

## **Penambahan Vitamin C Pada Pengencer Fosfat Kuning Telur Semen Kalkun Yang Disimpan Pada Suhu 5°C**

*(THE ADDITION OF VITAMIN C IN THE EGG YOLK PHOSPHATE DILUENT OF TURKEY SEMEN STORED AT 5°C)*

**I Gusti Ngurah Bagus Trilaksana<sup>1</sup>, Rinna Noviyati Ndun<sup>2</sup>, Wayan Bebas<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Reproduksi Veteriner Universitas Udayana

<sup>2</sup>Mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana

Jl. PB. Sudirman Denpasar-Bali

Email: *agunglaksana@unud.ac.id*

### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun pada pengencer fosfat kuning telur dengan penambahan berbagai konsentrasi vitamin C yang disimpan pada suhu 5°C. Semen berasal dari se ekor kalkun berumur satu setengah tahun. Semen di encerkan dengan pengencer fosfat kuning telur dan ditambahkan vitamin C dengan konsentrasi masing-masing 0 (tanpa vitamin C), 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, dan 0,3 mg/ml. Pengamatan dilakukan setiap 12 jam selama 72 jam, hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan vitamin C memberikan perbedaan nyata terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang disimpan pada suhu 5°C. Penambahan vitamin C dengan konsentrasi 0,3 mg/ml memberikan hasil terbaik dalam mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun setelah 72 jam. Kesimpulannya, penambahan vitamin C pada pengencer fosfat kuning telur mampu mempertahankan motilitas (69,07%) dan daya hidup (71,64%) sperma kalkun yang disimpan pada suhu 5°C.

Kata kunci: semen kalkun, vitamin C, motilitas, daya hidup

### **ABSTRACT**

The purposes of this research were to determine the motility and viability of turkey sperm on egg yolk phosphate diluent with the addition of various concentration of vitamin C stored at five degree of Celcius. The source semen from one and half years old turkey, semen diluted with egg yolk phosphate addition with vitamin C 0 mg/ml (without vitamin C), 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml and 0.3 mg/ml respectively. Observation was done every 12 hours for 72 hours. The results showed that addition of vitamin C significantly difference on motility and viability of turkey stored at 5°C. the addition of 0.3 mg/ml vitamin C gives the best results in maintaining motility and viability of turkey sperm after 72 hours. In Conclusion, the addition of 0.3 mg/ml vitamin C in egg yolk phosphate diluent able to maintain motility (69.07%) and viability (71.64%) turkey sperm stored at 5°C.

Keywords: turkey's semen, vitamin C, motility, viability

### **PENDAHULUAN**

Kalkun merupakan salah satu jenis aneka ternak yang mulai dikembangkan sebagai sumber protein hewani selain daging ayam dan daging sapi. Daging kalkun mempunyai keunggulan disamping dagingnya yang sangat lezat

juga berprotein tinggi, kandungan lemak dan kolestrolnya sangat rendah selain itu kandungan asam-oleat dan omega 6 yang cukup tinggi akan bermanfaat bagi kesehatan jantung, namun sampai saat ini daging kalkun masih sulit didapatkan karena populasinya masih sedikit, hal ini disebabkan karena budidaya kalkun di

Indonesia belum memasyarakat karena belum disosialisasikan dan masyarakat umumnya masih mengkonsumsi daging ayam dibandingkan daging kalkun (Yassin *et al.*, 2013).

Dalam perkembangannya, fertilitas telur dengan kawin alami pada kalkun sangatlah rendah dibandingkan dengan jenis ayam lainnya dikarenakan ukuran tubuh kalkun jantan lebih besar dari kalkun betina, maka dari itu dalam pengembangbiakan kalkun diperlukan bantuan teknologi untuk dapat meningkatkan fertilitasnya yaitu dengan menggunakan teknik inseminasi buatan. Dalam meningkatkan produktivitas kalkun dapat dilakukan dengan cara menyediakan bibit unggul yaitu dengan melakukan inseminasi buatan. Inseminasi buatan merupakan suatu bioteknologi di bidang reproduksi yang bertujuan untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak secara kuantitatif dan kualitatif (Toelihere, 1985)

