

Terakreditasi

Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan, Kemenristekdikti
Keputusan No: 21/E/KPT/2018, Tanggal 9 Juli 2018

<http://ojs.uho.ac.id/index.php/peternakan-tropis>

Kriopreservasi Semen Kambing Boer dengan Konsentrasi Pengencer Nira Aren dan Gliserol Berbeda

Muhammad Riyadhi¹, Anis Wahdi¹, Muhammad Rizal¹

¹Laboratorium Produksi Ternak, Jurusan Peternakan
Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat,
Jl. Jenderal Ahmad Yani Km. 36 Banjarbaru 70714. Telp. 0511-4781551.

*Email korespondensi: mriyadhi@ulm.ac.id

(Diterima: 8-10-2018; disetujui 25-11-2018)

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui efektivitas nira aren sebagai pengencer alternatif dalam proses pembekuan (kriopreservasi) semen kambing boer. Kriopreservasi semen kambing boer menggunakan pengencer tris-gliserol-kuning telur (P1 73-7-20%), nira aren-gliserol-kuning telur (masing-masing P2 74-6-20%, P3 73-7-20%, dan P4 72-8-20%) dan andromed (P5 tanpa mengandung kuning telur dan gliserol). Parameter evaluasi meliputi motilitas, viabilitas, dan membran plasma utuh setelah pengenceran, ekuilibrasi dan *thawing*. Evaluasi motilitas pasca *thawing* menunjukkan P5 52% berbeda nyata ($P < 0.05$) dengan P1 42%, selanjutnya P5 dan P1 berbeda sangat nyata ($P < 0.05$) dengan P2 8%, P3 6% dan P4 12%. Viabilitas pasca *thawing* menunjukkan P5 65,4% tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan P1 61,8%, akan tetapi P5 dan P1 berbeda sangat nyata ($P < 0.05$) dengan P2 26,2%, P3 29,8%, dan P4 34%. Membran plasma utuh (MPU) pasca *thawing* menunjukkan P5 66,2% tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan P1 65,4%, akan tetapi keduanya berbeda sangat nyata ($P < 0.05$) dengan P2 39%, P3 38%, dan P4 36,2%. Disimpulkan kriopreservasi semen kambing boer dengan pengencer nira aren dan gliserol pada konsentrasi berbeda belum dapat dipergunakan sebagai sumber bibit berdasarkan standar nasional Indonesia.

Kata Kunci : Kambing boer, nira aren, semen

ABSTRACT

The experiment was conducted to determine the effect of sugar palm juice as alternative extender for cryopreservation process of boer semen. Tris-glycerol-egg yolk (P1 73-7-20%), Sugar palm juice-glycerol-egg yolk (P2 74-6-20%, P3 73-7-20%, dan P4 72-8-20%), and andromed (P5) used as a extender in the cryopreservation process of boer semen. Sperm motility (%), live sperm (%) and sperm membrane integrity (%) were recorded after diluted, equilibration and freeze-thawing. Result of post thawing motility showed that P5 52% was significantly different ($P < 0.05$) with P1 42%, then P5 and P1 were significantly different ($P < 0.05$) with P2 8%, P3 6% and P4 12%. Viability after thawing showed P5 65.4% was not significantly different ($P > 0.05$) with P1 61.8%, but P5 and P1 significantly different ($P < 0.05$) with P2 26.2%, P3 29.8 %, and P4 34%. Sperm membrane integrity post-thawing showed P5 66.2% was not significantly different ($P > 0.05$) with P1 65.4%, but both were very significantly different ($P < 0.05$) with P2 39%, P3 38% and P4 36.2%. Conclusions, sugar palm juice-glycerol-egg yolk with different concentrations ineffectively as an alternative extender in cryopreservation of boer semen.

