

**KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI (*BOS SONDAICUS*)  
PADA PENGECER TRIS KUNING TELUR DENGAN  
PENAMBAHAN *GLUTATHIONE***

***Spermatozoa Quality of Bali Cattle (*Bos Sondaicus*) in Egg Yolk  
Tris Diluent with the Addition of Glutathione***

**Sipora Petronela Telnoni<sup>2</sup>, Mery Fahik<sup>2</sup>, Gresela Yuliani Baon<sup>3</sup>**

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas

San Pedro, Kupang, 85228<sup>1</sup>

[siporanela@gmail.com](mailto:siporanela@gmail.com)

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kualitas spermatozoa sapi bali yang diencerkan menggunakan pengencer tris kuning telur dengan penambahan konsentrasi *glutathione* yang berbeda. Semen ditampung dari ternak sapi Bali jantan dewasa kelamin umur  $\pm 3$  tahun dengan kondisi sehat dan sudah terlatih dalam penampungan semen. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan rancangan acak kelompok yang terdiri dari 5 perlakuan dan 5 ulangan. Masing-masing perlakuan adalah P0 (kontrol): semen + 0,3 mL bahan pengencer tris kuning telur, P1: semen + 0,3 mL bahan pengencer tris kuning telur + *glutathione* 0,003%, P2: semen + 3 mL bahan pengencer tris kuning telur + *glutathione* 0,006%, P3: semen + 3 mL bahan pengencer tris kuning telur + *glutathione* 0,009%, P4: semen + 3 mL bahan pengencer tris kuning telur + *glutathione* 0,012%. Variabel yang diukur adalah motilitas individu, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan P2 menunjukkan nilai rata-rata yang baik dengan nilai motilitas individu spermatozoa sebesar  $64,79 \pm 14,78\%$ , viabilitas spermatozoa sebesar  $72,28 \pm 11,19\%$ , dan abnormalitas spermatozoa sebesar  $4,60 \pm 0,81\%$ . Dapat disimpulkan bahwa penggunaan pengencer tris kuning telur + *glutathione* berdampak positif karena mampu mempertahankan daya hidup spermatozoa.

**Kata Kunci :** *Sapi Bali, Tris kuning-telur, glutathione, motilitas, viabilitas*

**Abstract**

*This study aims to determine the quality of bali cattle spermatozoa diluted using egg yolk tris diluent with the addition of different concentrations of glutathione. Semen was collected from sexually mature male Bali cattle aged  $\pm 3$  years in healthy condition and trained in cement storage. The method used in this study was an experimental method using a randomized block design consisting of 5 treatments and 5 replications. Each treatment was P0 (control): cement + 0.3 mL egg yolk tris diluent, P1: cement + 0.3 mL egg yolk tris diluent + 0.003% glutathione, P2: cement + 3 mL*

*yellow tris diluent egg + 0.006% glutathione, P3: semen + 3 mL egg yolk tris diluent + 0.009% glutathione, P4: cement + 3 mL egg yolk tris diluent + 0.012% glutathione. The variables measured were individual motility, viability, and spermatozoa abnormalities. The results showed that the P2 treatment showed a good mean value with individual spermatozoa motility values of  $64.79 \pm 14.78\%$ , spermatozoa viability of  $72.28 \pm 11.19\%$ , and spermatozoa abnormalities of  $4.60 \pm 0.81\%$ . It can be concluded that the use of egg yolk tris diluent + glutathione has a positive impact because it is able to maintain the vitality of spermatozoa*

