



PENGARUH LAMA PENDINGINAN SEBELUM EKUILIBRASI TERHADAP KUALITAS SPERMATOZOA SAPI SIMMENTAL PASCA EKUILIBRASI

Nur Hayulin Inayah¹⁾, Fachroerrozi Hoesni²⁾, Teguh Sumarsono³⁾

¹⁾Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

Email: nurhayulinayah2003@gmail.com

²⁾Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

Email: fach_hoesni@unja.ac.id

³⁾Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Jambi, Jambi, Indonesia

Email: teguh120sumar@unja.ac.id

Abstract

The purpose of this study was to determine the effect of pre-equilibration cooling time on the post-equilibration quality of Simmental bull spermatozoa. This research was conducted at the Laboratory of the Regional Technical Implementation Unit (UPTD) of the Livestock Breeding Center, Office of Food Crops, Horticulture, and Animal Husbandry of Jambi Province from October 10 to November 10, 2025. An experimental method was used with a completely randomized design (CRD) consisting of four treatments and six replications. The treatments included P0 (2 hours of pre-equilibration cooling), P1 (4 hours of pre-equilibration cooling), P2 (6 hours of pre-equilibration cooling), and P3 (8 hours of pre-equilibration cooling). The results showed that the pre-equilibration cooling time significantly affected the motility, viability, and membrane integrity of Simmental bull spermatozoa ($P < 0.05$). It can be concluded that the optimum pre-equilibration cooling time to produce good quality Simmental bull spermatozoa is 2 to 4 hours.

Keywords: Cooling time, Motility, Viability, Membrane integrity.

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pendinginan sebelum ekuilibrasi terhadap kualitas spermatozoa sapi Simmental pasca ekuilibrasi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah (UPTD) Balai Pembibitan Ternak Dinas Tanaman Pangan Hortikultura dan Peternakan Provinsi Jambi pada 10 Oktober hingga 10 November 2025 dengan metode eksperimental, menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari empat perlakuan dan enam ulangan. Perlakuan meliputi P0 (2 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi), P1 (4 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi), P2 (6 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi), dan P3 (8 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi). Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama pendinginan sebelum ekuilibrasi nyata mempengaruhi motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran spermatozoa sapi Simmental ($P < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa Lama pendinginan sebelum ekuilibrasi yang optimum untuk menghasilkan kualitas spermatozoa sapi Simmental yang baik adalah selama 2 - 4 jam.

Kata Kunci: Waktu pendinginan, Motilitas, Viabilitas, Keutuhan Membran.



PENDAHULUAN

Inseminasi Buatan (IB) adalah salah satu cara untuk memasukkan semen ke dalam saluran reproduksi betina. Keberhasilan inseminasi buatan sangat bergantung pada mutu semen yang digunakan. Kualitas semen yang baik dapat diperoleh dari pejantan yang memiliki kondisi kesehatan optimal. Inseminasi buatan merupakan salah satu metode perkawinan yang efektif dalam upaya perbaikan produktivitas ternak. Keberhasilan pelaksanaan inseminasi buatan harus ditunjang oleh ketersediaan semen secara kontinyu dengan kualitas dan kuantitas baik serta mempunyai daya fertilitas yang tinggi. Pendinginan semen sebelum ekuilibrisasi adalah proses penurunan suhu semen secara bertahap dari suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ menuju pada suhu pendinginan berkisar $4-5^{\circ}\text{C}$ sebelum spermatozoa memasuki tahap ekuilibrisasi. Pendinginan selama 120 menit memungkinkan spermatozoa beradaptasi pada suhu rendah untuk menstabilkan membran plasma dengan kerja krioprotektan atau gliserol menjadi optimal dan mengurangi resiko cold shock sebelum dilakukannya tahap pembekuan. Faktor utama yang mempengaruhi keberhasilan pendinginan semen sebelum ekuilibrisasi adalah suhu pendinginan dan kecepatan penurunan suhu. Penurunan suhu harus secara bertahap karena spermatozoa sangat sensitif terhadap temperatur suhu yang ekstrem. Faktor lain yang berperan penting pada pendinginan sebelum ekuilibrisasi adalah komposisi pengencer semen. Pengencer juga berfungsi sebagai media pelindung yang mampu menjaga stabilitas lingkungan spermatozoa selama pendinginan berlangsung. Hubungan antara pendinginan sangat penting untuk menetapkan strategi yang menentukan urutan waktu sebelum ekuilibrisasi. Pendinginan sebelum ekuilibrisasi spermatozoa berfungsi sebagai fase adaptasi sel terhadap suhu rendah untuk melindungi spermatozoa dari kerusakan akibat perubahan suhu dan mempersiapkan sel untuk menghadapi tahapan selanjutnya. Pendinginan sebelum ekuilibrisasi merupakan faktor penting yang memengaruhi efektivitas kriopreservasi. Laju pendinginan yang tepat memberikan waktu yang cukup bagi air intraseluler untuk keluar mencegah pembentukan kristal es pada spermatozoa.

