

Pengaruh Pemberian *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) terhadap Peningkatan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali

The Effect of Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Administration on Increasing Spermatozoa Quality of Bali Cattle

Amalia Sutriana¹, Tongku Nizwan Siregar^{2*}, Feby Claudia Sirait³, Juli Melia², Hafizuddin²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan,

Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

*Corresponding author, email: siregar@unsyiah.ac.id

Diterima: 1 April 2021, direvisi: 15 Agustus 2022, disetujui: 24 Agustus 2022

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of gonadotropin releasing hormone (GnRH) administration on increasing spermatozoa quality of Bali cattle. This research used two Bali cattle aged 2 and 4 years. This research was design using the Latin Square Design with 2 treatments and 2 activity time periods. The treatments applied were P1 (physiological NaCl) and P2 (100 µg GnRH) with interval period of one week. Semen samples were collected using artificial vagina 3 days after treatment. Data on the quality of Bali cattle spermatozoa examination were analyzed by Wilcoxon Signed Ranks Test. The results showed that the administration of 100 µg of GnRH had no significant effect ($P>0.05$) on color, pH, consistency, volume, concentration and motility of bali cattle spermatozoa. The color of the semen in both treatments were cream and milky white. The pH; consistency; volume of semen; concentration of spermatozoa ($10^6/ml$); and the motility of bali cattle spermatozoa (%) in P1 vs P2 were, 7.0 ± 0.0 vs 7.0 ± 0.0 ; 2.5 ± 0.71 vs 3.0 ± 0.0 ; 4.5 ± 2.8 vs 4.8 ± 2.8 ; 925 ± 106.07 vs 1210 ± 155.56 ; and 69.0 ± 1.41 vs 71.5 ± 0.7 , respectively ($P>0.05$). It can be concluded that the administration of 100 µg of GnRH did not affect the increasing bali cattle spermatozoa quality.

Key words: Bali cattle; GnRH; spermatozoa

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) terhadap peningkatan kualitas spermatozoa sapi bali. Dalam penelitian ini digunakan dua sapi bali berumur 2 dan 4 tahun. Rancangan yang digunakan adalah bujursangkar latin 2 perlakuan dan 2 periode perlakuan, yakni P1 (NaCl fisiologis) dan P2 (GnRH 100 µg) dengan interval periode waktu perlakuan adalah satu minggu. Sampel semen dikoleksi menggunakan vagina buatan tiga hari setelah perlakuan. Data hasil pemeriksaan kualitas spermatozoa sapi bali dianalisis dengan uji *Wilcoxon Signed Ranks Test*. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa pemberian GnRH 100 µg tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap pemeriksaan warna, pH, konsistensi, volume, konsentrasi dan motilitas spermatozoa sapi bali. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa warna semen pada kedua perlakuan adalah krem dan putih susu. Derajat keasaman (pH); konsistensi; volume semen (ml); konsentrasi ($10^6/ml$); dan motilitas spermatozoa (%) sapi bali pada P1 vs P2 adalah $7,0\pm 0,0$ vs $7,0\pm 0,0$; $2,5\pm 0,71$ vs $3,0\pm 0,0$; $4,5\pm 2,8$ vs $4,8\pm 2,8$; $925\pm 106,07$ vs $1210\pm 155,56$; dan $69,0\pm 1,41$ vs $71,5\pm 0,71$ ($P>0,05$). Disimpulkan bahwa pemberian GnRH 100 µg tidak memengaruhi kualitas spermatozoa sapi bali.

Kata kunci: GnRH; sapi bali; spermatozoa

Pendahuluan

Sapi bali (*Bos sondaicus*) merupakan sapi asli Indonesia yang cukup penting karena mempunyai populasi yang cukup besar dan wilayah penyebarannya sangat luas di Indonesia. Beberapa kelebihan yang dimiliki sapi bali terutama kemampuan adaptasinya dalam lingkungan dengan ketersediaan pakan berkualitas rendah, namun masih dapat memperlihatkan fertilitas yang sangat baik (Handiwirawan dan Subandriyo, 2004). Keunggulan-keunggulan tersebut harus didorong dengan implementasi kemajuan teknologi khususnya teknologi reproduksi Inseminasi Buatan (IB). Inseminasi buatan bertujuan meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak sehingga dapat meningkatkan efisiensi reproduksi ternak (Arifiantini, 2016). Keberhasilan IB ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kualitas semen yang digunakan (Aisah *et al.*, 2017).

