

## PENGARUH LAMA PENYIMPANAN EPIDIDIMIS PADA SUHU 5 °C TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA KAMBING LOKAL ACEH

### *Effect of Storage Time of Epididymis at 5 °C on Spermatozoa Quality of Aceh Local Goat*

**Hamdan<sup>1</sup>, Budianto<sup>2</sup>, Amalia Sutriana<sup>3</sup>, Dwinna Aliza<sup>4</sup>, Erdiansyah Rahmi<sup>5</sup>,  
dan Abdul Rasyid Dalimunthe<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>2</sup>Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>3</sup>Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>4</sup>Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

<sup>5</sup>Laboratorium Embriologi dan Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: hamdan\_ib@yahoo.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan epididimis pada suhu 5 °C terhadap kualitas spermatozoa kambing lokal Aceh. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh antara bulan Mei sampai Juni 2009. Sampel yang digunakan adalah 9 epididimis kambing lokal berumur 1,5-2,0 tahun yang dikoleksi dari Rumah Potong Hewan Kota Banda Aceh. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola satu arah dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Evaluasi kualitas spermatozoa dilakukan setelah epididimis dikoleksi (tanpa penyimpanan, H-0), 1 hari (H-1), dan 3 hari (H-3) penyimpanan. Evaluasi kualitas spermatozoa meliputi konsentrasi, motilitas, jumlah spermatozoa hidup, dan abnormalitas. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode analisis varian. Rata-rata konsentrasi spermatozoa pada H-0, H-1, dan H-3 masing-masing adalah  $318 \times 10^7/\text{ml}$ ,  $282 \times 10^7/\text{ml}$ , dan  $241 \times 10^7/\text{ml}$ . Rata-rata persentase motilitas spermatozoa H-0; H-1; dan H-3 masing-masing adalah  $82,27 \pm 2,75$ ;  $80,25 \pm 2,83$ ;  $78,07 \pm 0,92\%$ . Rata-rata persentase spermatozoa hidup H-0; H-1; dan H-3 masing-masing adalah  $82,29 \pm 2,71$ ;  $80,63 \pm 1,87$ ;  $80,09 \pm 3,31\%$ . Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa H-0; H-1; dan H-3 masing-masing adalah  $7,23 \pm 0,27$ ;  $8,21 \pm 0,55$ ;  $10,75 \pm 3,14\%$ . Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa kualitas spermatozoa tidak dipengaruhi oleh lama penyimpanan pada suhu 5 °C.

### ABSTRACT

*The objective of this study was to evaluate the effect of storage time of epididymis at 5 °C on spermatozoa quality of Aceh local goat. This research was conducted at Reproduction Laboratory, FKH Unsyiah from May to June 2009. Nine epididymis from local goat at the age of 1.5-2.0 years were used in this study. The epididymis were collected from abattoir in Banda Aceh. The experimental design used in this study was completely randomized design with 3 treatments and 3 replications. Spermatozoa quality which consist of sperm concentration, motility, amount of life sperm, and sperm abnormality were examined after the collection of epididymis on day 0 (H-0), day 1 (H-1), and day 3 (H-3) post storage at 5 °C. Data were analyzed using one-way analyses of variance (ANOVA). The result showed that no significant difference ( $P > 0.05$ ) seen in the spermatozoa quality after different storage time. The average of spermatozoa concentration on H-0, H-1, and H-3 were  $318 \times 10^7/\text{ml}$ ,  $282 \times 10^7/\text{ml}$ , and  $241 \times 10^7/\text{ml}$  respectively. On the average, the percentage of spermatozoa motility on H-0, H-1, and H-3 were  $82,27 \pm 2,75$ ;  $80,25 \pm 2,83$ ; and  $78,07 \pm 0,92\%$ , respectively. Life spermatozoa observed on H-0, H-1, and H-3 were  $82,29 \pm 2,71$ ;  $80,63 \pm 1,87$ ; and  $80,09 \pm 3,31\%$ , respectively. Observation on spermatozoa abnormality showed that the average of spermatozoa abnormality on H-0, H-1, and H-3 were  $7,23 \pm 0,27$ ;  $8,21 \pm 0,55$ ; and  $10,75 \pm 3,14\%$ , respectively. It could be concluded that the spermatozoa quality were not affected by the storage time at temperature of 5 °C.*

