Jurnal Transformasi Humaniora

JTH, 7 (8), Agustus 2024
ISSN: 21155640

PENGARUH LEVEL LAKTOSA DALAM PENGENCER SITRAT-KUNING TELUR TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA BABI LANDRACE

Maria Yunita Meo[1], Wilmintje M. Nalley[2], Agustinus Ridlof Riwu[3], Franky M. S. Telupere[4]
Email: mariayunitameo99@gmail.com[1]
Universitas Nusa Cendana

Abstrak: Tujuan penelitian adalah untuk menguji level laktosa dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) terhadap kualitas spermatoza babi landrace. Rancangan penelitian menggunakan rancagan acak lengkap terdiri dari lima perlakuan yaitu: S-KT (P0), S-KT + L 0,2% (P1), S-KT + L 0,4% (P2), S-KT + L 0,6% (P3), S-KT + L 0,8% (P4), setiap perlakuan diulang lima kali. Semen yang berkualitas baik diencerkan dengan pengencer, kemudian diperservasi pada suhu 18-20oC. Evaluasi dilakukan setiap 12 jam penyimpanan terhadap motilitas, viabilitas, abnormalitas, dan daya tahan hidup spermatozoa hingga motilitas ≤ 40%. Hasil penelitian ini menunjukan bahwa pada perlakuan P3 (P>0,05) terbaik dibandingkan perlakuan lainnya, yaitu dengan nilai motilitas spermatozoa sebesar 44,00±2,24%, viabilitas spermatozoa mencapai 48,60±2,41%, abnormalitas spermatozoa 7,80±0,45%, dan daya tahan hidup spermatozoa 52,80±2,68 jam. Hasil penelitian ini menunjukan bahwa dengan menggunakan pengecer S-KT dengan penambahan laktosa 0,6% merupakan pengencer terbaik dalam mempertahankan kualitas spermatozoa babi landrace.
Kata Kunci: Laktosa, spermatozoa babi landrace, sitrat kuning telur.

Abstract: The aim the of research was to test the level of lactose in citrate-egg yolk (C-EY) diluent on liquid semen quality of landrace pigs. The research design used a complete randomized design consisting of five treatments, namely: C-EY (T0), C-EY + L 0.2% (T1), C-EY + L 0.4% (T2), C-EY + L 0.6% (T3), C-EY + L 0.8% (T4), each treatment was repeated five times. Good quality semen was diluted with one of treaments, then stored at 18-20°C. Evaluation was carried out every 12 hours of storage of motility, viability, abnormality, and survival of spermatozoa until motility ≤ 40%. The results of this study showed that the T3 treatment (P>0, 05) was the best compared to other treatments, namely with a spermatozoa motility value of 44,00±2,24%, spermatozoa viability reached 48,60±2,41%, spermatozoa abnormality 7,80±0,45%, and spermatozoa survival 52,80±2,68 hours. The results of this research indicate that using C-EY diluent with the addition of 0.6% lactose wos the best diluent in maintaining the maintaining the quality of landrace boars spermarozoa.
Keywords: Lactose, landrace boars spermatozoa, citrate egg-yolk.

PENDAHULUAN

Teknologi inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi dalam reproduksi ternak yang sudah dikenal meluas dimasyarakat, memiliki manfaat dalam mempercepat peningkatan mutu genetik ternak (Suprianto dan Djuliansha, 2018). Keberhasilan program IB sangat didukung oleh kualitas semen yang digunakan, baik semen cair maupun semen beku. Penggunaan semen cair lebih baik pada daerah yang sulit mendapatkan nitrogen cair. Semen cair membutuhkan peralatan sederhana dan semen dapat disimpan pada suhu 18-20oC, spermatozoa akan mengalami cold shock saat penyimpanan sehingga akan menurunkan daya gerak, daya hidup dari spermatozoa atau menurunkan kualitas semen (Susilawati, 2013).