Kualitas semen yang baik dimulai dari kualitas semen segar yang dihasilkan oleh pejantan hingga selanjutnya diproses menjadi semen beku. Semen beku yang baik merupakan salah satu faktor penting untuk keberhasilan program IB (Rahmawati *et al.*, 2015). Kualitas semen yang baik harus melewati beberapa pemeriksaan antara lain pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis. Kualitas semen yang ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) pada semen segar yang dapat dibekukan adalah persentase motilitas $\geq 70\%$ dan persentase gerakan massa $\geq 2+$. Feradis (2010) menyatakan bahwa volume sapi bali berkisar 5-8 ml. Semen sapi normal berwarna putih susu atau krem dengan pH sekitar 7,0 serta konsentrasi sekitar 800-2000 juta sel spermatozoa/ml.

Upaya memperbaiki dan meningkatkan performa reproduksi dapat dilakukan melalui pengaturan aktivitas hormon. Proses pembentukan sperma dan fungsi hormon steroid diatur oleh gonadotropin yang disekresi oleh sel *adenohipofisa* yang dikeluarkan secara pulsatif (Susilawati, 2011). Dalam rangka meningkatkan produktivitas ternak, *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) telah banyak digunakan untuk meningkatkan produksi testosteron (Syafuddin *et al.*, 2021; Armansyah *et al.*, 2021), meningkatkan kualitas spermatozoa kambing Peranakan Ettawa (Hamdan, 1999),

dan meningkatkan kualitas spermatozoa pada domba (Azawi *et al.*, 2012). Pemanfaatan GnRH untuk meningkatkan kualitas spermatozoa sudah pernah dilaporkan pada kerbau (Ansari *et al.*, 2007), namun pengaruh GnRH terhadap kualitas spermatozoa sapi bali belum pernah dilaporkan.

Hormon GnRH adalah hormon peptida yang dihasilkan oleh hipotalamus, berfungsi untuk merangsang hipofisis bagian anterior untuk mengeluarkan *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *luteinizing hormone* (LH) (Lehninger *et al.*, 2005). *Follicle stimulating hormone* diketahui berperan dalam mengontrol proliferasi sel Sertoli yang mengakibatkan terjadinya peningkatan volume testis (Hasbi dan Gustina, 2018). Pada dasarnya LH tidak bekerja langsung pada proses spermatogenesis, namun merangsang sintesis dan pelepasan hormon testosteron dari sel Leydig. Testosteron berperan dalam memacu pertumbuhan dan menjaga kelangsungan fungsi kelenjar-kelenjar kelamin pelengkap untuk menghasilkan plasma sperma pada saat ejakulasi, memacu keinginan pejantan untuk kawin (Rachmadi, 2008) dan berperan dalam proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus (Susilawati, 2011). Oleh karena itu, pemberian GnRH eksogen mampu meningkatkan ketebalan epitel germinal testis dan kualitas semen (Herera-Baragan *et al.*, 2020)

Materi dan Metode

Pada penelitian ini digunakan dua ekor sapi bali pejantan dalam kondisi sehat milik salah satu peternak di Kelurahan Teluk Sepang, Kecamatan Kampung Melayu Kota Bengkulu, masing-masing berumur 2 tahun dan 4 tahun dengan bobot badan 150 kg dan 250 kg. Sapi diberi pakan hijauan dan konsentrat. Perlakuan yang diberikan adalah penyuntikan GnRH sintetik (Fertagyl™, yang mengandung 105,08 gonadorelin acetate/ml) tiga hari secara intramuskulus. Pelaksanaan perlakuan dirancang dengan menggunakan pola bujur sangkar latin 2 X 2, sehingga setiap hewan percobaan akan diinjeksi NaCl fisiologis sebagai kontrol (P1), dan 100 µg Fertagyl™ (P2). Setiap perlakuan dilakukan sebanyak dua kali dan tiap perlakuan dilakukan bergantian setiap minggunya. Secara

skematis perlakuan yang diberikan pada masing-masing hewan percobaan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pola perlakuan terhadap hewan percobaan