Pada teknik inseminasi buatan, penampungan semen bertujuan agar memperoleh semen yang volumenya banyak dan kualitasnya baik untuk diproses lebih lanjut. Untuk ternak unggas metode pengurutan atau pemijatan merupakan satu-satunya metode penampungan yang paling baik hasilnya. Menurut Gilbert (1980), spermatozoa pada unggas berbentuk *filiformis*. Kepala spermatozoa terdiri dari nukleous dan bagian atasnya tertutup oleh akrosom yang berbentuk kerucut sedikit melengkung. Ekor spermatozoa terdiri dari leher, bagian tengah, bagian utama dan ujung. Faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas semen diantaranya adalah sifat-sifat fisik dan kimia bahan pengencer (pH, tekanan osmose, elektrolit yang terkandung), kadar pengencer, cahaya, suhu, dan lama penyimpanan (Toelihere, 1993). Pada proses penyimpanan semen selain terjadi kejutan dingin, juga terjadi kerentanan spermatozoa terhadap peroksidasi lipid.

Fosfolipid membran plasma sel spermatozoa mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas dan merangsang terjadinya reaksi autokatalitik yang akan merusak ikatan gandanya. Peroksidasi lipid berperan utama dalam proses penuaan, menurunkan motilitas dan memperpendek daya hidup spermatozoa (Maxwell dan Watson, 1996).

Keberhasilan inseminasi buatan (IB) pada ternak unggas tidak hanya tergantung pada kualitas dan kuantitas semen yang di ejakulasi oleh seekor pejantan, tetapi tergantung juga pada kesanggupan untuk mempertahankan kualitas dan memperbanyak volume semen tersebut untuk lebih lama setelah ejakulasi sehingga lebih banyak betina akseptor yang akan diinseminasi. Usaha untuk mempertahankan kualitas dan memperbanyak hasil sebuah ejakulasi dari jantan unggul dengan cara melakukan penampungan, pengenceran, dan penyimpanan semen pada suhu dingin. Selama proses penampungan, pengenceran, dan penyimpanan semen, spermatozoa tetap melakukan aktivitas metabolisme yang dapat menghasilkan radikal bebas yang berdampak negatif terhadap kualitas dan daya hidup spermatozoa. Untuk meminimalkan kerusakan sel spermatozoa akibat pengaruh radikal bebas dapat dilakukan dengan menambahkan suatu zat antioksidan ke dalam zat pengencer semen.

Salah satu pengencer semen yang umum digunakan adalah fosfat kuning telur. Pengencer harus dapat menyediakan nutrisi bagi kebutuhan spermatozoa selama penyimpanan dan sperma dapat bergerak secara progresif, tidak bersifat racun bagi sperma, melindungi spermatozoa terhadap *cold shock*, sebagai buffer atau penyangga untuk mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit serta

mengandung antibiotik yang dapat mengurangi pertumbuhan bakteri. Khasiat kuning telur terletak pada kemampuannya mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein sel spermatozoa (Toelihere, 1985).

Vitamin C merupakan salah satu antioksidan yang memainkan peran penting mengurangi radikal bebas serta berperan penting sebagai antioksidan yang secara terus menerus akan bertindak sebagai *scavenger* (penyapu/penyangkal) terhadap radikal bebas yang terbentuk sehingga memungkinkan tidak terjadi gangguan terhadap fungsi sel. Vitamin C mempunyai sifat polaritas sehingga dapat bereaksi dengan radikal bebas. Sebagai zat anti radikal bebas. Vitamin C mampu menetralkan dan bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida serta mencegah aglutinasi spermatozoa (Suhartono *et al.*, 2007).

Vitamin C merupakan antioksidan alamiah yang terdapat dalam berbagai jenis buah-buahan dan sayuran. Bentuk vitamin C yang ada di alam adalah L-asam askorbat, sebagai antioksidan asam askorbat digolongkan sebagai agen pereduksi karena memiliki potensial redoks yang rendah akan tetapi juga efektif melawan agen oksidasi. Asam askorbat dapat memutuskan reaksi radikal yang dihasilkan oleh perperoksidasi dimana asam askorbat bereaksi secara langsung pada fase cair dengan radikal bebas berubah menjadi askorbat aktif sedikit reaktif (Padayatti *et al.*, 2003)

