

## Kualitas Semen Beku Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Pada Lama *Thawing* yang Berbeda di Dinas Pertanian Provinsi Gorontalo

*Quality of Frozen Semen for Bali Cattle (Bos sondaicus) at Different Thawing Periods at the Gorontalo Province Agriculture Service*

Hayati Nur Istiqomah<sup>1</sup>, Mohamad Ervandi<sup>1\*</sup>, Ishak Korompot<sup>1</sup>, Terri Repi<sup>1</sup>,  
Idiamin S Buhang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Peternakan, Fakultas Sains & Teknologi,  
Universitas Muhammadiyah Gorontalo

Jl. Prof. Dr. Mansoer Pateda, Gorontalo-97181, Gorontalo, Indonesia

<sup>2</sup>Dinas Pertanian Provinsi Gorontalo

Jl. Moh. Taeb Gobel Kompleks Perkantoran Provinsi Gorontalo, Gorontalo, Indonesia

\*Korespondensi E-mail: [ervandi\\_husain@yahoo.co.id](mailto:ervandi_husain@yahoo.co.id)

Diterima 19 Januari 2023; Disetujui 17 April 2023

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas semen beku sapi bali pada lama *thawing* yang berbeda di Dinas Pertanian Provinsi Gorontalo. Peubah yang diamati motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa yang di *thawing* pada suhu 30°C selama 8, 10 dan 12 detik. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan media percobaan semen beku sapi bali yang didapatkan dari Dinas Pertanian Provinsi Gorontalo. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA Apabila menunjukkan perbedaan, dilanjutkan dengan pengujian Beda Nyata Terkecil dengan bantuan *software* SPSS 21. Hasil penelitan menunjukkan bahwa lama *thawing* 10 detik menghasilkan motilitas dan viabilitas yang lebih baik serta tingkat abnormalitas yang lebih rendah pada suhu 30°C. Lama *thawing* 10 detik pada suhu 30°C masih bisa digunakan untuk keperluan pelaksanaan IB di lapangan karena kualitas semen beku sapi bali yang dihasilkan masih dapat dipertahankan.

**Kata kunci:** Inseminasi Buatan, Sapi Bali, Semen Beku, *Thawing*.

### ABSTRACT

This research aims to determine the quality of frozen semen of Bali cattle at different thawing times at the Department of Agriculture of the Province of Gorontalo. The observed variables were motility, viability and abnormalities of spermatozoa which were thawed at 30°C for 8, 10 and 12 seconds. The data obtained were analyzed using ANOVA If there are differences of opinion, proceed with testing the Least Significant Difference with the help of SPSS 21 Software. The results showed that a thawing time of 10 resulted in better motility and viability and a lower level of abnormality at 30°C. The thawing time of 10 at a temperature of 30°C can

still be used for the purpose of implementing AI in the field because the quality of frozen semen produced by Bali cattle can still be maintained.

**Keywords:** Artificial Insemination, Bali Cattle, Frozen Semen, Thawing.

## PENDAHULUAN

Sapi bali (*Bos sondaicus*) adalah jenis sapi asli serta murni khas Indonesia, yang memiliki karakteristik genetik khas serta keunggulan yang tidak kalah dengan bangsa sapi yang lain (Hoesni, 2015). Sapi bali memiliki performa produksi yang bermacam-macam serta efisiensi reproduksi yang baik, sehingga sumberdaya genetik sapi bali harus dipertahankan keberadaannya serta dimanfaatkan secara lestari (Hikmawaty dkk., 2014). Peningkatan populasi dan produktivitas sapi bali dibutuhkan sentuhan teknologi di bidang reproduksi khususnya inseminasi buatan (IB) untuk memaksimalkan potensi penjaminan unggul di daerah. IB merupakan suatu program teknologi reproduksi yang sudah lama diterapkan dalam bidang peternakan dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas genetik dan meningkatkan populasi ternak secara merata serta mencegah penularan penyakit kelamin (Ervandi *et al.*, 2020<sup>a</sup>). Ketetapan waktu pelaksanaan IB bertujuan agar supaya terjadi fertilisasi langsung antara sel spermatozoa dengan sel telur untuk terjadi pembuahan dengan sempurna sehingga terjadi kebuntingan (Ervandi *et al.*, 2019; Ervandi dkk., 2022).