MATERI DAN METODA

1. Tempat dan Waktu

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Unit Pelayanan Teknis Daerah (UPTD) Balai Pembibitan Ternak Dinas Tanaman Pangan Hortikultura dan Peternakan Provinsi Jambi. Penelitian ini di mulai pada tanggal 10 Oktober-10 November 2025.

2. Objek Penelitian

Objek penelitian merupakan semen segar Sapi Simmental yang berumur ± 2 tahun. Penampungan semen menggunakan metode vagina buatan (VB). Semen yang ditampung kemudian diberi perlakuan berupa perbedaan lama pendinginan (2, 4, 6, dan 8 jam) dalam pengencer Tris Susu Skim untuk melihat pengaruhnya terhadap motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran spermatozoa.

3. Metode Penelitian

a. Penampungan sampel semen

Penampungan semen dilakukan dengan vagina buatan. Semen yang telah tertampung dinilai secara makroskopis dan mikroskopis. Penilaian secara makroskopis meliputi volume, warna, konsistensi, dan pH semen. Sedangkan secara mikroskopis meliputi konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran plasma. Penampungan semen dan frekuensi ejakulasi pejantan yang relatif sama tidak menyebabkan perbedaan volume semen yang dihasilkan antar bangsa. (Sumeidiana dkk 2007).

b. Pengenceran Semen

Larutkan susu skim 32gr, tris, natrium sitrat, dan fruktosa, yang dipanaskan dengan temperatur tinggi sebagai bahan pengencer yang diencerkan dengan aquades sebanyak 100 ml. Larutan tersebut dihomogenkan dengan cara meletakkan gelas erlenmeyer yang berisi larutan di atas stirrer dan lakukan pemanasan sekaligus pengadukkan selama 95 menit. Setelah homogen larutan tersebut didiamkan pada suhu kamar sehingga larutan dingin. Kemudian bahannya lain yaitu antibiotik yang terdiri dari penisilin 0,3gr dan steptomycin 0,3gr yang dilarutkan menggunakan aquades setelah larut campurkan dengan tris susu skim yang sudah mencapai $20-25^{\circ}\text{C}$ selanjutnya homogenkan menggunakan magnetik stirer tanpa pemanasan. Setelah homogen kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring setelah di saring kemudian dimasukkan kedalam kulkas selama 3 hari untuk proses pengendapan, setelah 3 hari kemudian dilakukan pemindahan pengencer kedalam erlenmeyer yang steril untuk memisahkan endapan atau residu, Setelah itu pengencer tersebut terbagi menjadi dua yaitu pengencer A tanpa gliserol dan pengencer B menggunakan gliserol 14%.

c. Perlakuan dan Pengulangan

Pengencer dengan penambahan gliserol disiapkan tanpa dikombinasikan dengan susu skim (kontrol) dan dengan pengencer kombinasi gliserol dan tris susu skim (perlakuan). Komposisi gliserol dan buffer tris susu skim, gliserol akan menjadi level perlakuan. Setiap perlakuan akan diulang sebanyak enam kali.

