

Pengaruh Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap Abnormalitas Spermatozoa Ayam Kampung

Effect of Red Fruit Extract (*Pandanus Conoideus* Lam) Treatment on Abnormality of Ayam Kampung Spermatozoa

Angelina Novita Tethool*, Abdul Rahman Ollong, Johan Fredrik Koibur

Sub Lab Fisiologi dan Reproduksi Ternak Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Papua, Manokwari

Article history

Received: Apl 06, 2020;

Accepted: Mar 28, 2021

* Corresponding author:

E-mail:

angelinanovitathool@gmail.com

DOI:

[10.46549/jipvet.v11i2.107](https://doi.org/10.46549/jipvet.v11i2.107)



Abstract

Spermatozoa abnormality is one of the factors which determine artificial insemination success in avian. Abnormality can be reduced by using antioxidants. Antioxidants are substances that can prevent the occurrence of free radical antioxidation reactions in lipid oxidation. Red fruit (*Pandanus conoideus* Lam) is one of the plants endemic to Papua which contain high antioxidant. Antioxidants affect the quality of sperm. The aim of this research was to determine the abnormality spermatozoa of ayam Kampung which were received red fruit extract treatment. Eight cocks were divided into 4 treatments, each treatment was repeated 5 times. The treatment consisted of control (P0) without extract, P1 with 0.5 mL extract/kgBW/day, P2 with 1 mL extract/kgBW/day and P3 with 1.5 mL extract/kgBW/day. The results showed that red fruit extract decreased the percentage of abnormality spermatozoa ($19.63 \pm 8.62\%$; $33.5 \pm 4.34\%$; $36 \pm 28.50\%$) ($P < 0.05$) compare to control (without red fruit extract) $65 \pm 17.2\%$. Forms of abnormality obtained was abnormalities on the head, namely swelled head, bent head, head detachment, knotted tail and smaller head, middle abnormalities, namely midpiece detachment and bending at midpiece border and abnormalities of the tail, namely bent tail, knotted tail, tail detachment and curled tail.

Keywords: Abnormality; Antioxidant; Ayam kampung; Red fruit; Spermatozoa

Abstrak

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan inseminasi buatan pada unggas. Kelainan tersebut dapat dikurangi dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah terjadinya reaksi antioksidan radikal bebas pada oksidasi lipid. Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) merupakan salah satu tanaman endemik Papua yang mengandung antioksidan tinggi. Antioksidan berpengaruh terhadap kualitas sperma Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kelainan spermatozoa ayam kampung yang diberi perlakuan ekstrak buah merah. Delapan cocks dibagi menjadi 4 perlakuan, masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Perlakuan terdiri dari kontrol (P0) tanpa ekstrak, P1 dengan 0,5 mL ekstrak/kgBB/hari, P2 dengan 1 mL ekstrak/kgBB/hari dan P3 dengan 1,5 mL ekstrak/kgBB/hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah merah menurunkan persentase kelainan spermatozoa ($19,63 \pm 8,62\%$; $33,5 \pm 4,34\%$; $36 \pm 28,50\%$) ($P < 0,05$) dibandingkan kontrol (tanpa ekstrak buah merah) $65 \pm 17,2\%$. Bentuk kelainan yang diperoleh adalah kelainan pada kepala yaitu kepala bengkak, kepala bengkok, kepala terlepas, ekor tersimpul dan kepala mengecil, kelainan tengah yaitu lepasnya bagian tengah dan tekukan pada batas bagian tengah dan kelainan pada ekor yaitu ekor bengkok, ekor tersimpul, pelepasan ekor dan ekor

melengkung.

Kata kunci: Abnormalitas; Antioksidan; Ayam kampung; Buah merah; Spermatozoa

PENDAHULUAN

Pemeliharaan ayam Kampung umumnya sebagai usaha untuk memanfaatkan pekarangan, pemenuhan gizi keluarga serta peningkatan pendapatan. Usaha ini seringkali mendapatkan kendala khususnya dalam pengadaan bibit baik secara kuantitas maupun kualitas. Hal ini menjadi faktor utama untuk terus dilakukan upaya memperbaiki sistem perkawinan dan program seleksi. Salah satu faktor pendukung keberhasilan dalam perkawinan ayam Kampung adalah kualitas spermatozoa yang dihasilkan oleh pejantan. Pengujian kualitas spermatozoa secara umum memiliki hubungan yang signifikan terhadap kemampuan fertilisasi (Iswati *et al.*, 2017). Prinsip umum uji kualitas spermatozoa menggambarkan beberapa fungsi spermatozoa yang ditunjukkan selama interaksinya di dalam saluran reproduksi betina dan ovum.