Penelitian yang dilakukan Aslam *et al.* (2012) mendapatkan bahwa pemberian vitamin C dengan dosis 0,5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml dalam penambahan vitamin C dalam medium pengencer Andromed® berpengaruh terhadap persentase motilitas dan membran plasma utuh spermatozoa sapi aceh. Setelah proses pembekuan menunjukkan adanya pengaruh vitamin C

sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas sehingga dapat meminimalkan kerusakan pada membran spermatozoa dan dapat mempertahankan kualitas semen. Penelitian yang dilakukan Sing *et al.* (1996) mendapatkan bahwa efek penambahan vitamin C pada semen beku kerbau yang telah diencerkan menghasilkan kualitas yang lebih baik dibandingkan dengan semen tanpa vitamin C. Selain itu, beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan vitamin C pada pengencer berbagai spesies hewan seperti semen ayam kampung, semen *domba merino* dan semen beku sapi Bali (Savitri, 2010).

Berdasarkan pertimbangan di atas, maka penelitian ini akan mengkaji mengenai efektivitas penambahan vitamin C pada bahan pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang disimpan pada suhu 5°C.

## METODE PENELITIAN

### Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan seekor kalkun jantan dengan umur satu setengah tahun sebagai sumber semen. Sebelum dilakukan penampungan semen dilakukan adaptasi terhadap kalkun terlebih dahulu selama satu minggu.

### Metode Penelitian

Penampungan semen dilakukan dengan metode pemijatan, setelah dilakukan penampungan semen, kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, konsistensi, dan pH sedangkan pemeriksaan secara mikroskopis meliputi gerakan massa, konsentrasi, motilitas, dan persentase hidup atau mati (Hafez, 2000). Pembuatan pengencer fosfat kuning telur dilakukan dengan cara

melarutkan 1 tablet buffer fosfat kedalam 100 ml aquadestilata dan dipasteurisasi di atas kompor listrik selama 10 menit dan di aduk agar homogeny, kemudian dicampurkan dengan kuning telur yang telah dicampur dengan PBS dengan konsentrasi 20%. Kemudian ditambahkan antibiotik kanamycin ke dalam bahan pengencer fosfat kuning telur untuk melindungi spermatozoa dari kontaminasi mikroorganisme. Pencampuran fosfat kuning telur dengan vitamin C untuk mendapatkan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml dilakukan dengan menambahkan masing-masing 10 mg, 20 mg, dan 30 mg vitamin C kedalam 100 ml pengencer fosfat kuning telur lalu dihomogenkan. Kemudian pengenceran semen dilakukan dengan memasukkan semen ke dalam bahan pengencer kemudian semen yang telah diencerkan disimpan pada 5°C dan dilakukan pengamatan terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa pada masing-masing pengencer dalam waktu nol jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam, 72 jam.

Pengamatan terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa dilakukan setiap 12 jam sampai motilitasnya 40% dan daya hidup spermatozoa di bawah 45%. Pengamatan terhadap motilitas dilakukan dengan menghomogenkan semen terlebih

dahulu lalu ditetaskan di atas *object glass* dan ditutup dengan *cover glass* selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop untuk melihat jumlah spermatozoa yang bergerak. Sedangkan pengamatan terhadap daya hidup spermatozoa dilakukan dengan pewarnaan eosin sitrat dengan cara semen diambil dan ditetaskan satu tetes pada *object glass* kemudian ditetaskan pewarna eosin sitrat sebanyak satu tetes selanjutnya dibuat preparat hapus dan dianginkan sampai kering. Kemudian preparat diperiksa di bawah mikroskop untuk menghitung jumlah spermatozoa yang masih hidup.

### Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan uji statistik menggunakan *General Linear Model (Multivariate)*. Apabila perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian penambahan vitamin C pada pengencer fosfat kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang disimpan pada 5°C dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Rerata persentase motilitas spermatozoa kalkun dengan penambahan vitamin C pada pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 5°C