Rangkaian kegiatan dalam tahap IB dengan menggunakan semen beku salah satunya adalah proses *handling* semen beku seperti *thawing*. *Thawing* dimaksudkan untuk melakukan pencairan terhadap semen sapi bali dengan memakai media serta durasi tertentu yang kemudian diinseminasikan pada saluran organ reproduksi ternak betina (Salim dkk., 2012). Kegagalan kebuntingan sering terjadi diakibatkan penurunan kualitas semen beku setelah proses *thawing*. Kualitas semen beku yang diproduksi harus mempunyai *Post Thawing Motility* (PTM) lebih dari 40% serta gerakan individu 2- 3 (SNI 4869. 1: 2008); Susilawati, (2011). Teknik *thawing* yang digunakan oleh inseminator merupakan salah satu cara untuk mengevaluasi kualitas semen yang telah dibekukan. Kualitas spermatozoa yang dibekukan dapat menurun akibat kerusakan sel spermatozoa yang disebabkan oleh prosedur pencairan yang tidak tepat (Utomo, 2010). Pelaksanaan *handling* straw di lapang yang dapat berpengaruh terhadap keberhasilan IB terutama angka CR diantaranya (1) jarak antara puncak tangki setinggi 3 inci; (2) waktu dan temperatur *thawing* (Foote and Kaproth, 2002).

Temperatur serta lama *thawing* memiliki dampak yang cukup besar pada kualitas semen yang dihasilkan. *Thawing* baik yakni yang dapat menghindari kerusakan semen, sehingga memiliki kapabilitas untuk membuahi ovum yang tinggi (Ervandi, *et al.*, 2020<sup>b</sup>). Perbedaan kualitas semen beku pada proses *thawing* tersebut menunjukkan bahwa lama waktu *thawing* yang berbeda memberikan pengaruh berbeda pula pada kualitas semen beku *thawing* pada sapi bali. Novita, (2020) mengemukakan bahwa indikator rendahnya kualitas semen beku *thawing* antara lain rendahnya motilitas massa dan individu, viabilitas dan tingginya angka abnormalitas yang dihasilkan. Berdasarkan hasil survey di lapangan yang dilakukan inseminator di daerah dimana lama *thawing* yang sering digunakan antara 8-12 detik kemudian menggunakan air biasa dengan suhu lingkungan 30°C serta juga seringkali inseminator melakukan IB di tempat seperti pegunungan yang jauh dari pemukiman warga sehingga sulit untuk mendapatkan air hangat dengan suhu 37°C. Perbedaan metode waktu *thawing* yang tidak sesuai dengan standart SNI ini menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan IB di lapangan. Berdasarkan pemikiran inilah maka perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik terkait dengan lama *thawing* yang baik dalam menjaga kualitas semen beku sapi bali di Dinas Pertanian Provinsi Gorontalo yang masih memenuhi syarat untuk keperluan IB. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kualitas semen beku sapi bali pada lama *thawing* yang berbeda di Dinas Pertanian Provinsi Gorontalo.

## MATERI DAN METODE

### Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu mini straw volume 0,25 ml semen beku sapi bali sebanyak 25 straw, air, *eosin negrosin*, N<sub>2</sub> cair, termometer, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, pemanas, gelas kaca, *stopwacth*, *hand counter*, kontainer, gunting, dan *tissue*.

### Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan media percobaan semen beku sapi bali dengan 3 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan lama *thawing* pada suhu air

biasa yaitu suhu 30°C terdiri dari: T<sub>1</sub> = Lama *thawing* 8 detik, T<sub>2</sub> = Lama *thawing* 10 detik dan T<sub>3</sub> = Lama *thawing* 12 detik.

### Variabel Penelitian

Peubah yang diamati adalah motilitas, viabilitas dan abnormalitas *post thawing* sesuai dengan perlakuan yang ada.

