

Pengaruh Suplementasi Vitamin C dalam Pengencer Andromed® terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Bali pada Penyimpanan Suhu 5°C
(Effect of Vitamin C Supplementation in Andromed® Extender on the Quality of Bali Bull Chilled Semen Stored at 5°C)

Surya Atmajaya^{1*}, I Wayan Lanus Sumadisa¹, Lalu Ahmad Zaenuri¹

¹) Program Studi S1 Peternakan, Fakultas Peternakan Universitas Mataram

*) Penulis Korespondensi: suryaatmajal1@gmail.com

Diterima: 28/12/2025, Disetujui: 31/12/2025

ABSTRAK

Kualitas spermatozoa merupakan faktor penting dalam keberhasilan inseminasi buatan pada sapi. Salah satu upaya mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan dingin adalah melalui penambahan antioksidan pada bahan pengencer. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh suplementasi vitamin C dalam pengencer Andromed® terhadap kualitas spermatozoa Sapi Bali yang disimpan pada suhu 5°C. Penelitian menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas empat perlakuan dan lima ulangan, yaitu P0 (Andromed® tanpa vitamin C), P1 (Andromed® + 0,5% vitamin C), P2 (Andromed® + 1,0% vitamin C), dan P3 (Andromed® + 1,5% vitamin C). Variabel yang diamati meliputi motilitas progresif, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa selama tiga hari penyimpanan. Data dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap abnormalitas. Perlakuan P1 menghasilkan kualitas spermatozoa terbaik dengan motilitas sebesar $54,2 \pm 2,7\%$ pada hari ke-2 dan viabilitas sebesar $71,2 \pm 2,9\%$ pada hari ke-1 penyimpanan. Disimpulkan bahwa penambahan vitamin C 0,5% dalam pengencer Andromed® mampu mempertahankan kualitas spermatozoa Sapi Bali selama penyimpanan pada suhu 5°C sehingga berpotensi meningkatkan efektivitas program inseminasi buatan.

Kata kunci: Andromed®, vitamin C, spermatozoa, Sapi Bali

ABSTRACT

Spermatozoa quality is a crucial factor determining the success of artificial insemination in cattle. One approach to maintaining sperm quality during cold storage is the supplementation of antioxidants in semen extenders. This study aimed to evaluate the effect of vitamin C supplementation in Andromed® extender on the quality of Bali cattle spermatozoa stored at 5°C. The experiment was conducted using a Completely Randomized Design (CRD) consisting of four treatments and five replications: P0 (Andromed® without vitamin C), P1 (Andromed® + 0.5% vitamin C), P2 (Andromed® + 1.0% vitamin C), and P3 (Andromed® + 1.5% vitamin C). The observed variables included progressive motility, viability, and abnormalities of spermatozoa during three days of storage. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's multiple range test. The results showed that vitamin C supplementation significantly affected ($P < 0.05$) sperm motility and viability but had no significant effect on sperm abnormalities. The P1 treatment produced the best sperm quality, with motility reaching $54.2 \pm 2.7\%$ on the second day and viability reaching $71.2 \pm 2.9\%$ on the first day of storage. It can be concluded that supplementation of 0.5% vitamin C in Andromed® extender effectively maintains the quality of Bali cattle spermatozoa during storage at 5°C and may contribute to improving the success of artificial insemination programs.

Keywords: Andromed®, vitamin C, spermatozoa, Bali cattle

PENDAHULUAN

Sapi Bali merupakan salah satu plasma nutfah ternak asli Indonesia yang memiliki kemampuan adaptasi tinggi terhadap lingkungan tropis, tingkat fertilitas yang baik, serta persentase karkas yang dapat mencapai 60% (Sriwijayanti *et al.*, 2012). Keunggulan tersebut perlu didukung melalui pemanfaatan pejantan unggul untuk meningkatkan mutu genetik populasi, salah satunya melalui penerapan teknologi inseminasi buatan (IB) (Widyas *et al.*, 2017). Teknologi IB memungkinkan penyebaran materi genetik pejantan unggul secara luas dan efisien sehingga berperan penting dalam peningkatan produktivitas ternak sapi (Ax *et al.*, 2016).