Periode	Perlakuan	
	NaCl fisiologis (P1)	NaCl fisiologis (P2)
1	A	B
2	B	A

Keterangan: A= Sapi 1; B= Sapi 2

Prosedur Penelitian

Penampungan semen

Penampungan semen dilakukan pada pagi hari. Sapi pejantan bali dibawa ke kandang jepit untuk dipertemukan dengan betina pemancing agar dapat memberi rangsangan libido kepada pejantan yang akan ditampung semennya. Penampungan semen dilakukan menggunakan vagina buatan oleh kolektor yang sudah berpengalaman. Penampungan semen dilakukan sebanyak dua kali ulangan. Sampel semen dikoleksi masing-masing 3 hari setelah perlakuan dan langsung diamati.

Parameter pengukuran

Parameter pengukuran yang diamati pada penelitian ini adalah pemeriksaan semen secara makroskopis yang meliputi: volume, warna, konsistensi dan pH. Pemeriksaan semen secara mikroskopis meliputi: konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa dan gerakan massa semen.

Pemeriksaan makroskopis semen

Volume

Volume semen yang sudah ditampung pada 1 kali penampungan diukur dengan melihat langsung pada tabung berskala. Tabung penampung semen sapi bali yang digunakan adalah 15 ml (Susilawati, 2011).

Warna

Warna semen dapat dilihat langsung pada tabung penampung. Semen sapi normal berwarna krem atau putih susu. Warna kemerahan merupakan tanda bahwa semen terkontaminasi

oleh darah segar, sedangkan apabila warnanya mendekati coklat dapat merupakan tanda bahwa darah yang mengontaminasi semen sudah mengalami dekomposisi. Warna kehijauan merupakan tanda adanya bakteri pembusuk (Susilawati, 2011).

Konsistensi

Penilaian konsistensi semen dapat memberikan gambaran konsentrasi spermatozoa yang terkandung di dalam semen tersebut. Cara menilai konsistensi adalah dengan memiringkan tabung yang berisi semen dan mengembalikan pada posisi semula. Konsistensi dapat dinilai berdasarkan kecepatan semen kembali ke dasar tabung penampung. Katagori konsistensi semen adalah sebagai berikut: Skor 1, konsistensi encer (semen akan cepat kembali ke dasar tabung); skor 2, konsistensi sedang (semen akan segera kembali ke dasar tabung dengan kecepatan lebih lambat dibandingkan yang pertama, sebagian semen masih menempel di dinding tabung); skor 3, konsistensi kental (semen kembali ke dasar tabung secara perlahan dan menyisakan sebagian semen di pinggiran tabung) (Susilawati, 2011).

pH (Keasaman)

Pemeriksaan keasaman semen dilakukan menggunakan kertas indikator pH (buatan Merck) dengan skala ketelitian yang cukup sempit, antara 6–8 dengan rentang ketelitian 0,1. Semen pada umumnya memiliki kisaran pH netral (Susilawati, 2011).

Pemeriksaan mikroskopis semen

Konsentrasi spermatozoa

Konsentrasi spermatozoa dihitung menggunakan pipet *haemocytometer* dan kamar hitung Neubauer. Semen dihisap sampai skala 0,5 kemudian ditambahkan dengan larutan NaCl 3% dan dihisap sampai mencapai angka 101. Kemudian larutan dihomogenkan membentuk angka 8 selama 2-3 menit, dibuang beberapa tetes. Sampel diisikan ke dalam kamar hitung Neubauer yang telah ditutup menggunakan gelas penutup. kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 x 10. Penghitungan spermatozoa dilakukan pada lima kotak besar. Konsentrasi spermatozoa yang didapatkan ada-

lah $Y \times 10^6$ (Y = jumlah spermatozoa pada 5 kotak) (Mughniati *et al.*, 2018).