Waktu Pengamatan	Motilitas spermatozoa (%)			
	Kontrol	Vit C 0,1 mg/ml	Vit C 0,2 mg/ml	Vit C 0,3mg/ml
0 jam	85,00 ± 0,00	85,00 ± 0,00	85,00 ± 0,00	85,00 ± 0,00
12 jam	80,00 ± 0,00	71,33 ± 5,04	72,00 ± 5,36	77,00 ± 5,31
24 jam	72,00 ± 0,00	70,17 ± 5,34	71,06 ± 5,36	71,50 ± 5,61
36 jam	64,00 ± 0,00	67,33 ± 5,57	63,00 ± 8,14	67,00 ± 8,46
48 jam	56,00 ± 0,00	61,83 ± 7,38	60,83 ± 7,33	62,17 ± 5,94
60 jam	47,50 ± 0,54	57,67 ± 7,96	59,00 ± 7,87	58,83 ± 5,94
72 jam	34,00 ± 4,38	43,00 ± 8,60	51,00 ± 10,08	53,83 ± 11,05

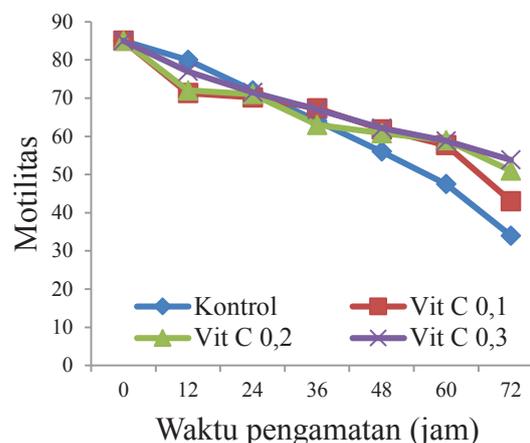
Penggunaan bahan pengencer kuning telur fosfat untuk keperluan IB jangka panjang selama penyimpanan berfungsi

sebagai sumber energi bagi spermatozoa, sebagai agen pelindung terjadinya kejutan dingin, dan juga sebagai

penyangga (*buffer*). Disamping bahan pengencer, penyimpanan pada suhu dingin (5°C) diperlukan agar spermatozoa dapat disimpan lebih lama (Rizal, 2005). Penyimpanan semen pada suhu dingin dapat menyebabkan kejutan dingin yang dapat merusak membran plasma sel dan mengakibatkan kematian pada spermatozoa (Souhoka et al., 2009). Asam arkobat merupakan senyawa yang dapat berperan sebagai krioprotektan ekstraseluler yang berfungsi melindungi membran plasma sel dari kerusakan.

Disamping sebagai krioprotektan ekstraseluler, asam arkobat juga dapat berfungsi sebagai sumber energi cadangan bagi spermatozoa. Dimana dalam proses penyimpanan pada suhu dingin proses metabolisme spermatozoa akan tetap berlangsung meskipun terjadi penurunan metabolisme, sehingga spermatozoa akan selalu membutuhkan energi untuk dapat bermetabolisme selama proses penyimpanan. Hal tersebut menyebabkan lama waktu penyimpanan berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa. Selain sebagai sumber energi fruktosa diduga mampu mempertahankan tekanan osmotik dari larutan pengencer serta mempertahankan integritas membran plasma utuh (Maxwell dan Salamon, 1993).

Selain penambahan vitamin C integritas membran dapat pula dipertahankan dengan menambahkan fosfat kuning telur pada pengencer karena dalam kuning telur terdapat lipoprotein dan lesitin yang dapat melapisi membran plasma sel sehingga mampu mempertahankan dan melindungi integritas selubung lipoprotein spermatozoa dan melindunginya dari cekaman dingin (Sumarsono, 1998). Grafik persentase motilitas spermatozoa kalkun pada pengencer fosfat kuning telur dengan penambahan vitamin C yang disimpan pada suhu 5°C dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Persentase motilitas spermatozoa kalkun

Tabel 2. Rerata persentase daya hidup spermatozoa kalkun dengan penambahan vitamin C pada pengencer fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 5°C

Waktu Pengamatan	Daya hidup spermatozoa (%)			
	Kontrol	Vit C 0,1 mg/ml	Vit C 0,2 mg/ml	Vit C 0,3mg/ml
0 jam	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00	90,00 ± 0,00
12 jam	84,00 ± 0,00	73,67 ± 7,76	76,17 ± 6,61	77,50 ± 6,53
24 jam	71,33 ± 1,03	70,33 ± 7,20	74,33 ± 5,68	75,83 ± 6,40
36 jam	66,67 ± 0,51	70,17 ± 4,02	72,33 ± 5,27	72,67 ± 6,56
48 jam	56,83 ± 1,97	65,33 ± 5,61	66,00 ± 6,35	68,00 ± 7,07
60 jam	52,67 ± 6,08	58,67 ± 8,26	60,67 ± 8,09	64,87 ± 8,10
72 jam	39,50 ± 5,24	49,17 ± 12,54	49,50 ± 11,87	52,83 ± 11,28