d. Pengamatan Kualitas Semen

Semen yang telah diencerkan akan diamati untuk mengevaluasi peubah yaitu motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran. Pengamatan dilakukan setelah ditampung, diencerkan dan penyimpanan pada suhu 5°C .

e. Motilitas Spermatozoa

Perhitungan motilitas spermatozoa dilakukan menggunakan gelas objek yang ditetesi semen dan tutup menggunakan gelas penutup. Objek diperiksa dengan pembesaran 40×10 menggunakan



mikroskop cahaya biasa atau mikroskop fase kontras. Spermatozoa yang motil akan tampak bergerak maju ke depan. Selanjutnya spermatozoa yang motil dihitung dan diberi nilai dari jumlah keseluruhan dalam persen (%). Motilitas dilihat dari estimasi motilitas spermatozoa secara keseluruhan dari delapan lapangan pandang, motilitas dinyatakan dalam bentuk persen (%) (Toelihere dkk., 2003).

f. Viabilitas Spermatozoa

Perhitungan Viabilitas dilakukan dengan cara meneteskan satu tetes pewarna eosin-nigrosin di atas objek glass, lalu tambahkan satu tetes semen pada pewarna tersebut, lalu campur pewarna dengan semen hingga homogen. Buat preparat ulas dengan cara menempelkan campuran tersebut pada ujung objek glass yang baru, dan selanjutnya ujung objek glass tersebut diulas pada permukaan objek glass lain secara merata. Objek glass ulasan tersebut dipanaskan di atas nyala api bunsen hingga kering. Kemudian lakukan pengamatan pada mikroskop pembesaran 10x40. Kepala sperma yang berwarna merah jingga merupakan sperma mati, sedangkan kepala sperma yang tidak terwarnai merupakan sperma hidup. Lakukan penghitungan hingga 200 sel sperma. Menurut (Toelihere dkk., 2003). persentase viabilitas dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Persentase Viabilitas} = \frac{\text{Total Spermatozoa yang Hidup}}{\text{Total Sperma yang Dihitung}} \times 100\%$$

g. Keutuhan membran

Perhitungan keutuhan membran plasma utuh dilakukan dengan menggunakan metode hypoosmotic swelling test (HOST). Pengujian dilakukan dengan cara mencampur semen dengan medium hypoosmotik. Setelah dicampurkan, objek diinkubasi dalam waterbath bersuhu 37°C selama 30 menit. Evaluasi dilakukan pada mikroskop cahaya pembesaran 40 x 10. Menurut (Rodriguez-Gil dkk., 1994) persentase MPU dihitung berdasarkan rumus.:

$$\text{Persentase MPU} = \frac{\text{Sperma dengan Ekor Melengkung}}{\text{Total Sperma yang Dihitung}} \times 100\%$$

h. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Dengan perlakuan sebagai berikut:

P0	= 2 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi
P1	= 4 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi
P2	= 6 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi
P3	= 8 jam pendinginan sebelum ekuilibrasi

Rancangan penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan 6 pengulangan.

i. Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah motilitas sperma, viabilitas sperma, dan keutuhan membran spermatozoa.

j. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan kualitas semen dianalisis menggunakan analisis variansi (ANOVA). Jika terdapat perbedaan yang signifikan akibat perlakuan, dilakukan uji lanjut menggunakan uji jarak berganda Duncan (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Semen Segar Sapi Simmental

Semen yang telah ditampung lalu dievaluasi untuk menentukan semen segar yang dapat layak untuk dijadikan sampel. Adapun persyaratan yang harus dipenuhi antara lain yaitu volume, warna, konsistensi, pH, gerakan massa, konsentrasi, motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran plasma. Hasil pemeriksaan kualitas semen segar sapi Simmental setelah penampungan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik semen sapi Simmental