Keberhasilan program inseminasi buatan sangat dipengaruhi oleh kualitas semen yang digunakan. Semen yang akan digunakan harus memiliki kualitas yang baik, terutama pada parameter motilitas, viabilitas, dan integritas membran spermatozoa. Standar Nasional Indonesia (SNI) mensyaratkan nilai post thawing motility (PTM) minimal 40% untuk semen beku yang layak digunakan dalam program IB (Standar Nasional Indonesia, 2017). Oleh karena itu, diperlukan upaya untuk mempertahankan kualitas spermatozoa selama proses pengolahan dan penyimpanan semen agar daya fertilitasnya tetap optimal (Mumu, 2009).

Salah satu faktor penting dalam preservasi semen adalah penggunaan bahan pengencer. Pengencer berfungsi menyediakan nutrisi, menjaga keseimbangan osmotik, melindungi spermatozoa dari cold shock, serta mengandung krioprotektan yang mampu mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan (Aslam *et al.*, 2014). Berbagai jenis pengencer telah digunakan dalam teknologi reproduksi ternak, seperti tris-kuning telur, sitrat-kuning telur, fosfat-kuning telur, dan Andromed®. Di antara berbagai pengencer tersebut, Andromed® merupakan pengencer komersial berbasis tris yang banyak digunakan karena mengandung fosfolipid, fruktosa, gliserol, asam sitrat, antibiotik, dan berbagai komponen pendukung lainnya yang berfungsi menjaga viabilitas spermatozoa (Minitub, 2001).

Meskipun demikian, penggunaan Andromed® belum sepenuhnya mampu mencegah kerusakan spermatozoa akibat stres oksidatif selama proses pendinginan maupun pembekuan. Kerusakan membran plasma spermatozoa dapat terjadi akibat peroksidasi lipid yang dipicu oleh senyawa oksigen reaktif (reactive oxygen species), sehingga berdampak pada penurunan motilitas dan viabilitas spermatozoa (Aslam *et al.*, 2014). Oleh sebab itu, diperlukan penambahan antioksidan ke dalam pengencer untuk menghambat proses oksidasi dan mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan.

Vitamin C (asam askorbat) merupakan antioksidan larut air yang mampu menangkap radikal bebas dan menghambat reaksi berantai oksidatif pada membran plasma spermatozoa. Kemampuan tersebut menjadikan vitamin C berpotensi melindungi spermatozoa dari kerusakan peroksidatif yang dapat menurunkan viabilitas dan fertilitas sel (Lubis *et al.*, 2013). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C dalam bahan pengencer mampu meningkatkan kualitas semen selama penyimpanan. Benconi *et al.* (1993) melaporkan bahwa penambahan vitamin C pada pengencer susu skim dapat meningkatkan kualitas semen beku kuda, sedangkan Aslam *et al.* (2014) menunjukkan bahwa penambahan vitamin C pada pengencer Andromed® mampu mempertahankan motilitas dan integritas membran plasma spermatozoa sapi setelah proses pembekuan.

Meskipun manfaat vitamin C sebagai antioksidan telah banyak dilaporkan, informasi mengenai penggunaan vitamin C dalam pengencer Andromed® untuk mempertahankan kualitas spermatozoa Sapi Bali selama penyimpanan dingin masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh suplementasi vitamin C pada pengencer Andromed® terhadap motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa Sapi Bali yang disimpan pada suhu 5°C, serta menentukan konsentrasi vitamin C yang paling efektif dalam mempertahankan kualitas spermatozoa selama penyimpanan.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni–Juli 2024 di Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Banyumulek, Kabupaten Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat. Materi penelitian berupa semen segar sapi Bali pejantan berumur 3 tahun dengan bobot badan ± 352 kg yang dipelihara di BIBD Banyumulek. Semen ditampung menggunakan vagina buatan dan hanya ejakulat yang memenuhi standar kualitas untuk diproses lebih lanjut yang digunakan dalam penelitian.

Penelitian menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas empat perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan yang diberikan meliputi: P0 = pengencer Andromed® tanpa penambahan vitamin C (kontrol), P1 = Andromed® + 0,5% vitamin C, P2 = Andromed® + 1,0% vitamin C, dan P3 = Andromed® + 1,5% vitamin C. Pengencer Andromed® dibuat dengan perbandingan 1:4 menggunakan aquabidest (20% Andromed® dan 80% aquabidest) sesuai metode yang dilaporkan oleh Aslam *et al.* (2014).

