

KUALITAS SPERMATOZOA CAUDA EPIDIDIMIS SAPI BALI PADA KELOMPOK UMUR YANG BERBEDA

Quality of Cauda Epididymis Spermatozoa in Bali Cattle Based on Different Age

Irto Soni Rombe, Purwaningsih, dan *Angelina Novita Tethool

*Fakultas Peternakan, Universitas Papua
Jl. Gunung Salju-Amban, Manokwari, Papua Barat, 98314.
Corresponding author: angelinanovitatethool@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to obtain information on the quality of spermatozoa which produced from the cauda epididymis of Bali cattle at different ages. The cauda epididymis samples used came from 31 slaughterhouses. Information and identification of the age of the cattle was based on the structure of the incisors. Observations were made on the variables of motility, concentration, viability and abnormalities of spermatozoa. Each variable was observed in duplicate from each cauda. The data was performed using a t-test to obtain differences in each group. The results showed that the motility was 64,1% in 2 years and 71,2% in 3 years. Spermatozoa concentration were increase from $310,1 \times 10^7$ /ml until $401,1 \times 10^7$ /ml in 3 years. Viability values were 93,8%-95,9% and total abnormality was 16,2%-20,6% in 3 years. The results showed that there was a significantly difference ($P < 0,05$) for the concentration, viability and head abnormality of the spermatozoa. Based on the study, it can be concluded that the quality of spermatozoa cauda epididymis is affected by the age of the Bali cattle. The highest motility, concentration, viability and abnormality values was found in 3 years old Bali cattle, respectively 71,2%, $401,1 \times 10^7$ /ml, 95,9% and 20,6%. Concentration, viability and head abnormality values were increased with increasing age of Bali cattle.

Keywords: Abnormality; concentration; motility; viability

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan informasi kualitas spermatozoa yang dihasilkan dari *cauda epididymis sapi Bali* pada umur yang berbeda. Sampel *cauda epididymis* berasal dari rumah potong hewan sebanyak 31 buah. Informasi dan identifikasi umur sapi dilakukan berdasarkan struktur gigi seri. Pengamatan dilakukan terhadap variabel motilitas, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Setiap variabel diamati secara *duplo* dari masing-masing *cauda*. Analisis data dilakukan menggunakan t-test untuk mendapatkan perbedaan setiap variabel pada setiap kelompok umur. Motilitas spermatozoa adalah 64,1% (2 tahun) hingga 71,2% (3 tahun). Nilai konsentrasi spermatozoa adalah $310,1 \times 10^7$ /ml hingga $401,1 \times 10^7$ /ml pada sapi umur 3 tahun. Nilai viabilitas adalah 93,8% hingga 95,9% (umur 3 tahun) dan total abnormalitas adalah 16,2 hingga 20,6% pada sapi umur 3 tahun. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ($P < 0,05$) untuk nilai konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas kepala spermatozoa *cauda epididymis*. Kualitas spermatozoa *cauda epididymis* dipengaruhi oleh umur. Sapi Bali umur 3 tahun memiliki nilai motilitas, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas tertinggi dengan nilai masing-masing adalah 71,2%, $401,1 \times 10^7$ /ml, 95,9% dan 20,6%. Variabel konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas kepala mengalami peningkatan dengan bertambahnya umur sapi Bali.

Kata Kunci: *Abnormalitas; konsentrasi; motilitas; viabilitas*

APA Citation Style:

Rombe I S, Purwaningsih, Tethool A N. 2023. Kualitas Spermatozoa Cauda Epididymis Sapi Bali Pada kelompok Umur Yang Berbeda. *Jambura Journal of Animal Science*. 5 (2) 23-31

@2023-Rombe I S, Purwaningsih, Tethool A N -Underlisece CCBY NY YY 4.0

PENDAHULUAN

Materi genetik dari seekor ternak yang digunakan untuk kepentingan ekonomi atau dari hewan yang terancam punah dapat hilang kapan saja karena kematian yang tidak terduga ataupun karena kegagalan reproduksi. Kedua kasus ini mengakibatkan dua kerugian yang dialami oleh ternak maupun hewan yang terancam punah, yaitu kerugian materi genetik dan kerugian ekonomi. Upaya untuk menghindari kerugian tersebut dapat dicapai melalui penggunaan bioteknologi reproduksi. Berbagai teknik reproduksi berbantuan saat ini telah banyak tersedia dan merupakan alat penting untuk memungkinkan penyimpanan dan penggunaan bahan ini dimasa mendatang (Cunha *et al.*, 2019). Pemulihan dan kriopreservasi spermatozoa yang berasal dari epididimis merupakan salah satu alternatif tersebut, karena proses ini memungkinkan pengawetan gamet jantan dan pemeliharaan bank plasma nutfah (Bertol, 2016).

