

PENGARUH BREED TERHADAP MOTILITAS SPERMA SAPI LOKAL INDONESIA DAN *Bos taurus* DI BALAI INSEMINASI BUATAN

(Effect breeds on sperm motility of Indonesian local bulls and Bos taurus at Artificial Insemination Center)

M. Hasan¹, A. Rahmi^{2*}, R. Handarini², T. Maulana³, S. Said³, E.M. Kaiin³, A. Baharun²

¹Mahasiswa Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Djuanda,
Jl. Tol Jagorawi No.1, Ciawi, Bogor 16680, Indonesia

²Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Djuanda,
Jl. Tol Jagorawi No.1, Ciawi, Bogor 16680, Indonesia

³Pusat Riset Zoologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi (BRIN), Cibinong,
Jl. Raya Jakarta-Bogor, Cibinong, Bogor 16911, Indonesia

*Correspondent author, email: annisa.rahmi@unida.ac.id

ABSTRAK

Upaya untuk meningkatkan pengembangan ternak lokal dapat dilakukan melalui penerapan teknologi inseminasi buatan (IB) dengan memanfaatkan semen beku. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh breed terhadap motilitas sperma semen beku sapi madura, sapi bali, dan *Bos taurus* di Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari. Penelitian ini menggunakan semen beku bangsa pejantan sapi lokal (sapi madura dan sapi bali) dan sapi *Bos taurus* (sapi simental dan sapi limousin) yang diproduksi oleh BBIB Singosari. Evaluasi motilitas spermatozoa menggunakan computer assisted sperm analysis (CASA, Spermvision, Minitube®, Germany). Analisis data dilakukan secara umum berdasarkan model linear, one-way ANOVA menggunakan software SPSS versi 26. Uji lanjut dilakukan menggunakan Duncan's multiple range test (DMRT) untuk menentukan perbedaan antar parameter. Hasil penelitian menunjukkan parameter total motility (TM) dan progressive motility (PM) sperma semen beku menunjukkan hasil berturut-turut sebesar 63,89±1,72% dan 54,38±4,39% (sapi madura), 51,48±3,30% dan 42,47±5,48% (sapi bali), 58,21±1,13% dan 44,38±3,15% (sapi simental), serta 58,12±1,64% dan 51,49±3,03% (sapi limousin). Parameter PM sperma semen beku bangsa sapi lokal (sapi madura dan sapi bali) maupun sapi *Bos taurus* (sapi simental dan sapi limousin) tidak menunjukkan perbedaan ($P>0.05$) motilitas sperma. Kualitas semen beku (motilitas sperma) pada semua pejantan dalam penelitian ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku sapi dan layak untuk digunakan dalam program IB.

Kata-kata kunci: jenis sapi, *Bos taurus*, sapi lokal, motilitas sperma

ABSTRACT

The attempt to achieved the goal could be through using artificial insemination (AI) by frozen semen. This study aims to evaluate the effect of the breed on sperm motility using Madura, Bali bulls and *Bos taurus* frozen semen. The experiment used local bull frozen semen (Madura and Bali bull breeds) and *Bos taurus* bull (Simmental and Limousin breeds) produced by Singosari's artificial insemination center. Sperm motility evaluation was conducted using computer-assisted sperm analysis (CASA, Spermvision, Minitube®, Germany). The analyzing data uses a generalized linear model, one-way ANOVA using the SPSS 26 software. Duncan's multiple range test (DMRT) was used to determine any significant differences. The result shows for total motility (TM) and progressive motility (PM) are 63.89±1.72% and 54.38±4.39% (Madura bull), 51.48±3.30% and 42.47±5.48% (Bali bull), 58.21±1.13% and 44.38±3.15% (Simmental bull), also 58.12±1.64% and 51.49±3.03% (Limousin bull). There is no differential sperm motility ($P>0.005$) in both parameters for all breeds. All frozen semen used in this study qualifies with Indonesian National Standards and is approved for use in the artificial insemination program.