Semen segar yang telah ditampung terlebih dahulu dievaluasi secara makroskopis

meliputi volume, warna, konsistensi, aroma, dan pH. Volume semen dibaca langsung pada tabung penampung berskala, sedangkan warna, aroma, dan konsistensi diamati secara visual. Nilai pH diukur menggunakan kertas lakmus. Evaluasi mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas progresif individu, viabilitas, abnormalitas, dan konsentrasi spermatozoa. Motilitas massa diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100× mengikuti metode Toelhiere (1981), sedangkan motilitas progresif individu diamati pada perbesaran 400× dan dinyatakan dalam persentase spermatozoa yang bergerak progresif (Lubis *et al.*, 2013).

Viabilitas spermatozoa ditentukan menggunakan metode pewarnaan eosin–nigrosin. Spermatozoa hidup ditandai dengan tidak menyerap warna, sedangkan spermatozoa mati menyerap warna merah. Persentase viabilitas dihitung berdasarkan jumlah spermatozoa hidup dibandingkan total spermatozoa yang diamati. Pengamatan abnormalitas dilakukan pada preparat yang sama dengan menilai kelainan morfologi kepala maupun ekor spermatozoa sesuai metode Sumadiasa *et al.* (2022). Konsentrasi spermatozoa diukur menggunakan spektrofotometer setelah semen diencerkan dengan larutan NaCl fisiologis.

Semen yang memenuhi standar kualitas kemudian diencerkan menggunakan pengencer sesuai perlakuan dan disimpan pada suhu 5°C. Evaluasi motilitas progresif, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa dilakukan setiap hari selama tiga hari penyimpanan atau sampai motilitas mencapai batas minimum 40%.

Variabel yang diamati meliputi motilitas progresif, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa sebagai variabel respons, sedangkan konsentrasi vitamin C sebagai faktor perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA). Apabila perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan menggunakan program SPSS versi 22 untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Segar Sapi Bali

Evaluasi semen segar dilakukan untuk memastikan bahwa semen yang digunakan memenuhi persyaratan sebagai bahan penelitian dan layak dipreservasi menggunakan pengencer Andromed® yang disuplementasi vitamin C. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis semen segar Sapi Bali disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas semen segar Sapi Bali

Parameter	Nilai
Volume (ml)	4,6 ± 1,44
Warna	Putih susu

Aroma	Khas semen
Konsistensi	Sedang
pH	6,42 ± 0,18
Motilitas massa	+++
Motilitas individu (%)	70 ± 6,12
Konsentrasi (×10 ⁶ /ml)	1.185 ± 0,29
Viabilitas (%)	84 ± 3,16
Abnormalitas (%)	4,2 ± 0,84

Rataan volume semen segar yang diperoleh sebesar 4,6±1,44 ml, masih berada dalam kisaran normal volume ejakulat Sapi Bali yaitu 2–15 ml dengan rata-rata 4–8 ml (Arifiantini, 2012). Warna semen putih susu, aroma khas semen, konsistensi sedang, dan pH 6,42±0,18 menunjukkan bahwa semen berada dalam kondisi fisiologis normal dan tidak mengalami kontaminasi. Nilai pH tersebut masih berada dalam kisaran normal semen sapi yaitu 5,9–7,3 (Dzulqarnain *et al.*, 2022).

Secara mikroskopis, motilitas massa menunjukkan kategori sangat baik (+++), sedangkan motilitas individu mencapai 70±6,12%, yang masih memenuhi standar semen segar untuk proses pengolahan lebih lanjut. Konsentrasi spermatozoa sebesar 1,185×10⁹ sel/ml menunjukkan kepadatan spermatozoa yang tinggi dan sesuai dengan karakteristik semen berkonsistensi sedang hingga kental. Viabilitas spermatozoa mencapai 84±3,16%, sedangkan abnormalitas hanya 4,2±0,84%, jauh di bawah batas maksimum abnormalitas untuk inseminasi buatan yaitu 20% (Ismaya, 2014). Hasil ini menunjukkan bahwa semen segar yang digunakan memiliki kualitas yang baik dan layak untuk proses pengenceran serta penyimpanan suhu dingin.