#### 1. Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa diamati dengan meneteskan semen pada *object glass*, kemudian ditutup dengan *cover glass*, selanjutnya diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 10 X 40 (Kusumawati, dkk., 2018). Menghitung motilitas spermatozoa berdasarkan rumus (Azzahra dkk., 2016).

$$M = [(Y - X) / Y] \times 100\%$$

Keterangan: X = Spermatozoa tidak motil

Y = Konsentrasi total spermatozoa

#### 2. Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas diamati dengan pewarnaan dengan *eosin-negrosin*. Semen diteteskan ke *object glass*. Setelah dihomogenkan, Usap menggunakan *object glass*. Mengeringkan preparat menggunakan pemanas sampai kering. Mikroskop digunakan untuk memeriksa objek dengan pembesaran 10 X 40. Spermatozoa berwarna terang dianggap hidup serta merah tua dianggap mati. Jumlah spermatozoa hidup dapat dihitung dari 200 pengamatan sel spermatozoa serta hasilnya dinyatakan pada persentase (Kusumawati, dkk., 2018).

$$X = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan: X = daya tahan hidup spermatozoa

a = jumlah spermatozoa hidup

b = total spermatozoa diamati

#### 3. Abnormalitas Spermatozoa

Preparat untuk pengamatan abnormalitas seperti preparat pengamatan hidup-mati yang diamati bentuk morfologinya. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pemesaran 10 x 40. Hitung jumlah spermatozoa abnormal dari 200 sel spermatozoa, hasilnya dinyatakan dalam persentase (Kusumawati, dkk., 2018).

$$y = \frac{c}{d} \times 100\%$$

Keterangan:  $y$  = abnormalitas spermatozoa

$c$  = jumlah spermatozoa abnormal,

$d$  = jumlah spermatozoa diamati

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian berupa motilitas, viabilitas dan abnormalitas dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Apabila menunjukkan perbedaan, dilanjutkan dengan pengujian Beda Nyata Terkecil dengan bantuan *software* SPSS 21 (Sudarwati dkk., 2019)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan kualitas semen beku sapi bali pada lama *thawing* yang berbeda disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Motilitas, Viabilitas, Abnormalitas Semen Beku Sapi Bali pada Lama *Thawing* yang Berbeda

Perlakuan (detik)	Rata-rata $\pm$ SEM		
	Motilitas (%)	Viabilitas (%)	Abnormalitas (%)
8	39,41 $\pm$ 1,58	69,42 $\pm$ 6,11	13,74 $\pm$ 3,71
10	40,42 $\pm$ 1,41	73,84 $\pm$ 3,88	9,63 $\pm$ 0,87
12	40,25 $\pm$ 2,28	71,09 $\pm$ 8,85	14,13 $\pm$ 5,33

Tabel 1 menunjukkan bahwa motilitas spermatozoa yang tertinggi diperoleh pada lama *thawing* 10 detik yaitu 40,42 $\pm$ 1,41% sedang terendah pada lama *thawing* 8 detik yaitu 39,41 $\pm$ 1,58%. Hal ini kemungkinan disebabkan waktu pencairan semen sangat singkat, sehingga kristal es tidak dapat mencair seluruhnya dan menghambat pergerakan spermatozoa selama proses penelitian. Pratama dkk., (2018) kristal es yang ada dalam semen beku disebabkan oleh suhu penyimpanan dalam nitrogen cair -196°C yang sangat rendah, yang menyebabkan sel spermatozoa dehidrasi dan menghancurkan mitokondria serta lisosomnya dapat mengganggu proses metabolisme sehingga spermatozoa berhenti tidak bergerak karena kekurangan energi. Feradis (2010), mendefinisikan bahwa kejutan dingin (*cold shock*), memiliki efek kematian pada spermatozoa *post thawing* karena kontraksi yang tinggi dari selubung lipoprotein dinding sel, sehingga menyebabkan penurunan motilitas.