Motilitas spermatozoa

Pemeriksaan motilitas spermatozoa dilakukan dengan menggunakan *object glass* yang ditetesi 10-15 μ l semen kemudian ditetaskan 10-15 μ l NaCl fisiologis dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 40 x 10. Penilaian dilakukan dengan melihat persentase motilitas dan gerakan individu (*velocity*) kecepatan spermatozoa bergerak ke depan. Motilitas dinilai dalam persen, yaitu perbandingan spermatozoa yang bergerak aktif progresif dibandingkan dengan gerakan spermatozoa yang bergerak bergetar di tempat (*vibrator*), gerakan spermatozoa yang bergerak berputar (*circular*), gerakan spermatozoa yang mundur (*reverse*), dan spermatozoa yang mati atau mengambang. Hal-hal yang diamati dalam pemeriksaan yaitu persentase spermatozoa yang motil minimal 70%, spermatozoa yang abnormal harus kurang dari 10%.

Analisis Data

Penelitian ini dirancang dengan pola bujur sangkar latin 2 X 2. Data hasil pemeriksaan kualitas spermatozoa dianalisis dengan uji *Wilcoxon Signed Ranks Test*.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan volume, warna, pH, konsistensi, konsentrasi, dan motilitas spermatozoa sapi bali disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan (\pm SD) pemeriksaan warna, pH, konsistensi, volume, konsentrasi, dan motilitas spermatozoa sapi bali antara perlakuan kontrol (NaCl fisiologis) dengan GnRH 100 μ g

Kriteria Semen	Perlakuan	
	Kontrol (P1)	GnRH 100 μ g (P2)
Warna	Krem	Putih Susu
pH	7,0 \pm 0,0 ^a	7,0 \pm 0,0 ^a
Volume (ml)	4,5 \pm 2,8 ^a	4,8 \pm 2,8 ^a
Konsistensi	2,5 \pm 0,71 ^a	3,0 \pm 0,0 ^a
Konsentrasi (10 ⁶ sel/ml)	925 \pm 106,07 ^a	1210 \pm 155,56 ^a
Motilitas (%)	69,0 \pm 1,41 ^a	71,5 \pm 0,71 ^a

^a Superskrips yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$)

Hasil evaluasi semen segar merupakan pemeriksaan awal semen yang dijadikan dasar untuk menentukan kelayakan semen yang akan diproses lebih lanjut (Arifiantini, 2016). Penilaian semen segar dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Penilaian secara makroskopis meliputi pemeriksaan volume, warna, pH, dan konsistensi sedangkan penilaian secara mikroskopis meliputi pemeriksaan konsentrasi, motilitas, dan gerakan massa (Haryani *et al.*, 2016). Penilaian warna semen sapi bali yang ditampung pada kedua perlakuan berwarna normal yakni krem dan putih susu. Hal ini sesuai dengan pernyataan Susilawati (2011) yang menyatakan bahwa pada umumnya semen sapi berwarna krem atau putih susu. Konsistensi semen sapi bali untuk kedua perlakuan masing-masing yaitu 2,5 \pm 0,71 dan 3,0 \pm 0,0. Ramsiyati *et al.* (2004) menyatakan bahwa warna semen erat hubungannya dengan konsistensi semen, sedangkan konsistensi semen berhubungan dengan konsentrasi spermatozoa. Sujoko *et al.* (2009) juga menyatakan warna, konsistensi dan konsentrasi saling berhubungan erat satu sama lain. Semakin kental semen yang dihasilkan oleh ternak, maka konsentrasi semakin tinggi dan warna akan semakin pekat.

Derajat keasaman (pH) pada P1 dan P2 masing-masing adalah 7,0 \pm 0,0 dan 7,0 \pm 0,0. Analisis statistik memperlihatkan bahwa perlakuan GnRH 100 μ g terhadap pH sapi bali menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hasil yang didapat dalam kondisi normal sesuai dengan laporan Kartika (2015) yang melaporkan bahwa pH semen segar sapi bali adalah 7,0. Hal ini sama dengan hasil yang diperoleh Saili *et al.* (2000) dan Bhakat *et al.* (2014) yang menyatakan pH maksimal 7,0 atau cenderung ke arah basa dengan variasi 6,5 - 6,9. Kondisi derajat keasaman (pH) yang tidak normal akan memengaruhi proses metabolisme sperma itu sendiri. Dengan kata lain, semakin tinggi metabolisme dalam sperma maka derajat keasaman sperma akan asam, sebaliknya semakin sedikit proses metabolisme maka derajat keasaman sperma menjadi basa. Hal ini disebabkan oleh asam laktat di dalam glikolisis yang memengaruhi penumpukan, sehingga daya tahan hidup sperma juga sangat dipengaruhi oleh keadaan pH sperma itu sendiri (Burhan, 2013).