Keywords: *epidiyimis, spermatozoa, storage*

### PENDAHULUAN

Salah satu upaya untuk meningkatkan potensi reproduksi kambing adalah melalui

penerapan teknologi inseminasi buatan (IB) Teknologi IB telah lama digunakan dan terbukti mampu meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak. Pada sapi, IB telah lama

dilakukan di Provinsi Aceh, namun aplikasi teknologi ini pada kambing belum tersosialisasi dengan baik. Perbedaan waktu aplikasi ini disebabkan semen beku kambing baru pada tahun-tahun terakhir diproduksi dan didistribusikan. Siregar *et al.* (2002) telah memperkenalkan penerapan bioteknologi IB pada kambing di Aceh. Dari hasil sosialisasi tersebut diketahui bahwa minat peternak untuk mengadopsi teknologi IB sangat tinggi. Hal ini kemungkinan disebabkan karena peternak telah mengetahui dan melihat secara langsung hasil-hasil yang sudah diperoleh dari IB pada sapi.

Inseminasi buatan telah terbukti dapat mempercepat penyebaran bibit unggul dalam memperbaiki mutu genetik dan peningkatan produktivitas ternak dengan cara memanfaatkan pejantan semaksimal mungkin. Selain itu, teknologi IB dapat menghindari penyebaran penyakit menular (Toelihere, 1993b). Efisiensi reproduksi dengan menggunakan IB dapat dikatakan sama dengan perkawinan alam apabila kasus penyakit reproduksi tidak ditemukan serta pengelolaan atau manajemen yang baik.

Semen yang digunakan untuk kegiatan IB terdiri dari 2 bentuk yakni semen cair dan semen beku yang diolah dari hasil koleksi semen melalui ejakulasi. Pelaksanaan IB pada kambing dengan menggunakan semen beku di Aceh selama ini ditemukan beberapa hambatan. Hasil observasi pada beberapa inseminator menunjukkan bahwa semen beku kambing tersebut tidak tersedia dalam jumlah yang memadai sehingga sering sekali akseptor IB tidak mampu dilayani. Masalah lain yang muncul adalah sampai saat ini distribusi semen beku pada Provinsi Aceh masih terbatas pada semen beku yang berasal dari kambing peranakan etawa (PE). Inseminasi kambing lokal yang mempunyai bobot badan relatif kecil dengan semen beku PE cenderung meningkatkan insiden distokia. Pernyataan ini didukung oleh hasil riset Deaton *et al.* (1985) yang menemukan bahwa distokia dipengaruhi oleh *breed* pejantan yang digunakan. Sapi pejantan *breed* Simmental mempunyai korelasi yang tinggi terhadap terjadinya kasus distokia pada sapi.

Dari berbagai kendala di atas, diperlukan upaya-upaya untuk mengatasi ketersediaan semen kambing lokal untuk kegiatan IB. Sumber alternatif semen adalah yang berasal dari epididimis. Epididimis dapat diperoleh dari hewan yang dipotong atau mati. Spermatozoa yang berasal dari bagian cauda

membuahi oosit yang sama baiknya dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Hafez dan Hafez, 2000). Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang ada di bagian cauda telah melewati proses pematangan di bagian caput dan corpus epididimis serta sudah memiliki kemampuan bergerak (motil) dan membuahi oosit yang sama dengan spermatozoa hasil koleksi (Axner *et al.*, 1999). Proses pematangan ditandai oleh berpindahnya butiran sitoplasma (*cytoplasmic droplet*) dari bagian proksimal ke distal ekor atau hilang sama sekali dari ekor spermatozoa (Toelihere, 1993a).

Upaya pengolahan spermatozoa yang dikoleksi dari cauda epididimis dalam bentuk semen cair untuk keperluan aplikasi berbagai teknologi reproduksi menjadi metode alternatif yang dapat diterapkan pada ternak yang mempunyai genetik unggul tetapi tidak dapat ditampung semennya karena berbagai alasan, seperti tidak bersedia melayani vagina buatan, tidak dapat melakukan aktivitas kawin secara normal, tidak memberikan respon terhadap elektroejakulator, dan sebab-sebab lain. Pada penelitian ini epididimis disimpan di dalam lemari es pada suhu 5 °C. Hal ini dikondisikan untuk mengantisipasi di daerah-daerah terpencil yang tidak memungkinkan dilakukan pengolahan semen, sehingga epididimis harus ditranspor ke tempat pengolahan yang membutuhkan waktu yang cukup lama.