Tabel 1 menunjukkan bahwa tidak berpengaruh nyata pada lama *thawing* terhadap motilitas spermatozoa semen beku sapi bali ( $P > 0,05$ ). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh waktu *thawing* yang terlalu cepat sehingga kristal es tidak dapat mencair seutuhnya dan juga kemungkinan air yang digunakan pada proses *thawing* bersuhu  $30^{\circ}\text{C}$  sehingga menyebabkan spermatozoa mengalami penurunan kualitas. Hasil penelitian Aprilina dkk., (2014) mengemukakan bahwa suhu *thawing* ideal adalah  $37^{\circ}\text{C}$  untuk mempertahankan kualitas semen, karena suhu tersebut tidak menunjukkan penurunan yang drastis secara konduksi, konveksi dan evaporasi ke suhu lingkungan, sehingga pada saat *thawing* menyebabkan spermatozoa mencair secara sempurna dan belum menyebabkan terjadinya tekanan osmotik secara ekstrim pada merman spermatozoa. Susilawati, (2013) mengemukakan bahwa durasi *thawing* belum secara signifikan merubah daya gerak individu antar perlakuan, walaupun disebutkan juga bahwa *thawing* akan menghasilkan motilitas yang baik jika dilakukan dalam air bersuhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 detik. Samsudewa dan Suryawijaya (2008); Chairasat *et al.*, (2006) mendefinisikan bahwa suhu *thawing* rendah serta tinggi menyebabkan hilangnya kemampuan spermatozoa untuk bergerak adanya tekanan osmotik pada spermatozoa yang menyebabkan konfigurasi lipid protein membran spermatozoa menjadi tidak seimbang dan tidak sejalan dengan kondisi fisiologis motilitas spermatozoa selama *thawing* sehingga mengakibatkan penurunan motilitas spermatozoa. Menurut Pratama dkk., (2018), motilitas spermatozoa pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dan waktu *thawing* 10-20 detik adalah 58,40% dan adalah yang terbaik karena dapat membantu motilitas spermatozoa lebih banyak karena pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  tidak menunjukkan penurunan konduksi, konveksi, dan penguapan yang nyata ke lingkungan, sehingga selama *thawing* spermatozoa mencair sempurna dan dapat meningkatkan motilitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu *thawing* 10 dan 12 detik masih dapat digunakan untuk keperluan IB di lapangan karena kualitas semen beku yang dihasilkan memiliki *Post Thawing Motility* (PTM) lebih  $>40\%$ .

Persentase viabilitas spermatozoa yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa yang tertinggi diperoleh pada lama *thawing* 10 detik yaitu  $73,84 \pm 3,88\%$  sedang terendah pada lama *thawing* 8 detik yaitu  $69,42 \pm 6,11\%$ . Hal ini kemungkinan disebabkan tingkat viabilitas yang tinggi dicapai karena dinding

membran spermatozoa terus berfungsi normal serta utuh dan zat pewarna tidak masuk ke spermatozoa, sehingga spermatozoa tampak transparan. Pratama dkk., (2018) menyatakan bahwa permeabilitas membran spermatozoa yang masih utuh, zat warnanya tidak dapat masuk ke dalam spermatozoa saat berfungsi dengan baik. Hasil terendah dengan rata-rata  $69,42 \pm 6,11\%$  pada perlakuan lama *thawing* 8 detik. Hasil ini kemungkinan disebabkan waktu pencairan semen yang singkat 8 detik dapat mempengaruhi stabilitas membran spermatozoa, sehingga komponen intraseluler seperti mitokondria dan lisosom dengan cepat berubah menjadi kristal es. Pratama, dkk., (2018) mengemukakan bahwa permeabilitas dinding membran spermatozoa tidak stabil dan tidak berfungsi, sehingga zat warna dapat masuk ke dalam spermatozoa tanpa terkendali dan juga kemungkinan disebabkan karena perubahan suhu di atas permukaan nitrogen cair disaat proses penelitian. Datta dkk., (2009) menyatakan sel spermatozoa bisa mati jika fluiditas membran terganggu dan permeabilitas fosfolipid rusak akibat fluktuasi suhu ekstraseluler yang tidak sesuai. Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa semen beku sapi bali yang tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Viabilitas Spermatozoa Sapi Bali  
Keterangan: A. Spermatozoa mati (Menyerap Zat Pewarna)  
B. Spermatozoa hidup (Tidak Menyerap Zat Pewarna)