Spermatozoa yang berasal dari epididimis dapat digunakan untuk inseminasi buatan (IB) atau produksi embrio in vitro (IVP), baik dengan injeksi intracytoplasmic (ICSI) atau dengan fertilisasi in vitro (IVF) (Chaveiro *et al.*, 2015). Setelah meninggalkan testis, spermatozoa disimpan di ekor epididimis dan pada saat ejakulasi bersentuhan dengan cairan yang dikeluarkan oleh kelenjar aksesori, sehingga hasil ejakulasi disebut sebagai semen. Sekresi ini mengandung beberapa komponen seperti ion, lipid, substrat energetik, senyawa organik, dan protein yang sangat penting untuk kelangsungan hidup dan pengangkutan spermatozoa di saluran reproduksi betina (Juyena & Stelletta, 2012). Protein yang disekresikan dalam plasma semen merupakan faktor penting yang dibutuhkan untuk mempertahankan stabilitas membran, pengikatan heparin, pembentukan reservoir, kapasitas spermatozoa, dan interaksi spermatozoa-oosit (Juyena & Stelletta, 2012). Spermatozoa epididimis memiliki

perbedaan dengan spermatozoa hasil ejakulasi, terutama karena spermatozoa epididimis belum terpapar dengan cairan yang berasal dari kelenjar aksesori. Hal lain yang menjadi keunggulan spermatozoa epididimis adalah tidak memiliki kontak dengan zat yang diketahui penting untuk proses pembuahan. Kurangnya kontak dengan plasma semen ini dapat mempengaruhi berbagai aspek fisiologi spermatozoa seperti memperpanjang umur spermatozoa, memiliki jalur kapasitas yang baik, dan potensi pembuahan (Cunha *et al.*, 2019).

Upaya pemanfaatan spermatozoa yang berasal dari *cauda* epididimis saat ini telah dilakukan pada beberapa penelitian sebelumnya karena spermatozoanya memiliki potensi yang sangat baik untuk dipertahankan, seperti sapi Simmental memiliki viabilitas 78,83±6,83%, motilitas 72,25±9,11%, abnormalitas 11,00±1,26% (Satria *et al.*, 2018), kerbau Rawa memiliki viabilitas ≥50%, motilitas ≥30% (Riyadhi *et al.*, 2018) dan kambing Peranakan Ettawa (PE) memiliki motilitas 51,00±6,52%, viabilitas 72,00±0,84% (Rizal *et al.*, 2016). Hasil yang diperoleh ini memberikan gambaran bahwa spermatozoa dari *cauda* epididimis masih memiliki kemampuan yang baik. Menurut Wang *et al.*, (2020) spermatozoa yang berasal dari epididimis, terutama bagian *caput* dan *cauda* mampu melakukan fertilisasi dengan sangat baik.

Sapi Bali merupakan salah satu sapi potong yang memiliki karakteristik adaptasi yang sangat tinggi, kemampuan produksi yang baik, mampu memanfaatkan pakan berkualitas rendah dan memiliki angka fertilitas yang cukup tinggi (Tethool *et al.*, 2021). Pelaksanaan pemotongan sapi Bali umumnya dilakukan di rumah potong hewan (RPH) dengan memperhatikan prosedur pemotongan. Umumnya sapi-sapi jantan yang dipotong pada rumah potong hewan memiliki perbedaan umur, karena berasal dari peternak yang berbeda. Jika dihubungkan dengan kualitas spermatozoa, maka perbedaan umur sapi Bali mempengaruhi kualitas spermatozoa yang dihasilkan.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menggambarkan perbedaan umur dapat berpengaruh pada kualitas spermatozoa, seperti pada sapi pejantan umur 3-4 tahun memiliki kualitas yang lebih baik daripada yang lebih tua (Brillianti *et al.*, 2021), kualitas spermatozoa sapi Bali umur