Berdasarkan asumsi-asumsi di atas, maka perlu dilakukan suatu kajian mengenai pemanfaatan dari epididimis terhadap kualitas spermatozoa yang mempunyai potensi genetik ternak /hewan jantan unggul untuk peningkatan produksi kambing lokal melalui inseminasi buatan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kualitas spermatozoa yang dikoleksi dari cauda epididimis yang sebelumnya telah disimpan pada suhu 5 °C.

## MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan epididimis kambing lokal yang berumur 1,5-2,0 tahun dengan diameter lingkaran skrotum antara 19-22 cm. Sumber epididimis berasal dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kota Banda Aceh. Epididimis bersama dengan skrotum dibersihkan dan dimasukkan ke dalam tabung gelas yang diisi dengan larutan NaCl fisiologis yang tertutup rapat dan dibawa ke laboratorium kurang dari 2 jam setelah kambing dipotong. Selanjutnya, epididimis tersebut disimpan di dalam lemari es

Epididimis kambing dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan 1 (H-0), spermatozoa langsung dikoleksi segera setelah epididimis sampai di laboratorium kurang dari 2 jam setelah hewan dipotong. Kelompok perlakuan 2 yaitu spermatozoa dikoleksi setelah epididimis disimpan selama satu hari (H-1) di dalam lemari es pada suhu 5 °C. Kelompok perlakuan 3 spermatozoa dikoleksi setelah epididimis disimpan selama tiga hari (H-3) di dalam lemari es pada suhu 5 °C.

Spermatozoa dikoleksi dengan cara mengiris (*slicing*) di bagian *cauda* epididimis menggunakan gunting *stainless steel* steril kemudian dibilas dengan larutan pengencer sitrat-kuning telur sebanyak 2 ml. Evaluasi kualitas spermatozoa meliputi konsentrasi, motilitas, jumlah spermatozoa hidup, dan abnormalitas.

**Parameter Penelitian**

Evaluasi kualitas spermatozoa yang meliputi konsentrasi, motilitas, jumlah spermatozoa hidup, dan abnormalitas dilakukan menurut metode Toelihere (1993b) sebagai berikut:

- a. Konsentrasi spermatozoa. Spermatozoa hasil koleksi yang belum diencerkan disedot dengan pipet eritrosit hingga angka 0,5 kemudian ditambahkan dengan larutan NaCl 3% hingga angka 101 dan dihomogenkan. Konsentrasi dihitung pada 5 kamar hitung Neubauer.
- b. Motilitas spermatozoa, yaitu persentase spermatozoa yang bergerak progresif ke depan ditentukan secara subjektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Angka yang diberikan berkisar antara 0-100%.
- c. Jumlah spermatozoa hidup, yaitu persentase spermatozoa yang hidup ditentukan dengan pewarnaan eosin. Spermatozoa yang hidup

ditandai oleh kepala yang berwarna putih, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala yang berwarna merah. Pengamatan dilakukan minimal pada 200 spermatozoa dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 x.

- d. Abnormalitas spermatozoa, yaitu persentase spermatozoa yang abnormal. Spermatozoa yang abnormal meliputi kepala besar, kepala kecil, tidak memiliki ekor, dan lain-lain, dievaluasi dengan menggunakan preparat ulas tipis yang dipakai untuk mengevaluasi parameter jumlah spermatozoa hidup. Evaluasi dilakukan minimal pada 200 spermatozoa dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 x.

**Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian pola satu arah dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji Beda Nyata Terkecil.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil evaluasi kualitas spermatozoa yang berasal dari epididimis yang disimpan selama 0 hari (H-0), 1 hari (H-1), dan 3 hari (H-3) disajikan pada Tabel 1.

Konsentrasi spermatozoa pada kelompok H-0 sebesar 318x10<sup>7</sup>/ml lebih tinggi jika dibandingkan dengan konsentrasi spermatozoa domba garut yaitu 273x10<sup>7</sup>/ml (Rizal, 2005). Namun, konsentrasi ini hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Ramadhan (2008) pada kambing kacang yakni sebesar 323x10<sup>7</sup>/ml, dan yang dilaporkan oleh Saali (2006) pada semen ejakulat domba sebesar 303x10<sup>7</sup>/ml. Tetapi, pemeriksaan konsentrasi spermatozoa pada kelompok H-1 adalah sebesar 282x10<sup>7</sup>/ml hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Rizal (2005) pada domba garut yakni sebesar 273x10<sup>7</sup>/ml.