Tabel 1 menunjukkan bahwa durasi *thawing* tidak berpengaruh nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap viabilitas spermatozoa semen beku sapi bali. Hal ini kemungkinan disebabkan membran spermatozoa berada dalam kondisi yang cukup rentan karena sifat semen beku yang sangat rapuh. Perubahan suhu yang ekstrim bisa sangat berbahaya bagi spermatozoa dan membuatnya tidak stabil, akan mengalami kerusakan bahkan oleh perubahan suhu yang kecil (Kusumawati dkk., 2018). Selain itu, waktu *thawing* yang singkat dapat meningkatkan aktivitas metabolisme spermatozoa yang menyebabkan menurunnya daya tahan hidup spermatozoa. Hal ini sejalan dengan

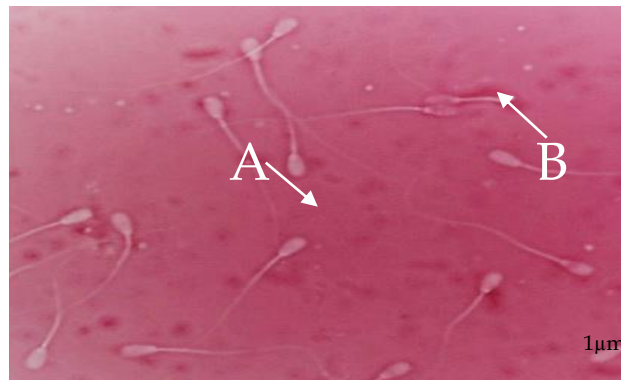
pendapat Salim dkk., (2012) bahwa suhu dan lama *thawing* yang tidak tepat menyebabkan kerusakan pada membran spermatozoa akibat cekaman panas dan interaksi oksigen. Malinda dkk., (2021) mengemukakan bahwa suhu dan waktu *thawing* memiliki pengaruh yang signifikan terhadap keadaan spermatozoa, khususnya integritas spermatozoa dalam semen. Kombinasi suhu dan lama *thawing* yang baik adalah yang dapat menyebabkan sedikit atau tidak ada kerusakan pada sel spermatozoa, sehingga memiliki kemampuan untuk membuahi ovum yang tinggi. Menurunnya viabilitas spermatozoa tidak bisa dihindari karena selama preparasi semen, spermatozoa mengalami perubahan kondisi lingkungan yang sangat ekstrim. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Anwar dkk., (2014), bahwa spermatozoa secara aktif berpartisipasi dalam proses kimia dan biomolekuler metabolisme substrat, yang diperlukan untuk pergerakan dan menghasilkan peningkatan asam laktat dan kadar asam laktat sangat tinggi menyebabkan pH mengencer menurun yang beracun bagi spermatozoa.

Persentase abnormalitas spermatozoa yang disajikan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa yang tertinggi diperoleh pada lama *thawing* 12 detik yaitu  $14,13 \pm 5,33\%$  sedang terendah pada lama *thawing* 10 detik yaitu  $9,63 \pm 0,87\%$ . Hasil penelitian dikategorikan sangat baik karena masing-masing perlakuan memiliki abnormalitas dibawah 20% sehingga masih bisa digunakan untuk keperluan IB di lapangan. Ihsan (2009) spermatozoa abnormal tidak boleh lebih dari 20% untuk dapat dimanfaatkan untuk IB dan jika abnormal  $>20\%$  maka daya fertilitas akan berkurang. Abnormalitas semakin tinggi kemungkinan disebabkan karena pengaruh lama waktu *thawing* pada semen beku sapi bali dilokasi penelitian. Abnormalitas spermatozoa merupakan penyimpangan morfologi pada kerangka normal spermatozoa (Adnyani dkk., 2018). Struktur sel yang menyimpang atau abnormal dapat mengganggu pembuahan serta menimbulkan hambatan pada saat fertilisasi dan tingkat implantasi maupun kebuntingan akan menurun (Afiati dkk., 2015). Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi bali dengan membedakan membran dari spermatozoa yang masih utuh dan membran spermatozoa yang tidak baik tertera pada Gambar 2.