Pengaruh Suplementasi Vitamin C terhadap Motilitas Spermatozoa

Motilitas merupakan indikator utama kualitas spermatozoa karena berkaitan langsung dengan kemampuan spermatozoa mencapai dan membuahi ovum. Hasil pengamatan motilitas spermatozoa selama penyimpanan pada suhu 5°C disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Motilitas spermatozoa (%) selama penyimpanan

Hari	P0	P1 (0,5%)	P2 (1%)	P3 (1,5%)
0	83,3±3,4	87,4±1,6	83,4±2,8	71,8±6,9
1	70,2±1,9	71,4±1,8	70,2±2,3	58,2±4,8
2	52,8±4,7	54,2±2,7	53,8±3,1	43,8±3,6
3	37,0±1,2	38,4±1,9	37,8±1,6	30,0±1,8

Motilitas spermatozoa mengalami penurunan pada seluruh perlakuan seiring bertambahnya lama penyimpanan. Penurunan ini terjadi akibat berkurangnya cadangan energi dan meningkatnya kerusakan membran plasma selama penyimpanan dingin. Namun demikian, suplementasi vitamin C 0,5% (P1) menghasilkan motilitas tertinggi pada setiap periode

pengamatan dibandingkan perlakuan lainnya. Pada hari ke-2, motilitas spermatozoa P1 masih mencapai $54,2 \pm 2,7\%$, sehingga masih memenuhi standar minimal untuk pemrosesan semen, sedangkan pada hari ke-3 seluruh perlakuan mengalami penurunan hingga di bawah 40%.

Tingginya motilitas pada perlakuan P1 menunjukkan bahwa vitamin C berfungsi efektif sebagai antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas dan menghambat peroksidasi lipid membran spermatozoa. Perlindungan terhadap membran plasma menyebabkan metabolisme sel tetap berlangsung sehingga energi yang dihasilkan masih mampu mendukung pergerakan progresif spermatozoa. Hasil ini sejalan dengan penelitian Aslam *et al.* (2014) yang melaporkan bahwa penambahan vitamin C pada pengencer Andromed® mampu mempertahankan motilitas spermatozoa selama penyimpanan.

Sebaliknya, perlakuan P3 (1,5%) menunjukkan motilitas terendah dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan lainnya. Kondisi ini mengindikasikan bahwa dosis vitamin C yang terlalu tinggi dapat menyebabkan perubahan sifat medium sehingga aktivitas antioksidan berubah menjadi prooksidan yang justru mempercepat kerusakan sel spermatozoa. Temuan ini sesuai dengan pendapat Savitra *et al.* (2014) dan Gordon (1990) bahwa penggunaan antioksidan berlebihan dapat menurunkan kualitas spermatozoa.

Pengaruh Suplementasi Vitamin C terhadap Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa menunjukkan persentase spermatozoa hidup selama penyimpanan. Pengamatan dilakukan menggunakan pewarnaan eosin-nigrosin, di mana spermatozoa hidup tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa mati berwarna merah. Gambar 1 menunjukkan perbedaan spermatozoa hidup dan mati hasil pewarnaan diferensial.

Tabel 3. Viabilitas spermatozoa (%) selama penyimpanan

Hari	P0	P1 (0,5%)	P2 (1%)	P3 (1,5%)
0	$82,6 \pm 2,4$	$83,8 \pm 1,0$	$83,8 \pm 1,3$	$70,0 \pm 1,7$
1	$69,4 \pm 2,8$	$71,2 \pm 2,9$	$70,8 \pm 4,3$	$57,4 \pm 6,5$
2	$54,8 \pm 4,7$	$58,4 \pm 4,5$	$57,8 \pm 6,9$	$44,4 \pm 5,0$
3	$39,8 \pm 1,7$	$45,4 \pm 3,2$	$43,8 \pm 1,6$	$30,8 \pm 0,8$

Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas spermatozoa menurun secara bertahap selama penyimpanan. Perlakuan P1 menghasilkan viabilitas tertinggi pada seluruh waktu pengamatan. Pada hari pertama penyimpanan, viabilitas spermatozoa masih mencapai $71,2 \pm 2,9\%$, sehingga memenuhi standar viabilitas semen untuk inseminasi buatan yaitu 60–75% (Prastika *et al.*, 2018).