Keywords: boer goat, semen, sugar palm juice

PENDAHULUAN

Pengencer alami yang berasal dari buah-buahan dan sayuran telah banyak diteliti sebagai pengencer alternatif baik untuk proses preservasi semen cair maupun kriopreservasi. Pada proses preservasi semen cair telah digunakan air kelapa muda pada semen kambing peranakan ettawa (Rizal *et al.*, 2014; Riyadhi *et al.*, 2017) dan sapi persilangan (Rizal *et al.*, 2017), nira aren pada kerbau rawa (Rizal & Riyadhi, 2016), dan sari wortel pada sapi bali (Parera *et al.*, 2009). Proses kriopreservasi semen sapi telah digunakan air kelapa (El-Sheshtawy *et al.*, 20017), sari kurma (Malik *et al.*, 2014), dan sari-sari buah pada semen kambing (Daramola *et al.*, 2016).

Nira aren mengandung air 9,16%, sukrosa 84,31%, gula pereduksi 0,53%, lemak 0,11%, protein 2,28%, total mineral 3,66%, kalsium 1,35%, dan fosfor (P_2O_5) 1,37%. Kandungan kimia terbesar nira aren adalah sukrosa yaitu sebesar 84,31%, lebih besar dibandingkan kandungan sukrosa dari nira tebu (71,89%) dan nira siwalan (76,85%) (BPTP Banten, 2005). Nira aren juga mengandung vitamin A dan C serta memiliki pH 6-7, yang sesuai dengan pH semen. Fakta kandungan senyawa kimia tersebut yang menjadi landasan mengapa nira aren dapat dimanfaatkan sebagai salah bahan pengencer semen alternatif.

Pemanfaatan nira aren pada preservasi semen kambing boer telah berhasil dilakukan pada (Rizal *et al.*, 2018). Nira aren tidak dapat digunakan secara tunggal sebagai pengencer semen, akan tetapi harus dikombinasikan dengan bahan lain agar dapat memenuhi persyaratan yang ditentukan. Untuk dapat berfungsi melindungi spermatozoa pada temperatur rendah, maka nira aren harus dikombinasikan dengan kuning telur. Penambahan kuning telur pada proses preservasi sangat diperlukan karena kuning telur dapat berfungsi sebagai anti *cold shock* (Pillet *et al.*, 2011). Selanjutnya untuk proses kriopreservasi, nira aren memerlukan krioprotektan intraseluler seperti gliserol. Gliserol berfungsi melindungi spermatozoa dari kerusakan selama proses kriopreservasi. Kulaksiz *et al.* (2013) melaporkan bahwa penambahan gliserol sebanyak 7% menghasilkan kualitas semen beku kambing saanen yang lebih baik daripada penambahan gliserol sebanyak 3, 5, dan 9%.

Pemanfaatan nira aren pada proses kriopreservasi semen kambing boer belum banyak dilaporkan, padahal potensi nira aren untuk proses preservasi semen telah terbukti dengan baik. Hasil penelitian bertujuan untuk mengujinira aren sebagai pengencer alternatif dalam proses kriopreservasi semen kambing boer. Selain itu juga diharapkan dapat menjadi informasi tambahan mengenai pemanfaatan bahan-bahan alami sebagai pengencer alternatif yang murah dan mudah diperoleh.

MATERI DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Peternakan Kambing Desa Cindai Alus, Kabupaten Banjar untuk koleksi semen, pengamatan kualitas semen segar, dan pengenceran semen. Pembuatan pengencer semen, preservasi dan evaluasi semen selama preservasi dan kriopreservasi dilaksanakan di Laboratorium Produksi Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.

Metode Penelitian

Semen dikoleksi dari tiga ekor kambingboer jantan dewasa menggunakan vagina buatan.Selanjutnya dilakukan evaluasi terhadap kualitas semen segar yang meliputi: volume, gerakan massa, konsentrasi, derajat keasaman (pH), persentase motilitas, persentase abnormalitas (morfologi), persentase hidup, dan persentase membran plasma utuh (MPU).

Evaluasi motilitas dilakukan berdasarkan pengamatan langsung pada delapan lapang pandang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x, dengan kisaran penilaian 0-100% (Hamdan *et al.*, 2014).

Konsentrasi spermatozoa dinilai dengan dihitung secara langsung menggunakan *counting chamber*, dengan cara menghitung spermatozoa pada lima kotak *Neubauer* menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400x, hasil penghitungan konsentrasi akan dikalikan dengan 10 juta sperma per ml (Arifiantini, 2012).

