



Pengaruh Penambahan Air Kelapa (*Cocos viridis*) Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Kacang (*Capra aegagrus hircus*) pada Penyimpanan Suhu 4-5° C

Effect of Adding Coconut Water (Cocos viridis) on Liquid Semen Quality of Kacang Goats (Capra aegagrus hircus) Stored at 4-5° C

Efi Rokana^{1*}, Yusuf Aris Sayoga¹, Ertika Fitri Lisnanti¹, Amiril Mukmin¹

¹Animal Husbandry Studi Program, Faculty of Agriculture, Universitas Islam Kediri, Kediri, East Java, Indonesia

*Corresponding Author. E-mail address: efi@uniska-kediri.ac.id

ARTICLE HISTORY:

Submitted: 16 November 2022
Accepted: 8 July 2023

KATA KUNCI:

Liquid semen
Kambing Kacang
Motilitas
Viabilitas
Abnormalitas spermatozoa

ABSTRAK

Kualitas semen cair terbaik sangat diperlukan untuk keberhasilan Inseminasi Buatan pada kambing kacang. Aplikasi teknologi IB dapat meningkatkan populasi kambing kacang yang merupakan bangsa kambing asli Indonesia secara signifikan sehingga dapat mendukung pemenuhan kebutuhan daging nasional. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan air kelapa dalam pengencer Skim Kuning Telur dan lama penyimpanan pada suhu dingin 4-5 °C terhadap kualitas semen cair kambing kacang. Materi penelitian adalah kambing kacang berjumlah empat ekor berumur 1 - 1,5 tahun, pengencer SKT, dan air kelapa. Metode penelitian adalah percobaan dengan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah penambahan air kelapa (AK) dalam pengencer SKT (D) yaitu D0= 100% SKT + 0% AK; D1= 30% SKT + 70% AK; D2= 20% SKT + 80% AK; D3= 10% SKT + 90% AK. Faktor kedua adalah lama penyimpanan semen cair pada suhu 4-5°C (H) yaitu H0= 0 hari; H1= 1 hari; H2= 2 hari, dan H3= 3 hari. Perlakuan diulang sebanyak 10 kali. Data dianalisa dengan Anova dan uji lanjut menggunakan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan air kelapa dan lama waktu penyimpanan suhu dingin menunjukkan pengaruh interaksi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase motilitas dan abnormalitas dan pengaruh interaksi yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase viabilitas spermatozoa. Rata-rata motilitas, viabilitas dan abnormalitas terbaik dijumpai pada perlakuan D3H0. Kesimpulan penelitian bahwa penambahan air kelapa dalam pengencer skim kuning telur dapat dilakukan sampai dengan dosis 90% dengan masa simpan pada suhu dingin 4-5°C selama 3 hari karena mampu mempertahankan kualitas semen cair kambing kacang dengan persentase motilitas lebih dari 40%.

ABSTRACT

The best semen quality is necessary for successful Artificial Insemination. Increasing population of Kacang goat, which is a native Indonesian goat breed can reach with the application of AI technology. It can support the suffice of national meat demand. The purpose of this study was to determine the effect of adding coconut water (CW) in the Skim Yolk Diluent (SYD) and storage time at a cold temperature of 4-5 C on the quality of liquid semen of Kacang

KEYWORDS:

Liquid semen
Kacang goat
Motility
Viability
Spermatozoa abnormalities

goat. The research material was four Kacang goats aged 1 - 1.5 years, SYD, and coconut water. The research method was an experiment with a factorial randomized block design (RBD) consisting of two factors. The first factor is the addition of coconut water in SYD (D), namely D0 = 100% SYD + 0% CW; D1 = 30% SYD + 70% CW; D2 = 20% SYD + 80% CW; D3 = 10% SYD + 90% CW. The second factor is the storage time of liquid cement at a temperature of 4-5°C (H), namely H0 = 0 days; H1 = 1 day; H2 = 2 days, and H3 = 3 days. The treatment was repeated 10 times. Data were analyzed by Anova and further test using Duncan's multiple distance test. The results showed that the combination treatment showed a significantly different interaction effect ($P < 0.05$) on the percentage of motility and abnormalities and the highly significant different interaction effect ($P < 0.01$) on the percentage of spermatozoa viability. The best mean of motility, viability and abnormality was found in the D3H0 treatment. The conclusion is that the addition of coconut water in SYD can be done up to 90% with the time storage at 4-5°C cold for 3 days because it is still able to maintain the quality of the Kacang goat liquid semen with a motility percentage more than 40%.

© 2023 The Author(s). Published by Department of Animal Husbandry, Faculty of Agriculture, University of Lampung in collaboration with Indonesian Society of Animal Science (ISAS). This is an open access article under the CC BY 4.0 license: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

1. Pendahuluan

Konservasi dan pengembangan kambing kacang penting dilakukan agar dapat berfungsi sebagai sumber daya genetik lokal dalam pengembangan peternakan kambing yang baik di masa depan (Suyadi *et al.*, 2019). Inseminasi Buatan pada ternak kambing di samping dapat mengoptimalkan penggunaan pejantan, keuntungan lain yaitu tidak diperlukannya biaya untuk pemeliharaan pejantan dan peternak dapat memperoleh sumber spermatozoa yang berasal dari pejantan unggul. Keberhasilan IB ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kualitas semen yang digunakan. Kualitas semen dapat dipertahankan melalui penggunaan pengencer yang dapat menjamin kebutuhan fisik dan kimia spermatozoa. Inseminasi Buatan (IB) dapat dilakukan dengan menggunakan semen cair maupun semen beku.