Gambar 1. Pewarnaan diferensial:

A. Spermatozoa hidup(tidak menyerap warna), B. Spermatozoa mati (menyerap warna)

Kemampuan vitamin C mempertahankan viabilitas spermatozoa berkaitan dengan perannya sebagai antioksidan yang melindungi membran plasma dari kerusakan oksidatif. Membran plasma yang tetap utuh memungkinkan berlangsungnya transport nutrisi dan metabolisme sel secara normal sehingga spermatozoa mampu bertahan hidup lebih lama. Hasil penelitian ini sejalan dengan Aslam *et al.* (2014) dan Lubis *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa suplementasi vitamin C pada pengencer semen dapat meningkatkan daya hidup spermatozoa selama penyimpanan dingin.

Perlakuan P3 menghasilkan viabilitas terendah dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan lainnya. Penurunan tersebut diduga disebabkan oleh tingginya konsentrasi vitamin C yang menyebabkan medium menjadi lebih asam sehingga mengganggu aktivitas enzim metabolisme spermatozoa dan mempercepat kematian sel. Kondisi ini menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C harus diberikan pada konsentrasi optimal agar memberikan efek protektif terhadap spermatozoa.

Pengaruh Suplementasi Vitamin C terhadap Abnormalitas Spermatozoa

Abnormalitas spermatozoa merupakan salah satu parameter penting dalam menentukan fertilitas karena berkaitan dengan kemampuan spermatozoa melakukan fertilisasi. Bentuk abnormal yang ditemukan selama penelitian meliputi kepala tidak normal, ekor bengkok, dan ekor terputus. Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Abnormalitas spermatozoa (%) selama penyimpanan

Hari	P0	P1 (0,5%)	P2 (1%)	P3 (1,5%)
0	4,2±2,1	4,6±1,9	5,8±1,9	4,6±1,8
1	5,0±1,8	4,2±1,6	5,0±1,4	5,4±2,3
2	4,0±2,0	4,0±2,0	5,0±1,5	5,0±1,2
3	4,6±0,8	4,8±2,0	5,4±2,1	5,4±2,0

Analisis statistik menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C tidak memberikan pengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap abnormalitas spermatozoa. Persentase abnormalitas pada seluruh perlakuan tetap rendah dan berada di bawah 20%, sehingga masih memenuhi standar kualitas semen untuk program inseminasi buatan.

Rendahnya tingkat abnormalitas selama penyimpanan diduga karena adanya kandungan lesitin dalam Andromed® yang berfungsi melindungi membran plasma spermatozoa dari kerusakan akibat cekaman dingin (cold shock). Selain itu, vitamin C lebih berperan dalam mempertahankan integritas membran dan metabolisme sel dibandingkan memperbaiki bentuk morfologi spermatozoa yang telah terbentuk sebelumnya. Hasil ini sejalan dengan penelitian Armangun *et al.* (2022) yang melaporkan bahwa suplementasi vitamin C tidak berpengaruh nyata terhadap abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan dingin.

Secara keseluruhan, penelitian menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C dalam pengencer Andromed® berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa Sapi Bali selama penyimpanan pada suhu 5°C. Konsentrasi 0,5% merupakan dosis optimum yang mampu mempertahankan motilitas hingga dua hari dan viabilitas hingga satu hari penyimpanan. Efektivitas tersebut berkaitan dengan kemampuan vitamin C sebagai antioksidan yang melindungi membran plasma spermatozoa dari kerusakan akibat radikal bebas dan peroksidasi lipid. Namun, peningkatan konsentrasi hingga 1,5% justru menurunkan kualitas spermatozoa karena menyebabkan kondisi medium menjadi terlalu asam dan mengganggu metabolisme sel. Sementara itu, suplementasi vitamin C tidak memberikan pengaruh nyata terhadap abnormalitas spermatozoa karena morfologi spermatozoa lebih dipengaruhi oleh proses spermatogenesis dibandingkan kondisi pengencer selama penyimpanan..