Volume semen sapi bali yang diperoleh setelah ejakulasi pada P1 dan P2 masing-masing adalah $4,5 \pm 2,8$ dan $4,8 \pm 2,8$ ml. Analisis statistik pada perlakuan P1 dan P2 menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Siregar dan Hamdan (2007), menyatakan bahwa volume semen sapi berkisar antara 4-10 ml. Menurut Kartika (2015), volume semen sapi bali setiap penampungan dapat bervariasi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain umur sapi, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas pakan, dan penampungan.

Konsentrasi spermatozoa pada P1 dan P2 masing-masing adalah $925 \pm 106,07 \times 10^6$ dan $1.210 \pm 155,56 \times 10^6$ sel/ml. Hasil analisis statistik pengaruh kedua perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), namun rata-rata konsentrasi pada perlakuan GnRH 100 μg cenderung mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol. Konsentrasi spermatozoa pada kedua kelompok relatif berada pada kisaran normal. Konsentrasi (10^6 sel/ml) pada P1 dan P2 masing-masing adalah $925 \pm 106,07$ dan $1210 \pm 155,56$. Konsentrasi spermatozoa/ml semen sapi adalah sekitar 800-2000 juta (Garner dan Hafez, 2000). Rataan konsentrasi spermatozoa sapi bali kontrol sedikit lebih rendah dibandingkan dari hasil pemeriksaan yang dilakukan oleh BBIB Singosari yaitu $946,70 \pm 198$. Hal ini mungkin diakibatkan oleh pengaruh pakan, manajemen, dan individu serta kondisi saat koleksi semen dilakukan (Hafez dan Hafez, 2000).

Burhan (2013) mengungkapkan bahwa penilaian terhadap motilitas spermatozoa bersifat sangat subjektif atau dengan kata lain hasil pemeriksaan terhadap motilitas spermatozoa sangat bergantung kepada orang yang melakukan penelitian, selain itu dibutuhkan pula keahlian dan kecepatan kerja di dalam pemeriksaan semen. Hal ini erat hubungannya dengan ketersediaan bahan makanan dan kesegaran spermatozoa yang terkandung di dalam semen. Adapun hasil rata-rata motilitas individu spermatozoa sapi bali pada P1 dan P2 masing-masing adalah $69,0 \pm 1,41\%$ dan $71,5 \pm 0,71\%$. Pada penelitian ini, kedua perlakuan menunjukkan hasil yang didapatkan masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Siregar dan Hamdan (2007), semen yang dapat digunakan untuk

inseminasi buatan adalah semen yang memiliki $>40\%$ spermatozoa progresif. Tingginya persentase spermatozoa progresif menunjukkan kemampuan spermatozoa berenang menuju tempat fertilisasinya di tuba Fallopii. Analisis statistik memperlihatkan bahwa perlakuan GnRH 100 μg terhadap motilitas spermatozoa sapi bali menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$), namun rataan persentase dari motilitas yang diberikan GnRH 100 μg cenderung mengalami peningkatan dibandingkan dengan kontrol. Faktor-faktor yang dapat memengaruhi motilitas spermatozoa yaitu bangsa, individu, umur ternak, dan perubahan temperatur (Hardijanto *et al.*, 2008).

Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian GnRH 100 μg pada setiap kriteria semen sapi bali tidak berpengaruh dalam meningkatkan kualitas spermatozoa sapi bali, namun jika dilihat dari rataan setiap kriteria semen cenderung mengalami peningkatan. Sajjad *et al.* (2007) melaporkan bahwa pemberian GnRH tidak berpengaruh terhadap volume, pH, konsentrasi dan motilitas spermatozoa kerbau sedangkan Azawi *et al.* (2012) melaporkan bahwa pemberian GnRH 50 μg dapat meningkatkan volume semen dan konsentrasi spermatozoa domba Awassi. Hamdan (1999) juga melaporkan bahwa pemberian GnRH 50 μg dan 100 μg berpengaruh terhadap peningkatan konsentrasi dan motilitas spermatozoa kambing peranakan Ettawah. Perbedaan hasil ini kemungkinan berhubungan dengan jenis hewan yang digunakan.