Tabel 1 menunjukkan bahwa lama *thawing* tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap abnormalitas spermatozoa semen beku sapi bali. Hal ini kemungkinan



disebabkan karena Abnormalitas spermatozoa akibat perlakuan *thawing* maupun proses preparasi semen selama penelitian. Kualitas semen yang baik akan mampu membuahi sel ovum dan terjadi fertilisasi dimana sel spermatozoa yang normal akan sangat berhubungan erat terkait dengan fertilitas ternak (Susilawati, 2011; Triadi dkk., 2022). Pendapat Ariantie dkk. (2013), semen beku dengan persentase kelainan yang tinggi lebih cenderung memiliki kesuburan yang rendah karena mempengaruhi kemampuan untuk membuahi atau mempertahankan pertumbuhan embrio. Hal ini sesuai dengan Pedoman SNI Semen Beku 2008, yang menyatakan bahwa spermatozoa abnormal kurang dari 20% layak untuk IB (Adnyani dkk., 2018).



Gambar 2. Hasil Pengamatan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali

Keterangan: A. Spermatozoa Normal

B. Spermatozoa Abnormal (Kelainan Pada ekor putus)

Spermatozoa abnormal dengan ciri-ciri seperti ekor putus dan kepala serta ekor bengkok adalah yang paling sering ditemukan pada proses penelitian. Hal ini sejalan dengan Salim dkk., (2012) terputusnya ekor atau kepala merupakan salah satu ciri spermatozoa dengan abnormalitas tersier. Sesuai hasil pengamatan penelitian, *thawing* bukan penyebab dari kondisi ini, melainkan proses persiapan termasuk pada saat pembuatan preparat ulas dianggap sebagai penyebabnya. Kerusakan membran spermatozoa juga terjadi disebabkan selama atau setelah ejakulasi serta juga pada saat penanganan semen yang salah pada proses IB yang dapat disebut juga abnormalitas tersier (Hafez and Hafez, 2008).

## KESIMPULAN

Lama *thawing* 10 detik menghasilkan motilitas dan viabilitas yang lebih baik serta tingkat abnormalitas yang lebih rendah pada suhu 30°C. Lama *thawing* 10 detik pada suhu 30°C masih bisa digunakan untuk keperluan pelaksanaan IB di lapangan karena kualitas semen beku sapi bali yang dihasilkan masih dapat dipertahankan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnyani, N. L. A., Sumardani, N. L. G. dan Sarini, N. P. 2018. Pengaruh lama *thawing* pada uji kualitas semen beku sapi bali produksi upt bibd baturiti sebelum didistribusikan. *Jurnal Peternakan Tropika*, 6(3), 626-636.
- Anwar, P., Ondho, Y. S., dan Samsudewa, D. 2014. Pengaruh pengencer ekstrak air tebu dengan penambahan kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi bali. *Jurnal Peternakan*, 11(2), 48-58
- Aprina, N., Suharyatib, S., dan Santosab, S. E. 2014. Pengaruh suhu dan lama *thawing* di dataran rendah terhadap kualitas semen beku sapi simmental. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 2(3), 96-102
- Ariantie, O. S., Yusuf. T. L., Sajuthi, D., dan Arifiantini, R. I. 2013. Pengaruh krioprotektan gliserol dan dimethylformamida dalam pembekuan semen kambing pe menggunakan pengencer tris modifikasi. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 18(4), 239-250.
- Azzahra, F. Y., Setiatin, E. T., dan Samsudewa, D. 2016. Evaluasi motilitas dan persentase hidup semen segar sapi po kebumen pejantan muda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11 (2), 99-107.
- Chaiprasat, S., Benjakul, W., Chartchue, A., Joemplang, P and Punyapornwithaya, V., 2006. Effect of bull semen thawing methods on sperm progressive motility. *Chiang Veterinary Journal*, 4(1), 25-29
- Ervandi, M., Ihsan, M.N., Wahjuningsih, S., & Susilawati, T. 2020<sup>a</sup>. Pregnancy rate and reproductive disorders examination of inseminated brahman cross by rectal palpation and ultrasonography. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 15(1), 73-80
- Ervandi, M., Ihsan, M.N., Wahjuningsih, S., Yekti, A.P.A., & Susilawati, T. 2020<sup>b</sup>. Relationship between body condition score on the service per conception and conception rate of Brahman Cross cows. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 30(1), 80-85.
- Ervandi, M., Ihsan, M.N., Wahjuningsih, S., Yekti, A. P. A., & Susilawati, T. 2019. Reproductive performance of brahman cross cows on difference time intervals of artificial insemination. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.* 21(4), 915-919.
- Ervandi, M., Ardiansyah, W., Reppi, T., Mokoolang, S., Korompot, I., & Pomolango, R. 2022. edukasi masyarakat peternak dalam pemanfaatan teknologi ib untuk mendukung produksi bibit sapi bali. HUIDU: *Jurnal Pengabdian Masyarakat Geoscience*, 1(2), 73-79.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta. Bandung