Pengukuran persentase hidup dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin 2%. Spermatozoa hidup ditandai dengan tidak menyerap warna merah, sehingga kepala akan

terlihat berwarna putih, sebaliknya yang mati akan terlihat berwarna merah. Persentase abnormalitas diamati dengan melihat keadaan morfologi spermatozoa dan cara pembuatan preparat sama dengan pemeriksaan spermatozoa hidup yaitu menggunakan pewarnaan eosin 2 %. Cara penghitungan keduanya sama, dengan menghitung minimum 200 sel melalui mikroskop cahaya pembesaran 400x (Arifiantini, 2012).

Kualitas semen segar yang memenuhi syarat terdiri dari persentase motilitas $\geq 70\%$, konsentrasi $\geq 2.700 \times 10^6$ sel/ml, abnormalitas $< 10\%$ (Kostaman & Utama, 2006), serta persentase MPU $\geq 77\%$ (Pamungkas et al., 2014). Semen yang memenuhi persyaratan dibagi ke dalam lima buah tabung reaksi dengan volume yang sama, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 RPM selama 20 menit dan plasma semennya dibuang. Pellet berupa spermatozoa (sedimen) diencerkan menggunakan empat jenis pengencer, yakni:

- P1: 73% pengencer tris + 20% kuning telur + 7% gliserol sebagai kontrol,
- P2: 74% nira aren + 20% kuning telur + 6% gliserol,
- P3: 73% nira aren + 20% kuning telur + 7% gliserol,
- P4: 72% nira aren + 20% kuning telur + 8% gliserol, dan
- P5: pengencer komersial yang tidak mengandung kuning telur berupa andromed.

Semen yang telah diencerkan dievaluasi kembali kualitasnya, kemudian dikemas di dalam *straw* mini (0,25 ml), selanjutnya diekuilibrasikan pada suhu 5°C selama empat jam. Setelah ekuilibrasikan, setiap sampel semen dievaluasi kembali kualitasnya, semen dengan kualitas baik akan dilanjutkan untuk proses pembekuan. Pembekuan semen dilakukan dengan cara meletakkan *straw* 10 cm di atas permukaan nitrogen cair di dalam *styrofoam* yang ditutup rapat (suhu sekitar -130°C) selama 15 menit, selanjutnya *straw* dimasukkan ke dalam nitrogen cair (suhu sekitar -196°C) dan disimpan di dalam kontainer nitrogen cair. Setelah disimpan selama

tujuh hari, setiap sampel *straw* masing-masing dievaluasi kualitasnya. Semen beku dicairkan kembali dengan cara memasukkan *straw* ke dalam air bersuhu 37°C (di dalam penangas air) selama 30 detik.

Peubah kualitas spermatozoa yang diamati adalah: persentase spermatozoa motil, persentase spermatozoa hidup, dan persentase spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh (MPU) masing-masing setelah tahap pengenceran, ekuilibrasikan, dan *thawing*.

Metode Penelitian

Data dianalisis menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan dan enam kali ulangan, dan perbedaan antarperlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Semen Segar

Karakteristik semen segar kambing boer hasil penelitian terdiri dari volume rata-rata 0.68 ml, gerakan massa rata-rata +++, konsentrasi spermatozoa rata-rata 2.662 juta sel/ml, motilitas spermatozoa rata-rata 75%, spermatozoa hidup rata-rata 89%, spermatozoa abnormal 5%, dan MPU rata-rata 86% (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik semen segar kambing boer

Karakteristik	Rataan
Volume (ml) semen	0,68 ± 0,19
Warna	Krem
Derajat keasaman (pH)	6,92 ± 0,11
Konsistensi	Kental
Gerakan massa	+++
Konsentrasi (jt/ml)	2.662 ± 256,36
Motilitas (%)	75 ± 0,0
Sperma hidup (%)	89,0 ± 0,71
Sperma abnormal (%)	5,0 ± 1,14
MPU (%)	86 ± 1,14

Volume semen kambing boer telah dilaporkan bervariasi dari rata-rata 0,53 ml (Mahmilia et al., 2006), sampai berkisar antara 0,77-1,13 ml (Suharyati & Hartono, 2013). Konsistensi semen, pH semen, dan gerakan massa dari penelitian sebelumnya menunjukkan konsistensi kental, pH berkisar 6,4-7,25, dan

gerakan massa +++ (Alawiyah & Hartono, 2006; Rhochim et al., 2017).