Menurutnya kualitas spermatozoa dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya karena kerusakan DNA seluler yaitu terjadinya fragmentasi DNA seluler dan abnormalitas morfologi (kepala, leher dan ekor) spermatozoa (Saleh *et al.*, 2003). Hal ini disebabkan karena terjadinya *stress oxidative* yang diakibatkan oleh adanya peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang akan mengakibatkan kerusakan DNA dan pada akhirnya terjadi apoptosis spermatozoa. Menurut Gazali dan Tambing, (2002) bahwa proses peroksidasi ini dapat menyebabkan kerusakan sel spermatozoa sehingga menyebabkan penurunan viabilitas sel spermatozoa. Penurunan ini diduga karena ketidakmampuan plasma seminalis untuk mencegah kerusakan integritas membran plasma yang disebabkan oleh proses peroksidasi (Aurich *et al.*, 1997). Upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya proses peroksidasi adalah melalui pemberian antioksidan. Antioksidan merupakan zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Javanmardi *et al.*, 2003).

Senyawa ini mampu menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal yang dapat menimbulkan stress oksidatif (*oxidative stress*) (Pavlovic *et al.*, 2005).

Salah satu bahan alam yang diketahui dapat menjadi alternatif dalam memperbaiki kualitas spermatozoa adalah buah merah (*Pandanus conoideus* Lam). Buah merah secara tradisional banyak dikonsumsi oleh masyarakat dalam bentuk air perasan maupun minyaknya. Sari buah merah mengandung - tokoferol, -karoten, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, vitamin C, kalsium, fosfor, dan besi (Budi dan Paimin, 2005). Senyawa yang dimiliki buah merah ini memiliki peran dalam peningkatan kualitas spermatozoa karena memiliki aktivitas antioksidan sekunder (Palupi dan Martosupono, 2009) serta berfungsi sebagai antioksidan intraseluler yang dapat mencegah peroksidasi asam lemak tak jenuh di dalam dan di dinding sel (Donnelly *et al.*, 1999) sehingga dapat mempertahankan bentuk spermatozoa ayam Kampung dalam kondisi normal.

Pemanfaatan buah merah untuk memperbaiki kualitas spermatozoa telah dilakukan, namun terbatas pada penggunaan dalam pengenceran semen yang baru ditampung. Penggunaan buah merah dalam pengencer ringer laktat sebanyak 2% mampu mempertahankan motilitas spermatozoa pada suhu ruang (Isnaeni *et al.*, 2019). Hingga saat ini belum ada laporan mengenai abnormalitas spermatozoa yang dihasilkan pada semen ayam Kampung, sehingga dirasa perlu dilakukan suatu penelitian untuk mendapatkan informasi tentang pengaruh pemberian antioksidan alami asal buah merah terhadap abnormalitas spermatozoa ayam Kampung. Tingkat abnormalitas sangat penting diketahui karena berkaitan dengan kemampuan spermatozoa untuk membuahi ovum yang dilepaskan saat ovulasi. Informasi mengenai abnormalitas spermatozoa ayam Kampung

diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber acuan dalam aplikasi teknologi IB, sehingga nantinya keberhasilan pelaksanaan IB pada ayam kampung semakin meningkat.

MATERI DAN METODE

Pengamatan abnormalitas spermatozoa menggunakan bahan dan peralatan yang terdiri dari semen ayam kampung, alkohol, eosin-nigrosin, *tissue*, *object glass*, pipet dan mikroskop cahaya Olympus CX23. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 kali ulangan. Ayam kampung jantan yang digunakan sebanyak 8 ekor berumur 1-2 tahun dan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 2 ekor. Sebelum perlakuan diberikan, seluruh ayam diadaptasikan selama 2 minggu dan hanya diberikan pakan BR 521 dan air minum *ad libitum*. Perlakuan diberikan secara oral menggunakan kanul (*force feeding*) selama 35 hari dan terdiri dari:

P0 : air minum (kontrol)