**Tabel 1.** Kualitas spermatozoa epididimis kambing yang disimpan selama 3 hari

Parameter Pengamatan	Perlakuan		
	H-0	H-1	H-3
Konsentrasi (10 <sup>7</sup> sel/ml)	318,00±1,90 <sup>a</sup>	282,00±3,60 <sup>a</sup>	241,00±4,30 <sup>a</sup>
Motilitas (%)	82,27±2,75 <sup>b</sup>	80,25±2,83 <sup>b</sup>	78,07±0,92 <sup>b</sup>
Spermatozoa Hidup (%)	82,29±2,71 <sup>c</sup>	80,63±1,87 <sup>c</sup>	80,09±3,31 <sup>c</sup>
Abnormalitas (%)	7,23±0,27 <sup>d</sup>	8,21±0,50 <sup>d</sup>	10,75±3,14 <sup>d</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata (P>0,05)

Perbedaan konsentrasi spermatozoa pada penelitian ini dengan yang dilaporkan oleh beberapa peneliti lain diduga karena perbedaan jenis hewan percobaan yang digunakan, usia, nutrisi, status kesehatan hewan, dan teknik koleksi. Teknik koleksi spermatozoa kauda epididimis kambing pada penelitian ini dilakukan dengan cara mengiris (*slicing*) sehingga kemungkinan volume spermatozoa yang didapatkan akan semakin banyak.

Konsentrasi spermatozoa dari cauda epididimis kambing pada hari penyimpanan ke-0, 1, dan 3 pada suhu 5 °C mengalami kecenderungan penurunan konsentrasi seiring pertambahan lama penyimpanan seperti yang terlihat pada Tabel 1. Hal ini kemungkinan disebabkan karena semakin lama penyimpanan, maka semakin menurun pula kualitas senyawa-senyawa yang terdapat di dalam cairan kauda epididimis yang berfungsi untuk menyediakan makanan bagi kelangsungan hidup spermatozoa itu sendiri.

Persentase sperma yang motil progresif sering dijadikan acuan penilaian kualitas spermatozoa dan indikasi fertilitasnya (Hafez dan Hafez, 2000). Hasil penelitian pada pemeriksaan persentase motilitas spermatozoa pada kelompok H-0; H-1; dan H-3 masing-masing adalah 82,27±2,75; 80,25±2,83; dan 78,07±0,92% seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Persentase motilitas pada kelompok H-1 hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Ramadhan (2008) pada kambing kacang yakni 82,66%. Namun, hasil yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dari yang diperoleh oleh Rizal (2004) pada domba garut sebesar 70,83%. Persentase motilitas spermatozoa cauda epididimis pada kelompok H-3 hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Rizal (2005) dan Saali (2006) dengan persentase motilitas semen ejakulat pada domba garut masing-masing sebesar 77,07 dan 77,33%. Hasil ini menunjukkan bahwa spermatozoa epididimis telah memiliki kemampuan motilitas yang setara dengan motilitas semen ejakulat sehingga dapat digunakan untuk keperluan inseminasi buatan. Menurut Hafez dan Hafez (2000) kondisi cauda epididimis karena pH rendah, viskositas tinggi, CO<sub>2</sub> tinggi, nisbah antara K dan Na tinggi, adanya pengaruh testosteron, dan kombinasi faktor-faktor lain yang menyebabkan rendahnya metabolisme, akan dapat memperpanjang daya hidup spermatozoa. Penurunan yang terjadi pada motilitas spermatozoa seiring dengan

pada suhu 5 °C diduga disebabkan kondisi lingkungan mikrocauda epididimis mengalami perubahan dari kondisi alami seperti yang terjadi pada hewan hidup. Semakin lama penyimpanan epididimis semakin menurunkan daya kerja dari senyawa kompleks yang terkandung di dalam epididimis pada perlakuan secara *in vitro* (Rizal, 2004).

Spermatozoa hidup ditandai oleh kepala spermatozoa yang berwarna putih (tidak menyerap zat warna), sedangkan yang mati ditandai oleh kepala spermatozoa yang berwarna merah setelah pewarnaan eosin. Persentase spermatozoa hidup kambing lokal pada kelompok H-0; H-1; dan H-3 masing-masing adalah 82,29; 80,63; dan 80,09% seperti yang terlihat pada Tabel 1. Persentase spermatozoa hidup cauda epididimis kambing lokal pada penelitian ini kurang lebih sama dengan yang dilaporkan oleh Rizal (2005) pada domba garut sebesar 82,83% dan Ramadhan (2008) pada kambing kacang sebesar 80,66%. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Yusuf (2006) pada persentase hidup spermatozoa kambing kacang sebesar 80,27%.