Selama proses pengenceran dan penyimpanan semen untuk kepentingan

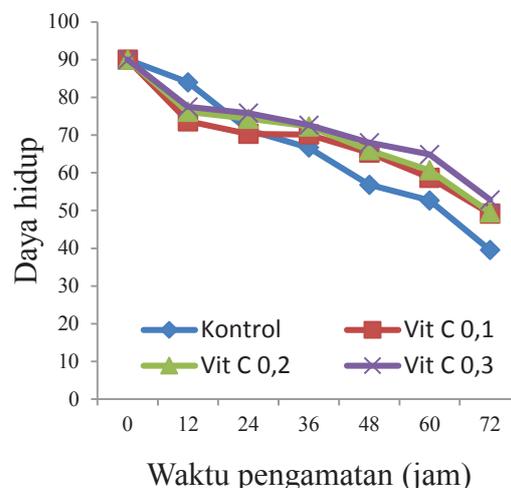
inseminasi buatan (IB), metabolisme spermatozoa terus berlangsung karena

ada kontak antara oksigen dan spermatozoa yang menghasilkan energi dan radikal bebas, dimana radikal dapat menyebabkan kerusakan membran plasma. Upaya untuk menghambat peroksidasi lipid pada membran plasma yang dapat menyebabkan kerusakan sel yang ditimbulkan oleh radikal bebas, diperlukan penambahan senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas ke dalam pengencer semen (Sing *et al.*, 1996).

Beberapa antioksidan yang dapat digunakan untuk menghambat radikal bebas adalah astaxanthin, glukosa, madu, vitamin C dan vitamin E. salah satu antioksidan yang dapat digunakan adalah vitamin C. Menurut Maxwell dan Watson (1996), vitamin C merupakan senyawa mudah larut dalam air dan memiliki kemampuan sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel. Sumarsono (1998) menyatakan bahwa penambahan antioksidan vitamin C dengan dosis 1,5 mM memberikan hasil terbaik untuk meningkatkan kualitas spermatozoa kerbau lumpur dimana pada proses pengenceran semen yang ditambahkan vitamin C membantu meminimalkan rusaknya spermatozoa yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Grafik persentase daya hidup spermatozoa kalkun pada pengencer fosfat kuning telur dengan penambahan vitamin C yang disimpan pada suhu 5°C dilihat pada Gambar 2.

Hasil pengujian statistik menggunakan uji *General Linear Model (Multivariate)* menunjukkan bahwa penambahan vitamin C memberikan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang disimpan pada suhu 5°C, kemudian dengan gambaran grafik motilitas dan daya hidup spermatozoa diatas menunjukkan bahwa penambahan vitamin C dengan konsentrasi 0,3 mg/ml memberikan hasil terbaik dalam

mempertahankan kualitas spermatozoa kalkun hingga penyimpanan 5°C.



Gambar 2. Persentase daya hidup spermatozoa kalkun

Dalam penelitian ini digunakan antioksidan vitamin C dan diperoleh hasil bahwa penambahan vitamin C ( $P < 0,05$ ) ke dalam bahan pengencer dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun, semakin tinggi konsentrasi vitamin C yang digunakan maka motilitas dan daya hidup spermatozoa makin tinggi (Tabel 1 dan 2). Lama penyimpanan spermatozoa juga berpengaruh terhadap motilitas dan daya hidup. Penurunan motilitas dan daya hidup sejalan dengan lamanya penyimpanan, hal ini disebabkan karena penyimpanan pada suhu dingin 5°C metabolisme spermatozoa masih tetap berlangsung, sehingga reaksi oksidasi juga akan tetap berlangsung.