Inseminasi Buatan dengan menggunakan semen cair merupakan salah satu cara untuk mengatasi kesulitan memperoleh semen beku di beberapa daerah, oleh karena kesulitan mendapatkan nitrogen cair. Pengencer yang digunakan serta temperatur lemari pendingin (4-5°C) dapat mempengaruhi daya tahan spermatozoa selama penyimpanan. Terjadinya kerusakan spermatozoa saat preservasi pada suhu rendah perlu diminimalkan dalam upaya mempertahankan kualitas semen. Kerusakan tersebut dapat diatasi, salah satunya yaitu dengan menambahkan bahan pengencer yang berguna untuk mencegah terjadinya kerusakan spermatozoa, serta memenuhi persyaratan antara lain murah dan mudah diperoleh (Toelihere, 1993). Pengencer harus mengandung nutrisi misalnya

glukosa biasa ditambahkan sebagai sumber energi, kuning telur dan susu digunakan untuk melindungi spermatozoa dari *cold shock* saat proses pendinginan maupun pembekuan, mengandung buffer untuk menjaga pH agar tetap normal dan tekanan osmotik, mengandung bahan yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme misalnya *penicillin* dan *streptomycin*. Pengencer kuning telur yang mengandung lipoprotein dan fosfolipid seperti fosfatidikolin yang mempertahankan serta mencegah kerusakan membran sperma pada proses pembekuan dan susu skim memiliki kasein yang dapat melindungi spermatozoa selama penyimpanan pada suhu rendah (Allai et al., 2015).

Salah satu bahan pengencer alternatif yang dapat digunakan sebagai pengencer semen adalah air kelapa hijau. Air kelapa mengandung cukup banyak karbohidrat yaitu glukosa, fruktosa dan sukrosa yang dapat dimanfaatkan spermatozoa sebagai sumber energi. Menurut Vigliar, Sdepanian and Fagundes-Neto (2006) air kelapa mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana, seperti: glukosa, sukrosa, dan fruktosa. Hasil penelitian Audia et al (2017) menunjukkan bahwa penggunaan pengencer air kelapa hijau mampu mempertahankan motilitas spermatozoa kambing Boer di atas 40% hingga penyimpanan hari ke-2 selama penyimpanan pada suhu 4-5°C.. Menurut Kewilaa, Ondho and Setiatin (2014) menjelaskan bahwa karbohidrat yang berupa glukosa dan fruktosa dapat dijadikan sumber energi bagi spermatozoa dan diharapkan mampu mempertahankan kehidupan spermatozoa. Cairan elektrolit yang terkandung dalam air kelapa baik untuk kebutuhan hidup sperma dan mempertahankan keseimbangan osmotik. Selain itu, mineral yang terkandung juga baik untuk perkembangan sperma, menjaga kualitas dan agar sperma tetap hidup selama disimpan didalam suhu refrigerator

Namun demikian menurut (Kewilaa et al., 2014), hanya mengandalkan air kelapa saja tidak dapat melindungi spermatozoa dari temperatur rendah. Oleh karena itu perlu ada tambahan bahan lain di antaranya penggunaan kuning telur dan bahan penyangga. Kuning telur bisa mencegah spermatozoa dari kerusakan akibat *cold shock*. Susu skim mengandung protein, glukosa, dan sedikit lemak yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Penelitian tentang preservasi semen cair (*liquid semen*) menggunakan bahan pengencer skim kuning telur yang ditambahkan air kelapa hijau belum banyak dilakukan pada kambing kacang, sehingga melalui penelitian ini

ditujukan untuk mengetahui pengaruh penambahan air kelapa (*Cocus Viridis*) dan lama penyimpanan suhu dingin 4 - 5°C terhadap kualitas semen cair kambing kacang.

2. Materi dan Metode

2.1. Materi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Kandang Komunal Kelompok Ternak Sumber Rejeki di Jl. Sumber No. 16 Kelurahan Ngronggo, Kecamatan Kota, Kediri dan di Laboratorium Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Islam Kediri. Kambing dipelihara dengan diberi pakan rumput gajah dan konsentrat sesuai kebutuhan selama 4 bulan. Proses penampungan, pengenceran dan pengamatan terhadap kualitas semen cair berlangsung selama 8 minggu. Materi penelitian adalah 4 ekor kambing kacang jantan dewasa yang berusia 1-1,5 tahun, rata-rata bobot badan $16,08 \pm 1,20$ kg; rumput gajah, pakan konsentrat. Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain: Mikroskop, beaker glass, erlenmeyer, ose, mikropipet, sentrifuge, timbangan neraca ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kertas pH, cover glass, magnetic stirrer, objek glass, thermometer, hemocytometer, vagina buatan, kertas label, termos, aluminium foil, beaker glass (50 ml, 100 ml), gelas ukur (100 ml dan 10 ml), erlenmeyer, gunting, tabung koleksi, lemari pendingin. Bahan yang digunakan antara lain: susu skim, kuning telur, air kelapa hijau muda, eosin-negrosin, fruktosa, aquabidest, penicillin, streptomycin, alkhohol 70%.