Parameter	Hasil pengamatan Standar
Makrosopis	
Volume(ml)	5,78±0,25 1-15 ml
Warna	Putih susu Putih Susu
Konsistensi	Agak kental Sedang-Kental
pH	6,8 6,28- 7,8
Mikrosopis	
Gerakan massa	++ ++
Konsentrasi(juta/ml)	880,2±15,15 800-1200 juta/ml
Viabilitas(%)	84,73±1,66 84%

*Menurut Toelihere 1985

Berdasarkan Tabel 1, rata-rata volume semen segar sapi Simmental adalah 5,78±0,25 ml. Volume semen sapi yang normal berkisar antara 1 hingga 15 ml. Variasi volume semen yang berkualitas dari seekor penjamin unggul dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: berat badan, umur pejantan, sifat genetik, suhu dan musim, frekuensi ejakulasi dan makanan. (Adhyatma et.al 2013). Warna simen yang di amati pada penelitian ini adalah berwarna putih susu yang termasuk dalam kategori normal pada sapi. Warna semen segar terlihat warna putih susu dan konsistensi semen segar sedang. Persentase warna dan konsistensi tersebut cenderung dominan. (Muada dkk 2017).



Kecenderungan volume semen menurun setelah ditampung disebabkan karena pengaruh frekuensi penampungan yang terlalu sering atau karena perlakuan pada saat penampungan. Kekentalan atau konsistensi merupakan salah satu sifat semen yang memiliki kaitan dengan kepadatan atau konsentrasi spermatozoa didalamnya. Derajat kesamaan (pH) sangat berpengaruh pada daya tahan hidup dari spermatozoa. Dalam penelitian ini, derajat keasamaan (pH) semen sapi Simmental yang tercatat yaitu 6,8 yang berada pada kisaran angka normal. pH semen segar sapi simmental ini tergolong dalam keadaan normal karena berada pada kisaran 6,28- 7,8. (Janah dkk 2024).

Rata-rata gerakan massa aemen sapi Simmental yang di amati secara mikroskopik mennjukkan bahwa nilai +2 pada skala 0-3 yang tergolong cukup baik. Pengamatan gerakan massa dapat digunakan untuk menginterpretasikan gerakan individu dan konsentrasi spermatozoa. Gerakan massa yang diperoleh kisaran antara ++ dan +++, semen segar yang memenuhi syarat prosesing adalah semen segar dengan gerakan massa ++ dan +++. (Siswoyo dkk 2022). Pergerakan koloni spermatozoa yang semakin cepat dan pekat tentunya memungkinkan tingkat keberhasilan IB. Kriteria gerakan massa spermatozoa paling baik yaitu (+++)dengan pergerakan koloni spermatozoa sangat cepat dan pekat serta nilai (++) dengan pergerakancepat namun tipis atau tidak terlalu pekat. (Mahendra dan Jatnika, R. 2024).

B. Motilitas Spermatozoa

Hasil pemeriksaan terhadap Motilitas spermatozoa sapi Simmental pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rataan persentase Motilitas spermatozoa sapi Simmental dalam pengencer tris sitrat susu skim.

Perlakuan	Motilitas (%)
P0	54,52±0,87 ^a
P1	57,93±1,02 ^a
P2	48,22±0,75 ^b
P3	43,69±0,82 ^b

Keterangan: Superskrip huruf berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan lama pendinginan sebelum ekuilibrisasi memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas spermatozoa sapi Simmental sebelum ekuilibrisasi. Rataan motilitas spermatozoa pada masing-masing perlakuan yaitu P0 (54,52±0,87%) sama dengan P1 (57,93±1,02%), nyata lebih besar dibandingkan P2 (48,22±0,75%), yang sama dengan P3 (43,69±0,82%) ($P < 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut dapat dinyatakan bahwa waktu yang optimal untuk mendinginkan semen sebelum ekulibrasi adalah 2 dan 4 jam. Pada proses pendinginan sebelum ekuilibrisasi pada suhu 5°C selama 4 jam interaksi antara komponen-komponen pengencer dengan spermatozoa berlangsung dengan baik dan belum terjadi akumulasi asam laktat yang dihasilkan dari metabolisme spermatozoa.