P1 : dosis 0.5 mL sari buah merah/ kgBB/hari

P2 : dosis 1 mL sari buah merah/kgBB/hari

P3 : dosis 1.5 mL sari buah merah/kgBB/hari

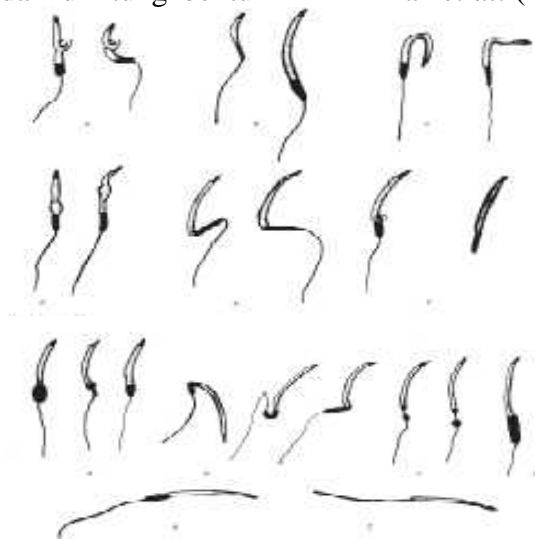
Penampungan semen dilakukan 2 kali seminggu dengan menggunakan metode pengurutan (*massage*) pada bagian punggung ayam. Ayam yang terangsang menunjukkan ciri-ciri, seperti ekor akan terangkat ke atas, bagian kloaka terbuka dan sepasang papilla akan terlihat. Cairan kental yang dikeluarkan pada bagian kloaka kemudian ditampung menggunakan tabung *ependrof* berukuran 1.5 mL.

Abnormalitas spermatozoa dilihat dengan menggunakan pewarnaan eosin. Sampel semen dan pewarna eosin (1:3) dicampur pada *object glass* dan dibuat preparat ulas tipis pada *object glass* yang lain. Preparat kemudian dikeringanginkan dan pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 10 x 40. Perhitungan untuk menentukan persentase sel spermatozoa normal dan abnormal dilakukan dengan menghitung 200 sel spermatozoa dalam 10 lapang pandang yang berbeda. Persentase abnormalitas didapat dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Ridwan, 2008):

$$\text{Abnormalitas spermatozoa} = \frac{\text{Spermatozoa Abnormal}}{200} \times 100\%$$

Dari abnormalitas spermatozoa yang ada, kemudian diidentifikasi dan dihitung bentuk-

bentuk abnormalitas yang diperoleh menurut Alkan *et al.* (2002) ([Gambar 1](#)).



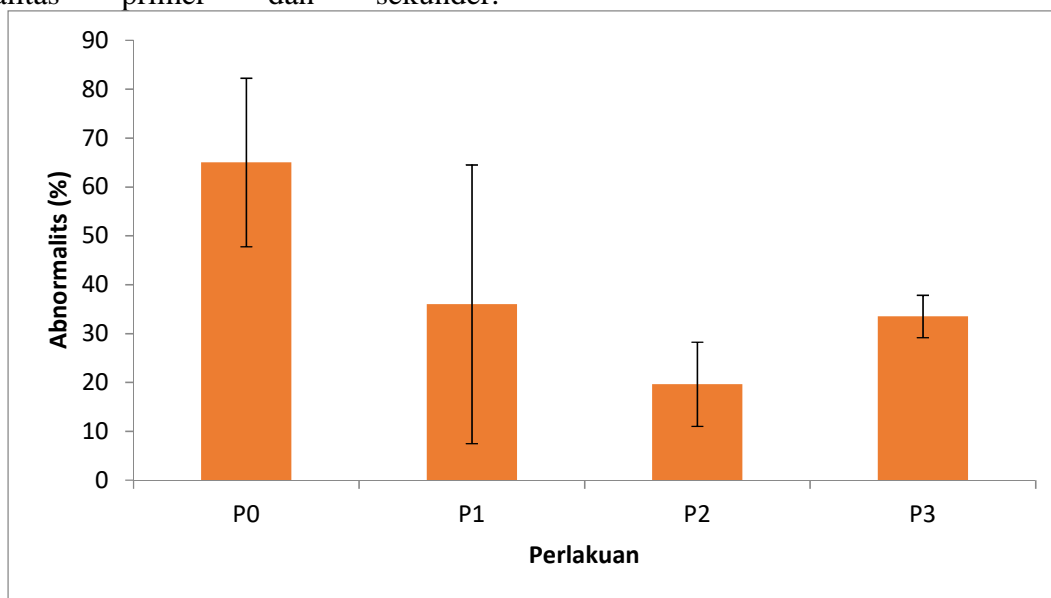
Gambar 1. Bentuk abnormalitas spermatozoa unggas (Alkan *et al.*, 2002)

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Anova, apabila terdapat perbedaan pada masing-masing perlakuan, maka dilakukan uji Jarak Berganda Duncan menggunakan software SPSS version 19.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

PERSENTASE ABNORMALITAS

Abnormalitas terbagi menjadi dua, yaitu abnormalitas primer dan sekunder.