Keywords: bull breeds, *Bos taurus*, local bulls, sperm motility

PENDAHULUAN

Pengembangan potensi genetik plasma nutfah ternak sapi lokal Indonesia perlu dipertahankan eksistensinya (Baharun *et al.*, 2017) untuk mencapai swasembada daging nasional tahun 2026. Salah satu upaya pengembangan ternak lokal dapat dilakukan melalui penerapan teknologi inseminasi buatan (IB) dengan memanfaatkan semen beku (Ristiani *et al.*, 2020). Penyediaan semen beku yang berkualitas dari pejantan diperlukan untuk meningkatkan produktivitas ternak guna menghasilkan keturunan dengan fertilitas yang tinggi (Kaya dan Memili 2016). Kualitas dan produksi semen dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti genetik, pakan, temperatur, musim, frekuensi ejakulasi, umur (Baharun *et al.*, 2021), bobot badan dan *breed* pejantan (Novianti *et al.*, 2020). Semen dengan kualitas baik dihasilkan mulai dari produksi semen segar di Balai Inseminasi Buatan (BIB) dan diproses menjadi semen beku sesuai dengan standar operasional prosedur (SOP) BIB (Raafi *et al.*, 2021) untuk menjamin kualitasnya tetap dipertahankan selama dalam proses penyimpanan.

Penilaian kualitas semen beku dapat dilakukan melalui pengukuran multiparametrik yang berhubungan dengan kemampuan sperma bertahan hidup dalam proses pembekuan (*freezing capability*) untuk dapat mempertahankan motilitas sperma pasca

pembekuan (Baharun *et al.*, 2017). Motilitas sperma merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan kualitas semen beku. Beberapa penelitian menunjukkan penurunan motilitas sperma semen beku dapat berhubungan dengan teknik pembekuan, jenis dan konsentrasi krioprotektan (Herbowo *et al.*, 2019), jenis bahan pengencer (Baharun *et al.*, 2017), umur pejantan (Baharun *et al.*, 2021), dan pengaruh individu (Indriastuti *et al.*, 2020) termasuk bangsa pejantan (Novianti *et al.*, 2020).

Pemanfaatan dan produksi semen beku di BIB nasional maupun BIB daerah berfokus pada sapi lokal maupun sapi eksotik (sapi *Bos taurus*) (Baharun *et al.*, 2021) yang berhubungan dengan produksi sperma. Komposisi membran plasma antar bangsa ternak berbeda-beda yang dapat mempengaruhi *freezing capability* pada saat di *thawing* (Zamuna *et al.*, 2015). Perbedaan komponen dan karakteristik sperma pada bangsa ternak memungkinkan dapat berefek terhadap kualitas semen beku yang diproduksi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk dapat membandingkan motilitas sperma semen beku pada sapi lokal Indonesia (sapi madura dan sapi bali) dengan sapi *Bos taurus* di BBIB Singosari. Penelitian ini diharapkan sebagai informasi dalam menentukan kualitas semen beku (motilitas sperma) untuk program aplikasi IB di masyarakat.

METODE PENELITIAN

Pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Reproduksi, Pusat Riset Zoologi Terapan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) selama dua bulan (Agustus-September 2022). Penampungan semen dan produksi semen beku di BBIB Singosari dilakukan berdasarkan Standar Operasional Prosedur (SOP), yaitu SNI ISO 9001:2015 No. G.01-ID0139-VIII-2019 dan dalam pengawasan dokter hewan. Setiap tahap dalam penelitian ini mempertimbangkan aspek kesejahteraan hewan. Penelitian ini menggunakan sampel semen beku yang diperoleh dari serangkaian proses, termasuk proses penampungan semen dari pejantan menggunakan vagina buatan, yang tidak mempengaruhi proses fisiologis normal.

Masing-masing dua buah straw (batch produksi yang berbeda) semen beku dari 4 ekor pejantan (sapi madura, sapi bali, sapi simental,

dan sapi limousin) dengan kode produksi yang tersedia dari BBIB Singosari. Pencairan kembali (*thawing*) semen beku dilakukan dalam water bath (37°C, 30 detik).