KESIMPULAN

Suplementasi vitamin C dalam pengencer Andromed® berpengaruh terhadap kualitas spermatozoa Sapi Bali yang disimpan pada suhu 5°C. Penambahan vitamin C sebesar 0,5% merupakan perlakuan terbaik karena mampu mempertahankan motilitas spermatozoa hingga 2 hari dan viabilitas hingga 1 hari penyimpanan dengan nilai yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Sementara itu, penambahan vitamin C pada konsentrasi yang lebih tinggi cenderung menurunkan kualitas spermatozoa. Oleh karena itu, vitamin C 0,5% direkomendasikan sebagai konsentrasi optimum dalam pengencer Andromed® untuk mempertahankan kualitas spermatozoa Sapi Bali selama penyimpanan dingin.

DAFTAR PUSTAKA

- Armangun A.F., U. Kirenius, N. K. Johny, L. L. Henderiana, Belli dan M. N. Wilmientje., 2022. Kualitas semen Sapi Bali dengan penambahan vitamin C dan mineral Zn (Zink) dalam pengencer sitrat kuning telur. Jurnal Nukleus Peternakan, 9 (2): 176-186.
- Arifiantini I., 2012. Teknis Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. IPB Press.Bogor.
- Aslam H.A., Dasrul dan Rosmaidar., 2014. Pengaruh Penambahan Vitamin C Dalam Pengencer Andromed® Terhadap Presentase Motilitas Dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa Sapi Aceh Setelah Pembekuan. Jurnal Medika Veterinaria, 8 (1): 853-1943.
- Ax R. L., M.R. Dally, B.A. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner and M.E. Bellin., 2016. Artificial Insemination. Reproduction in Farm Animals (2016): 376-389.
- Benconi M.T., C.R. Francia, N.G. Mora and M.A. Affranchino., 1993. Effect of natural antioxidants on frozen bovine semen preservations. Theriogenology. 40:841-851.
- Dzulqarnain A., S. Takdir dan M. Rusdi., 2022. Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Setelah Preservasi Menggunakan Pengencer Tris Kuning Telur dan Madu dengan Level Berbeda. Jurnal Ilmiah Peternakan Halu Oleo. 4(3):226.
- Gordon MH., 1990. The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro. Elsevier Applied Food Science Series, London.
- Lubis T. M., Dasrul, C. N. Thasmi dan T. Akbar., 2013. Efektivitas Penambahan Vitamin C dalam Pengencer Susu Skim Kuning Telur terhadap Kualitas Spermatozoa Kambing Boer setelah Penyimpanan dingin. Jurnal. Sains Pertanian, 3(1): 347-361.
- Minitub., 2001. Certificate Andromed. Minitub Abfullund Labortechnik GmbH & Co KG. Germany.
- Prastika Z., S. Suherni, A. Bodhi, S. Erma, F. Faisal dan A. P. Ragil., 2018. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Rambon di Desa Kemiren Banyuwangi. Jurnal Medik Veteriner, (1)2: 38-42.
- Savitra FK., Surhayati S, Siswanto., 2014. Kualitas semen beku Sapi Bali dengan penambahan berbagai dosis vitamin C pada bahan pengencer skim kuning telur. Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu. 2 (3) : 30-36.
- Sriwijayanti D. A, I. G. Putu, M. D. Rudyanto., 2012. Hubungan antara umur dengan berat karkas depan (*fore quarter*) ditinjau dari potongan primal Sapi Bali jantan. Indonesia Med. Vet., 1(2): 202-216.
- Sumadiasa IW.L., C. Arman, Lukman, E. Yuliani., 2022. Pengembangan Media Preservasi Sperma Pada ternak. Mataram University Press. Mataram.
- Toelihere M. R., 1981. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung. Toelihere M. R., 1993. Inseminasi Buatan pada Ternak. Angkasa. Bandung. Turner M. R., 1981.

The Tropical Adaption of Beef Cattle. An Australian Study In: Animal Breeding: Selected Articles from The Word Anim. Rev. FAO Animal Production and Health paper, (1): 92-97.

Widyas N., T. Nugroho and S. Prastowo., 2017. Rooms for genetic improvement in Indonesian Bali cattle population. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 193(1), (online). Diakses 16 Januari 2024.
<http://doi.org/10.1088/1757-899X/193/1/012037>.