Mekanisme peningkatan kualitas spermatozoa akibat pemberian GnRH adalah akibat rangsangan terhadap neuron hipofisis untuk melepaskan hormon gonadotropin (GtH-I dan GtH-II). GtH I dan GtH-II berperan dalam spermatogenesis yang akan merangsang gonad untuk menghasilkan hormon steroid yaitu testosteron dan 17β -estradiol. GtH-I berfungsi merangsang perkembangan sel Sertoli untuk menghasilkan *androgen binding protein* (ABP) yang akan memacu spermatogonium untuk proses spermatogenesis. GtH-II berfungsi merangsang sel interstitial atau sel Leydig agar menyekresikan hormon testosteron. Perkembangan tubulus seminiferus dan sel Sertoli dipengaruhi *intertitial cell stimulating hormone*

(ICSH) untuk menghasilkan ABP yang memacu pembentukan sperma. Testosteron dan ABP mengendalikan pembentukan spermatozoa dan berperan dalam proses spermatogenesis untuk menstimulasi inisiasi perkembangan spermatogenik (Kusuma *et al.*, 2012).

Korelasi positif yang terjadi antara kadar hormon testosteron dengan kualitas sperma disebabkan karena hormon testosteron berperan penting bagi suatu tahap atau lebih dalam pembelahan sel-sel germinal untuk membentuk spermatozoa, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder (Rachmawati *et al.*, 2014). Testosteron berfungsi merangsang spermatogenesis (Bearden *et al.*, 2004), mempertahankan spermiogenesis dalam tubulus seminiferus, memperpanjang umur spermatozoa di epididimis (Herrera-Baragan *et al.*, 2020), pematangan spermatozoa dalam epididimis (Susilawati, 2011) dan memengaruhi aktivitas seksual pejantan (Rachmawati *et al.*, 2014). Hormon ini disintesis dalam sel Leydig testis dan sekresinya diatur oleh LH (Silbernagl dan Agamemnon, 2003).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian GnRH tidak berpengaruh terhadap peningkatan kualitas spermatozoa sapi bali.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih pada peternak di Kelurahan Teluk Sepang, Kecamatan Kampung Melayu Kota Bengkulu dan BIBD Bengkulu atas bantuan fasilitas sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

Daftar Pustaka

- Aisah, S., Isnaini, N. dan Wahyuningsih, S. (2017). Kualitas Semen Segar dan *Recovery Rate* Sapi Bali pada Musim yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 27 (1): 63-64.
- Arifiantini, R.I. (2016). *Pengembangan Teknik Produksi Semen Beku diIndonesia*. IPB Press, Bogor.
- Azawi, O.I., Al-Khashab, A.N.T.M. and Al-Khadoo, N.N.A. (2012). Effect of

Gonadotropin Releasing Hormone Treatment on Semen Characteristics and Enzymatic Activities of Awassi Rams in Breeding and Nonbreeding Seasons. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 2(1): 13-19.

- Bearden, H.J., Fuquay, J.W. and Williard, S.T. (2004). *Applied Animal Reproduction*. 6th ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey.
- Bhakat, M., Tushar, K.M., Ashok K.G. and Muzamil, A. (2014). Effect of Season on Semen Quality of Crossbreed (Karan Fries) Bull. *Animal and Veterinary Science*. 2 (11): 632-637.
- Burhan. (2013). Efektifitas Metode Kolom Albumen sebagai Medium Separasi untuk Mengubah Rasio Alamiah Spermatozoa Sapi Bali Pembawa Kromosom X dan Y pada Waktu Inkubasi Berbeda. *Tesis*. Fakultas Peternakan UNRAM. Mataram.
- Feradis. (2010). *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Alfabeta, Bandung.
- Garner, D.L. and Hafez, E.S.E. (2000). Spermatozoa and Seminal Plasma. *In Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lea and Febiger Publishing, Philadelphia.
- Hafez, B. and E.S.E. Hafez. (2000). *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Hamdan. (1999). Pengaruh Pemberian Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) terhadap Kualitas Semen dan Kadar Testosteron Serum Kambing Peranakan Ettawah. *Tesis*. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Handiwirawan, E. dan Subandriyo. (2004). Potensi dan Keragaman Sumberdaya Genetik Sapi Bali. *Wartazoa*. 14(3): 50.
- Haryani, R., Toleng, A. L., Sonjay, H. and Yusuf, M. (2016). Characteristic of Bali Bulls Sperms Assessed Using Computerized Assisted Semen Analysis (CASA). *Journal International of Sciences*. 28 (2): 161-168.
- Hasbi, H. dan Gustina. (2018). Regulasi Androgen dalam Spermatogenesis untuk