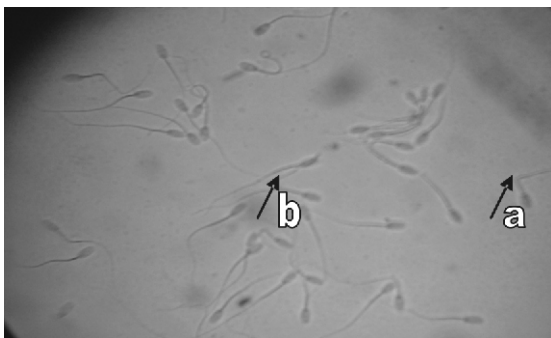
Spermatozoa yang hidup masih mempunyai sistem membran yang berfungsi, termasuk fungsi pengaturan ion terutama ion sodium (Na). Hal ini akan menyebabkan penahanan difusa medium pewarna (eosin B) yang mengandung ion sodium oleh sistem membran pada saat pemaparan spermatozoa ke dalam medium pewarna. Akibatnya spermatozoa tidak terwarnai oleh pewarna eosin B. Sebaliknya, pada spermatozoa mati, sistem membrannya telah rusak sehingga dengan mudah dapat dilewati oleh eosin B dan spermatozoa akan berwarna merah. Enzim Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ATP-ase yang terdapat pada membran plasma akan memompa kembali ion Na yang berikatan dengan pewarnaan eosin keluar dari sel. Secara alami konsentrasi ion Na di dalam sel lebih rendah dibanding di luar sel. Hal ini tidak terjadi pada spermatozoa yang mati karena membran plasmanya sudah rusak yang berarti sistem pompa Na pun tidak lagi berfungsi dengan baik sehingga zat pewarna eosin masuk ke dalam sel serta tetap tinggal di dalam dan mewarnai spermatozoa menjadi merah terutama pada bagian kepala (Soler *et al.*, 2003).

Kemampuan bertahan spermatozoa selama tiga hari pada penyimpanan epididimis pada suhu 5 °C diduga karena di dalam cairan cauda epididimis terdapat senyawa-senyawa

terjadinya kejutan dingin pada spermatozoa selama tiga hari penyimpanan. Senyawa-senyawa yang terdapat di dalam epididimis yang disimpan pada suhu rendah lebih awet daripada epididimis yang disimpan pada suhu tinggi sehingga kelangsungan hidup spermatozoa lebih lama (Rizal, 2004).

Secara umum spermatozoa yang dikoleksi dari cauda epididimis memiliki kualitas yang baik. Hal ini dikarenakan spermatozoa yang berasal dari cauda epididimis merupakan spermatozoa yang telah matang dan juga dilindungi oleh sekresi kauda epididimis berupa lesitin. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Hafez dan Hafez (2000) bahwa cauda epididimis memiliki peran sebagai tempat penyimpanan spermatozoa yang telah matang.

Salah satu faktor yang menjadi pertimbangan layak tidaknya semen untuk dibekukan adalah keabnormalan spermatozoa itu sendiri. Abnormalitas spermatozoa yang ditemukan pada penelitian ini adalah kepala tanpa ekor, ekor putus, ekor melingkar seperti kecambah seperti yang terlihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Pengamatan terhadap spermatozoa. (a) spermatozoa yang mengalami abnormalitas; (b) spermatozoa normal

Abnormalitas spermatozoa disebabkan karena adanya gangguan dalam proses reproduksi spermatozoa (spermatogenesis) di dalam tubuli seminiferi testis serta kerusakan yang timbul akibat dari cara pengkoleksian spermatozoa dari cauda epididimis. Persentase abnormalitas spermatozoa dari cauda epididimis kambing pada kelompok H-1 sebesar 7,23% hampir sama dengan yang diperoleh Ramadhan (2008) pada ejakulat semen kambing kacang yakni sebesar 6,33% dan laporan Saali (2006) pada domba sebesar 6,33%. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Ramadhan (2008) dan Putra (2005) bahwa persentase abnormalitas semen ejakulat pada kambing kacang masing-masing sebesar 7,50

dan 6,83%. Persentase abnormalitas kambing lokal setelah penyimpanan H-3 (10,75%) pada penelitian ini hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Rizal (2005) pada domba garut yaitu 10,83%. Persentase abnormalitas spermatozoa yang disimpan selama tiga hari masih layak untuk digunakan karena mempunyai keabnormalan di bawah 14%. Menurut Toelihere (1993b) spermatozoa yang layak untuk IB adalah spermatozoa yang memiliki nilai abnormalitas <15%.