**Keywords:** Bali Cattle, Tris-Egg Yolk, Glutathione, Motility, Viability

## **PENDAHULUAN**

Bioteknologi reproduksi diterapkan untuk mempertinggi produksi ternak sebagai sumber protein hewani. Pemenuhan konsumsi produk asal ternak dapat dilakukan melalui usaha peningkatan genetik dan populasi ternak dengan pemanfaatan bioteknologi Inseminasi Buatan (IB). Bioteknologi IB merupakan salah satu cara penerapan bioteknologi reproduksi yang digunakan untuk meningkatkan mutu produktivitas ternak (Hartono, 2008). IB dapat diterapkan pada berbagai jenis ternak termasuk ternak sapi khususnya sapi Bali (*Bos sondaicus*). Sapi Bali (*Bos sondaicus*) merupakan salah satu bangsa sapi asli di Indonesia dan memiliki potensi genetik yang baik dan menguntungkan untuk dikembangkan karena konsumen memiliki minat yang baik terhadap presentase karkasnya yang tinggi serta telah masuk dalam aset dunia yang tercatat dalam daftar *Food and Agriculture Organization* (FAO) sebagai salah satu bangsa sapi di dunia (Martoyo, 2003; DGLS, 2003; Purwantara *et al.* 2012).

Keberhasilan IB pada sapi Bali (*Bos sondaicus*) memerlukan semen cair yang berkualitas baik. Kualitas semen cair ditentukan oleh komposisi nutrisi yang terkandung di dalam bahan pengencer. Syarat penting yang harus dimiliki oleh setiap pengencer menurut Susilawati (2011) adalah: bahan tidak bersifat toksik terhadap spermatozoa, mengandung sumber energi, bersifat isotonis, mengandung *buffer*, melindungi dari pengaruh pendinginan secara cepat, menghambat pertumbuhan bakteri dan meningkatkan volume sehingga bisa digunakan dalam dosis IB yang banyak.

Terdapat sejumlah bahan pengencer yang telah digunakan, salah satu jenis bahan pengencer yang lazim digunakan adalah tris kuning telur (TKT). Pengencer TKT memiliki kandungan yang relatif lengkap Tris *hydroxymethyl aminometan*, asam sitrat dan fruktosa. Kuning telur mengandung asam amino, karbohidrat, vitamin dan kebutuhan hidup bagi spermatozoa. Kuning telur juga mengandung glukosa, protein, vitamin yang larut dalam air dan lemak serta viskositasnya yang dapat menguntungkan bagi spermatozoa (Djanuar, 1985). Kuning telur umumnya ditambahkan ke dalam pengencer semen sebagai sumber energi dan lipoprotein yang dapat memberikan perlindungan terhadap spermatozoa selama proses preservasi (Nalley *et al.*, 2011).

Selain penambahan bahan pengencer untuk menunjang kehidupan spermatozoa, salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kualitas semen cair yaitu dengan penambahan antioksidan. Salah satu jenis antioksidan yang dapat digunakan adalah *glutathione*. Menurut Triwulanningsih (2009) adanya penambahan *glutathione* dalam pengenceran semen dapat mengurangi kerusakan pada membran plasma spermatozoa semen cair, efek racun yang disebabkan oleh adanya *reactive oxygen species* (ROS) yang berakibat pada rendahnya fertilitas. Berkaitan dengan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kualitas spermatozoa sapi Bali dalam pengencer TKT dengan penambahan glutathione.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi Ternak Yayasan Williams dan Laura, Desa Oelnasi, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang. Pengambilan data hasil penampungan mulai bulan November-Desember 2021. Materi penelitian yang digunakan adalah semen sapi Bali yang ditampung menggunakan vagina buatan dari satu ekor sapi jantan dewasa berumur sekitar 3-4 tahun. Semen yang telah ditampung dievaluasi untuk mengetahui kualitas semen. Kualitas semen yang digunakan dalam penelitian adalah semen yang memiliki gerakan massa (++) dan motilitas spermatozoa  $\geq 70\%$  dan abnormalitas  $\leq 20\%$ . Alat yang digunakan dalam penelitian yakni alat untuk penampungan 1 set vagina buatan, tabung penampung semen, termos air panas, thermometer, KY jelly/vaselin, dan *tissue*. Alat pembuatan pengencer dan evaluasi semena adalah timbangan analitik, gelas ukur, tabung *erlenmeyer*, kertas saring, kertas label, tabung ukur, spuit 1 cc, *hotplate stirrer thermo scientific*, *magnetic stirrerbar*, mikroskop elektron, *cover glass*, *objek glass*, *haemocytometer*, *micropipet*, tip *micropipet*, *Neubauer chamber*, pipet plastik, pipet ukur, karet penghisap, dan *micro tube*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen sapi Bali, *glutathione*, kuning telur ayam, antibiotik (streptomycin dan penicillin), tris *aminomethane*, asam sitrat, dan fruktosa, aquabides, NaCl fisiologis, alkohol 70%, formosaline, kapas, dan eosin-negrosin

