

Kombinasi Minyak Atsiri Jeruk Manis dan Penisilin dengan Streptomisin pada Pengencer Semen Beku Kambing Boer

Combination of Sweet Orange Essential Oil and Penicillin with Streptomycin in the Extender of Boer Goat Frozen Semen

S. A. Sitepu^{1*}, Z. Udin², Jaswandi², dan Hendri²

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pembangunan Panca Budi, Medan - Indonesia

²Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Padang - Indonesia

*Corresponding E-mail: sukmaaditya@dosen.pancabudi.ac.id

(Diterima: 27 Juli 2020; Disetujui: 28 September 2020)

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan streptomisin pada bahan pengencer tris kuning telur ditambah kombinasi minyak atsiri jeruk manis (1ml) dan penisilin (1000 IU/ml) pada semen beku Kambing Boer. Penelitian dilakukan memakai Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri atas 5 tingkat perlakuan serta 5 ulangan. Kelompok merupakan penampungan semen fresh 3 ekor Kambing Boer yang dicoba 3 hari sekali. Selaku perlakuan yaitu penambahan streptomisin sebanyak (P₀) 0 µg/ml, (P₁) 250 µg/ml, (P₂) 500 µg/ml, (P₃) 750 µg/ml, dan (P₄) 1000 µg/ml. Peubah yang diamati adalah motilitas, viabilitas, dan total bakteri yang dievaluasi sebelum pembekuan dan sesudah pembekuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan penambahan streptomisin berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap motilitas dan viabilitas sperma dan sangat nyata terhadap total bakteri (P<0,01). Hasil terbaik motilitas adalah 60% (P₄), viabilitas 69,8% (P₄) dan total bakteri 46,4 x 10² CFU (P₄). Bisa disimpulkan bahwa hasil terbaik yaitu penambahan streptomisin sebanyak 1000 µg/ml (P₄).

Kata kunci: kambing Boer, minyak atsiri jeruk manis, penisilin, semen beku, streptomisin

ABSTRACT

This study aimed to determine the effect of adding streptomycin to the tris yolk extender, which added to a combination of sweet orange essential oils (1ml) and penicillin (1000 IU/ml) in frozen semen of Boer Goat. The study used a randomized block design consisting of five treatment levels and five replications. The group was fresh semen from three Boer Goats, which was held once every three days. The treatment was the addition of streptomycin (P₀) 0 µg/ml, (P₁) 250 µg/ml, (P₂) 500 µg/ml, (P₃) 750 µg/ml, and (P₄) 1000 µg/ml to tris yolk extender with a combination of sweet orange essential oils and penicillin. The variables observed were motility, viability, and total bacteria evaluated before freezing and after freezing. The results showed that the treatment had a significant effect on motility and viability (P<0.05), while total bacteria had a highly significant effect (P<0.01). The best motility results were 60% (P₄), viability 69.8% (P₄), and total bacteria 46.4 x 10² CFU (P₄). It concluded that the best result is the addition of 1000 µg/ml (P₄) of streptomycin.

Keywords: Boer goat, frozen semen, penicillin, sweet orange essential oil, streptomycin

PENDAHULUAN

Kebutuhan daging di Indonesia sampai saat ini masih belum bisa terpenuhi. Sektor peternakan di dalam negeri masih memiliki

banyak kendala sehingga produksi daging yang dihasilkan belum maksimal. Salah satu faktor penyebab produksi daging rendah adalah ketersediaan bibit yang belum mencukupi baik secara kualitas maupun kuantitas (Marisa dan Sitepu, 2020). Sektor peternakan kambing

potong dapat dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan daging dalam negeri, namun populasi dan mutu genetik kambing lokal masih cukup rendah. Populasi serta kualitas genetik pada kambing lokal akan meningkat jika dilakukan *cross breeding* dengan memanfaatkan kambing jantan unggul, yaitu Kambing Boer. Kambing Boer memiliki beberapa keunggulan seperti pertambahan berat badan yang dapat mencapai antara 0,02 – 0,04 kg per hari (Sapkota *et al.*, 2016). Namun untuk mendatangkan dan memelihara kambing tersebut untuk perkawinan alami cukup mahal. Solusinya yaitu mengaplikasikan Inseminasi Buatan pada perkawinan ternak kambing dengan menggunakan semen beku Kambing Boer.

