

**PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK TEH HIJAU (*Camellia sinensis*)
DALAM BAHAN PENGECER SUSU SKIM TERHADAP KUALITAS
SPERMATOZOA DOMBA SAPUDI YANG DISIMPAN
PADA SUHU DINGIN**

**THE INFLUENCE OF ADDITION OF GREEN TEA (*Camellia sinensis*)
EXTRACT IN DILUENT SKIM MILK FOR SPERM QUALITY
SHEEP SAPUDI STORED AT A COOL TEMPERATURE**

**Maulinda Agchirilia Vladika¹⁾, Sunaryo Hadi Warsito²⁾, *Suherni Susilowati³⁾,
Tatik Hernawati⁴⁾, Rochmah Kurnijasanti⁵⁾, Tjuk Imam Restiadi⁶⁾**

¹⁾Student, ²⁾Departement of Livestock, ^{3,4,6)}Departement of Veterinary Reproduction,
⁵⁾Departement of Veterinary Basic Medical Science

Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga

*Corresponding author: email: suhernifkhunair@gmail.com; maulindaav88@gmail.com

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect and the best concentration of green tea extract in skim milk diluent for motility, viability, and intact plasma membrane Sapudi sheep spermatozoa that was stored 5°C. The semen was divided into four groups: skim milk diluent; 0,05 mg green tea extract in skim milk diluent; 0,10 mg green tea in skim milk diluent and 0,15 mg green tea extract in skim milk diluent. Spermatozoa quality was observed first day until fifth day after diluent. The data obtained was analyzed with the analysis of variance *one way* ANOVA. The result showed that the percentage of motility, viability and intact plasma membrane spermatozoa at the 5th day after diluent showed a significant difference ($p < 0,05$) between 0,05 mg green tea extract in skim milk diluent; 0,10 mg green tea in skim milk diluent and 0,15 mg green tea extract in skim milk diluent. Motility at the 3th day after diluent respectively $46,67^b \pm 2,582$; $43,33^{bc} \pm 4,028$; $40,00^{ab} \pm 3,162$; and $37,50^a \pm 2,739$. Viability at the 3th day after diluent respectively are $79,50^b \pm 1,643$; $77,67^b \pm 3,327$; $77,00^{ab} \pm 3,230$; and $73,83^a \pm 3,061$. Intact plasma membrane at the 3th day after diluent respectively are $50,17^b \pm 2,483$; $47,00^{ab} \pm 3,899$; $46,83^{ab} \pm 2,858$; and $46,00^a \pm 3,286$. The conclusion of this study was the green tea extract of 0,05 mg in milk skim diluent could increase the percentage of sperm quality until 5th day after diluent.

Keywords : milk skim, green tea extract, sperm quality, Sapudi sheep.

Pendahuluan

Pemeliharaan ternak domba di Indonesia masih dilakukan secara tradisional, hal ini dikarenakan terbatasnya pejantan unggul sehingga menyebabkan hasil produktivitas dan reproduktivitas dari domba menjadi tidak maksimal (Asia, 2015). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan populasi dan produksi ternak adalah melalui penerapan bioteknologi reproduksi yaitu Inseminasi Buatan (IB) (Rizal dan Herdis, 2008). Melalui teknologi IB, potensi domba pejantan unggul dapat dioptimalkan karena semen yang diperoleh dari pejantan unggul dapat diolah sehingga lebih banyak jumlah domba betina yang dapat dikawinkan (Herdis, 2005).

Keberhasilan IB dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kualitas bahan yang digunakan untuk pengencer semen. Pengencer semen berfungsi mempertahankan kehidupan dan motilitas spermatozoa selama proses penyimpanan (Toelihere, 1993). Salah satu bahan pengencer adalah susu skim (Susilowati dkk., 2010). Susu skim merupakan bahan pengencer yang banyak digunakan karena susu dapat melindungi spermatozoa dari kejutan dingin dengan daya pelindung berupa lipoprotein dan lesitin yang bekerja pada selubung sel spermatozoa selain itu susu skim juga mengandung glukosa, protein, dan vitamin yang larut dalam lemak yang menguntungkan bagi spermatozoa, sehingga diperlukan

pada semen cair yang disimpan pada suhu dingin yaitu 5°C (Djanuar, 1985).