Perlakuan penambahan vitamin C dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, dan 0,3 mg/ml memiliki perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) yaitu menunjukkan kemampuan untuk mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun yang diencerkan dengan fosfat kuning telur yang disimpan pada suhu 5°C, namun penggunaan vitamin C dengan konsentrasi 0,3 mg/ml adalah dosis terbaik. Hal ini terbukti bahwa

konsentrasi vitamin C sebanyak 0,3 mg/ml memberikan pengaruh yang baik dalam mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun.

Pemberian antioksidan yang tepat memberikan hasil yang maksimal untuk mencegah peroksidasi lipid pada membran sel spermatozoa dengan cara memutus atau mencegah reaksi rantai peroksidasi lipid pada membran plasma sel, sehingga mengurangi kerusakan yang terjadi pada membran plasma selama proses pengenceran dan penyimpanan semen pada suhu dingin.

Membran plasma yang utuh akan menghasilkan proses metabolisme berjalan dengan baik, sehingga produksi energi berupa ATP tidak terganggu yang berakibat dapat mempertahankan motilitas dan daya hidup spermatozoa kalkun karena antioksidan vitamin C dengan dosis tersebut berkerja optimal untuk melindungi membran sel spermatozoa.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, dapat disimpulkan bahwa penambahan antioksidan vitamin C dengan dosis 0,3 mg/ml pada pengencer fosfat kuning telur merupakan dosis terbaik yang dapat digunakan mempertahankan kualitas spermatozoa kalkun yang disimpan pada suhu 5°C, serta lama penyimpanan berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa, semakin lama disimpan maka kualitas spermatozoa semakin menurun.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap fertilitas dan daya tetas telur yang dihasilkan oleh semen yang telah

diencerkan dengan menggunakan penambahan vitamin C.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih Dekan Fakultas Kedokteran Hewan dan Kepada Laboratorium Reproduksi Veteriner Universitas Udayana yang telah memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aslam HA, Dasrul, Rosmaidar. 2014. Pengaruh penambahan vitamin C dalam pengencer andromed® terhadap persentase motilitas dan membran plasma utuh spermatozoa sapi aceh setelah pembekuan. *J Med Vet*, 8(1): 20-26.
- Gilbert AB. 1980. *Poultry In: Reproduction in farm animals*. Hafez ESE (Ed). 4<sup>th</sup> Ed Lea and Febiger, Philadelphia. Pp 423-446.
- Hafez ESE. 2000. *Reproduction in farm animal*. 7<sup>th</sup> Ed. Lippincott Williams & Wilkins. Maryland. USA.
- Maxwell WMC, Watson PF. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *J Anim Reprod Sci*, 42:55-65.
- Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, 2003. Vitamin C as an antioxidant, evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr*, 22(1): 18-35.
- Rizal M. 2005. Efektivitas berbagai konsentrasi  $\beta$ -karoten terhadap kualitas semen beku domba garut. *Anim Prod*, 7(1): 6-13.
- Savitri FK. 2014. Kualitas semen bekusapi bali dengan penambahan berbagai dosis vitamin c pada bahan pengencer skim kuning telur. *J Ilmiah Pertenakan Terpadu*, 2(3): 30-36.

- Sing B, Chand D, Sing P, Yadrin N. 1996. effect of vitamin C addition to the diluent on the quality of deep frozen murreh buffalo bull (bubalus bubalis) semen. *Int J Anim Sci*, 11: 131-132.
- Souhoka DF, Matatula M, Mesang-Nalley WM, Rizal M. 2009. Laktosa mempertahankan daya hidup spermatozoa kambing peranakan etawah yang dipreservasi dengan plasma semen domba priangan. *J Vet*, 10(3): 135-142.
- Suhartono E, Fachir H, Setiawan B. 2007. *Kapita sketsa biokimia oksidatif dasar dan penyakit*. Universitas Lambung Mangkurat: Pustaka Benua. Banjarmasin
- Sumarsono T. 1998. Peningkatan kualitas spermatozoa kerbau lumpur dengan penambahan asam askorbat dalam pengencer semen beku. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Toelihere MR. 1985. *Inseminasi buatan pada ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere MR. 1993. *Fisiologi reproduksi pada ternak*. Angkasa, Bandung.
- Yassin OE , Gibril S, Hassan AHA, Bushara BA. 2013. A study on turkey (meleagris gallopavo) raising in the Sudan. *J of Applied and Industrial Sci*, 1(4): 11-15.