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen. Pola rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan perlakuan yaitu P0 (semen sapi Bali + 3 mL Tris kuning telur), P1 (semen sapi Bali + 3 mL Tris kuning telur + 0,003% *glutathione*), P2 (semen sapi Bali + 3 mL Tris kuning telur + 0,006% *glutathione*), P3 (semen sapi Bali + 3 mL Tris kuning telur + 0,009% *glutathione*) dan P4 (semen sapi Bali + 3 mL Tris kuning telur + 0,012%). Penyimpanan dilakukan pada suhu 5°C, semua perlakuan di ulang sebanyak 5 kali ulangan.

## **Kegiatan Penelitian**

1. Persiapan Bahan Pengencer
  - a. Persiapan Bahan Pengencer Tris *Aminomethane* Kombinasi. Timbang tris *aminomethane* sebanyak 3.63gr, asam sitrat 1.99gr, fruktosa 0.5gr, kemudian

dilarutkan dalam 100mL aquadest dan dihomogenkan dalam tabung *elenmeyer*.

- b. Pembuatan Kuning Telur. Telur ayam dibersihkan menggunakan alkohol 70% dan biarkan kering, kulit telur ayam dipecahkan dari bagian tengahnya dan pisahkan putih dari kuning telur, kuning telur yang masih terbungkus dengan selaput vitelin dipecahkan selaput vitelinnya, kuning telur dimasukkan ke dalam gelas ukur, kuning telur siap digunakan sesuai dengan kebutuhan.
- c. Pembuatan Pengencer Tris *Aminomethane* Kuning Telur dan Penambahan *Glutathione*. Larutan tris *aminomethane* kombinasi sebanyak 80% ditambahkan 20% kuning telur untuk menghasilkan pengencer tris tris *aminomethane*-kuning telur, selanjutnya tambahkan antibiotik dan *glutathione* seperti pada Tabel 3.1

**Tabel 1.** Komposisi Bahan Pengencer TKT dan Penambahan *Glutathione*

| Bahan                               | Perlakuan |        |        |        |        |
|-------------------------------------|-----------|--------|--------|--------|--------|
|                                     | P0        | P1     | P2     | P3     | P4     |
| Tris <i>aminomethane</i> (mL)       | 80        | 80     | 80     | 80     | 80     |
| Kuning Telur (mL)                   | 20        | 20     | 20     | 20     | 20     |
| Penisilin (IU mL <sup>-1</sup> )    | 1000      | 1000   | 1000   | 1000   | 1000   |
| Streptomisin (mg mL <sup>-1</sup> ) | 1         | 1      | 1      | 1      | 1      |
| <i>Glutathione</i> (%)              | 0%        | 0.003% | 0.006% | 0.009% | 0.012% |

## 2. Penampungan Semen

Penampungan semen dilakukan pada jam 7 pagi dengan prosedur sebagai berikut: 1) Air panas 70 °C disiapkan, 2). Air panas dimasukkan ke dalam vagina buatan yang sebelumnya telah diolesi vasselin, 3). Vagina buatan diatur pada suhu dengan kisaran 35-37°C, 4). Semen ditampung menggunakan *hand method* dengan mengarahkan penis ke dalam vagina buatan yang telah dilengkapi tabung semen dan semen hasil ejakulasi ditampung pada tabung semen, 5). Semen dibawa ke laboratorium untuk dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis.

## 3. Variabel Penelitian

Variabel yang diukur dalam penelitian ini yaitu : (a) motilitas spermatozoa (%) merupakan penilaian terhadap persentase spermatozoa yang bergerak progresif dengan angka penilaian 0-100%, (b) viabilitas spermatozoa (%) merupakan pengamatan pada spermatozoa hidup dan mati dengan angka penilaian 0-100%, (c) abnormalitas spermatozoa (%) merupakan pengamatan spermatozoa abnormal dengan angka penilaian 0-100%.