METODE PENELITIAN

Sampel *cauda* epididimis sapi Bali yang digunakan berasal dari Rumah Potong Hewan Kabupaten Manokwari, Papua Barat. Jumlah sampel *cauda* yang digunakan sebanyak 31 buah dan dikoleksi pada bulan April - Mei 2019. Informasi umur sapi didapatkan berdasarkan struktur gigi, sesuai petunjuk Masyita *et al.*, (2014). Pengambilan *cauda* epididimis dilakukan setiap hari pemotongan pukul 03:00 WIT. *Cauda* epididimis dimasukan ke dalam wadah termos untuk selanjutnya dievaluasi di laboratorium. Penampungan spermatozoa mengikuti cara Bertol, (2016): mencuci bersih testis dan *cauda* menggunakan larutan NaCl fisiologis, bagian *cauda* disayat menggunakan *scapel* (*slicing*), kemudian ditekan-tekan sampai terlihat cairan kental berwarna putih (spermatozoa) yang keluar dari bagian tersebut. Cairan spermatozoa disedot menggunakan spuit berukuran 1 cc, kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube 1.5 ml.

Pengamatan dilakukan terhadap motilitas, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa, setiap variabel diamati secara *duplo* dari masing-masing *cauda*.

Dimana:

K = Konsentrasi Sperma

Y = jumlah spermatozoa pada 5 kotak

Viabilitas Spermatozoa

Pengamatan viabilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan pewarnaan eosin-nigrosin (Budiyanto *et al.*, 2021). Sampel spermatozoa dan pewarna eosin-nigrosin (1:3) dicampur pada *object glass*, kemudian dibuat preparat ulas tipis pada *object glass* yang lain. Preparat dikeringkan menggunakan *hair dryer* (Yudi *et al.*, 2009). Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x.

produktif (<10 tahun) lebih bagus daripada yang berumur 10-14 tahun (Nabilla *et al.*, 2018). Tujuan untuk mendapatkan informasi mengenai kualitas spermatozoa yang dihasilkan dari *cauda* epididimis sapi Bali pada umur yang berbeda.

Motilitas Spermatozoa

Penilaian motilitas spermatozoa dilakukan, secara subjektif pada lima lapang pandang menggunakan mikroskop Olympus dengan perbesaran 400x. Spermatozoa yang memiliki nilai motilitas baik ditandai dengan gerakan maju secara progresif ke depan dengan kategori nilai 75-90% (Goshme *et al.*, 2021).

Konsentrasi Spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan *neubauer chamber* dan *haemocytometer*. Prosedur pengamatan konsentrasi dilakukan dengan cara semen diambil dengan pipet hingga tanda 0,5, kemudian larutan NaCl fisiologis diambil dengan cepat hingga mencapai tanda 101. Pipet digerakan membentuk angka delapan hingga larutan homogen, kemudian tetesan pertama dibuang, dan kocok lagi agar campuran semakin merata. Teteskan satu tetes campuran tersebut pada *neubauer chamber* yang telah ditutup dengan objek glass. Jumlah sel spermatozoa dihitung pada kamar hitung menurut arah diagonal, dengan menghitung sel spermatozoa yang terdapat pada 5 kotak besar. Penghitungan konsentrasi spermatozoa sesuai petunjuk Prestiya *et al.*, (2020)

$$K = Y \times 5 \times 10^6$$

Spermatozoa yang hidup ditandai dengan bagian kepala berwarna terang (tidak menyerap warna), sedangkan yang mati bagian kepala berwarna merah-ungu (menyerap warna) (Budiyanto *et al.*, 2021). Nilai viabilitas dihitung pada 200 sel spermatozoa dan hitung persentase sel spermatozoa yang hidup dan mati sesuai petunjuk Muhammad *et al.*, (2016).

Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa dapat dilihat dengan pewarnaan eosin-nigrosin (Budiyanto et al., 2021). Sampel spermatozoa dan pewarna eosin-nigrosin, dicampur pada *object glass* dan dibuat preparat ulas tipis pada *object glass* yang lain. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x. Perhitungan untuk menentukan persentase sel spermatozoa normal dan abnormal dilakukan dengan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas, Konsentrasi dan Viabilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa adalah salah satu parameter yang sering digunakan untuk mengevaluasi kesuburan spermatozoa yang dimiliki pejantan (Tethool & Purwaningsih, 2019; Santoso et al., 2021). Motilitas spermatozoa merupakan salah satu faktor yang dapat digunakan dalam menentukan kualitas spermatozoa karena menunjukkan banyaknya persentase spermatozoa yang hidup dan menjadi salah satu ukuran kesuburan seekor ternak yang akan dipakai sebagai bibit. Ciri utama spermatozoa adalah motilitas atau daya geraknya yang dijadikan sebagai patokan atau cara paling sederhana dalam penilaian semen untuk IB.

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh motilitas spermatozoa *cauda*

menghitung 200 sel spermatozoa dalam 10 lapang pandang yang berbeda. Persentase spermatozoa abnormalitas didapat adalah jumlah spermatozoa abnormal dibagi dengan jumlah total spermatozoa dikalikan dengan 100 (Goshme et al., 2021). Data setiap variabel dianalisis menggunakan t-test ($P < 0,05$) untuk mendapatkan perbedaan setiap variabel pada masing-masing kelompok umur (Komariah et al., 2020).

epididimis mengalami peningkatan dari umur 2 tahun sebesar $64,1 \pm 15,3\%$ menjadi $71,2 \pm 6,2\%$ pada umur 3 tahun, namun tidak berbeda ($P > 0,05$) (Tabel 1). Spermatozoa *cauda* epididimis yang diperoleh ini masih berada pada kisaran yang bagus, karena hasil penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa motilitas spermatozoa *cauda* memiliki kemampuan motilitas yang cukup tinggi, yaitu, 70% (Parera et al., 2009), 75,50% (Solihati et al., 2008) dan 78,1% (Chaveiro et al., 2015). Hasil yang diperoleh tidak menunjukkan perbedaan karena proses pematangan dan sumber energi yang dibutuhkan oleh spermatozoa untuk bergerak pada setiap kelompok umur terpenuhi dengan baik. Menurut Ding et al., (2015) bahwa faktor-faktor yang turut mempengaruhi motilitas spermatozoa adalah umur, pematangan dan penyimpanan energi Adenosin Triphosfat (ATP).

Tabel 1. Motilitas, konsentrasi dan viabilitas spermatozoa *cauda* epididimis sapi Bali pada kelompok umur yang berbeda.

Umur (Tahun)	Motilitas (%)	Konsentrasi ($\times 10^7$ /ml)	Viabilitas (%)
2	$64,1 \pm 15,3^a$	$310,1 \pm 60,7^a$	$93,8 \pm 1,9^a$
2,5	$64,5 \pm 10,1^a$	$349,7 \pm 82,2^a$	$93,9 \pm 2,1^a$
3	$71,2 \pm 6,2^a$	$401,1 \pm 93,7^b$	$95,9 \pm 1,1^b$

Keterangan: superskrip yang berbeda pada baris berbeda menjelaskan tentang perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Konsentrasi spermatozoa merupakan banyaknya spermatozoa yang mampu dihasilkan oleh seekor pejantan. Meningkatnya jumlah spermatozoa memberikan peluang untuk terjadinya angka konsepsi yang tinggi (Morrell et al., 2018). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh perbedaan ($P < 0,05$) konsentrasi spermatozoa pada kelompok sapi Bali umur 3 tahun, sehingga memberikan

gambaran bahwa peningkatan umur menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi spermatozoa *cauda* epididimis. Konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan sebanyak $310,1 \pm 60,7 \times 10^7$ /ml pada sapi umur 2 tahun dan meningkat menjadi $401,1 \pm 93,7 \times 10^7$ /ml umur 3 tahun (Tabel 1). Hasil yang diperoleh ini lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yang menjelaskan bahwa konsentrasi spermatozoa *cauda*

epididimis adalah $11.222,50 \pm 455,21 \times 10^6$ /ml (Rizal, 2009). Penambahan umur dapat menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah spermatozoa yang dihasilkan karena proses spermatogenesis spermatozoa berlangsung dengan baik (Murphy *et al.*, 2018).