Pada perlakuan P2 dan P3 terjadi kecederungan penurunan motilitas spermatozoa. Penurunan motilitas diduga berkaitan dengan perubahan kondisi fisiologis spermatozoa selama proses pendinginan sebelum ekuilibrisasi. Lama pendinginan yang lebih panjang dapat menyebabkan terjadinya perubahan pH medium semen akibat penimbunan asam laktat, peningkatan tekanan osmotik, serta stres dingin (cold shock) pada membran plasma spermatozoa. Hal ini diduga pada perlakuan P1 dan P2 pH semen masih normal, karena belum terjadi penimbunan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa yang dapat menyebabkan penurunan pH. Penurunan motilitas spermatozoa saat pendinginan terjadi karena suhu yang berubah dari 370C saat ejakulasi menjadi 40C saat disimpan.

C. Viabilitas Spermatozoa

Hasil pemeriksaan terhadap viabilitas spermatozoa sapi Simmental pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rataan persentase Viabilitas spermatozoa sapi Simmental dalam pengencer tris sitrat susu skim.

Perlakuan	Viabilitas (%)
P0	62,27±0,72 ^a
P1	64,04±0,92 ^a
P2	58,92±0,94 ^b
P3	55,86±0,84 ^b

Keterangan: Superskrip huruf kecil berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan hasil rataan viabilitas spermatozoa pada masing-masing perlakuan, diperoleh nilai viabilitas tertinggi pada perlakuan P1 dan PO yaitu sebesar 64,04±0,92%, dan 62,27±0,72%. Sementara itu, perlakuan P2 dan P3 menunjukkan nilai viabilitas yang lebih rendah masing-masing sebesar 58,92±0,94% dan 55,86±0,84%. Tingginya viabilitas spermtzoa pada P0 dan P1 disebabkan oleh lama pendinginan sebelum ekuilibrisasi yang masih berada pada kondisi optimal sehingga spermatozoa mampu beradaptasi secara bertahap terhadap penurunan suhu.

Hasil analisis menunjukkan bahwa presentase viabilias tertinggi terdapat pada perlakuan P1 sebesar 64,04% perlakuan P0 yaitu sebesar 62,27%. Kedua presentase perlakuan tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan presentase perlakuan P2 dengan presentase viabilitas sebesar 58,92% dan di lanjutkan dengan presentase perlakuan P3 dengan presentase viabilitas sebesar 55,86%. Hal ini menunjukkan bahwa lama waktu pendinginan sebelum ekuiliberasi dapat berpengaruh terhadap presentase hidup spermatozoa.

D. Keutuhan Membran Spermatozoa

Hasil pemeriksaan terhadap Keutuhan Membran spermatozoa sapi Simmental pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.



Tabel 5. Rataan persentase Keutuhan Membran spermatozoa sapi Simmental dalam pengencer tris sitrat susu skim.

Perlakuan	Keutuhan Membran (%)
P0	61,48±0,64 ^b
P1	63,92±0,54 ^a
P2	56,38±0,54 ^c
P3	52,04±0,58 ^c

Keterangan: Superskrip huruf kecil berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap persentase keutuhan membran plasma spermatozoa pada masing-masing perlakuan, diperoleh nilai keutuhan membran tertinggi pada perlakuan P1 yaitu sebesar 63,92±0,54%, diikuti oleh perlakuan P0 sebesar 61,48±0,64%. Sementara itu, perlakuan P2 dan P3 menunjukkan nilai keutuhan membran yang lebih rendah masing-masing sebesar 56,38±0,54% dan 52,04±0,58%. Tingginya nilai keutuhan membran pada perlakuan P1 mengindikasikan bahwa lama pendinginan sebelum ekuilibrasi berada pada kondisi optimal dalam mempertahankan integritas membran plasma spermatozoa. Kerusakan pada membran plasma spermatozoa dapat terjadi apabila ada perubahan temperatur atau suhu yang signifikan yang dapat mengakibatkan kerusakan lipoprotein dalam membran plasma spermatozoa itu sendiri. (Rahmayani dan Ridlo, 2026).