Penilaian motilitas sperma dilakukan menggunakan computer assisted sperm analysis (CASA, Tiefenbach, Minitub®, Germany), yang dihubungkan dengan Carl Zeiss Microimaging GmbH (Göttingen, Germany) dilengkapi dengan penghangat dengan suhu 38 °C. Aliquots (6 µL) sampel semen diteteskan pada object glass dan ditutup menggunakan cover glass. Pengamatan kinematika sperma dilakukan pada 7500-1000 sel sperma dari total lima lapang pandang menggunakan software Sperm Vision® dengan pengaturan khusus untuk sperma sapi. Parameter yang dievaluasi khusus total motility (TM) dan progressive motility (PM).

Analisis data dilakukan secara umum berdasarkan model linear, one-way ANOVA menggunakan software SPSS versi 26. Uji lanjut

dilakukan menggunakan Duncan's multiple range test (DMRT) untuk menentukan perbedaan antar parameter.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan ($P > 0.05$) motilitas sperma semen beku pada bangsa sapi lokal dan sapi *Bos taurus*. Parameter TM dan PM sperma semen beku menunjukkan hasil berturut-turut sebesar $63,89 \pm 1,72\%$ dan $54,38 \pm 4,39\%$ (sapi madura), $51,48 \pm 3,30\%$ dan $42,47 \pm 5,48\%$ (sapi bali), $58,21 \pm 1,13\%$ dan $44,38 \pm 3,15\%$ (sapi simental), serta $58,12 \pm 1,64\%$ dan $51,49 \pm 3,03\%$ (sapi limousin) (Tabel 1). Hasil penelitian ini masih sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) semen beku sapi (SNI nomor: 4869.1:2017) (BSN, 2021) dan Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia (nomor: 10/Permentan/PK.210/3/2016) semen beku sapi, serta sama dengan nilai persentase motilitas spermatozoa pada sapi lokal (Raafi *et al.*, 2021) dan sapi *Bos taurus* (sapi simental) (Baharun *et al.*, 2022).

Motilitas sperma merupakan aspek penting dalam menentukan proses fertilisasi dan berpengaruh pada perkembangan embrio (Rodriguez-Villamil *et al.*, 2016). Pergerakan motilitas sperma (kinematika) berhubungan dengan ketersediaan energi melalui *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) dan *protein kinase A signaling pathway* yang diatur melalui mekanisme *cyclic adenosine monophosphate/protein kinase-A* (cAMP/PKA) (Qu *et al.*, 2007).

Penilaian motilitas sperma merupakan metode penilaian yang paling umum digunakan untuk menilai kualitas semen oleh produsen dan berhubungan dengan fertilitas (O'Meara *et al.*, 2022). Adanya keterbatasan penilaian motilitas sperma yang dilakukan oleh produsen masih menggunakan penilaian secara subyektif, sehingga berpengaruh pada variasi hasil fertilitas di lapangan. Penggunaan sistem komputer (CASA) untuk menilai motilitas sperma dilakukan guna memastikan kualitas semen khususnya semen beku untuk dapat menentukan pola gerakan spermatozoa yang memungkinkan berhubungan dengan proses fertilisasi maupun fertilitas pejantan di lapangan (O'Meara *et al.*, 2022).

Pola pergerakan sperma merupakan ukuran yang menunjukkan seberapa cepat

sperma bergerak, yang dinyatakan dalam satuan $\mu\text{m}/\text{detik}$. Kecepatan pergerakan sperma dari *breed* sapi lokal dan sapi *Bos taurus* dihitung dan dianalisis menggunakan CASA (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan pola gerak sperma pada semua pejantan (sapi madura, sapi bali, sapi simental, dan sapi limousin) tidak menunjukkan perbedaan ($P > 0,05$). Penilaian pola gerak sperma semen beku menggunakan CASA pada penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan yang dilaporkan oleh Diansyah *et al.* (2022) pada sapi bali. Tekin *et al.* (2022) melaporkan bahwa pola gerak sperma seperti parameter *Linearity* (LIN), *Wobble* (WOB), *Amplitude of lateral head displacement* (ALH), dan *Beat/cross frequency* (BCF) merupakan parameter yang sama pentingnya dengan motilitas dan perlu dipertimbangkan untuk menilai fertilitas pejantan berdasarkan gerakan kinetiknya. Aspek kinetika sperma berkaitan dengan fertilitas untuk menentukan waktu dan keberhasilan fertilisasi dalam saluran reproduksi betina (Tekin *et al.*, 2022). Evaluasi kualitas semen beku menggunakan CASA dapat memprediksi kemampuan fertilitas sperma (O'Meara *et al.*, 2022). Fertilitas merupakan kemampuan sperma untuk dapat membuahi sel telur sampai dengan mempertahankan perkembangan embrio (Rodriguez-Villamil *et al.*, 2016).