Penurunan kualitas semen, selain akibat cold shock juga dapat disebabkan adanya penumpukan radikal bebas sisa hasil metabolisme. Kualitas semen harus

dipertahankan, oleh karena itu di dalam pengencer harus ditambahkan zat-zat yang dapat melindungi membran spermatozoa dari cold shock, yakni mengandung energi, buffer, dan pelindung membran seperti lipoprotein dan lecithin yang terdapat dalam kuning telur ayam (Nugroho et al., 2014). Proses pengenceran memiliki tujuan untuk memperbanyak volume semen, melindungi spermatozoa dari cold shock, menyediakan zat makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, menyediakan buffer untuk mempertahankan pH, tekanan osmotic dan keseimbangan elektrolit, mencegah terjadinya pertumbuhan kuman.

Upaya mempertahankan kualitas semen cair dilakukan dengan cara menambahkan beberapa jenis gula di dalam pengencer, seperti yang telah dilakuan oleh beberapa peneliti yakni Khaeruddin dan Kurniawan (2020) pada pembekuan semen ayam, Humairoh (2014) pada pembekuan semen kambing boer oleh (Rizal et al., 2021).

Pengenceran sitrat telah banyak digunakan sebagai pengencer semen karena mengandung buffer yang berperan sebagai penyangga dalam menjaga, daya hidup dan fertilitas spermatozoa (Garner dan Hafez, 2000). Sedangkan manfaat kuning telur dapat mencegah kerusakan membran plasma spermatozoa akibat protein plasma semen dan sangat menguntungkan selama penyimpanan spermatozoa pada suhu dingin (Bergeron et al., 2004)

Laktosa merupakan satu-satunya karbohidrat yang terdapat pada susu dan merupakan sumber energi tambahan dan pelindung membran plasma spermatozoa dari kerusakan akibat pengaruh cold shock selama penyimpanan pada suhu rendah. Telah dilaporkan bahwa penambahan laktosa pada semen beku domba garut (Singh et al., 1995), pada preservasi semen domba priangan (Souhoka et al., 2009), pada spermatozoa sapi bali (Labetubun dan Siwa 2011), pada semen beku domba garut (Rizal 2009) dan pada semen cair domba garut (Rizal et al., 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk untuk menguji lama perservasi level laktosa dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) terhadap kulitas semen cair babi landrace.

METODE

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan dan lima ulangan yang terdiri dari: P0: Sitrat-kuning telur (S-KT), P1: S-KT + L 0,2%, P2: S-KT + L 0,4%, P3: S-KT + L 0,6%, P4: S-KT + L 0,8%.

HASL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Sepermatozoa Babi Laandrace

Pergerakan progresif dari spermatozoa berhubungan erat dengan daya fertilitas spermatozoa, atau kesanggupan spermatozoa dalam membuahi sel telur. Sifat morfologi dan pola metabolisme khusus yang dimiliki oleh spermatozoa menyebapkan spermatozoa mampu bergerak maju kedepan pada lingkungan cair (Hartawan, 2003). Rataan motilitas dapat dilihat pada Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Motilitas spermatozoa dalam pengencer penelitian (%)

Jam Pengamatan	Perlakuan %					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	84,00±2,24^{a}	84,00±2,24^{a}	84,00±2,24^{a}	84,00±2,24^{a}	84,00±2,24^{a}	1,00
12	72,00±2,74^{b}	79,00±2,24^{a}	80,00±0,00^{a}	80,00±0,00^{a}	79,00±2,24^{a}	0,00
24	64,00±2,24^{d}	72,00±2.74^{bc}	73,00±2,74^{ab}	76,00±2,24^{a}	69,00±2,24^{c}	0,00
36	54,00±2,24^{c}	62,00±2,74^{b}	62,00±2,74^{b}	70,00±3,54^{a}	61,00±4,18^{b}	0,00
48	38,00±2,74^{b}	38,00±4,47^{b}	39,00±2,24^{b}	44,00±2,24^{a}	37,00±2,74^{b}	0,01
60	21,00±2,34^{c}	30,00±0,00^{b}	32,00±4,47^{ab}	35,00±0,00^{a}	29,00±4,18^{b}	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukan perbedaan yang nyata (P<0,05),

P0=S-KT, P1= S-KT +L 0,2%, P2= S-KT +L 0,4, P3= S-KT +L 0,6, P4= S-KT +L 0,8%.