Kualitas spermatozoa dapat menurun akibat faktor stres, antara lain adalah radiasi panas, radiasi sinar gamma, radiasi sinar ultra violet, racun, dan adanya polutan (Kohen *and* Nyska, 2002). Kerusakan struktur spermatozoa disebabkan karena tidak ada atau berkurangnya antioksidan di dalam tubuh yang mempertahankan keadaan normal sel dari adanya prooksidan atau radikal bebas, yang dapat menyebabkan membran sel dan DNA dari spermatozoa mengalami kerusakan sel (Hartadi, 2015). Antioksidan dapat diperoleh dari alam seperti flavanoid, vitamin C, beta karoten, dan lain-lain yang efektif dan relatif aman (Bahriul dkk., 2014). Antioksidan yang menarik perhatian peneliti dalam penelitian ini adalah vitamin C, vitamin E, dan flavonoid. Seluruh kandungan tersebut dapat diperoleh dari ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*), teh hijau mengandung komponen bioaktif yaitu polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Flavonoid yang merupakan golongan terbesar dari polifenol yang juga sangat efektif sebagai antioksidan (Kusmiyati dkk., 2015).

Materi Dan Metode

Sampel dan Besaran Sampel

Sampel yang digunakan dari penelitian ini adalah semen dari domba Sapudi jantan, secara klinis dinyatakan sehat dengan mempunyai alat kelamin normal dan mempunyai libido yang baik. Domba yang digunakan adalah satu ekor domba Sapudi jantan dan satu ekor domba Sapudi betina yang digunakan sebagai pemancing agar libido domba Sapudi jantan meningkat maksimal dan pengambilan semennya dapat berjalan dengan lancar.

Cara Pembuatan Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

Ekstrak daun teh hijau diperoleh dari daun teh kering yang didapatkan dari Bandung, Jawa Barat yang diekstraksi dengan cara maserasi dalam pelarut etanol untuk mendapatkan hasil ekstrak cair dan kental, setelah itu untuk mendapatkan hasil yang padat dilakukan proses pengeringan beku (*freeze dry*).

Pembuatan Susu Skim

Prosedur pembuatan susu skim yaitu susu skim bubuk 10 gram dimasukan ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan aquadest 100 ml, diaduk hingga homogen dan dipanaskan diatas penangas sampai suhu 92-95°C selama 10 menit. Air susu tersebut didinginkan hingga suhu kamar (20-27°C) sampai 32°C dan sesuai dengan suhu semen yang akan diencerkan. Kemudian kepala susu dibuang, bila ada disaring menggunakan kain kasa (Susilowati dkk., 2010).

Prosedur Pengenceran Semen

Semen segar yang telah diperiksa secara makroskopis dan mikroskopis dibagi menjadi empat (satu sebagai kontrol dan tiga sebagai perlakuan). Masing-masing semen ditambah ke dalam pengencer dengan perbandingan 1:10. Perlakuan empat pengencer tersebut adalah sebagai berikut:

- (P0) : Semen domba Sapudi + susu skim
- (P1) : Semen domba Sapudi + susu skim + 0,05 mg ekstrak teh hijau.
- (P2) : Semen domba Sapudi + susu skim + 0,10 mg ekstrak teh hijau.
- (P3) : Semen domba Sapudi + susu skim + 0,15 mg ekstrak teh hijau.

Derajat keasaman (pH) dari setiap perlakuan diukur sebelum dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup rapat. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berisi air bersih dan disimpan di dalam lemari es (refrigerator) yang bersuhu 5°C. Masing-masing perlakuan dievaluasi kualitasnya setiap hari selama 5 hari hingga persentase motilitas spermatozoa progresif $\leq 40\%$. Pemeriksaan dilakukan untuk mengetahui persentase motilitas, viabilitas dan integritas membran plasma spermatozoa.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di eks Laboratorium Inseminasi Buatan Departemen Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Unversitas Airlangga, Surabaya. Pembuatan ekstrak teh hijau dilakukan di eks Laboratorium Farmakologi Departemen Kedokteran Dasar Veteriner dan untuk penampungan semen dilakukan di kandang hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan, mulai bulan April-Mei 2018.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan penelitian meliputi : semen domba Sapudi, bubuk susu skim, daun teh hijau kering, etanol 96%, penisilin 3.000.000 IU, streptomycin sulfat 1 gram, larutan pewarna *eosin-negrosin*, NaCl fisiologis, Na sitrat, fruktosa, aquades, alkohol 70%, vaselin, dan air hangat.

Alat-alat penelitiannya meliputi : alat pengambilan semen menggunakan sepe-rangkat vagina buatan lengkap dengan tabung berskala, termos merk lion star , *waterbath*, termometer skala 0-100°C, gelas ukur, gelas beker, erlenmeyer, kertas pH indikator universal, rak tabung, tabung reaksi, gelas objek, gelas penutup, pemanas bunsen, pengaduk, pipet pasteur, *sput tuberculin* 1 ml, mikroskop elektrik Nikon Eclipse E100, timbangan mikro, kertas saring, aluminium foil, kertas label, kasa penyaring, *cooltop*, *ekstrator shaker*, alat saring filtrate, *rotary evaporator*, korek api, panci, kompor.