Motilitas sperma merupakan salah satu karakteristik penting dari kualitas semen yang dapat mempengaruhi fertilitas pejantan. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada pengaruh ($P > 0.05$) *breed* terhadap motilitas sperma semen beku pada semua pejantan yang digunakan baik sapi lokal (sapi madura dan sapi bali) dan sapi *Bos taurus* (sapi simental dan sapi limousin) (Tabel 2). Beberapa laporan menunjukkan bahwa rata-rata motilitas sperma semen beku sapi lokal Indonesia seperti sapi madura (45,57%) (Rosyada *et al.*, 2021) dan sapi bali (44,79%) (Asni *et al.*, 2022), maupun sapi lokal lainnya seperti sapi pasundan (49,14%) (Baharun *et al.*, 2017) sama dengan penelitian ini.

Tabel 1. Motilitas sperma sapi lokal Indonesia dan sapi *Bos taurus* menggunakan CASA

Parameter	Breed Sapi			
	Madura	Bali	Simental	Limousin
Total Motile (%)	63,89±1,72 ^a	51,48±3,30 ^a	58,21±1,13 ^a	58,12±1,64 ^a
Progressive (%)	54,38±4,39 ^a	42,47±5,48 ^a	44,38±3,15 ^a	51,49±3,03 ^a
DAP (µm)	33,52±2,63 ^a	27,64±4,64 ^a	30,87±2,80 ^a	35,11±2,75 ^a
DCL (µm)	52,2±4,56 ^a	40,54±7,88 ^a	44,74±3,67 ^a	55,72±10,05 ^a
DSL (µm)	23,87±2,98 ^a	19,33±4,23 ^a	22,01±2,44 ^a	22,40±1,96 ^a
VAP (µm/s)	75,30±5,93 ^a	65,17±8,58 ^a	72,37±6,04 ^a	82,04±6,02 ^a
VCL (µm/s)	116,95±10,16 ^a	95,07±15,21 ^a	104,55±8,06 ^a	129,45±10,05 ^a
VSL (µm/s)	53,72±6,67 ^a	45,61±8,12 ^a	51,79±5,24 ^a	52,57±3,97 ^a
STR (VSL/VAP)	0,71±0,06 ^a	0,69±0,03 ^a	0,71±0,01 ^a	0,63±0,03 ^a
LIN (%)	0,45±0,06 ^a	0,47±0,02 ^a	0,49±0,02 ^a	0,40±0,02 ^a
WOB (%)	0,64±0,04 ^a	0,68±0,02 ^a	0,68±0,02 ^a	0,62±0,01 ^a
ALH (µm)	5,07±0,67 ^a	4,64±0,48 ^a	5,56±0,46 ^a	6,22±0,22 ^a
BCF (Hz)	28,14±2,47 ^a	24,40±4,48 ^a	26,07±2,00 ^a	26,28±1,72 ^a

DAP: Average path distance; DCL: Curved line distance; VAP: Average-path velocity; VCL: Curvilinear velocity; VSL: Straight-line velocity; STR: Straightness; LIN: Linearity; WOB: Wobble; ALH: Amplitude of lateral head displacement; BCF: Beat/cross frequency; huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata (P>0,05).