Nilai motilitas berbeda telah dilaporkan sebesar 90%, konsentrasi spermatozoa sebesar 5.154,75 juta sel/ml, persentase spermatozoa hidup sebesar 90,77%, dan abnormal sebesar 4,33% (Alawiyah & Hartono, 2006) serta persentase MPU rata-rata 77,25% (Pamungkas et al., 2014). Dari keseluruhan nilai karakteristik semen segar yang ditemukan pada penelitian ini, disimpulkan bahwa semen yang diperoleh memenuhi syarat untuk proses preservasi dan kriopreservasi.

Kualitas Spermatozoa Setelah Proses Preservasi dan Kriopreservasi

Evaluasi persentase spermatozoa motil, persentase spermatozoa hidup, dan persentase spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh (MPU) setelah tahap pengenceran, ekuilibrasi, dan *thawing* dapat dilihat pada Tabel 2, 3 dan 4. Tidak terdapat perbedaan nyata persentase spermatozoa motil semen kambing boer setelah dilakukan pengenceran dan ekuilibrasi pada setiap perlakuan, hal ini menunjukkan spermatozoa tidak rentan terhadap penurunan suhu selama proses ini.

Tabel 2. Persentase spermatozoa motil semen kambing boer setelah pengenceran, ekuilibrasi dan *thawing*.

Perlakuan	Proses Pengolahan Semen		
	Setelah pengenceran	Setelah ekuilibrasi	Setelah <i>thawing</i>
P1	73,0 ± 2,74	70,0 ± 0,00	42,0 ± 2,74 ^c
P2	72,0 ± 2,74	68,8 ± 2,17	8,0 ± 2,74 ^{ab}
P3	70,0 ± 0,00	69,8 ± 0,45	6,0 ± 2,24 ^a
P4	75,0 ± 0,00	69,0 ± 2,24	12,0 ± 2,74 ^b
P5	74,0 ± 2,24	72,0 ± 1,41	52,0 ± 5,70 ^d

^{a,b,c}Superskrip dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Tabel 3. Persentase spermatozoa hidup semen kambing boer setelah pengenceran, ekuilibrasi dan *thawing*.

Perlakuan	Proses Pengolahan Semen		
	Setelah pengenceran	Setelah ekuilibrasi	Setelah <i>thawing</i>
P1	84,6 ± 2,88	79,6 ± 1,14 ^{ab}	61,8 ± 3,11 ^c
P2	84,8 ± 1,30	75,6 ± 3,78 ^a	26,2 ± 2,28 ^a
P3	83,2 ± 1,92	80,2 ± 3,11 ^{ab}	29,8 ± 3,56 ^{ab}
P4	82,6 ± 1,67	77,2 ± 1,64 ^a	34,0 ± 2,74 ^b
P5	87,4 ± 1,14	82,6 ± 1,95 ^b	65,4 ± 3,21 ^c

^{a,b,c}Superskrip dalam kolom yang menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

Tabel 4. Persentase MPU spermatozoa semen kambing boer setelah pengenceran, ekuilibrasi dan *thawing*.

Perlakuan	Proses Pengolahan Semen		
	Setelah pengenceran	Setelah ekuilibrasi	Setelah <i>thawing</i>
P1	87,2 ± 1,10	84,6 ± 2,88	65,4 ± 2,88 ^b
P2	86,6 ± 1,14	82,4 ± 1,95	39,0 ± 4,18 ^a
P3	86,4 ± 1,14	81,6 ± 2,07	38,0 ± 2,35 ^a
P4	85,4 ± 1,14	81,4 ± 1,95	36,2 ± 4,82 ^a
P5	85,8 ± 1,48	82,6 ± 2,07	66,2 ± 1,92 ^b

^{a,b,c}Superskrip dalam kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Seluruh perlakuan pengencer yang digunakan, dapat mempertahankan kualitas spermatozoa setelah pengenceran dan ekuilibrasi. Dengan kata lain pengencer (Tris-kuning telur-gliserol, nira aren-kuning telur-gliserol, dan andromed) dapat berfungsi sebagai penyedia nutrisi untuk sumber energi spermatozoa. Energi mempunyai peranan penting bagi spermatozoa untuk memelihara metabolisme sel dan pergerakan flagella (Gadea, 2003).