Inseminasi Buatan pada ternak kambing masih jarang dilakukan pada peternakan di Indonesia. Selain itu, tingkat keberhasilan Inseminasi Buatan pada kambing cukup rendah. Salah satu faktor penyebabnya adalah perkembangan bakteri pada semen beku. Efek bakteri pada semen beku akan mengakibatkan gerak spermatozoa terhambat, sehingga menurunkan presentase motilitas pada spermatozoa. Selain itu bakteri juga dapat membunuh spermatozoa yang menyebabkan menurunnya presentase viabilitas sehingga kualitas semen beku akan menurun. Terjadinya kontaminasi bakteri pada semen beku dapat terjadi mulai dari penampungan semen segar hingga proses pembuatan semen beku selesai (Akhter *et al.*, 2008). Total bakteri maksimal yang terdapat pada semen beku agar dapat digunakan pada program Inseminasi Buatan menurut *International Committe for Animal Recording* (ICAR), adalah 5×10^3 CFU/ml (Rabusin, 2018).

Untuk menghambat dan membunuh bakteri pada semen beku dapat dilakukan dengan penambahan antibiotik (Feradis, 2014). Penisilin dan streptomisin adalah antibiotik yang biasa digunakan untuk pembuatan bahan pengencer semen beku (Udin, 2012). Penisilin aktif terhadap bakteri gram positif (Herawati dan Irawati, 2014), sedangkan streptomisin aktif terhadap bakteri

gram negatif (Nattadiputra dan Munaf, 2009). Selain antibiotik, minyak atsiri jeruk manis dapat digunakan pada bahan pengencer semen beku sebagai antibakteri (Sitepu dan Marisa, 2019). Di dalam minyak atsiri jeruk manis terkandung limonene dan linalool, pinena dan mirsena (Agusta, 2010). Menurut Fisher and Philips (2008), Perkembangan dan pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan menambahkan limonene dan linalool karena aktif terhadap bakteri gram negatif dan positif

Toelihere (1993) menyatakan bahwa penisilin dapat ditambahkan antara 500 – 1000 IU/ml dan streptomisin 500 – 1000 µg/ml pada bahan pengencer semen. Pada semen beku sering dilakukan penambahan kombinasi penisilin dan streptomisin (SP) (Rizal dan Herdis, 2008). Sitepu dan Marisa (2019) telah meneliti penambahan kombinasi bahan alami dan antibiotik pada bahan pengencer semen, dengan hasil terbaik yaitu minyak atsiri jeruk manis sebanyak 1 ml dan penisilin sebanyak 1000 IU/ml. Namun untuk memenuhi standart *International Committe for Animal Recording* (ICAR) masih belum terpenuhi sehingga masih perlu ditambah antibiotik lain seperti streptomisin. Penelitian bertujuan untuk melihat efek dari penambahan streptomisin pada semen beku Kambing Boer kedalam bahan pengencer tris kuning telur yang telah ditambahkan penisilin sebanyak 1000 IU/ml dan minyak atsiri jeruk manis sebanyak 1 ml.

METODE

Pelaksanaan penelitian di Loka Penelitian Kambing Potong, Sungai Putih, Galang, Deli Serdang, Sumatera Utara. Materi pada penelitian adalah streptomisin, 1000 IU/ml penisilin, 1ml minyak atsiri jeruk manis, semen segar Kambing Boer, nutrient broth dan agar, 3,32g Tris (*hydroxymethyl*) aminomethane, 1,37g Fruktosa, 6ml Gliserol, 1,86g Asam Sitrat, 20ml kuning telur, 100ml aquadest, eosin 2%, nitrogen cair, inkubator, autoklaf, oven, cawan petri, beaker glass 400 ml, cover glass, photometer, dan denominator.