Gambar 2. Abnormalitas spermatozoa Ayam Kampung pada berbagai kelompok perlakuan.

Abnormalitas spermatozoa yang tertinggi diperoleh pada P0 sebesar 65±17.2% mengalami penurunan pada P1, yaitu 36±28.50%, diikuti P3 sebesar 33.5±4.34% dan P2 sebesar 19.63±8.62% (Gambar 2). Pemberian sari buah merah mampu menurunkan persentase abnormalitas, namun masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan rata-rata abnormalitas spermatozoa ayam IPB-D1 sebesar 14.79±4.67% (Setiadi *et al.*, 2019) dan abnormalitas ayam Kampung yang diberi minyak hati ikan Kod sebesar 13.14±1.98% (Khaeruddin *et al.*, 2020). Hasil anova menunjukkan bahwa abnormalitas spermatozoa ayam Kampung yang tidak diberi sari buah merah (P0) menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0.05$) dengan P1, P2 dan P3. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian buah merah sebagai sumber antioksidan dapat mencegah dan mengurangi kerusakan spermatozoa. Kandungan antioksidan pada buah merah seperti tokoferol, karotenoid dan betakaroten mampu mempengaruhi

Abnormalitas primer terjadi karena kelainan saat berlangsungnya proses spermatogenesis di dalam tubuli seminiferi, sedangkan abnormalitas sekunder kerusakan spermatozoa yang terjadi selama perjalanan melalui epididimis, selama fase ejakulasi atau setelah ejakulasi terjadi termasuk proses pemanasan yang berlebihan, pendinginan yang cepat, kontaminasi dengan air, urine dan antiseptik (Yudi *et al.*, 2010).




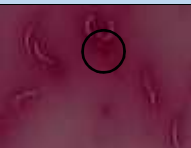




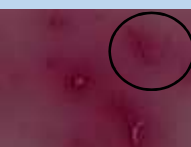
abnormalitas spermatozoa. Menurut Tabatabaei *et al.* (2011) melalui pemberian antioksidan seperti tokoferol, -karoten maupun asam askorbat mampu memberikan perlindungan terhadap sel spermatozoa dari kerusakan morfologi sel yang dapat menyebabkan abnormalitas pada sel spermatozoa dengan cara mencegah efek buruk radikal bebas terhadap sel spermatozoa. Antioksidan berpengaruh positif dalam memelihara struktur dan perkembangan, serta fungsi sel-sel spermatogenesis, sehingga dengan adanya zat aktif tersebut maka jumlah sel-sel benih yang mengalami kegagalan perkembangan, degenerasi, kematian akibat radikal bebas dapat ditekan atau dikurangi (Nugraheni *et al.*, 2003).

BENTUK ABNORMALITAS

Abnormalitas pada spermatozoa disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain penyakit, stres panas, musim, gangguan pematangan (spermatogenesis akhir), teknik koleksi, penanganan semen, ras hewan,

kualitas hewan, manajemen pemeliharaan, hormonal (Holt and Pickard, 1999).
 frekuensi kontak lawan jenis dan faktor

Tabel 1. Bentuk abnormalitas spermatozoa ayam Kampung pada berbagai kelompok perlakuan

Perlakuan	Bentuk Abnormalitas	Persentase (%)		
Abnormalitas bagian kepala				
P0	<i>Swelled head</i>		83.01 ± 11.49 ^a	
P1				60.62 ± 46.03 ^a
P2				47.23 ± 42.50 ^a
P3				59.00 ± 35.82 ^a
P0	<i>Bent head</i>		28.23 ± 0.0 ^a	
P1				1.47 ± 0.0 ^a
P2				0.00 ^a
P3				3.08 ± 0.0 ^a
P0	<i>Head detachment</i>		2.61 ± 1.61 ^a	
P1				11.54 ± 21.54 ^a
P2				1.73 ± 0.0 ^a
P3				13.09 ± 16.33 ^a
P0	<i>Knotted head</i>		0.00 ^a	
P1				0.00 ^a
P2				5.17 ± 0.0 ^a
P3				3.44 ± 2.68 ^a
P0	<i>Smaller head</i>		1.17 ± 0.83 ^a	
P1				4.22 ± 2.35 ^a
P2				0.00 ^a
P3				0.00 ^a
Abnormalitas bagian tengah				
P0	<i>Midpiece detachment</i>		4.99 ± 3.19 ^a	
P1				11.76 ± 0.0 ^a
P2				2.95 ± 4.15 ^a
P3				2.40 ± 0.71 ^a
P0	<i>Bending at midpiece border</i>		2.34 ± 0.0 ^a	
P1				9.73 ± 2.88 ^a
P2				1.16 ± 0.0 ^a
P3				4.61 ± 0.0 ^a
Abnormalitas bagian ekor				
P0	<i>Bent tail</i>		8.89 ± 8.02 ^a	
P1				24.04 ± 20.83 ^a
P2				16.75 ± 12.39 ^a
P3				29.52 ± 30.42 ^a
P0	<i>Knotted tail</i>		1.89 ± 0.83 ^a	
P1				23.08 ± 0.0 ^a
P2				25.07 ± 1.12 ^a
P3				20.89 ± 24.84 ^a