Persentase motilitas setelah *thawing* menunjukkan P5 52% berbeda nyata (P<0,05) dengan P1 42%, selanjutnya P5 dan P1 berbeda sangat nyata (P<0,05) dengan P2 8%, P3 6%, dan P4 12%. Hasil evaluasi menunjukkan terjadi penurunan motilitas setelah *thawing* pada semua jenis pengencer dibandingkan setelah pengenceran dan ekuilibrasi. Penurunan motilitas setelah *thawing* pada semua perlakuan, dipengaruhi oleh adanya perubahan tekanan osmotik selama

kriopreservasi dan *thawing* (Manivannan *et al.*, 2017). Lebih jauh dinyatakan, bahwa proses kriopreservasi menyebabkan kerusakan biokimia dan fungsional spermatozoa, sehingga mengurangi motilitas dan kelangsungan hidup spermatozoa tersebut (El-Sheshtawy *et al.*, 2017).

Persentase spermatozoa hidup hasil perlakuan P5 65,4% tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan P1 61,8%, akan tetapi P5 dan P1 berbeda nyata ($P<0,05$) dengan P2 26,2%, P3 29,8% dan P4 34% (Tabel 3). Untuk persentase MPU setelah *thawing* pada perlakuan P5 66,2% tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan P1 65,4%, akan tetapi sangat nyata ($P<0,05$) jika dibandingkan P2 39%, P3 38%, dan P4 36,2% (Tabel 4). Proses kriopreservasi semen sering terkait dengan kelebihan produksi ROS (*reactive oxygen spesies*) dan penurunan kapasitas antioksidan yang dimanifestasikan oleh penurunan kandungan glutathion intraseluler yang menyebabkan kerusakan pada membran spermatozoa (Ball *et al.*, 2001; Gadea *et al.*, 2004) sehingga banyak spermatozoa akan mengalami kematian.

Persentase membran plasma utuh dan spermatozoa hidup berkorelasi positif dengan nilai persentase motilitas. Nilai Persentase spermatozoa hidup dan membran plasma utuh akan selalu lebih tinggi dari persentase motilitas, hal ini dikarenakan spermatozoa motil sudah pasti memiliki membran plasma yang utuh dan hidup. Sebaliknya spermatozoa hidup dengan membran plasma yang utuh belum tentu mampu bergerak motil.

Dari semua parameter penelitian yang diukur, evaluasi terhadap motilitas merupakan bagian yang sangat penting dalam keberhasilan pelaksanaan inseminasi buatan. Pendapat berbeda terhadap nilai motilitas dinyatakan oleh beberapa peneliti, diantaranya Concannon dan Battista (1989) menyatakan nilai motilitas spermatozoa sebesar 40-50%, sementara Linde-Forsberg dan Forsberg (1989) menyatakan motilitas 20-30% sudah mampu menghasilkan kebuntingan.

Dari hasil penelitian terlihat, bahwa pengencer yang mampu mempertahankan motilitas, daya hidup, dan keutuhan membran plasma spermatozoa setelah *thawing* adalah P5 52% (Andromed) dan P1 42% (Tris-kuning telur-gliserol). Kemampuan pengencer andromed dalam

mempertahankan motilitas spermatozoa pasca *thawing* dari pengencer lain, diduga karena kandungan lesitin sebagai anti *coldshock* yang lebih sesuai untuk semen kambing boer. Pendapat ini mendukung pernyataan peneliti terdahulu bahwa lesitin kacang kedelai didalam andromed mempunyai kandungan *high density lipoprotein* (HDL) rendah yang dapat menghambat respirasi dan motilitas spermatozoa (Moussa *et al.*, 2002).