Rentang PM dalam penelitian ini menunjukkan bahwa semua pejantan memiliki kemampuan yang baik untuk bertahan dalam proses pembekuan (*freezing capability*) (Tabel 2). Hal ini memungkinkan dipengaruhi oleh kemampuan membran sperma untuk dapat melindungi seluruh komponen sel dan merespon tekanan osmotik ekstraselular selama kriopreservasi (Mughal *et al.*, 2017). Membran plasma sperma berperan penting dalam pengaturan ion kalsium, kalium, dan natrium yang diperlukan untuk aktivitas mitokondria dan

pergerakan (motilitas) sperma (Khalil *et al.*, 2018). Perbedaan morfologi mitokondria sperma juga dapat memengaruhi perubahan struktur mitokondria selama kriopreservasi, yang dapat menyebabkan penurunan fungsi mitokondria dalam menghasilkan ATP untuk pergerakan sperma (Islam *et al.*, 2021). Hasil penelitian ini dapat menjelaskan bahwa penggunaan semen beku sapi lokal (sapi madura dan sapi bali) maupun sapi *Bos taurus* (simental dan limousin) untuk program IB memiliki kualitas semen (motilitas sperma) yang sama baiknya.

Tabel 2. Pengaruh bangsa sapi terhadap motilitas sperma semen beku

Breed	Rata-rata±SD (%)	P-value
Madura	54,38±4,39 ^a	0,106
Bali	42,47±5,48 ^a	0,230
Simental	44,38±3,15 ^a	0,112
Limousin	51,49±3,03 ^a	0,097

Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata (P>0,05)

SIMPULAN

Motilitas sperma semen beku sapi lokal Indonesia (sapi madura dan sapi bali) dan sapi *Bos taurus* (sapi simental dan sapi limousin) di

BBIB Singosari memiliki kualitas yang sama baiknya, sehingga layak untuk digunakan dalam program IB.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait faktor intrinsik dan ekstrinsik sperma yang dapat mempengaruhi motilitas sperma sapi lokal (sapi

madura dan sapi bali) serta sapi *Bos taurus* (sapi simental dan sapi limousin) yang berhubungan dengan fertilitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Djuanda dengan nomor kontrak 1052/01/K-X/IX/2022. Apresiasi dan ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Tim