P0	<i>Tail detachment</i>		0.78 ± 0.24 ^a
P1			8.39 ± 11.16 ^a
P2			0.58 ± 0.0 ^a
P3			2.37 ± 0.99 ^a
P0	<i>Curled tail</i>		0.00 ^a
P1			0.00 ^a
P2			0.00 ^a
P3			15.38 ± 0.0 ^a

Keterangan: Penggunaan notasi pada huruf yang tidak sama menunjukkan adanya perbedaan pada kelompok perlakuan.

Bentuk-bentuk abnormalitas pada spermatozoa ayam kampung yang ditemukan terdiri dari abnormalitas pada bagian kepala, yaitu *swelled head*, *bent head*, *head detachment*, *knotted tail* dan *smaller head*, abnormalitas bagian tengah, yaitu *midpiece detachment* dan *bending at midpiece border* serta abnormalitas bagian ekor, yaitu *bent tail*, *knotted tail*, *tail detachment* dan *curled tail* (Tabel 1).

Hasil anova menunjukkan bahwa pemberian sari buah merah tidak berbeda terhadap bentuk-bentuk abnormalitas yang ditemukan ($P > 0.05$) (Tabel 1). Rata-rata bentuk abnormalitas kepala tertinggi yang diperoleh adalah bentuk *Swelled head* atau kepala membengkak. Abnormalitas ini kemungkinan terjadi setelah proses ejakulasi karena menurut Alkan *et al.* (2002) kepala spermatozoa membengkak sesaat setelah semen diejakulasi yang diakibatkan karena adanya perbedaan tekanan osmosis dan suhu. Menurut Saacke (2008), spermatozoa dengan abnormalitas bagian kepala akan menghasilkan embrio berkualitas rendah dan mudah berdegenerasi, atau tidak mampu memfertilisasi ovum. Jenis abnormalitas pada bagian ekor yang paling sering ditemukan adalah *Bent tail* dan *Knotted tail*. Abnormalitas ini merupakan abnormalitas sekunder yang dapat terjadi setelah proses spermatogenesis dan selama perjalanan spermatozoa di epididimis (Utami dan Tophianong, 2014). Faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas ini adalah faktor eksternal seperti syok karena adaptasi terhadap perubahan lingkungan dan preparasi semen yang kemungkinan bercampur dengan cairan eksudat (Afiati *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian sari buah merah dapat menurunkan persentase abnormalitas spermatozoa ayam kampung. Bentuk abnormalitas spermatozoa yang diperoleh meliputi abnormalitas pada bagian kepala dengan nilai terendah pada pemberian 1 mL sari buah merah/kgBB, yaitu *swelled head* 47.23%, *bent head* 0%, *head detachment* 1.73%, serta *knotted tail* dan *smaller head* yang tidak dijumpai pada perlakuan kontrol, 0.5 mL, 1 mL dan 1.5 mL/kgBB. Abnormalitas bagian tengah dengan nilai terendah diperoleh pada perlakuan 1.5 mL sari buah merah/kgBB, yaitu *midpiece detachment* 2.40% dan *bending at midpiece border* 1.16 % serta abnormalitas bagian ekor dengan nilai terendah pada perlakuan kontrol, yaitu *bent tail* 8.89%, *knotted tail* 1.89%, *tail detachment* 0.58% dan tidak ditemukannya *curled tail* pada perlakuan control serta pemberian sari buah merah hingga 1.5 mL/kgBB.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Elvis Ahoren yang telah membantu selama proses penelitian, sehingga semuanya dapat berjalan hingga selesai.