Pengenceran tris-kuning telur-gliserol, mempunyai keunggulan pada kemampuan tris dalam mencegah terjadinya penurunan pH, mengandung nutrisi serta konsentrasi yang cukup dalam melindungi sel dari *cold shock* dan selama proses kriopresevasi (Yohana *et al.*, 2014). Proses preservasi dan kriopreservasi merupakan titik kritis bagi sel spermatozoa. Pada proses tersebut sel akan mengalami pendinginan bertahap, mulai dari temperatur ruang 37°C lalu temperatur refrigerator 3°C ke -130°C, hingga dalam penyimpanannya -190°C. Selanjutnya ketika semen akan digunakan, kembali harus melalui titik kritis mulai dari *thawing* -190°C kembali 37°C. Kedua proses tersebut merupakan proses yang dapat merusak dan mematikan spermatozoa, sehingga perlu didukung oleh kemampuan pengencer yang dapat melindungi pada saat pendinginan dan pembekuan.

Pengencer andromed dan tris merupakan pengencer sintetik yang sudah teruji kemampuannya, baik pada saat pembuatan semen cair dan semen beku, sementara nira aren merupakan pengencer alami yang struktur dan kandungan kimianya tidak stabil, meskipun telah ditambahkan kuning telur dan gliserol sebagai agen krioprotektif. Dari hasil penelitian yang dilakukan terlihat kemampuan nira aren masih belum memenuhi nilai standar nasional Indonesia untuk semen beku untuk kambing dan domba sebesar $\geq 40\%$ (Standar Nasional Indonesia, 2014).

KESIMPULAN

Disimpulkan semen kambing boer yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi syarat untuk proses kriopreservasi. Pengencer yang dapat dan layak dipergunakan untuk pelaksanaan inseminasi buatan berdasarkan standar nasional Indonesia adalah P1 dan P5.

DAPTAR PUSTAKA

- Alawiyah, D. & M. Hartono. 2006. Pengaruh penambahan vitamin E dalam bahan pengencer sitrat kuning telur terhadap kualitas semen beku kambing Boer. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 31:8-14.
- Arifiantini, R.I. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. IPB Press. Bogor.
- Ball, B.A., V. Medina, C.G. Gravance & I. Baumber. 2001. Effect of antioxidant on preservation of motility, viability, and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5^o C. *Theriogenology* 56: 569-577.
- BPTP Banten. 2005. Kajian Sosial Ekonomi Gula Aren di Banten. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Banten. Serang.
- Concannon, P.W. & M. Batista. 1989. Canine semen freezing and artificial insemination. In: Kirk, R.W. editor. *Current veterinary therapy*. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Daramola, J.O., E.O. Adekunle, O.M. Onagbesan, O.E. Oke, A.O. Ladokun AO, J.A. Abiona, M.O. Abioja, J.A. Oyewusi, O.A. Isah, O.M. Sogunle & M.A. Adeleke. 2016. Protective effects of fruit-juices on sperm viability of West African Dwarf goat bucks during cryopreservation. *Anim. Reprod.* 13:7-13.
- El-Sheshtawy, R.I., W.S. El-Nattat & G.A.D. Ali. 2017. Cryopreservation of cattle semen using coconut water extender with different glycerol concentration. *Asian Pacific J. of Reprod.* 6:279-282.
- Gadea, J. 2003. Review : Semen extender used in the artificial insemination of swine. *Spanish Journal of Agricultural Research* 1:17-27.
- Gadea, J., E. Selles, M.A. Marco, P. Coy, C. Matas & R. Comar. 2004. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Theriogenology* 62:690-701.
- Hamdan, Budianto, A. Sutriana, D. Aliza, E. Rahmi & A.R. Dalimunthe. 2014. Pengaruh lama penyimpanan epididimis pada suhu 5°C terhadap kualitas spermatozoa kambing local aceh. *J. Ked. Hewan* 4:81-86.
- Kostaman, T. & I.K. Utama. 2006. Studi motilitas dan daya hidup spermatozoa kambing Boer pada pengencer Tris-sitrat-fruktosa. *Jurnal Sain Veteriner* 24:58-64.
- Kulaksiz R, U.C. Ari, A. Daskin & A.G. Uner. 2013. The effect of different glycerol concentrations on freezeability of semen from angora, kilis, and saanen goats. *Slovak. J. Anim. Sci.* 46:39-44.
- Linde-Forsberg, C. & M. Forsberg. 1989. Fertility in dogs in relation to semen quality and the time and site of insemination with fresh or frozen semen. *J. Reprod. Fert.* 39:299-310.
- Mahmilia, F., M. Doloksaribu & F.A. Pamungkas. 2006. Karakteristik semen kambing Boer. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner*. Bogor, 5-6 September 2006. Puslitbang Peternakan, Bogor. Hlm. 533-536.
- Malik A, Yayan, M.I. Zakir & M.S. Djaya. 2016. Effects of addition of juice date palm to the extender on the semen qualities of frozen thawed in bull spermatozoa. *Global Veterinaria* 16:100-104.
- Manivannan, S., M. Selvaraju, R. Ezakial Napoleon & P.S.L. Sesh. 2017. Post-thaw evaluation of cryopreserved Boer crossbred buck semen extended in TEYG (Universal) extender and its fertility rate. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6:3044-3049.
- Moussa, M., V. Martinez, A. Trimeche, D. Tanturier & M. Anton. 2002. Low density lipoprotein extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology* 57:1591-1762.
- Pamungkas, F.A., A. Batubara & Anwar. 2014. Kriopreservasi spermatozoa kambing Boer: Perbandingan dua bahan pengencer terhadap kualitas *post-thawing* dan kemampuan fertilisasinya. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 19:130-137.
- Parera, F., Z. Prihatiny, D.F. Souhoka & M. Rizal. 2009. Pemanfaatan sari wortel sebagai pengencer alternative spermatozoa

