSTAKA

- Aerens, C. D., Ihsan, M. N., & Isnaini, N. (2012). Perbedaan Kuantitatif dan Kualitatif Semen Segar pada Berbagai Bangsa Sapi Potong. Malang. Hal: 1-10.
- Anggarsari, L. Y. (2015). Pengaruh Waktu Equilibrasi terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Boer *After Thawing* dalam Pengencer yang Mengandung Lisitin Nabati [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hal: 9-14.
- Afrilia, K. N. (2016). Pengaruh Penambahan L-Arginin dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur Terhadap Motilitas Dan Viabilitas Spermatozoa Domba Merino Post Thawing [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hal: 2-7.
- Apriyanti, C. (2012). Pengaruh Waktu Ekuilibarsi Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Pesisir Pre dan Post Thawing [Tesis]. Program Studi Ilmu Ternak Universitas Andalas. Hal: 8-16.
- Batubara, A., Nasution, S., Subandriyo, I., Inounu, B., Tiesnamurti, & Anggraeni, A. (2016). Kambing Peranakan Etawah (PE). IAARD Press. Jakarta. Hal: 33.
- Bearden, H. J., & Fuquay, J. W. (2000). Neuroendocrine regulators of reproduction. *Applied Animal Reproduction*, 5, 35-53.
- Bintara, S. (2011). Rasio spermatozoa X: Y dan kualitas sperma pada kambing kacang dan peranakan etawah. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, 9(2), 65-71
- Dethan, A. A. (2010). Kualitas dan kuantitas sperma kambing Bligon jantan yang diberi pakan rumput gajah dengan suplementasi tepung darah. [Tesis]. Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hal: 21.
- Hafez, E. S. E., & Hafez, B. (2000). Anatomy of male reproduction. In: B. Hafez & E.S.E. Hafez (eds.) *Reproduction In Farm Animal*. 7th ed. Lippincott & Wilkins, Philadelphia. Pp: 3-12.
- Kartina. (2014). Pengaruh Lama Ekuilibrasi Terhadap Daya Hidup Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah (PE). [Skripsi]. Universitas Hasanudin. Makassar. Hal: 16.
- Kusuma, W. A. (2019). Kajian morfometri spermatozoa kambing saanen dan kambing sapera. [Skripsi]. Universitas Airlangga. Hal: 17.
- Krisnawati. (2002). Kualitas dan Kuantitas Semen Segar Kambing Saanen yang Dikoleksi Dari Berbagai Ejakulat. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal: 5.
- Leboeuf, B., Restall, B., & Salamon, S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3), 113-141.
- Masyitoh, H., Suprayogi, T. W., Praja, R. N., Srianto, P., Madyawati, S. P., & Saputro, A. L. (2018). Persentase Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Sapera dalam Pengencer Tris Kuning Telur dan Susu Skim Kuning Telur Before Freezing. *Jurnal Medik Veteriner*, 1(3), 105-112.
- Muzakkir, D., Wahyuni, S., Akmal, M., & Sabri, M. (2017). Pengaruh Lama Ekuilibrasi terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan Menggunakan Pengencer Andromed®. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 5(2), 115-128.

- Matshaba, B. (2010). Characterization and cryopreservation of South Africa unimproved indigenous goat semen. Dissertation. Pp: 31.
- Ningsih, Z. (2007). Proporsi spermatozoa x dan y kambing peranakan etawa dengan konsentrasi putih telur dan lama inkubasi (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim). Hal: 4.
- Praharani, L., Adiati, U., & Budiarsana, I. G. M. (2013). Penampilan pertumbuhan anak kambing f-1 anglo nubian peranakan etawah, f-2 sapera, dan peranakan etawah. In *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, pp: 301-309.
- Pratiwi, S. K. (2014). Identifikasi Morfometri Spermatozoa Kambing Gembrong Dan Domba Garut. [Skripsi]. Universitas Airlangga. Hal: 10.
- Penitente-Filho, J. M., Dias, J. C. O., Oliveira, F. A., Silveira, C. O., & Torres, C. A. A. (2017). Correlation between sperm motility and hypoosmotic swelling test on cryopreserved goat semen. *Magistra*, 27(3/4), 468-473.
- Ranjan, R., Goel, A. K., Ramachandran, N., Kharche, S. D., & Jindal, S. K. (2015). Effect of egg yolk levels and equilibration periods on freezability of Jamunapari buck semen. *Indian Journal of Small Ruminants*, 21(1), 32-36.
- Rizal, M., & Herdis. (2005). Daya Hidup Spermatozoa Epididimis Domba Garut yang Dikriopreservasi Menggunakan Modifikasi Penggunaan Pengencer Tris. *Hayati*, 12(2), 61-66.
- Solihati, N., Rasad, S. D., Setiawan, R., Foziah, E. N., & Wigiyanti, E. T. 2018. Semen Quality of Post-Thawed Local Ram's in Tris-Egg Yolk Extender with Different Glutathione Level. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 119(1), 012034.
- Suryani, E. F. P. (2012). Pengaruh Waktu Equilibrasi Terhadap Motilitas, Viabilitas dan Integritas Membran Spermatozoa Domba Merino dalam Pengencer yang Mengandung Lesitin Nabati. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. Hal: 11.
- Susilowati, S., Hardijanto, Suprayogi, T. W., Sardjito, T., & Hernawati, T. (2010). Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan.
- Susilowati, S., Triana, I. N., Wurlina, W., Arimbi, A., Srianto, P., & Mustofa, I. (2019). Addition of L-arginine in skim milk extender maintains goat spermatozoa quality in chilled temperature for five days. *Veterinary World*, 12(11).
- Susilowati, S., Triana, I. N., & Malik, A. (2015). The effects of insulin-like growth factor I (IGF-I) complex from seminal plasma on capacitation, membrane integrity and DNA fragmentation in goat spermatozoa. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 4(3), 208-211.
- Susilawati, T. (2011). Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi Peranakan Ongole. *Journal of Tropical Animal Production*, 12(2), 15-24.
- Syawal, M. (2010). Karakteristik Morfologi Produksi Kambing Boer, Kacang dan Persilangan Pada Umur 0-3 Bulan (Prasapah). Seminar Nasional Teknologi dan Veteriner. pp: 617-619.
- Tuhu, A. D., Ondho, Y. S., & Samsudewa, D. (2013). Effect of different water jacket release time in equilibration process on quality semen of java cattle at before

- freezing and post thawing. *Animal Agricultural Journal*, 2(1), 466- 477.
- Umami, P. L. M., & Bintara, S. (2015). Pengaruh Aras Kuning Kelur Itik Alabio (*Anas Platyrhynchos*) Dalam Pengencer Tris Fruktosa Terhadap Motilitas, Viabilitas, Dan Abnormalitas Sperma Kambing Bligon Sebelum Dan Sesudah Kriopreservasi. *Buletin Peternakan*, 39(3), 142-148.
- Wibowo, P. A., Astuti, T. Y., & Soediarso, P. (2013). Study of Total Solid (Ts) And Solid Non Fat (Snf) Of Ettawa Cross Goat Milk In One Lactation Period). *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1(1), 214- 221.
- Zulyazaini, D., Wahyuni, S., Akmal, M., & Abdullah, M. A. N. (2016). Karakteristik Semen dan Komposisi Plasma Seminalis Sapi Aceh yang Dipelihara Di BIBD Saree Aceh Besar. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala. *Agripet*, 16(2), 121-127.