Pemeriksaan spermatozoa pada cauda epididimis kambing lokal Aceh dilakukan dengan maksud untuk mengetahui kelayakan kualitas spermatozoa tersebut layak untuk dibekukan ataupun layak untuk tujuan inseminasi buatan. Hasil pemeriksaan memperlihatkan bahwa rata-rata kualitas spermatozoa pada cauda epididimis yang disimpan pada suhu 5 °C dari 0, 1, dan 3 hari penyimpanan memperlihatkan hasil yang baik dan mempunyai kelayakan untuk program IB. Semen yang akan diencerkan harus memenuhi syarat minimal untuk IB yakni persentase motilitas 70%, konsentrasi  $2 \times 10^9$  sel/ml, gerakan massa ++/+++ , persentase hidup minimal 80% dan persentase abnormal tidak lebih dari 15% (Tambing *et al.*, 2000).

## KESIMPULAN

Kualitas spermatozoa yang berasal dari epididimis kambing lokal tidak dipengaruhi oleh lama penyimpanan selama 0, 1, dan 3 hari pada suhu 5 °C.

## DAFTAR PUSTAKA

- Axner, E., C.L. Forsberg, and S. Einarsson. 1999. Morphology and motility of spermatozoa from different region of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology*. 45:767-777.
- Deaton, O.W., D. Olds, and D.M. Seath. 1985. **A Study of Some Possible Genetic Causes of Mummified Fetus in Dairy Cattle**. Kentucky Agric. Exp. Station, Lexington.
- Hafez, E.S.E. and B. Hafez. 2000. **Reproduction in Farm Animals**. 7<sup>th</sup> Lippicott Williams & Wilkins, Baltimore.
- Putra, O.E. 2005. Pengaruh Bahan Pengencer Susu Segar, Kuning Telur-Sitrat dan Air Kelapa-Kuning Telur terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Kambing

- Peranakan Ettawa (PE). **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Ramadhan, F. 2008. Viabilitas Spermatozoa yang Dikoleksi dari Ejakulat, Duktus Deferen dan Epididimis Kambing Kacang (*Capri capra*) setelah Kriopreservasi. **Skripsi**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Rizal, M. 2004. Pengaruh penambahan glutation ke dalam pengencer TRIS terhadap kualitas semen cair domba garut. **Bulletin Peternakan**. 27:63-72.
- Rizal, M. 2005. Fertilisasi Spermatozoa Ejakulat dan Epididimis Domba Garut Hasil Kriopreservasi Menggunakan Modifikasi Pengenceran Tris dengan Berbagai Krioprotektan dan Antioksidan. **Disertasi**. Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Saali, T. 2006. Morfologi dan Integritas DNA Spermatozoa Domba setelah Diawetkan dengan Metode Pengerimbekuan. **Disertasi**. Program Pascasarjana, IPB. Bogor.
- Siregar, T.N., A. Sayuti, dan E. Rahmi. 2002. Sosialisasi dan Penerapan Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Kambing di Desa Kajhu Kecamatan Darussalam, Aceh Besar. **Laporan Kegiatan Pengabdian**. LPM-Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Soler, A.J., M.D. Perez-Guzman, and J.J. Garde. 2003. Storage of red deer epididymides for four days at 5 °C: Effects on sperm motility, viability, and morphology integrity. **J. Exp. Zool.** 29:188-199.
- Tambing, S.N., M.R. Toelihere., T.L. Yusuf, dan I.K. Utama. 2000. Pengaruh gliserol dalam pengencer tris terhadap kualitas semen beku kambing peranakan etawah. **Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner**. 2:84-91.
- Toelihere, M.R. 1993a. **Fisiologi Reproduksi pada Ternak**. Penerbit Angkasa, Bandung. Fakultas Kedokteran Hewan, IPB, Bogor.
- Toelihere, M.R. 1993b. **Inseminasi Buatan pada Ternak**. Penerbit Angkasa Bandung. Fakultas Kedokteran Hewan, IPB, Bogor.