- Meningkatkan Fertilisasi Ternak Jantan. *Wartazoa*. 28 (1): 14-15.
- Herrera-Barragán, J.A., Carcoba-Pérez, S.A., Pérez-Rivero, J.J., Ávalos-Rodríguez, A., Vargas-Ibarra, A.K., Gual-Sill, F., dan López-Díaz, O. (2020). Testicular development induced by GnRH-IS in budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). *Anim. Reprod.* 17 (1): 1-7.
- Kartika, N.M.A. (2015). Proporsi dan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Hasil Separasi dalam Kolom Albumin BSA (*Bovine Serum Albumin*). *Ganec Swara*. 11 (2): 47-48.
- Kusuma, P.S.W., Marhendra, A.P.M., Aulan-ni'am, and Marsoedi. (2012). Mechanism of Gonadotropin Hormone Release in Catfish (*Clarias sp*) Upon Laserpuncture Exposure to Reproduction Acupoint. *International Journal of Science and Applied Science*. 12 (6): 177-182.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L. and Cox, M.M. (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman, New York.
- Mughniati, S., Sari, D.K., Rendrawan, D. dan Rahim, L. (2018). Pengaruh Ekstrak Biji Kapuk (*Ceiba pentandra gaertn*) sebagai Obat Kontrasepsi terhadap Kualitas Spermatozoa pada Kucing Lokal (*Felis domestica*). *Jurnal Riset Veteriner Indonesia*. 2 (1): 27-34.
- Rachmadi, A. (2008). Kadar Gula Darah dan Kadar Hormon Testosteron pada Pria Penderita *Diabetes Melitus*. *Tesis*. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rachmawati, L., Ismaya, dan Astuti, P. (2014). Korelasi antara Hormon Testosteron, Libido, dan Kualitas Sperma pada Kambing Bligon, Kejobong dan Peranakan Ettawah. *Peternakan*. 38 (1): 14.
- Rahmawati, M.A., Susilawati, T. dan Ihsan, M.N. (2015). Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku pada Bangsa Sapi dan Bulan Penampungan Yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 25 (3): 25-36.
- Ramsiyati, D.T., Sriyana. dan Bambang, S. (2004). Evaluasi Kualitas Semen Sapi Potong pada Berbagai Umur di Peternakan Raya. *Prosiding Temu Teknis Fungsional Nasional*. 82-87.
- Saili, T., Toelihere, M.R., Boediono, A. dan Tappa, B. (2000). Keefektifan Albumin sebagai Media Pemisah Spermatozoa Sapi Pembawa Kromosom X dan Y. *Jurnal Hayati*. 7 (4): 106-109.
- Sajjad, M., Ali, S., Akhter, S. and Ullah, N. (2007). Effect of *Gonadotropin Releasing Hormone* on Semen Characteristics in Nili-Ravi Buffalo Bulls. *Pakistan Veterinary Journal*. 27 (3): 153-154.
- Silbernagl, S. and Despopoulos, A. (2003). *Color Atlas of Physiology*. 6th ed. Thieme, New York.
- Siregar, T.N. dan Hamdan. (2007). *Teknologi Reproduksi pada Ternak*. Universitas Syiah Kuala. Banda Aceh.
- Sujoko, H., Setiadi, M.A. dan Boediono, A. (2009). Seleksi spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi *Gradien Densitas Percoll*. *Jurnal Veteriner*. 10 (3): 128-130.
- Susilawati, T. (2011). *Spermatologi*. Universitas Brawijaya Press, Malang.