Hasil analisi statistik menunjukan perbedaan yang tidak nyata pada jam penyimpanan ke 0 (P>0,05). Hasil uji lanjut duncan pada jam penyimpanan ke 48 menunjukan nilai motilitas tertinggi pada perlakuan P3 dibandangkan perlakuan kontrol P0, P1, P2, dan P4. Tingginya nilai motilitas pada perlakuan P3 disebabkan karena pemberian level laktosa yang optimal yaitu 0,6% mampu mempertahankan motilitas di atas 40%.

Laktosa berguna sebagai sumber nutrisi dan juga dapat memiliki fungsi yang hampir sama dengan senyawa antioksidan dan mampu mengurangi senyawa-senyawa peroksidasi, dan berperan juga dalam meminimalkan terjadinya reaksi oksidasi (Leo et al., 2023). Sedangkan pada perlakuan P1 dan P2 level yang diberikan belum memnuhi kandungan nutrisi yang cukup untuk spermatozoa. Rendahnya nilai motilitas pada perlakuan P4 yang diberikan level laktosa 0,8% diakibatkan terlalu banyak level yang diberikan sehingga bersifat toksin bagi spermatozoa. Meningkatnya level laktosa yang ditambahkan memberikan dampak negatif karena telah bersifat toksin bagi spermatozoa (Rizal, 2009). Efek toksin ini dapat dicurigai yang menyebabkan respirasi di dalam mitokondria sel menjadi tidak lancar, dan organel sel tersebut akan mengalami kerusakan dan menyebabkan pergerakan sel spermatozoa terganggu karena terganggunya metabolisme energi (Siswanto, 2006).

Hasil ini sesuai dengan laporaan dari Rizal (2009) yaitu dosis optimum penggunaan laktosa sebanyak 1g karena jika penambahan laktosa lebih dari 2g dapat mengakibatkan kualitas spermatozoa menjadi lebih rendah dibandingkan dengan 1g, tingginya konsentrasi laktosa yang ditambahkaan dapat menimbulkan ketidakstabilan tekanan osmotik dalam larutan pengencer yang menyebabkan daya adaptasi spermatozoa menjadi rendah sehingga akan mengganggu proses biokemik didalam sel yang pada akhirnya akan menurunkan daya hidup spermatozoa itu sendiri selama masa penyimpanan (Rizal,2009). Laktosa adalah jenis karbohidrat dari kelompok disakarida, laktosa sendiri tersusun atas satu unit glukosa dan satu unit galaktosa yang keduanya dapat digunakan oleh spermatozoa untuk proses glikolisis dan siklus krebs agar menghasilkan energi berupa adenosin trifosfat (ATP). Laktosa juga dapat digunakan oleh spermatozoa sebagai krioprotektan ekstraseluler seperti karbohidrat yang berfingsi untuk melindungi membran plasama dari larutan dingin selama penyimpanan disuhu 3-5oC (Rizal et al., 2003) Penurunan motilitas disebabkan karena spermatozoa yang tidak mendapat suplementasi nutrisi dan bahan pelindung terhadap kejutan dingin akan cepat mengalami kematian yang disebabkan oleh kehabisan substrat energi, karena hanya mengandalkan bahan-bahan yang terdapat didalam plasma semen maupun didalam sel spermatozoa.

Sesuai dengan pendapat Pamungkas dan Anwar (2013) menyatakan bahwa semakin panjang masa simpan maka asupan nutrisi dari pengencer semakin berkurang, penurunan ini akan memengaruhi energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa. Penurunan motilitas juga disebabkan oleh aktivitas metabolisme spermatozoa yang membentuk asam laktat dalam media pengencer. Asam laktat yang tinggi dalam pengencer dapat merubah pH yang dapat menyebabkan efek racun dan kematian yang tinggi bagi spermatozoa (Widjaya, 2011).

Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa adalah salah satu indikator ynag dapat digunakan untuk menilai kualitas semen, semakin tinggi presentase viabilitas semen maka semakin baik kualitas semen tersebut dan berhubungan erat dengan motilitas (Adrianto, 2017). Spermatozoa yang mati akan menyerap larutan eosin menjadi merah muda sedangkan spermatozoa yang hidup tampak transparan atau tidak berwarna (Bebas et al., 2016). Hasil pengamatan viabilitas spermatozoa babi landrace masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa dalam pengencer penelitian (%)

Jam Penyimpanan	Perlakuan %					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	93,40±1,67^{a}	93,40±1,67^{a}	93,40±1,67^{a}	93,40±1,67^{a}	93,40±1,67^{a}	1,00
12	76,00±2,83^{b}	85,20±3,11^{a}	84,20±1,48^{a}	84,60±1,82^{a}	82,80±3,96^{a}	0,00
24	66,40±2,70^{b}	74,60±2,61^{a}	76,00±1,58^{a}	74,40±2,30^{a}	74,40±4,98^{a}	0,00
36	55,80±2,28^{c}	65,20±1,92^{b}	65,80±2,39^{b}	73,00±4,36^{a}	64,20±4,49^{b}	0,00
48	40,60±3,44^{b}	41,80±5,67^{b}	42,00±3,54^{b}	48,60±2,41^{a}	40,40±4,04^{b}	0,02
60	27,20±2,59^{c}	38,60±5,68^{ab}	36,60±6,95^{ab}	39,60±3,36^{a}	32,20±4,82^{bc}	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukan perbedaan yang nyata (P<0,05),

P0=S-KT, P1= S-KT +L 0,2%, P2= S-KT +L 0,4, P3= S-KT +L 0,6, P4= S-KT +L 0,8%.

Hasil analisis stastistik menunjukan bahwa persentase viabilitas spermatozoa jam ke 0 pada setiap perlakuan adalah sama dan tidak menunjukan perbedaan (P>0,05). Namun penurunan viabilitas mulai terjadi pada jam ke 12 sampai jam ke 48 dan sebagai hasil, akhir perlakuan P3 memperlihatkan viabilitas spermatozoa tertinggi dan perlakuan terendah pada perlakuan P0 dan P4.

Viabilitas spermatozoa babi landrace dalam perlakuan P3 lebih tinggi (P<0,05) dari keempat perlakuan lainnya, hal ini dapat dibuktikan bahwa penambahan laktosa dalam pengencer S-KT dapat mempertahankan viabilitas spermatozoa. Hal ini disebabkan laktosa sebagai disakarida mampu mensuplai energi untuk spermatozoa selama proses penyimpanan (Eriani et al., 2017). Nilai viabilitas berkaitan erat dengan kemampuan fertilisasi spermatozoa, apabila nilai viabilitas tinggi maka kemampuan fertilitas juga akan tinggi (Bebas et al., 2016).

Laktosa merupakan karbohidrat golongan disakarida yang terdiri atas dua unit monosakarida, yakni satu unit gulkosa dan satu unit galaktosa yang semuanya dapat dimetabolisme oleh spermatozoa untuk menghasilkan energi berupa ATP untuk mempertahankan daya hidup spermatozoa (Labetubun dan Siwa, 2011). Viabilitas spermatozoa selama penyimpanan mengalami penurunan seiring dengan lamanya waktu penyimpanan dengan tingkat penurunan viabilitas spermatozoa berbeda-beda nilainya antar perlakuan.

Menurut Sukmawati et al. (2014) spermatozoa yang mnegalami kerusakan membran akan mengganggu proses metabolisme sehingga sintesis ATP menjadi terhambat dan terjadinya penurunan viabilitas spermatozoa, dilaporkan dari Susilawati (2013) bahwa spermatozoa yang mati permebelitas membran selnya meningkat, post nuclear caps sehingga spermatozoa yang mati akan menyerap warna eosin-negrosin, dan sel spermatozoa yang masih hidup mempunyai kondisi membran yang baik sehingga zat warna tidak dapat menembus membran, yang menyebabkan sel spermatozoa tetap berwarna putih/bening (tidak menyerap warna eosin-negrosin).

Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa adalah indikasi penurunan kesuburan karena berfungsi mengurangi kapasitasi spermatozoa pada saat fertilisasi dan mempengaruhi perkembangan (Banaszewska dan Andraszek, 2021). Abnormalitas spermatozoa pada semen babi yang diamati seperti ekor melipat atau melingkar, kepala putus, atau ekornya putus. Hasil penelitian abnormalitas spermatozoa babi landrace dalam masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa dalam pengencer penelitian (%)

Jam Pengamatan	Perlakuan %					Nilai P
	P0	P1	P2	P3	P4	
0	2,80±0,84^{a}	2,80±0,84^{a}	2,80±0,84^{a}	2,80±0,84^{a}	2,80±0,84^{a}	1,00
12	3,60±1,14^{a}	3,80±0,84^{a}	3,80±1,48^{a}	3,40±1,14^{a}	3,60±0,55^{a}	0,97
24	4,40±0,89^{a}	5,20±0,84^{ab}	6,80±1,30^{c}	6,20±0,84^{bc}	6,80±0,84^{c}	0,00
36	6,20±0,84^{a}	6,80±0,84^{ab}	7,80±0,45^{bc}	7,40±0,89^{ab}	8,80±1,30^{c}	0,00
48	7,20±0,84^{a}	7,60±0,55^{a}	7,40±0,55^{a}	7,80±0,45^{a}	9,60±0,55^{b}	0,00
60	9,00±0,71^{a}	10,20±0,84^{a}	9,80±1,30^{a}	9,40±0,89^{a}	11,80±0,45^{b}	0,00

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukan perbedaan yang nyata (P<0,05),

P0=S-KT, P1= S-KT +L 0,2%, P2= S-KT +L 0,4, P3= S-KT +L 0,6, P4= S-KT +L 0,8%.

Hasil analisis statistik menunjukan pada penyimpanan jam ke 0 dan pada penyimpanan jam ke 12 tidak adanya pengaruh yang nyata antar perlakuan (P<0,05), sedangkan jam ke 24 sampai jam penyimpanan ke 60 menunjukan perbedaan yang sangat nyata terhadap semua perlakuan (P>0,05).

Standar abnormalitas yang layak untuk di IB adalah dibawah 20%, perbedaan nilai abnormalitas yang didapat mungkin disebabkan saat pembuatan preparat ulasan terlalu ditekan atau heating table yang suhunya terlalu panas (Safitri et al., 2018). Garner dan Hafez (2000) juga melaporkan bahwa kemungkinan terjadinya perbedaan ini disebabkan oleh umur dan faktor kesuburan penjantan. Abonrmalitas juga dapat terjadi karena spermatozoa mengalami cold shock dan ketidakseimbangan tekanan osmotik akibat dari proses metabolik yang terus berlangsung selama masa penyimpanan.

Daya Tahan Hidup Spermatozoa

Daya tahan hidup spermatozoa adalah kemampuan spermatozoa untuk tetap bergerak dalam kurun waktu tertentu setelah penyimpanan in vitro (Hine et al., 2014). Daya tahan hidup spermatozoa hasil pengamatan masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Diagram btang dibawah ini.

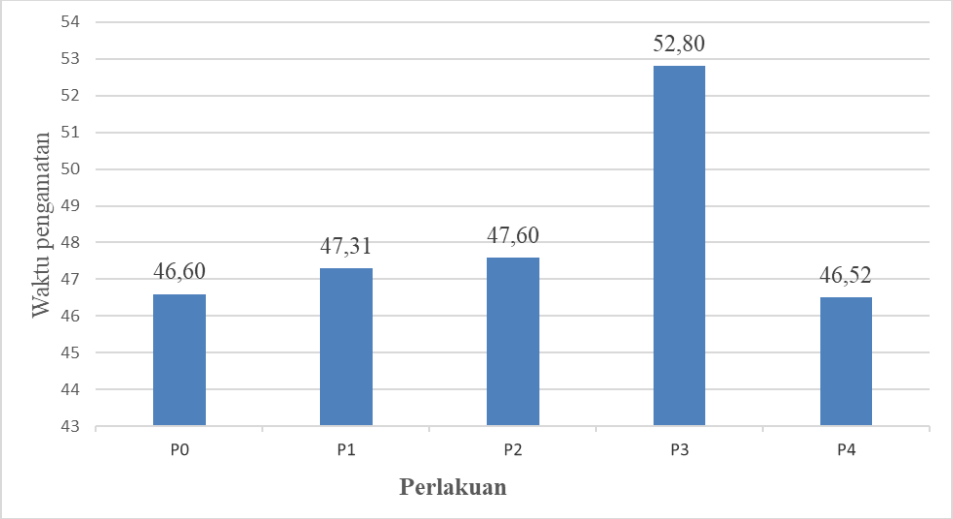

Diagram 1. Persentase daya tahan hidup spermatozoa semen cair babi landrace.
Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukan perbedaan yang nyata (P<0,05),
P0=S-KT, P1= S-KT +L 0,2%, P2= S-KT +L 0,4, P3= S-KT +L 0,6, P4= S-KT +L 0,8%.