DAFTAR PUSTAKA

Afiati F, Yulnawati, Riyadi M dan Arifiantini RI. 2015. Abnormalitas Spermatozoa Domba dengan Frekuensi Penampungan Berbeda. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 1(4):930-934.

- Alkan S, Baran A, Bozdas and Eveceen M. 2002. Morphological Defects in Turkey Semen. *Journal Veteriner Animal Science*. 26:1087-1092.
- Aurich JE, Schonherr U, Hoppe and Aurich C. 1997. Effect of Antioxidants on Motility and Membrane Integrity of Chilled-stored Stallion Semen. *Theriogenology*. 48 (2): 185-192.
- Budi IM dan Paimin FR. 2005. Buah Merah. Jakarta. Penebar Swadaya.
- Gazali M dan Tambing NS. 2002. Kriopreservasi Sel Spermatozoa. *Jurnal Hayati*. 9 (1) : 27-32.
- Holt WV and Pickard AR. 1999. Role of Reproductive Technologies and Genetic Resource Banks in Animal Conservation. *Reviews of Reproduction*. 4:143-150.
- Isnaeni M, Faidiban O, Tethool AN. 2019. Konsentrasi dan Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) dalam Pengencer Ringer Laktat yang Diberi Tambahan Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam). *Jurnal Ilmu Peternakan dan Veteriner Tropis*. 9(2):44-49.
- Iswati, Isnaini N, Susilawati T. 2017. Fertilitas Spermatozoa Ayam Buras dengan Penambahan Antioksidan Glutathione dalam Pengencer Ringer's Selama Simpan Dingin. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 27 (1): 107 – 115.
- Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E and Vivanco JM. 2003. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian Ocimum Accessions. *Journal of Food Chemistry*. 83 : 547-550.
- Khaeruddin, Arismunandar dan Nurda. 2020. Karakteristik Semen Ayam Kampung yang Diberi Minyak Hati Ikan Kod sebagai Feed Supplement. *Musamus Journal of Livestock Science*. 3(1):15-24.
- Nugraheni T, Astirin OP dan Widiyani T. 2003. Pengaruh Vitamin C terhadap Perbaikan Spermatogenesis dan Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.). *Biofarmasi*. 1(1):13-19.
- Palupi IA, dan Martosupono M. 2009. Buah Merah Potensi dan Manfaatnya. *Jurnal Tanaman Obat Indonesia*. 2(1): 42-48.
- Pavlovic V, Cekic S, Rankovic G, and Stoiljkovic N. 2005. Antioxidant and Pro-Oxidant Effect of Ascorbic Acid. *Acta Medica Medianae*. 44 (1): 65-69.
- Ridwan. 2008. Pengaruh Jenis Pengencer Semen Terhadap Motilitas, Abnormalitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Ayam Buras pada Penyimpanan Suhu 5°C. *Jurnal Agroland*. 15(3) : 229 – 235.
- Saacke RG. 2008. Sperm morphology: Its Relevance to Compensable and Uncompens-able Traits in Semen (Review). *Theriogenology*. 70: 473-478.
- Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy M. H, Sharma RK and Meyer A. 2003. Negative Effects of Increased Sperm DNA Damage in Relation to Seminal Oxidative Stress in Men with Idiopathic and Male Factor Infertility. *Fertility and Sterility*. 79(3): 1597-1605.
- Setiadi DR, Hasibuan H, Indriastuti R, Arif AA, Rosyada ZNA, Arifantini RI dan Sumantri C. 2019. Karakteristik Semen Ayam IPB-D1. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 7(2):57-61.
- Tabatabaei S, Batavani R and Ayen E. 2011. Effects of Vitamin C Addition to Chicken Semen on Sperm Quality During in Vitro Storage of Semen. *Veterinary Research Forum*. 2(2):103-111.
- Utami T, dan Tophianong TC. 2014. Pengaruh Suhu Thawing pada Kualitas Spermatozoa Sapi Pejantan Friesian Holstein. *Jurnal Sain Veteriner*. 32(1):32-39.
- Yudi TL, Yusuf, Purwantara B, Agil M, Wresdiyati T, Sajuthi D, Aditya, Manangsang J, Sudarwati R dan Hastuti YT. 2010. Morfologi dan Biometri Spermatozoa Anoa (*Bubalus* Sp.) yang Diwarnai dengan Pewarna William's dan Eosin-Nigrosin. *Media Peternakan*. 33(2): 88-94.