Peneliti dari Pusat Riset Zoologi Terapan, Kelompok Riset Repronmik Hewan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong yang telah mendukung dan mengizinkan kegiatan ini dilakukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Asni NK, Bebas IW, Trilaksana IGNB. 2022. Kualitas semen beku selama penyimpanan di Satuan Pelayanan Inseminasi Buatan Mengwi, Kabupaten Badung. *Buletin Veteriner Udayana* 14(4):356-362. doi: 10.24843/bulvet.2022.v14.i04.p07
- Baharun A, Arifiantini RI, Yusuf TL. 2017. Freezing capability of Pasundan bull sperm using tris-egg yolk, tris-soy, and andromed® diluents. *Jurnal Kedokteran Hewan* 11(1):45-49. doi: 10.21157/j.ked.hewan.v11i1.5810
- Baharun A, Said S, Arifiantini RI, Karja NWK. 2021. Correlation between age, testosterone and adiponectin concentration, and sperm abnormalities in Simmental bulls. *Veterinary World* 14(8):2124-2130. doi: 10.14202/vetworld.2021.2124-2130
- Baharun A, Said S, Arifiantini RI, Karja NWK. 2022. Karakteristik Semen dan Korelasi antara Konsentrasi Testosteron dengan Libido Pejantan Sapi Simental. *Acta Veterinaria Indonesiana* 10(1):1-7. doi: <https://doi.org/10.29244/avi.10.1.1-7>
- BSN (Badan Standarisasi Nasional). 2017. Semen Beku- Bagian 1: Sapi. Jakarta, Badan Standarisasi Nasional.
- Herbowo MT, Arifiantini RI, Karja NWK, Sianturi RG. 2019. Cryopreservation of Swamp Buffalo semen in skim milk yolk-based diluent with two different. *Tropical Animal Science Journal* 42(1):1-13. doi: <https://doi.org/10.5398/tasj.2019.42.1.13>
- Indriastuti R, Ulum MF, Arifiantini RI, Purwantara B. 2020. Individual variation in fresh and frozen semen of Bali bulls (*Bos Sondaicus*). *Veterinary World* 13(5):840-846. doi: 10.14202/vetworld.2020.840-846
- Islam MM, Umehara T, Tsujita N, Shimada. 2021. Saturated fatty acids accelerate linear motility through mitochondrial ATP production in bull sperm. *Reproductive Medicine and Biology* 20(3):289-298. doi: 10.1002/rmb2.12381
- Kaya A, Memili E. 2016. Sperm macromolecules associated with bull fertility. *Animal Reproduction Science* 169:88-94. doi: 10.1016/j.anireprosci.2016.02.015
- Khalil WA, El-harairy MA, Zeidan AB, Hassan MAE. 2018. Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation: Structural and ultrastructural insights. *International journal of veterinary science and medicine* 6(Supp 1): S49-S56. doi: 10.1016/j.ijvsm.2017.11.001
- Mughal DH, Ijaz A, Yousaf MS, Wadood F, Farooq, Mahmood SA, Riaz A. 2017. Effect of osmotic pressure on spermatozoa characteristics of cryopreserved buffalo bul (*Bubalus bubalis*) semen. *Journal of Applied Animal Research* 46(1):274-277. doi: <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1295971>
- Novianti I, Purwantara B, Herwijanti E, Nugraha CD, Putri RF, Furqon A, Septian WA, Rahayu S, Nurgiantiningsih VMA, Suyadi S. 2020. Effect of breed on semen characteristics of aged bulls in the Indonesian National Artificial Insemination Center. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan* 30(2):173-179. doi: 10.21776/ub.jiip.2020.030.02.10
- O'Meara C, Henrotte E, Kupisiewicz K, Latour C, Broekhuijse M, Camus A, Gavin-Plagne L, Sellem E. 2022. The effect of adjusting settings within a Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) system on bovine sperm motility and morphology results. *Animal Reproduction* 19(1):1-13. doi: <https://doi.org/10.1590/1984-3143-AR2021-0077>
- Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia (Permentan). 2016. Penyediaan dan peredaran semen beku ternak ruminansia

- nomor: 10/Permentan/PK.210/3/2016.
Jakarta: Kementan.
- Raafi M, Yusuf M, Toleng AL, Diansyah AM, Surahman, Sahiruddin. 2021. Movement patterns of sperms at different bull breeds using computer-assisted sperm analysis (CASA). The 3rd International Conference of Animal Science and Technology. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 788(2021)012137. doi:10.1088/1755-1315/788/1/012137
- Rodriguez-Villamil P, Hoyos-Marulanda V, Martins JA, Oliveira AN, Aguiar LH, Moreno FB, Velho AL, Monteiro-Moreira AC, Moreira RA, Vasconcelos IM, Bertolini M, Moura AA. 2016. Purification of binder of sperm protein 1 (BSP1) and its effects on bovine in vitro embryo development after fertilization with ejaculated and epididymal sperm. *Theriogenology* 85(3):540-54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.09.044>
- Rosyada ZNA, Tumbelaka LI, Ulum MF, Solihin DD, Kaiin EM, Gunawan M, Harsi T, Suharto K, Purwantara B. 2021. Meta data analysis of conception rate in relation to sperm motility in Madura superior bulls. The 1st Internasional Conference on Livestock in Tropical Environment (ICLiTE-1). IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 902(2021):012048. doi: 10.1088/1755-1315/902/1/012048
- Tekin K, Inanc ME, Daskin A. 2022. Relationship between CASA motility and kinetic parameters on bull fertility. *Cryobiology* 71(3):568. doi: 10.1016/j.cryobiol.2022.10.132
- Zamuna AAKKM, Susilawati T, Ciptadi G, Marjuki. 2015. Perbedaan kualitas semen dan produksi semen beku pada berbagai bagsa sapi potong. *Jurnal Ternak Tropika* 16(2):1-6. doi: 10.21776/ub.jtapro.2015.016.02.1.