Bedasarkan diagram diatas perlakuan P3 memiliki daya tahan hidup lebih lama dari pada kontrol (P0). Hasil analisis ststistik menunjukan perbedaan yang nyata (P<0,05) antar perlakuan P3 dengan perlakuan P0, P1, P2, dan P4. Hasil penelitian ini makin memperkuat fakta bahwa pengencer berperan penting dalam memperpanjang daya hidup spermatozoa in vitro. Jika spermatozoa tidak mendapat suplementsi nutrisi dan bahan pelindung terhadap cold shock, maka spermatozoa akan mengalami kematian karena kehabisan substrat energi dan energi yang digunakan hanya mengandalkan dari bahan-bahan yang ada dalam pengencer dan plasma semen (Hine et al.,2014).

Kehabisan suplai energi yang terjadi selama masa penyimpanan dapat menyebabkan proses glikolisis untuk menghasilkan energi tidak dapat berlangsung. Cold shock menyebabkan kerusakan membran, jika membran bagian midpiece yang rusak, enzim aspartae amino transferase hilang dan mitokondria tidak bisa merombak ATP menjadi ADP dan seterusnya, hingga spermatozoa berhenti bergerak (Hine et al., 2014).

Dalam keadaan anaerob, persediaan nutrisi bagi spermatozoa terutama diberikan lewat jalur glikolisis (Migliaccio et al., 2018). Salah satu hasil penelitian menunjukan bahwa glikolisis dapat menyeimbagi terbatasnya produksi ATP pada mitokondria dalam menjaga kemampuan daya gerak dari sperma mencit (Chang dan Suarez, 2012).

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa penambahan laktosa 0,6% dalam pengencer sitrat-kuning telur (S-KT) merupakan pengencer terbaik dalam mempertahankan kulitas semen cair babi landrace sampai jam ke 48 dengan motilitas di atas 40%.

DAFTAR PUSTAKA

Adrianto H. 2017. Buku Ajar Biologi Sel dan Molekuler. Deepublish.CV. Budi Utama

Arifiantini RI dan B Purwantara. 2010. Motility and viability of friesian holstein spermatozoa in three different extender stored at 5ºC. Journal of the Indonesia Tropical Animal. 35(4): 222-226.

Bebas, W., Buyona, G. L. Dan Budiasa, M. K. 2016. Penambahan vitamin E pada pengencer BTS terhadap daya hidup dan motilitas spermatozoa babi Landrace pada penyimpanan 15°C. Buletin Veteriner Udayana. 8 (1) :1-7.

Bergeron A, Crete Mh, Brindle Y, Manjunath P. 2004. Low-Density Lipoprotein Fraction From Hen's Egg Yolk Decreases The Binding Of The Bovine Seminal Plasma To Sperm And Prevent Lipid Efflux From The Sperm Membrane. Biology of reproduction 70(3): 708-717.

Chang H, Suarez SS. 2012. Unexpected flagllar movement patterns and epithelial binding behavior of mouse sprem in the oviduct. Biology of Reproduction, 86(5), 140-141.

Eriani, K., N. Sari, R. Rosnizar, D. Dasrul, S. Surhatono, dan M. Rizal. 2017. Cryopreservation of Aceh Swamp Buffalo (Bubalus bubalis) Semen with Combination of Glycerol and Lactose. Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education 9(3) : 409-416.

Fitrik, F., dan Supartini, N. 2012. Pengaruh Suhu dan Lama Thawing Terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Peranakan Etawa. 12(1): 81-86.

Garner, DL, Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In : E.S.e, Hafez (Ed). Reproduction in Farm Animals, 7th Ed. Lea and Fibiger. Philadelphia.

Hartawan R. 2003. Efektivitas dosis laktosa dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen cair kambing Saane. Skripsi. IPB. Bogor.