Spermatozoa yang berkualitas baik adalah spermatozoa yang memiliki persentase spermatozoa hidup tinggi dengan gerakan progresif. Spermatozoa hidup ditandai dengan tidak terwarnainya spermatozoa dengan eosin-nigrosin karena spermatozoa hidup tidak menyerap pewarnaan yang diberikan. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa terjadi peningkatan rata-rata viabilitas spermatozoa, yaitu $93,8 \pm 1,9\%$ pada umur 2 tahun menjadi $95,9 \pm 1,1\%$ pada umur 3 tahun (Tabel 1). Viabilitas yang diperoleh lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya, yaitu sebesar 82% (Parera *et al.*, 2009) dan sebesar $60,16\%$ hingga $78,83\%$ (Satria *et al.*, 2018). Hasil analisis menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa yang diperoleh pada kelompok sapi umur 2 tahun dan 2,5 tahun tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan umur 3 tahun, namun berbeda dengan kelompok sapi umur 3 tahun ($P < 0,05$). Kondisi ini dapat disebabkan karena meningkatnya umur sapi, maka konsentrasi spermatozoa yang dihasilkan juga meningkat, sehinggajumlah spermatozoa yang hidup juga mengalami peningkatan. Hal lain

Tabel 2. Abnormalitas spermatozoa *cauda* epididimis sapi Bali pada kelompok umur yang berbeda.

Umur (Tahun)	Abnormalitas (%)	Kepala (%)	Ekor (%)
2	$16,2 \pm 4,1^a$	$0,67 \pm 0,67^a$	$15,60 \pm 4,03^a$
2,5	$19,2 \pm 7,9^a$	$0,95 \pm 1,03^a$	$18,27 \pm 7,23^a$
3	$20,6 \pm 8,8^a$	$8,12 \pm 0,55^b$	$19,87 \pm 8,61^a$

Keterangan: superskrip yang berbeda pada baris berbeda menjelaskan tentang perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan hasil penelitian bahwa perbedaan umur tidak berbeda ($P > 0,05$) terhadap total persentase abnormalitas dan abnormalitas ekor spermatozoa, namun berbeda ($P < 0,05$) terhadap abnormalitas kepala spermatozoa. Secara rata-rata abnormalitas spermatozoa mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya umur, yaitu $16,2 \pm 4,1\%$ hingga $20,6 \pm 8,8\%$ (Tabel 2). Peningkatan ini terjadi karena

yang dapat menjelaskan kemampuan hidup spermatozoa adalah karena permeabilitas membran spermatozoa mampu dipertahankan dengan baik, sehingga transportasi zat-zat nutrisi yang diperlukan oleh spermatozoa untuk pergerakan maupun daya tahan hidupnya dapat berlangsung tanpa adanya hambatan. Permeabilitas membran sel berhubungan erat dengan peranannya dalam metabolisme sel yang akan menghasilkan energi (Alahmar, 2019).

Abnormalitas Spermatozoa

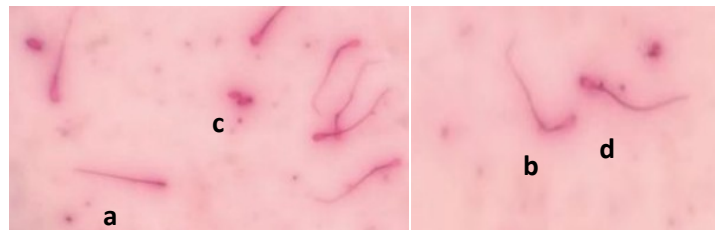
Abnormalitas merupakan banyaknya spermatozoa yang ditemukan dalam kondisi tidak normal. Kondisi tidak normal spermatozoa dapat diklasifikasikan menjadi primer dan sekunder. Nilai abnormalitas spermatozoa *cauda* epididimis sapi Bali yang diperoleh adalah $16,2\% \pm 4,1\%$ - $20,6\% \pm 8,8\%$. Hasil yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan pengamatan Labetubun & Siwa, (2012) dan Rizal, (2009) yaitu $10,5\%$ dan $10,50 \pm 1,12\%$. Berdasarkan hasil penelitian ini ditemukan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa pada sapi Bali umur 2-2,5 tahun masih berada pada kisaran yang baik untuk digunakan dalam aplikasi teknologi reproduksi, karena menurut Puerta *et al.*, (2018), abnormalitas spermatozoa yang masih bagus untuk digunakan tidak boleh melebihi 20% , sedangkan pada umur 3 tahun abnormalitas spermatozoa yang diperoleh mencapai $20,6\%$.