Rataan persentase keutuhan membran plasma mendapatkan nilai persentase P1 sebesar 63,92%, diikuti dengan nilai persentase P0 sebesar 61,46%. Baik perlakuan P1 maupun P0 menunjukkan persentase keutuhan membran plasma yang lebih tinggi daripada P2 sebesar 48,60%. Sesuai dengan pendapat (Toelihere 1985), bahwa semen sebelum dilakukan pendinginan sebelum ekuilibrasi harus berada didalam pengencer selama kurang lebih 2-4 jam pada suhu 50C untuk mendapatkan kualitas semen yang baik dan keutuhan membran yang cukup baik. Hal ini diduga karena pendinginan sebelum ekuilibrasi 2 jam dan 4 jam mampu memberikan kesempatan optimal gliserol untuk masuk ke dalam membrane plasma dan mengikat gugus fosfolipid sehingga mampu mengatasi ketidakstabilan membrane.

KESIMPULAN

Bedasarkan hasil penelitian ini disimpulkan lama pendinginan sebelum ekuilibrasi yang optimum untuk menghasilkan kualitas spermatozoa sapi Simmental yang baik adalah selama 2 - 4 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhyatma, M., Nurul, I., dan Nuryadi, N. (2013). Pengaruh bobot badan terhadap kualitas dan kuantitas semen sapi Simmental. *Ternak tropika Journal of Tropical Animal Production*, 14(2), 53-62.
- Janah, M., Arifpansyah, A., Atma, C. D., & Dharmawibawa, I. D. (2024). Pengaruh Lama Penyimpanan Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Simmental di BIB

- Banyumulek Provinsi Nusa Tenggara Barat. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(2), 2726-2737.
- Muada, D. B., Paputungan, U., Hendrik, M. J., dan Turangan, S. H. (2017). Karakteristik semen segar sapi bangsa limousin dan simmental di balai inseminasi buatan lembang. *ZOOTEC*, 37(2), 360-369.
- Mahendra, S., dan Jatnika, R. (2024). Kualitas semen segar sapi bali sebelum dibekukan di uptd balai inseminasi buatan daerah provinsi nusa tengara barat. *Jurnal ternak tropis*, 1(1), 23-30.
- Rahmayani, D., dan Ridlo, M. R. (2026). Motilitas, viabilitas dan membran plasma utuh semen beku sapi pogasi pada suhu thawing berbeda. *Agrinimal jurnal ilmu ternak dan tanaman*, 14(1), 71-78.
- Rodríguez-Gil, J. E., A. Montserrat, dan T. Rigau. 1994. Effects of hypoosmotic incubation on acrosome and tail structure on canine spermatozoa. *Theriogenology*, 42(5): 815-829.
- Sumeidiana, I., Wuwuh, S., dan Mawarti, E. (2007). Volume semen dan konsentrasi sperma sapi simmental, limousin dan brahman di balai inseminasi buatan ungaran. Universitas diponegoro semarang.
- Siswoyo, P., Rusdhi, A., & Suleman, A. (2022). Pengaruh exercise terhadap kualitas spermatozoa pada sapi simmental. *Jurnal ilmu teknologi ternak unggul (JITTU)*, 1(2), 17-22.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1993. Prinsip dan prosedur statistika: suatu pendekatan biometrik. edisi ke-2. Jakarta: Gramedia pustaka utama
- Toelihere, M.R., 1985. Fisiologi reproduksi pada ternak. Angkasa.
- Toelihere, M. R., Yusuf, T. L., Purwantara, B., dan Situmorang, P.Rizal, M., (2003). Characteristics of reproductive performance of Garut rams. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 8(2).