Pengolahan Data

Semua perolehan data yang terdiri dari data persentase motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran plasma spermatozoa disusun dalam bentuk tabel, kemudian Dianalisis dengan uji Anova satu arah, bila terjadi perbedaan yang bermakna pada perlakuan maka dilakukan uji lanjutan menggunakan uji jarak Duncan (Kusriningrum, 2012). Perhitungan statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS 22 *for windows*.

Hasil Dan Pembahasan Penelitian

1. Motilitas Spermatozoa Domba Sapudi

Pada tabel 1 kelompok perlakuan yang ditambahkan ekstrak teh hijau dengan konsentrasi (P1) 0,05 mg; (P2) 0,10mg; (P3) 0,15 mg masih menunjukkan persentase

motilitas di atas 40% (layak untuk inseminasi) hingga hari ketiga, hal tersebut dikarenakan pada pengencer ini terdapat tambahan ekstrak teh hijau yang mengandung beberapa substansi yang tidak ada pada susu skim diantaranya alkaloid, saponin, tanin, katekin polifenol, 15-20% protein, dan 1-4% asam amino seperti tanin, asam glutamat, triptopan, *glycine*, serin, tirosin, valin, *leucine*, theronin dan arginin, selain itu juga terdapat unsur karbohidrat seperti selulose, glukosa, pektin, fruktosa dan sukrosa (Cabrera dkk., 2006). Tingginya persentase pengenceran yang ditambahkan ekstrak teh hijau dikarenakan adanya kandungan fruktosa di dalam teh hijau dapat digunakan spermatozoa sebagai tambahan sumber energi. Selain itu teh hijau juga mengandung beberapa jenis vitamin diantaranya adalah vitamin A, B1, B2, B3, B5, C, E, serta K (Towaha dan Balitri, 2013). Vitamin C dan E yang merupakan antioksidan yang mampu menetralsir radikal bebas. Menurut Supari (1996) yang dikutip oleh Astuti (2008), radikal bebas dapat terbentuk melalui dua cara, yaitu yang pertama secara endogen, sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh, dalam sel (intrasel) maupun ekstrasel dan yang kedua secara eksogen, radikal bebas ini didapat dari polutan lingkungan seperti asap rokok, obat-obatan, dan radiasi ionisasi atau sinar ultraviolet. Radikal bebas dapat menurunkan kualitas semen yang salah satunya adalah motilitas spermatozoa (Sundari dkk., 2009).

2. Viabilitas Spermatozoa Domba Sapudi

Pada tabel 2 hasil rata-rata menunjukkan bahwa hasil persentase viabilitas yang paling baik adalah kelompok P1 dibandingkan kelompok P2, P3 dan P0, karena terdapat tambahan ekstrak teh hijau dengan kon-

Tabel 1. Rata-Rata dan Standar Deviasi Persentase Motilitas Spermatozoa Domba Sapudi Setelah Perlakuan

	Hari 1 (%)	Hari 2 (%)	Hari 3 (%)	Hari 4 (%)	Hari 5 (%)
P0	81,67 ^b ±4,08	66,67 ^a ±2,58	37,50 ^a ±2,73	5,00 ^a ±0,00	0,00 ^a ±0,00
P1	82,50 ^b ±2,73	71,67 ^b ±2,58	46,67 ^c ±2,58	7,50 ^a ±2,73	2,50 ^a ±2,73
P2	82,50 ^b ±2,73	73,33 ^b ±2,58	40,00 ^{ab} ±3,16	6,67 ^a ±2,58	1,67 ^a ±2,58
P3	77,50 ^a ±2,73	68,33 ^a ±2,58	43,33 ^{bc} ±4,02	5,83 ^a ±2,04	0,83 ^a ±2,04

Tabel 2. Rata-Rata dan Standar Deviasi Persentase Viabilitas Spermatozoa Domba Sapudi Setelah Perlakuan

	Hari 1 (%)	Hari 2 (%)	Hari 3 (%)	Hari 4 (%)	Hari 5 (%)
P0	88,17 ^{ab} ±2,31	84,17 ^a ±3,18	73,83 ^a ±3,06	42,83 ^a ±2,92	30,67 ^a ±3,77
P1	89,17 ^b ±1,72	85,50 ^a ±3,93	79,50 ^b ±1,64	47,83 ^{ab} ±4,62	30,67 ^a ±3,77
P2	88,00 ^{ab} ±2,75	85,17 ^a ±3,01	77,67 ^b ±3,32	46,00 ^{ab} ±4,98	32,50 ^a ±3,56
P3	85,67 ^a ±1,75	83,33 ^a ±1,21	77,00 ^{ab} ±3,23	49,33 ^b ±3,77	29,33 ^a ±3,32