adanya degenerasi sel pada saluran reproduksi jantan yang disebabkan karena bertambahnya umur. Menurut Frungieri *et al.*, (2018) bahwa bertambahnya umur mengakibatkan perubahan sel atau degenerasi sel pada saluran reproduksi. Penelitian lain mengenai abnormalitas menunjukkan bahwa terjadi peningkatan abnormalitas spermatozoa pada pejectionan berumur tua yang disebabkan oleh

berkurangnya kemampuan proses spermatogenesis dan fungsi epididimis (Abdelhamid *et al.*, 2019).

Abnormalitas yang diperoleh terdiri dari abnormalitas kepala sebanyak $0,67 \pm 0,67$ - $8,12 \pm 0,55\%$ dan abnormalitas ekor $15,60 \pm 4,03$ - $19,87 \pm 8,61\%$ (Tabel 1). Abnormalitas kepala yang ditemui adalah kepala tanpa ekor, sedangkan abnormalitas pada bagian ekor adalah ekor tanpa kepala dan ekor melipat. Bentuk-bentuk abnormalitas yang ditemukan

merupakan bentuk abnormalitas sekunder (Gambar 1). Abnormalitas ini merupakan abnormalitas spermatozoa yang mengalami kelainan setelah meninggalkan tubulus seminiferus ditandai dengan ekor putus, kepala pecah, dan kepala tanpa ekor (Menon *et al.*, 2011). Bentuk abnormalitas sekunder sangat mudah tereliminasi, namun memiliki pengaruh yang sangat besar untuk menentukan kemampuan pejantan pada proses fertilisasi (Rahmiati *et al.*, 2015).



Keterangan: a. ekor tanpa kepala; b. ekor patah (detached); c. kepala tanpa ekor; d. normal
Gambar 1 abnormalitas sekunder spermatozoa cauda epididimis sapi Bali

KESIMPULAN

Kualitas spermatozoa *cauda* epididimis dipengaruhi oleh umur sapi Bali. Variabel konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas kepala mengalami peningkatan dengan bertambahnya umur.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhamid, M. H. M., Walschaerts, M., Ahmad, G., Mieusset, R., Bujan, L., & Hamdi, S. (2019). Mild experimental increase in testis and epididymis temperature in men: Effects on sperm morphology according to spermatogenesis stages. *Translational Andrology and Urology*, 8(6):651-665. <https://doi.org/10.21037/tau.2019.11.18>
- Budiyanto, A., Makruf, A., Mandala, P. W. A., Rifia, T. F., Ardian, F. H., Brian, W., Kharisma, M.I., & Migi, H. (2021). The effect of age and breed on the quality of bull semen in the regional artificial insemination centre. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 132-136 <https://doi.org/10.29244/avi...132-136>
- Alahmar, A. (2019). Role of oxidative stress in male infertility: An updated review. *Journal of Human Reproductive*

Sapi Bali umur 3 tahun memiliki nilai motilitas, konsentrasi, viabilitas dan abnormalitas tertinggi dengan nilai masing-masing adalah 71,2%, $401,1 \times 10^7$ /ml, 95,9% dan 20,6%.