Hine, T., Burhanuddin dan Marawali, A. 2014. Efektivitas Air Buah Lontar dalam Mempertahankan Motilitas, Viabilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi Bali. Jurnal Veteriner.15(2):263- 273

Khaeruddin, Kurniawan ME. 2020. Keberhasilan pembekuan semen ayam yang diencerkan dan diperkaya dengan glukosa, trehalosa, sukrosa dan laktosa. Jurnal Veteriner, 21(3), 476–484.

Labetubun J, Siwa IP. 2011. Kualitas spermatozoa kauda epididimis sapi Bali dengan penambahan laktosa atau maltosa yang dipreservasi pada suhu 3-5oC. Jurnal Veteriner, 12(3), 200–207.

Migliaccio M, Ricci G, Suglia A, Manfrevola F, Mackie K, Fasano S, Pierantoni, R, Chioccarelli T dan Cobellis G. 2018. Analysis of endocannabinoid system in rattestis during the first spermatogenetic wave. In Frontirs in Endocrinology. 9(5), 268-269

Muhamammad R, Nisa C, Norliani R. 2021. Daya hidup spermatozoa kambing peranakan boer yang diperservasi dengan pengencer laktosa dan ekstark daun kelor. Prosoding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah. 6(3). 45-52

Nugroho Y, Susilawati T, Wahyuningsih S. 2014. Kualitas semen Sapi Limousin selama pendinginan menggunakan pengencer CEP-2 dengan penambahan berbagai konsentrasi kuning telur dan sari buah jambu biji (Psidium guajava). Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production, 15(1), 31–42.

Pamungkas, F. A. dan Anwar. 2013. Daya tahan hidup spermatozoa kambing Boer dalam pengencer tris kuning telur yang disimpan pada temperatur berbeda. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 1(12): 331-339.

Rizal M, Toelihere MR, Yusuf TL, Purwantara B, Situmorang P. 2003. Kriopreservasi semen domba garut dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbrda. Media Kedokteran Hewan, 19(2), 79-83.

Rizal M. 2009. Daya hidup spermatozoa epididimis sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3-5oC dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner, 14(2), 142–149.

Safitri AM, Sardjito T, Wibawati PA, Mustofa I, Saputro AL, Prastiya RA. 2018. Kualitas semen segar sapi rambon banyuwangi dalam pengencer Tris kuning telur dan susu skim kuning telur. Jurnal Medik Veteriner, 1(3), 62-67

Rihi Leo S. J. S., Wilmientje M. Nalley, Uly. K, Hendriana L.L Belli. 2023. Pengaruh penambahan laktosa di dalam pengencer Tris dan sitrst terhadap kualitas semen cair babi landrace Jurnal Nukleus Peternakan 10 (1):77-87.

Singh MP, Sinha AK, Singh BK. 1995. Effect of cryoprotectants on certain seminal attributes and on the fertility of buck spermatozoa. Theriogenology, 43(6), 1047–1053.

Siswanto. 2016. Kualitas semen di dalam pengencer tris dan natrium sitrat dengan berbagai karbohidrat dan level gliserol pada proses kriperservasi semen rusa timor (Cervus timorensis). Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Souhoka DF, Matatula MJ, Wilmientje M. Nalley , Rizal M. 2009. Laktosa mempertahankan daya hidup spermatozoa kambing peranakan etawah yang dipreservasi dengan plasma semen domba priangan. Jurnal Veteriner, 10(3), 135–142.

Sukmawati E, Arifiantini RI, Purwantara B. 2014. Daya tahan spermatozoa terhadap proses pembekuan pada berbagai jenis sapi pejantan unggul. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner, 19(3), 168-11175.

Suprianto S dan Djuliansah D. 2018. Kajian Aplikasi Teknologi Inseminasi Buatan dalam Upaya Peningkatan Produktivitas dan Pendapatan Usaha Ternak Sapi Potong di Kabupaten Tasikmalaya. Jurnal Pemikiran Masyarakat Ilmiah Berwawasan Agribisnis, 1(3), 210- 211.

Susilawati T. 2013. Pedoman Inseminasi Buatan pada Ternak. Universitas Brawijaya Press, Malang.