Rancangan penelitian adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan lima perlakuan dan ulangan sebanyak lima kali. Kelompok pada penelitian ini adalah banyaknya penampungan semen segar dengan menggunakan tiga ekor pejantan Kambing Boer. Penampungan semen dilakukan tiga hari sekali. Perlakuan pada penelitian yaitu penambahan berbagai level streptomisin ke dalam pengencer tris kuning telur yang telah ditambah 1000 IU/ml penisilin dan 1ml minyak atsiri jeruk manis. Analisis data menggunakan ANOVA dan untuk uji lanjut menggunakan DMRT. Perlakuan yang diamati adalah :

- P₀ = Streptomisin 0 µg/ml
- P₁ = Streptomisin 250 µg/ml
- P₂ = Streptomisin 500 µg/ml
- P₃ = Streptomisin 750 µg/ml
- P₄ = Streptomisin 1000 µg/ml

Pengamatan yang dilakukan sebelum dan setelah semen dibekukan adalah:

Motilitas Spermatozoa

Pengamatan dilakukan dengan melihat pergerakan spermatozoa serta memberikan penilaian motilitas dalam kisaran 0-100% (Priyanto *et al.*, 2015). Persentase motilitas spermatozoa diperoleh dengan cara melakukan pengamatan spermatozoa pada delapan lapang pandang yang berbeda menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400 kali (Agarwal *et al.*, 2018).

Viabilitas Spermatozoa

Evaluasi dilakukan dengan menggunakan pewarna eosin. Preparat diamati di bawah mikroskop cahaya menggunakan perbesaran 400 kali (Pankaj *et al.*, 2018). Spermatozoa yang menyerap warna dianggap mati, sedangkan yang tidak menyerap warna adalah spermatozoa hidup. Viabilitas spermatozoa diamati menggunakan mikroskop dalam 10 lapang pandang. Jumlah spermatozoa yang diamati minimal sebanyak 200 spermatozoa. Rumus viabilitas adalah:

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa yang tidak menyerap warna}}{\text{total spermatozoa yang dihitung}} \times 100\%$$

Total Bakteri

Menurut Presscott *et al.* (2005), prosedur untuk menghitung total koloni bakteri adalah dengan metode standart plate count, yaitu menggunakan media *Plate Count Agar* yang diencerkan sebanyak empat kali. Bakteri yang tumbuh dihitung dengan rumus:

$$\text{CFU/ml} = \text{TKB} \times \frac{1}{f_p} \times \frac{1}{s}$$

Keterangan :

- TKB = Total Koloni Bakteri
- f_p = Faktor pengencer (10⁻²)
- S = Sampel (0,25)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Spermatozoa

Hasil penelitian sesudah pembekuan nilai motilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan streptomisin pada bahan pengencer tris kuning telur sebesar 1000 µg/ml (P₄) dengan nilai 60% dan terendah pada penambahan 0 µg/ml (P₀) dengan nilai 52% (Tabel 1). Seluruh perlakuan pada penelitian ini memenuhi standart sebagai bahan pengencer karena memiliki nilai presentase motilitas diatas 40% (BSN, 2014). Terjadi penurunan motilitas pada saat pembekuan. Penurunan motilitas terjadi sebanyak 20% (P₀-P₂), 18% (P₃) dan 14% (P₄). Hal ini menunjukkan bahwa dengan menambahkan kombinasi 1ml minyak atsiri jeruk manis, 1000 IU/ml penisilin dan 1000 µg/ml pada bahan pengencer tris kuning telur akan menurunkan persentase motilitas spermatozoa Kambing Boer. Hasil uji anova penambahan streptomisin pada kombinasi 1ml minyak atsiri jeruk manis dan 1000 IU/ml penisilin menunjukkan pengaruh nyata (P<0,05) terhadap persentase motilitas spermatozoa Kambing Boer.