Sciences. 12(1):4-18. https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_150_18

- Bertol, M. A. F. (2016). Cryopreservation of Epididymal Sperm. In *Cryopreservation in Eukaryotes*. <https://doi.org/10.5772/65010>
- Brilliant, F. F., Srianto, P., Sardjito, T., Suprayogi, T. W., Triana, I. N., & Rahardjo, D. (2021). Kualitas semen sapi pejantan berdasarkan umur, suhu, dan kelembaban di Taman Ternak Pendidikan Universitas Airlangga. *Ovozoa: Journal of Animal Reproduction*, 10(3): 81-89. <https://doi.org/10.20473/ovz.v10i3.2021.81-89>
- Chaveiro, A., Cerqueira, C., Silva, J., Franco, J., & Moreira da Silva, F. (2015). Evaluation of frozen thawed cauda epididymal sperms and in vitro fertilizing potential of bovine sperm

- collected from the cauda epididymal. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 16(2):188-193.
- Cunha, A. T. M., Carvalho, J. O., Guimarães, A. L. S., Leme, L. O., Caixeta, F. M., Viana, J. H. M., & Dode, M. A. N. (2019). Bovine epididymal spermatozoa treatment for in vitro fertilization: Heparin accelerates fertilization and enables a reduction in co-incubation time. *PLoS ONE*. 14(1):e0209692. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209692>
- Ding, G. L., Liu, Y., Liu, M. E., Pan, J. X., Guo, M. X., Sheng, J. Z., & Huang, H. F. (2015). The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian Journal of Andrology*. 17(6):948-953. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.150844>
- Frungieri, M. B., Calandra, R. S., Bartke, A., & Matzkin, M. E. (2018). Ageing and inflammation in the male reproductive tract. *Andrologia*. e13034: 1-9. <https://doi.org/10.1111/and.13034>
- Goshme, S., Asfaw, T., Demiss, C., & Besufekad, S. (2021). Evaluation of motility and morphology of frozen bull semen under different thawing methods used for artificial insemination in North Shewa zone, Ethiopia. *Heliyon*. 7:e08183. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08183>
- Juyena, N. S., & Stelletta, C. (2012). Seminal plasma: An essential attribute to spermatozoa. *Journal of Andrology*. 33(4):536-551. <https://doi.org/10.2164/jandrol.110.012583>
- Komariah, R. I. Arifiantini, M. Aun, & E. Sukmawati. (2020). Kualitas semen segar dan produksi semen beku sapi pejantan Madura pada musim yang berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*. 8(1):15-21. <https://doi.org/10.29244/jipthp.8.1.15-21>
- Labetubun, J., & Siwa, I. P. (2012). Kualitas spermatozoa kauda epididimis sapi bali dengan penambahan laktosa atau maltosa yang dipreservasi pada suhu 3-5°C. *Jurnal Veteriner*. 12(3):200-207.
- Masyita, N., Suada, I. K., & Batan, I. W. (2014). Umur sapi bali betina yang disembelih pada rumah pemotongan hewan di Bali. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 3(5):384-393.
- Menon, A. G., Barkema, H. W., Wilde, R., Kastelic, J. P., & Thundathil, J. C. (2011). Associations between sperm abnormalities, breed, age, and scrotal circumference in beef bulls. *Canadian Journal of Veterinary Research*.
- Morrell, J. M., Valeanu, A. S., Lundeheim, N., & Johannisson, A. (2018). Sperm quality in frozen beef and dairy bull semen. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 60:41. <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0396-2>
- Muhammad, D., Susilowati, T., & Wahjuningsih, S. (2016). Pengaruh penggunaan CEP-2 dengan suplementasi kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi FH (Frisian Holstein) kualitas rendah selama penyimpanan suhu 4-50C. *Ternak Tropika*. 17(1):66-76. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2016.017.01.8>
- Murphy, E. M., Kelly, A. K., O'Meara, C., Eivers, B., Lonergan, P., & Fair, S. (2018). Influence of bull age, ejaculate number, and season of collection on semen production and sperm motility parameters in holstein friesian bulls in a commercial artificial insemination centre. *Journal of Animal Science*.