Tabel 3. Rata-Rata dan Standar Deviasi Persentase Keutuhan Membran Plasma Domba Sapudi Setelah Perlakuan

	Hari 1 (%)	Hari 2 (%)	Hari 3 (%)	Hari 4 (%)	Hari 5 (%)
P0	55,17 ^a ±1,94	51,50 ^a ±1,37	46,83 ^{ab} ±2,85	34,67 ^a ±2,16	16,00 ^a ±2,68
P1	57,50 ^a ±2,42	54,67 ^b ±2,58	50,17 ^b ±2,48	36,67 ^a ±3,14	18,33 ^a ±3,26
P2	67,50 ^a ±1,64	53,67 ^{ab} ±1,03	47,00 ^{ab} ±3,89	37,17 ^a ±1,47	19,00 ^a ±2,75
P3	57,33 ^a ±1,03	53,17 ^{ab} ±2,48	46,00 ^a ±3,28	36,17 ^a ±2,48	18,67 ^a ±2,33

sentraasi 0,05 mg yang mengandung beberapa substansi yang tidak ada pada susu skim diantaranya alkaloid, saponin, tanin, katekin polifenol, 15-20% protein, dan 1-4% asam amino seperti tanin, asam glutamat, triptopan, *glycine*, serin, tirosin, valin, *leucine*, theronin dan arginin, selain itu juga terdapat unsur karbohidrat seperti selulose, glukosa, pektin, fruktosa dan sukrosa (Cabrera dkk., 2006). Fruktosa merupakan bahan organik yang dapat dipakai secara langsung maupun tidak langsung oleh spermatozoa sebagai sumber energi untuk kelangsungan hidup spermatozoa dan motilitas spermatozoa (Toelihere, 1993). Selain itu teh hijau juga mengandung vitamin C dan E yang bersifat sebagai antioksidan yang mampu menghambat penurunan kualitas spermatozoa akibat paparan radikal bebas (Sundari dkk., 2009). Radikal bebas yang menyebabkan penurunan kualitas sperma pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh faktor makanan domba yang mengandung racun, paparan sinar ultra violet pada saat pengambilan semen, *cold shock*, polutan, dan peroksidasi lipid. Menurut Pursel (1979) yang dikutip oleh Feradis (2009) peroksidasi lipid dapat meningkat disebabkan oleh cekaman dingin, pada penelitian ini cekaman dingin terjadi akibat faktor penyimpanan semen yaitu disimpan pada suhu 5°C. Menurut Toelihere (1985) persentase viabilitas spermatozoa biasanya 10% lebih tinggi daripada persentase motilitas, hal ini dibuktikan dari penelitian ini yang menunjukkan hasil persentase viabilitas lebih tinggi dari motilitas.

3. Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Domba Sapudi

Persentase keutuhan membran spermatozoa berdasarkan rata-rata hasil yang ada pada tabel 3 dapat diartikan bahwa P1 memiliki rata-rata keutuhan membran plasma paling tinggi diantara P2, P3 dan P0. Tingginya persentase keutuhan membran plasma pada kelompok perlakuan ekstrak teh hijau 0,05 mg kemungkinan karena dalam ekstrak teh hijau mengandung vitamin C, vitamin E, dan flavanoid yang bersifat sebagai antioksidan.

Menurut Maxwell dan Watson, (1996) yang diikuti oleh Trilaksana dkk. (2015) Vitamin C merupakan senyawa mudah larut dalam air dan memiliki kemampuan sebagai penghambat radikal bebas, maka perannya sangat penting dalam menjaga keutuhan membran plasma sel. Selain itu teh hijau juga mengandung vitamin E, vitamin E yang diberikan secara *in vitro* mampu melindungi membran sel melawan peroksidasi lipid dengan cara mengkap radikal bebas (Beconi *et al.*, 1993 yang dikutip oleh Hartono, 2008). Sedangkan flavanoid memiliki fungsi untuk menghambat terbentuknya radikal bebas karena bersifat sebagai antioksidan, menghambat banyak reaksi oksidasi, serta melindungi lipid membran dari reaksi yang merusaknya (Puspitasari dkk., 2016). Pada penelitian ini terbukti bahwa kandungan ekstrak teh hijau bekerja dalam mempertahankan kualitas spermatozoa dari pengaruh radikal bebas dengan dosis 0,05 mg. Pada hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dengan kon-