Di dalam bahan pengencer semen beku kambing harus ditambahkan bahan yang memiliki kandungan antibakteri (Rizal dan Herdis, 2008). Semen beku yang telah terkontaminasi oleh bakteri akan menyebabkan

Tabel 1. Motilitas Semen Kambing Boer Sebelum Pembekuan dan Setelah Pembekuan pada masing-masing perlakuan

Parameter	Perlakuan	Pengamatan	
		Sebelum Pembekuan	Setelah Pembekuan
Motilitas (%)	P ₀	(72±4,47) ^{ns}	(52±4,47) ^b
	P ₁	(74±5,47) ^{ns}	(54±5,47) ^b
	P ₂	(74±5,47) ^{ns}	(54±5,47) ^b
	P ₃	(74±5,47) ^{ns}	(56±5,47) ^a
	P ₄	(74±5,47) ^{ns}	(60±0,00) ^a

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom masing masing peubah menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

kualitas semen menurun (Toelihere, 1993), salah satunya adalah presentase motilitas spermatozoa. Komponen utama minyak atsiri jeruk manis adalah linalool, limonena, miserna dan pinena (Agusta, 2010). Linalool dan limonena memiliki sifat toksik pada bakteri gram negatif dan gram positif, yang dapat menyebabkan aktifitas dan pertumbuhan bakteri terhambat (Fisher dan Philips, 2008).

Penambahan penisilin pada bahan pengencer tris kuning telur dapat mengurangi total bakteri dalam semen beku Kambing Boer. Penisilin aktif terhadap bakteri gram positif (Herawati dan Irawati, 2014). Penambahan penisilin yang paling optimal pada bahan pengencer semen adalah 1000 IU/ml (Toelihere, 1993; Feradis, 2014). Penambahan streptomisin berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (Nattadiputra dan Munaf, 2009). Bakteri Gram-negatif ini mengurangi motilitas sperma melalui adhesi dan aglutinasi sperma (Wolff *et al.*, 1993; Monga and Roberts, 1994) dan menyebabkan perubahan morfologis pada membran plasma dan akrosom (Diemer *et al.*, 2000).

Viabilitas Spermatozoa

Rataan nilai spermatozoa hidup (*Viabilitas*) dengan penambahan streptomisin pada semen Kambing Boer sebelum pembekuan dan sesudah pembekuan dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil penelitian sesudah pembekuan, nilai viabilitas tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan streptomisin

pada bahan pengencer tris kuning telur sebesar 1000 µg/ml (P₄) dengan nilai 69,8% dan terendah pada penambahan 0 µg/ml (P₀) dengan nilai 64,8%. Seluruh perlakuan pada penelitian ini sesuai dengan standart untuk digunakan sebagai bahan pengencer semen beku kambing. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan mengkombinasikan minyak atsiri jeruk manis, penisilin dan streptomisin pada bahan pengencer dapat meningkatkan presentase *viabilitas* pada semen beku. Hasil analisis anova menjelaskan jika perlakuan penambahan streptomisin pada pengencer tris kuning telur yang telah ditambah 1ml minyak atsiri jeruk manis dan 1000 IU/ml penisilin berpengaruh nyata (P<0,05) terhadap *viabilitas* spermatozoa di dalam semen beku Kambing Boer. Syarat semen beku yang dapat dipakai pada Inseminasi Buatan harus memiliki nilai presentase *viabilitas* spermatozoa diatas 40% (Partodihardjo, 1987).