- 96(6):2408-2418.
<https://doi.org/10.1093/jas/sky130>
- Nabilla, A., Arifiantini, R. I., & Purwantara, B. (2018). Kualitas semen segar sapi Bali umur produktif dan non-produktif serta penentuan konsentrasi krioprotektan dalam pengencer tris kuning telur. *Jurnal Veteriner*.19(2):242.
<https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.2.242>
- Parera, F., Prihatiny, Z., Souhoka, D. F., & Rizal, M. (2009). Pemanfaatan sari wortel sebagai pengencer alternatif spermatozoa epididimis sapi bali. *Journal of Inodnesia Tropical Animal Agriculture*.34(1): 50-56.
<http://eprints.undip.ac.id/16472/>
- Prestiya, A., Siregar, T. N., Husnurrizal, H., Wahyuni, S., Sari, E. M., Hafizuddin, H., & Panjaitan, B. (2020). Peningkatan motilitas spermatozoa kambing nubian setelah pemberian PGF2 α dalam pengencer andromed. *Jurnal Agripet*. 20(1):32-37.
<https://doi.org/10.17969/agripet.v20i1.15509>
- Puerta S. J., du Plessis, S. S., & Cardona M.W. D. (2018). Spermatozoa: A historical perspective. *International Journal of Fertility and Sterility*. 12(3):182-190.
<https://doi.org/10.22074/ijfs.2018.5316>
- Rahmiati, Eriani, K., & Dasrul. (2015). Kualitas dan morfologi abnormal spermatozoa sapi Aceh pada berbagai frekuensi ejakulasi. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*. 339-344.
- Riyadhi, M., Rizal, M., & Mildawati, . (2018). Viabilitas spermatozoa cauda epididimis kerbau rawa dalam berbagai konsentrasi pengencer air kelapa muda dan kuning telur. *Acta Veterinaria Indonesiana*. 6(1):38-43.
<https://doi.org/10.29244/avi.6.1.38-43>
- 43
- Rizal, M. (2009). Daya hidup spermatozoa epididimis sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3 - 5°C dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*, 14(2):142-149.
- Rizal, M., Sulistiowati, D., Sulaiman, A., Sangadji, I. (2016). Daya hidup spermatozoa epididimis kambing peranakan ettawa yang dipreservasi dengan pengencer tris dan berbagai konsentrasi maltosa. *Jurnal Sain Veteriner*.34(1):122-129.
- Santoso, S., Herdis, H., Arifiantini, R. I., Gunawan, A., & Sumantri, C. (2021). Characteristics and potential production of frozen semen of pasundan bull. *Tropical Animal Science Journal*. 44(1):24-31.
<https://doi.org/10.5398/tasj.2021.44.1.24>
- Satria, H., Hendri, J., Jaswandi, J., & Hidayat, F. (2018). Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan simmental pada suhu 5°C dengan penambahan cairan oviduct. *Jurnal Peternakan*. 15(2):74-79.
<https://doi.org/10.24014/jupet.v15i2.5635>
- Solihati, N., R. Idi, S. D. Rasad, M, Rizal, M. F. (2008). Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-50C. *Animal Production*.10(1):22-29.
- Tethool, A. N., Ciptadi, G., Wahjuningsih, S., Amaliya, A., Sawitri, W., & Susilawati, T. (2021). The influence of individual factors on the characteristics and production of frozen semen of bali cattle. *Journal of Advanced Veterinary Research*. 11(3):162-166.

- Tethool, A. N., & Purwaningsih, P. (2019). Efek pemberian ekstrak kayu akway (*Drymis* Sp) terhadap kualitas spermatozoa mencit (*Mus musculus* L). *Jurnal Ilmu Peternakan Dan Veteriner Tropis*, 9(1):24-31. <https://doi.org/10.30862/jipvet.v9i1.8>
- Wang, Y., Yamauchi, Y., Wang, Z., Zheng, H., Yanagimachi, R., Ward, M. A., & Yan, W. (2020). Both cauda and caput epididymal sperm are capable of supporting full-term development in FVB and CD-1 mice. *Developmental Cell*, 55(56):675-676. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.11.022>
- Yudi, Yusuf, T. L., Purwantara, B., Sajuthi, D., Mulyono, S., & Manansang, J. (2009). Biometri Organ Reproduksi Bagian Luar dan Karakteristik Ejakulat Anoa (*Bubalus* sp.) yang Dikoleksi Menggunakan Elektroejakulator Setelah Diinjeksi hCG. *Media Peternakan*, 32(1), 1-11.