## 4. Evaluasi Semen Segar

Semen yang telah ditampung dievaluasi secara makroskopis yang meliputi volume, warna, pH, konsistensi dan bau. Sedangkan secara mikroskopis meliputi gerakan massa spermatozoa, konsentrasi spermatozoa, motilitas spermatozoa, viabilitas spermatozoa dan abnormalitas spermatozoa.

5. Pengenceran Semen dan Evaluasi Semen Cair

Semen yang sudah dievaluasi secara makroskopis dan mikroskopis dan dinyatakan layak, dibagi kedalam 5 tabung perlakuan P0: Tris Kuning (100%), P1: TKT (100%) + *glutathione* (0,003%), P2: TKT (100%) + *glutathione* (0,006%), P3: TKT (100%) + *glutathione* (0,009%) dan P4: TKT (100%) + *glutathione* (0,012%). Masing-masing tabung perlakuan berisi 3 mL bahan pengencer, ditambahkan 0,3 mL semen dan dihomogenkan. Setelah pengenceran dilakukan evaluasi yang meliputi % motilitas spermatozoa, % viabilitas spermatozoa dan % abnormalitas. Semen segar yang telah diencerkan dan disebut semen cair disimpan pada suhu 5°C dan semen cair diamati setiap 24 jam.

**Analisis Data**

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada program SPSS dan perbedaan nilai antar perlakuan diuji lanjut menggunakan uji Duncan's selang kepercayaan 95%

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Motilitas, Viabilitas, dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) dalam Pengencer TKT dengan Penambahan Glutathione**

Kualitas Spermatozoa Sapi Angus (*Bos Taurus*) dalam Pengencer TKT dengan Substitusi ESBT setelah pengenceran dan penyimpanan berupa semen cair dapat dilihat pada tabel 1.1.

Nilai rerata motilitas spermatozoa tertinggi setelah pengenceran dan penyimpan terdapat pada P2 dengan konsentrasi glutathione 0,006% ( $64.79 \pm 14.78\%$ ) yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap P1 dengan konsentrasi glutathione 0,003% ( $57.33 \pm 17.32\%$ ), P3 dengan konsentrasi glutathione 0,009% ( $56.19 \pm 20.57\%$ ), P0 dengan konsentrasi glutathione 0% ( $55.31 \pm 19.10\%$ ), dan P4 dengan konsentrasi glutathione 0,012% ( $51.06 \pm 22.49\%$ ). Perbedaan persentase penurunan ini disebabkan oleh semakin berkurangnya energi yang terdapat dalam pengencer, sehingga mengakibatkan jumlah spermatozoa yang tidak bergerak progresif semakin meningkat jumlahnya (Fafo *et al.*, 2016).

**Tabel 2.** Rerata Persentase Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas Spermatozoa Sapi Bali dalam Pengencer TKT dengan Penambahan *Glutathione* pada Konsentrasi Berbeda.

| Konsentrasi<br><i>Glutathione</i> (%) | Parameter (%)             |                           |                        |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|
|                                       | Motilitas                 | Viabilitas                | Abnormalitas           |
| P0 Kontrol                            | 55.31±19.10 <sup>ab</sup> | 63.99±15.80 <sup>ab</sup> | 4.45±0.35 <sup>a</sup> |
| P1 0.003%                             | 57.33±17.32 <sup>b</sup>  | 67.53±17.49 <sup>b</sup>  | 4.22±0.45 <sup>a</sup> |
| P2 0.006%                             | 64.79±14.78 <sup>c</sup>  | 72.28±11.19 <sup>c</sup>  | 4.60±0.81 <sup>a</sup> |
| P3 0.009%                             | 56.19±20.57 <sup>b</sup>  | 66.35±16.18 <sup>ab</sup> | 4.63±0.93 <sup>a</sup> |
| P4 0.012%                             | 51.06±22.49 <sup>a</sup>  | 62.18±18.73 <sup>a</sup>  | 4.55±0.52 <sup>a</sup> |