Persentase viabilitas spermatozoa turun pada saat dilakukan evaluasi merupakan sesuatu hal yang normal. Ketika terjadi proses pembekuan, spermatozoa akan mati hingga 30% jika dibandingkan dengan sebelum dibekukan (pada semen segar). Keadaan *cold shock* dapat terjadi karena terdapat penurunan suhu mencapai dibawah 0°C, sehingga terjadi penurunan *viabilitas* pada sel. Watson (2000) menyatakan bahwa penyebab terjadinya *cold shock* pada sel belum diketahui, namun terdapat kemungkinan yang berkaitan dengan adanya transisi pada membran lipid sehingga terjadilah tahap pemisahan serta menurunnya

Tabel 2. Viabilitas Semen Kambing Boer Sebelum Pembekuan dan Setelah Pembekuan pada masing-masing perlakuan

Parameter	Perlakuan	Pengamatan	
		Sebelum Pembekuan	Setelah Pembekuan
Viabilitas (%)	P ₀	(78,8±2,95) ^b	(64,8±2,17) ^b
	P ₁	(79,6±2,51) ^b	(65,8±2,59) ^b
	P ₂	(80,6±3,05) ^b	(66,6±3,71) ^b
	P ₃	(80,6±2,41) ^b	(66,8±4,99) ^b
	P ₄	(82,4±2,79) ^a	(69,8±2,17) ^a

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom masing masing peubah menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

sifat permeabilitas pada membran sel hidup.

Kerusakan yang menyebabkan menurunnya presentase viabilitas dapat semakin parah akibat adanya bakteri di dalam semen Kambing Boer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan menambahkan streptomisin ke dalam kombinasi 1000 IU/ml penisilin dan 1ml minyak atsiri jeruk manis pada bahan pengencer tris kuning telur dapat mengurangi pertumbuhan bakteri dalam semen beku Kambing Boer. Streptomisin berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (Nattadiputra dan Munaf, 2009).

Total Bakteri

Rataan hasil penelitian total bakteri semen beku Kambing Boer sebelum pembekuan dan sesudah pembekuan tersaji di Tabel 3. Dapat dilihat bahwa hasil terbaik penelitian ditunjukkan pada perlakuan penambahan streptomisin pada bahan pengencer tris kuning telur sebesar 1000 µg/ml (P₄) dengan nilai total bakteri sebesar 46,4 x 10²CFU/ml dan terburuk pada penambahan 0 µg/ml (P₀) dengan nilai total bakteri sebesar 53,4 x 10²CFU/ml. Analisis anova pada penambahan streptomisin dengan kombinasi 1000 IU/ml penisilin dan 1ml minyak atsiri jeruk manis berpengaruh sangat nyata (P<0,01) untuk menurunkan total bakteri di dalam semen beku Kambing Boer. Perlakuan P₀ (0 µg/ml) dengan nilai total bakteri sebesar 53,4 x 10²CFU/ml, P₁ (250 µg/ml) dengan nilai total bakteri sebesar 51,6 x 10²CFU/ml

dan P₂ (500 µg/ml) dengan nilai total bakteri sebesar 50,6 x 10²CFU/ml pada penelitian ini tidak memenuhi standart sebagai bahan pengencer karena syarat minimal total bakteri dalam semen beku menurut *International Committe for Animal Recording* (ICAR) adalah 5 x 10³CFU/ml (Rabusin, 2018). Penggunaan streptomisin dengan level P₃ (500 µg/ml) dan P₄ (1000 µg/ml) merupakan level yang dianjurkan karena kadar bakteri dibawah standar minimal yang diperbolehkan dalam semen beku. Dapat disimpulkan bahwa penggunaan Kombinasi 1000 IU/ml penisilin, 1ml minyak atsiri jeruk manis serta streptomisin sebagai bahan pengencer dapat menurunkan total bakteri dalam semen beku Kambing Boer dan dapat digunakan untuk Inseminasi Buatan.