sentrasi paling tinggi yaitu 0,15% hanya dapat sedikit meningkatkan persentase keutuhan membran plasma setelah pendinginan. Keadaan ini kemungkinan disebabkan karena tingginya kandungan fruktosa yang ada didalam pengencer tersebut sehingga bersifat racun bagi sperma (Hardijanto dkk., 2010). Seperti hasil penelitian Zulkhair (2016) bahwa penambahan substitusi sari buah tomat dengan konsentrasi paling tinggi yaitu 80% pada bahan pengencer kuning telur sitrat justru menurunkan persentase membran plasma utuh spermatozoa domba ekor gemuk setelah pendinginan dibandingkan dengan substitusi sari buah tomat 20% yang justru meningkatkan persentase keutuhan membran plasma.

Kesimpulan

Penambahan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dalam bahan pengencer susu skim dapat meningkatkan persentase motilitas, viabilitas, dan keutuhan membran plasma spermatozoa domba Sapudi yang disimpan pada suhu dingin dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Daftar Pustaka

- Asia, P. D. 2015. Pengaruh Penambahan Plasma Seminalis Sapi Simmental Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk Setelah equilibrasi pada proses Pembekuan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Ailangga. 1.
- Astuti, S. 2008. Isoflavin Kedelai dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13(2).
- Bahriul, P., Nurdin R, Anang W. M. Diah. 2014. Uji Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzgium polyanthum*) dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *J. Akad. Kim.* 3(3): 143-149.
- Cabrera C, Artacho R, Gimenez R. 2006. Beneficial Effect of Green Tea. *Journal of The American College of Nutrition*. 25(2): 79-99.
- Djanuar. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Feradis. 2009. Peranan Antioksidan Dalam Pembekuan Semen. *Jurnal Peternakan*. 6(2): 63-70.
- Hardijanto, S. Susilowati, T. Hernawati, T. Sardijanto dan T. W. Suprayogi. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Airangga Universitas Press. Surabaya.
- Hartadi, M. B. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Semangka (*Citrullus lanatus*) secara Oral terhadap Viabilitas dan Motilitas Spermatozoa Mencit Jantan (*Mus musculus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universita Airlangga.
- Hartono, M. 2008. Optimalisasi Penambahan Vitamin E dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur untuk Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Boer. *J. Indon. Trop. Anin. Agric.* 33 (1).
- Herdis. 2005. Optimalisasi Inseminasi Buatan Melalui Aplikasi Teknologi Laser Punktur pada Domba Garut (*Ovis aries*). Disertasi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kohen R. and A. Nyska. 2002. Oxidatif of Biological System: Stress Oksidative Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. School of Environmental Health Sciences (NIEHS). Toxicology Pathology. Nort California. 30(6): 620-650.
- Kusmiyati, M, S. Yayat, L.A. Isti, R. Ardi, dan R. Dadan. 2015. Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenol Total, dan Flavonoid Total dalam Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Asal Tiga Perkebunan Jawa Barat.
- Kusriningrum. 2008. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya.
- Puspitasari, M. L, T. V Wulansari, T. D. Widyaningsih, J. M. Maligan dan N. I. P. Nugraini. 2016. Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 283-290.
- Rizal, M. dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan pada Domba. Rineka Cipta. Jakarta.
- Sundari, D., Budi, N dan M. Wien, W. 2009. Toksisitas Akut (LD50) dan Uji Gelagat Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*) pada Mencit. *Media Peneliti dan Pengembang Kesehatan*, 14(4): 198-203.

- Susilowati, S. Hardijanto, T. W. Suprayogi, T. Sardjito, dan T. Hernawati. 2010. Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R. 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Cetakkan 3. Penerbit angkasa. Bandung. 77-89.
- Towaha, J. Balittri. 2013. Kandungan Senyawa Kimia pada Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*). Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. 19(3).
- Trilaksa, I. G. N. B., Rinna, N. N dan Wayan, B. 2015. Penambahan Vitamin C Pada Pengencer Fosfat Kuning Telur Semen Kalkun yang Disimpan pada Suhu 5⁰C. Buletin Veteriner Udayana. 7(2): 186-193.
- Zulkair, M. 2016. Pengaruh Substitusi Sari Buah Tomat (*Lycopersion esculentum Mill.*) pada Media Pengencer Kuning Telur Sitrat Terhadap Viabilitas dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Domba Ekor Gemuk pada Suhu Penyimpanan 3-5⁰C [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. 47.