Nilai dengan huruf berbeda menunjukkan perbedaan ( $p < 0.05$ )

Konsentrasi glutathione yang memberikan hasil terbaik dalam penelitian ini adalah 0.006% terdapat P2 yaitu 64.79±14.78%, hal ini disebabkan karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi optimum bagi spermatozoa selama penyimpanan. Hal ini terjadi dari adanya keseimbangan antar reaksi pengikatan radikal bebas oleh glutathione (GSH) dimana pada konsentrasi ini akan terbentuk GSSG oleh enzim GSH-peroksidase dengan GSSG menjadi GSH oleh enzim GSH-reduktase. Hal ini didukung oleh pendapat Kidd (1997) yang menyatakan bahwa keseimbangan penggunaan GSH oleh enzim GSH-peroksidase yang akan membentuk GSSG dan perubahan GSSG menjadi GSH oleh enzim GSH-reduktase diatur secara homeostatis.

Penambahan glutathione sebesar 0,012% menunjukkan rerata hasil persentase motilitas yang paling rendah. Hal ini terjadi karena pada konsentrasi glutathione yang berlebihan dapat menimbulkan efek negatif yaitu terjadinya efek toksik dari glutathione yang menyebabkan kematian spermatozoa, hal ini sesuai dengan pernyataan Uysal and Bucak (2007). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan level glutathione dalam pengencer tris kuning telur berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa sapi Bali karena dapat meminimalisir ROS selama penyimpanan. ROS diyakini menyebabkan penurunan motilitas, penurunan viabilitas, dan penurunan abnormalitas sebagai morfologi spermatozoa, terutama di bagian tengah (Morell *et al.* 2018).

Nilai rerata persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan dengan bertambahnya lama waktu penyimpanan. Penurunan viabilitas spermatozoa berbeda antara perlakuan, yakni rerata nilai P0 sebesar 63.99±15.80%, P1 sebesar 67.53±17.49%, P2 sebesar 72.28±11.19%, P3 sebesar 66.5±16.18%, dan P4 sebesar 62.18±18.73%. Penurunan tertinggi terjadi pada P2 yakni sebesar 72.28±11.19% dan yang terendah pada P4 yakni 62.18±18.73%. Salmah (2014) menyatakan membran plasma spermatozoa berfungsi sebagai penjaga organel sel dan pengatur keseimbangan elektrolit dalam metabolisme. Penurunan persentase viabilitas spermatozoa disebabkan oleh kondisi membran plasma spermatozoa yang telah rusak. Selain itu penurunan persentase viabilitas dapat pula disebabkan oleh spermatozoa

yang telah mati. Hal ini sejalan dengan pernyataan Solihati *et al.*(2006), menyatakan bahwa jumlah spermatozoa yang mati akan memengaruhi spermatozoa yang masih hidup selama penyimpanan. Pereira, Becker, Siqueira, Ferreira, Severo, Truzzi, Oliveira, and Goncalves (2010) menyatakan bahwa persentase viabilitas spermatozoa mengalami penurunan karena terjadi kerusakan membran plasma dan membran akrosom akibat dari pengaruh *cold shock*.

Persentase abnormalitas pada setiap perlakuan menunjukkan hasil nilai rerata yang berbeda, yakni rerata nilai P0  $4.45 \pm 0.35\%$ , P1  $4.22 \pm 0.45\%$ , P2  $4.60 \pm 0.81\%$ , P3  $4.63 \pm 0.93\%$  dan P4  $4.55 \pm 0.52\%$ . Hasil penelitian didapatkan bahwa dengan penambahan level glutathione memberikan hasil persentase yang tidak berbeda nyata terhadap abnormalitas spermatozoa sapi Bali atau dengan kata lain level glutathione memberikan pengaruh yang sama pada abnormalitas. Penambahan level konsentrasi yang tidak optimal dapat menyebabkan kurangnya efektivitas glutathione sedangkan penambahan level glutathione yang berlebihan akan menyebabkan toksik atau keracunan bagi spermatozoa. Sifat toksik disebabkan oleh pemberian antioksidan yang berlebihan sehingga menyebabkan meningkatnya tekanan osmosis dan menyebabkan kerusakan membran spermatozoa yang berdampak pada putusnya ekor spermatozoa (Wilandari dkk, 2013). Berdasarkan hasil pengamatan, abnormalitas yang paling banyak ditemukan yaitu abnormalitas sekunder seperti, ekor patah, kepala dan ekor terpisah, dan ekor tergulung. Perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh umur dan faktor kesuburan pejantan (Garner dan Hafez, 2000). Hal ini juga dapat dipengaruhi oleh kerusakan membran plasma yang terjadi akibat kejutan dingin (*cold shock*) dan mengalami perubahan tekanan osmotik dan perubahan tekanan osmotik tidak menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap bentuk morfologi spermatozoa.