Semen segar yang ditampung menggunakan vagina buatan menyebabkan kemungkinan terjadinya kontaminasi dengan bakteri dari permukaan penis dan preputium, area pengumpulan, peralatan dan manusia. Sebagai konsekuensi, bakteri dapat mengganggu kualitas semen selama proses pengenceran sampai pembekuan serta mencemari saluran reproduksi betina. Untuk meminimalkan efek samping tersebut, antibiotik ditambahkan dalam bahan pengencer untuk mencegah pertumbuhan bakteri (Salamon and Maxwell, 2000).

Penggunaan antibiotik penisilin aktif terhadap bakteri garam positif (Herawati dan Irawati, 2014) sedangkan streptomisin pada

Tabel 3. Total Bakteri di dalam Semen Kambing Boer Sebelum Pembekuan dan Setelah Pembekuan pada masing-masing perlakuan

Parameter	Perlakuan	Pengamatan	
		Sebelum Pembekuan	Setelah Pembekuan
Total Bakteri (x 10 ² CFU/ml)	P ₀	(65,6±2,30) ^a	(53,4±2,07) ^a
	P ₁	(63,2±1,92) ^b	(51,6±1,14) ^b
	P ₂	(60,8±2,59) ^c	(50,6±2,07) ^c
	P ₃	(58,8±1,30) ^d	(48,6±2,07) ^d
	P ₄	(56,4±2,07) ^e	(46,4±2,07) ^e

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom masing masing peubah menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01)

gram negatif (Nattadiputra dan Munaf, 2009). Kandungan minyak atsiri jeruk manis seperti linalol, limonena dan flavonoid berfungsi sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan dan kinerja bakteri gram negatif dan positif (Fisher dan Philips, 2008; Dwidjoseputro, 2005). Proses metabolisme pada semen beku disebabkan oleh aktivitas bakteri dan spermatozoa yang menyebabkan pembentukan asam laktat. Efek samping dari hasil metabolisme tersebut menurunkan kualitas sperma. Kandungan kadar asam laktat yang terlalu tinggi mengakibatkan spermatozoa mengalami keracunan dan mati (Widjaya, 2011). Antibiotik seperti streptomisin dan penisilin dapat menekan jumlah bakteri yang terdapat di dalam semen beku Kambing Boer. Akibatnya terjadi pengurangan asam laktat yang berasal dari aktivitas metabolisme bakteri. Akan tetapi aktivitas yang menghambat proses metabolisme tersebut lebih banyak disebabkan oleh reaksi minyak atsiri jeruk manis yang lebih aktif bekerja untuk meningkatkan spermatozoa hidup.

KESIMPULAN

Hasil penelitian terbaik adalah penambahan streptomisin sebanyak 1000 µg/ml kedalam kombinasi 1000 IU/ml penisilin dan 1ml minyak atsiri jeruk manis pada pengencer tris kuning telur, karena dapat meningkatkan presentase motilitas dan

viabilitas semen beku Kambing Boer serta menurunkan total bakteri yang memenuhi kriteria standart minimal bakteri *International Committe for Animal Recording* (ICAR).

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., M. K. P. Selvam., R. Sharma., K. Master., A. Sharma., S. Gupta., and R. Henkel. 2018. Home sperm testing device versus laboratory sperm quality analyzer: comparison of motile sperm concentration. *Fertility and sterility*. 110(7): 1277-1284.
- Agusta, A. 2010. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. ITB, Bandung.
- Akhter, S., M. S. Ansari., S. M. Andrabi., N. Ullah, and M. Qayyum. 2008. Effect of Antibiotics in Extender on Bacterial and Spermatozoal Quality of Cooled Buffalo (*Bubalus Bubalis*) Bull Semen. *Reprod. Domest. Anim.* 43: 272–278.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2014. Standar Nasional Indonesia. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta. SNI 4869.3: 2014
- Diemer, T., P. Huwe., H. W. Michelmann., F. Mayer., H. G. Schiefer, and W. Weidner. 2000. Escherichia Coli-induced Alterations of Human Spermatozoa an Electron Microscopy Analysis. *Int. J. Androl.* 23: 178–186.
- Dwidjoseputro, D. 2005. Dasar Dasar