- Footo, R.H and Kaproth, M.T. 2002. Large batch freezing of bull semen: effect of time of freezing and fructose on fertility. *Journal Dairy Sci.* 85, 453-456.
- Hafez, E.S.E., and Hafez, B. 2008. *Folliculogenesis, Egg Maturation, and Ovulation. Reproduction in Farm Animal.* Edited by B. Hafez, and E.S.E. Hafez 7<sup>th</sup> Edition. Blackweell Publishing. USA
- Hikmawaty, A., Gunawan, R.R., Noer, & Jakaria. 2014. Identifikasi ukuran tubuh dan bentuk tubuh sapi bali di beberapa pusat pembibitan melalui pendekatan analisis komponen utama. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 02 (1), 231-237.
- Hoesni, F. 2015. Pengaruh keberhasilan inseminasi buatan (IB) antara sapi bali dara dengan sapi bali yang pernah beranak di kecamatan pelayung kabupaten batanghari. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 15(4), 20-27.
- Ihsan M. N. 2010. *Ilmu Reproduksi Ternak Dasar.* UB Press. Malang
- Kusumawati, E. D., Rahadi, S., Santoso, S., & Yulianti, D. L. 2018. pengaruh lama *thawing* yang berbeda pada suhu 25°C terhadap kualitas semen beku sapi ongole. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*, 6 (1), 119-123.
- Malinda D., Santoso, H., dan Latuconsina, H. 2021. Analisis viabilitas spermatozoa sapi *friesian holstein (Bos taurus)* post *thawing* semen beku dengan pengaruh suhu dan lama waktu *thawing* berbeda. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 6(2), 46-51.
- Novita, R. 2020. Pengaruh lama waktu *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi simmental secara mikroskopis. *Jurnal Tropical Animal Science*, 2(2), 66-73.
- Pratama, J. W. A., D. A. K. Sari, & M. Sigit. 2018. Pengaruh beberapa metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi simental. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*, (2), 39-45.
- Salim, M. A., Susilawati, T & Wahyuningsih, S. 2012. Pengaruh metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi bali, sapi madura dan sapi PO. *Jurnal Agripet*, 12(2), 14-19.
- Samsudewa, D. & Suryawijaya, A. 2008. Pengaruh berbagai metode *thawing* terhadap kualitas semen beku sapi. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*, 88-92.
- Standar Nasional Inonesia. 2008. Semen beku-Bagian 1: Sapi. *Badan Standarisasi Indonesia*. 4869: 1
- Sudarwati, H., Natsir, M. H., & Nurgiatiningsih, V. M. A. 2019. *Statistika dan Rancangan Percobaan Penerapan dalam Bidang Peternakan.* UB Press. Malang
- Susilawati T. 2011. *Spermatologi.* UB Press. Malang
- Susilawati T. 2011. Tingkat Keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi peranakan ongole. *Jurnal Ternak Tropika*, 12(2), 15-24.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak.* UB Press. Malang
- Triadi., Ervandi, M., Fahrullah, Repi, T., & Indrianti, M.A. 2022. Kualitas semen ayam kub menggunakan pengencer ringer dextrose dan ringer laktat pada suhu 5°C. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*, 11(1), 42-51.
- Utomo S. & E. Boquifai. 2010. Pengaruh temperatur dan lama *thawing* terhadap kualitas spermatozoa dalam penyimpanan straw beku. *Jurnal Sains Peternakan*, 8(1), 22-25.