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa level *glutathione* berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa sapi Bali. Level *glutathione* sebesar 0,006% dapat memberikan kualitas yang terbaik dan memenuhi standar kualitas IB menggunakan semen cair.

## **TERIMA KASIH**

Terima kasih diberikan kepada Prof. Dr. Ir. Wilmintje M Nalley, MS sebagai kepala Laboratorium reproduksi ternak Yayasan Williams Laura Kupang NTT dan pembimbing atas dukungannya selama pelaksanaan penelitian.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Djanuar R. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi buatan pada sapi*. Gadjah Mada

- University Press. Yogyakarta.
- Fafo M, Hine TM, dan Nalley WM. 2016. Pengujian efektivitas ekstrak daun kelor dalam pengencer sitrat-kuning telur terhadap kualitas semen cair babi landrace. *Jurnal Nukleus Peternakan*, 3(2), 184–195.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2000. Spermatozoa and seminal Plasma. Dalam B. Hafez dan E.S.E. Hafez. *Reproduction In Farm Animal 7th Edition*. Lippincott Williams and Wilkins Philadelphia. USA
- Hartono, M. (2008). Optimalisasi Penambahan Vitamin E Dalam Pengencer Sitrat Kuning Telur Untuk Mempertahankan Kualitas Semen Kambing Boer. *IndonTrop Anim Agric*. **33(1)** :11-12
- Kidd PM. (1997). *Glutathione : Systemic Protectant Against Oxidative and Free Radical Damage. Alternative Medicine Review. Volume 2, Number 3*
- Martojo H. (2003). Indigenous Bali Cattle: The Best Suited Cattle Breed for Sustainable Small Farms in Indonesia. Laboratory of Animal Breeding and Genetics, Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University, Indonesia.
- Nalley, W.M.M. and R.I. Arifiantini, (2011). The live sperm % of local ram semen in Tris buffer with three different egg-yolks. *Anim Prod*, 13: 39-44
- Purwantara B, Noor RR, Andersson G, Rodriguez-Martinez H. (2012). Banteng and Bali Cattle in Indonesia: Status and Forecasts. *Reprod Dom Anim* 47(Suppl. 1): 2-6.
- Salmah N. 2014. Motilitas, Persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa semen beku sapi Bali pada pengencer andromed dan tris kuning telur. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Solihati, N., R. Idi, S.D. Rasad, M. Rizal, dan M. Fitriati. (2008). Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan Ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5 °C. *Animal Production*. 10 (1): 22-29. ISSN: 1411- 2027.
- Susilawati, T. 2011. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *J. Ternak Tropika*, 12(2);15-24.
- Triwulanningsih, E., (2009). Efektifitas Penambahan *Glutathione* Pada Pengencer Laktosa Dan Air Kelapa Terhadap Viabilitas Semen Cair/Dingin (*Chilled*) Kerbau Lumpur (*Bubalus bubalis*). Balai Penelitian Ternak. Bogor
- Uysal O., Bucak MN. 2007. Effects of Oxidized Glutathione, Bovine Serum Albumin, Cysteine and Lycopene on the Quality of Frozen-Thawed Ram Semen. *ACTA VET. BRNO* 2007, 76 : 383-390; doi:10.2754/avb200776030383