- Mikrobiologi. Penerbit Djambatan, Jakarta.
- Feradis. 2014. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta, Bandung.
- Fisher, K. and C. A. Phillips. 2008. Potential Antimicrobial Uses of Essential Oils in Food: Is Citrus The Answer?. Trends in Food Sci and Technology. 19(3): 156-164.
- Herawati, F. dan L. Irawati. 2014. Terapi Antibiotik pada Infeksi Nosokomial. Rasional, 9(2).
- Marisa, J. and S. A. Sitepu. 2020. Relationship analysis between production factors with business production of beef cattle livestock in Binjai Barat District, Indonesia. Asian Journal of Advanced Research and Reports. 1-7.
- Monga, M. and J. A. Roberts. 1994. Spermagglutination by Bacteria: Receptorspecific Interactions. J. Androl. 15: 151-156.
- Nattadiputra, S. dan S. Munaf. 2009. Aminoglikosida dan Beberapa Antibiotika Khusus, Kumpulan Kuliah Farmakologi. 631, Jakarta, EGC.
- Pankaj, K. J., S. Sapkota., D. Gurung., R. Kadel., N. Gorkhali, and B. Shrestha. 2018. Seminal attributes, cooling procedure and post thaw quality of semen of indigenous Khari buck of Nepal. Bhutan Journal of Animal Science. 2(1): 14-19.
- Partodihardjo, S. 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Fakultas Kedokteran Veteriner Jurusan Reproduksi Institut Pertanian Bogor.
- Prescott, L. M., J. P. Harleyand, and D. A. Klein. 2005. Microbiology. 6th Ed. McGraw-Hill Companies Inc. New York.
- Priyanto, L., R. I. Arifiantini, dan T. L. Yusuf. 2015. Deteksi Kerusakan DNA Spermatozoa Semen Segar dan Semen Beku Sapi Menggunakan Pewarnaan Toluidine Blue. Jurnal Veteriner. 16(1): 48-55.
- Rabusin, M. 2018. Identifikasi Bakteri dalam Semen dan Efektifitas Antibiotik dalam Pengencer Semen Untuk Mengontrol Pertumbuhan Bakteri. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan Pada Domba. Jakarta. Rineka Cipta, Jakarta.
- Salamon, S. dan W. M. C. Maxwell. 2000. Storage of Ram Semen. Anim Reprod Sci. 62:77-111.
- Sapkota, S., M. Kolakshyapati., S. Gaire., N. Upadhyay, and Y. Acharya. 2016. Boer Goat Production Performance, Constraints and Opportunities in Nepal. Imperial Journal of Indisciplinary Research (IJIR). 2(12): 491-495.
- Sitepu, S. A. and J. Marisa. 2019. The effect of addition sweet orange essential oil and penicillin in tris yolk extender to simmental liquid semen against percentage motility, viability and abnormalities of spermatozoa. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing. 287(1): 012007.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Angkasa, Bandung.
- Udin, Z. 2012. Teknologi Inseminasi Buatan dan Transfer Embrio Pada Sapi. Sukabina Press, Padang.
- Watson, P. F. 2000. The Caused of Reduced Fertility With Cryopreserved Semen. Anim Reprod Sci. 60-61: 481-492.
- Widjaya, N. 2011. Efek Penambahan Vitamin E Dalam Pengencer Glukosa Fosfat Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Domba Pada Suhu 5°C. Jurnal Sains Peternakan. 9(1): 25-31.
- Wolff, H., A. Panhans., W. Stolz, and M. Meurer. 1993. Adherence of Escherichia Coli to Sperm: a Mannose Phenomenon Leading to Agglutination of Sperm and E. coli. Fertility Sterility. 60: 154-158.