- epididymis sapi bali. J. Indon. Trop. Anim. Agric.34: 50-56.
- Pillet, E., G. Duchamp, F. Batellier, V. Beaumal, M. Anton, S. Desherces, E. Schmitt & M. Magistrini. 2011. Egg Yolk Plasma Can Replace Egg Yolk in Stallion Freezing Extenders. *Theriogenology* 75: 105-114.
- Rhochim, A., M.A. Salim, N. Isnaini & T. Susilawati. 2017. Pengaruh penghilangan rafinosa dalam pengencer Tris aminometan kuning telur terhadap kualitas semen kambing Boer selama simpan dingin. *Jurnal Ternak Tropika* 18:27-35.
- Riyadhi, M., M. Rizal & A. Wahdi. 2017. Diseminasi teknologi inseminasi buatan menggunakan semen kambing peranakan etawa dengan pengencer air kelapa muda dan kuning telur di Kecamatan Bati Bati Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan. *Panrita Abdi* 1:56-61
- Rizal, M., B. Irawan, D. Biyatmoko, A. Wahdi, Habibah & M. Riyadhi. 2014. Keberhasilan kebuntingan kambing peranakan etawa yang diinseminasi dengan semen cair. *Agrinimal* 4:1-4.
- Rizal, M. & M. Riyadhi. 2016. Fertilitas semen kerbau rawa (*Bubalus bubalis carabanensis*) yang diencerkan dengan pengencer nira aren. *J. Vet.* 17:457-467.
- Rizal, M., M. Riyadhi, B. Irawan, A. Wahdi, Habibah & Herdis. 2017. Daya hidup spermatozoa epididimis sapi persilangan yang dipreservasi dengan air kelapa muda pada suhu 5°C. *J Vet.* 18: 571-579.
- Rizal, M., M. Riyadhi & A. Sulaiman. 2018. The quality of boer goat semen preserved with sugar palm juice. *Buletin Peternakan* 42:97-102.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Diterjemahkan oleh B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2014. Semen Beku Bagian 3: Kambing dan Domba (SNI 4869.3-2014). Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Suharyati, S. & M. Hartono. 2013. Peningkatan kualitas semen kambing Boer dengan pemberian vitamin E dan mineral Zn. *Jurnal Kedokteran Hewan* 7:91-93.
- Yohana, T., N. Ducha & Raharjo. 2014. Pengaruh pengencer sintetik dan alami terhadap motilitas spermatozoa sapi Brahman selama penyimpanan dalam suhu dingin. *LenteraBio* 3:261-265.