2.2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial yang terdiri dua faktor . Faktor yang pertama adalah penambahan dosis air kelapa (D) dalam pengencer dasar Skim Kuning Telur (SKT), terdiri dari 4 level yaitu D0= 100% pengencer SKT, D1= 30% pengencer SKT dan 70% air kelapa, D2= 20% pengencer dasar SKT dan 80% air kelapa, D3= 10% pengencer SKT dan 90% air kelapa. Faktor kedua adalah lama penyimpanan (L) pada suhu dingin yang terdiri dari 4 level yaitu L0= 0 hari, L1= 1 hari, L2= 2 hari, L3= 3 hari sehingga diperoleh 16 kombinasi perlakuan, dan masing – masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak 10 kali sehingga diperoleh 160 unit percobaan. Pengelompokan berdasarkan

waktu penampungan semen dan berfungsi sebagai ulangan penelitian. Variabel penelitian yang diamati adalah kualitas mikroskopis semen cair (*liquid semen*) kambing kacang yang meliputi: motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Data penelitian diolah secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial. Jika terdapat perbedaan pengaruh yang nyata atau sangat nyata dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Susilawati, 2015).

2.2.1. Koleksi dan pengenceran semen

Koleksi semen dilakukan sesuai prosedur Susilawati (2013) dan Hafez (2008). Koleksi semen dilakukan 2 kali seminggu menggunakan vagina buatan dengan kambing betina sebagai pemancing. Waktu pengambilan semen adalah pagi hari jam 07.00-09.00. Semen yang diperiksa merupakan hasil koleksi semen dari ejakulasi pertama. Selanjutnya, dilakukan evaluasi kualitas semen segar yang meliputi pemeriksaan makroskopis yaitu pH, volume, bau, warna, konsistensi semen, dan pemeriksaan mikroskopis yaitu gerak massa, motilitas, konsentrasi, persentase hidup dan abnormalitas spermatozoa sesuai prosedur Ax et al. (2008). Semen segar yang digunakan minimal mempunyai gerakan massa +++ dan motilitas 80 %.

2.2.2 Pengenceran semen

Tahapan selanjutnya yaitu pembuatan bahan pengencer semen yang berupa campuran skim dan kuning telur, dengan komposisi sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi bahan pengencer (untuk setiap 100 ml pengencer)

Bahan	Jumlah	Volume/Berat
Aquabidest	80%	80 ml
Susu skim bubuk	10%	10 g
Fruktosa	1%	1 ml
Penicillin	1.000 IU/ml	0,3 g
Streptomycin	0,1%	0,1 g
Kuning Telur	5%	5 ml

Sumber : Susilawati (2013)

Proses pengenceran semen dilakukan segera setelah penampungan untuk semen segar hasil penampungan yang memenuhi standar. Jumlah penambahan air kelapa dalam pengencer campuran SKT dan air kelapa hijau sesuai dengan perlakuan penelitian yaitu D0= 0%; D1= 70%, D2= 80%, dan D3= 90%. Perhitungan penambahan volume pengencer saat pengenceran semen segar mengikuti rumus (Susilawati 2013):

$$\text{Volume Total} = \frac{\text{Jumlah semen segar (ml)} \times \text{Konsentrasi} \times 10^6}{25 \times 10^6} \times 0,25 \text{ ml}$$

Semen cair (*liquid semen*) untuk masing-masing perlakuan kemudian ditempatkan dalam 3 tabung dan dilakukan pengamatan secara triplo terhadap kualitas mikroskopis yang meliputi motilitas, viabilitas, dan abnormalitas spermatozoa sebagai data pengamatan hari ke 0. Selanjutnya semen cair dari setiap perlakuan disimpan pada refrigerator dengan suhu 4- 5°C. Evaluasi semen cair secara mikroskopis dilakukan lagi pada hari ke 1, hari ke 2, dan hari ke 3 masa penyimpanan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pemeriksaan semen segar Kambing Kacang

Setelah penampungan semen Kambing Kacang maka segera dilakukan pemeriksaan dan evaluasi kualitas semen segar. Pemeriksaan semen segar penting dilakukan untuk mengetahui layak atau tidaknya semen kambing kacang untuk diencerkan dan diproses lebih lanjut. Menurut Waluyo (2014) dan Susilawati (2013) pemeriksaan makroskopis semen meliputi konsistensi, bau, warna, pemeriksaan volume, dan derajat keasaman (pH) semen. Pemeriksaan mikroskopis semen meliputi gerakan individu, gerakan massa, motilitas, viabilitas serta abnormalitas spermatozoa. Hasil pemeriksaan kualitas semen segar disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2 menunjukkan bahwa semen segar hasil penampungan menunjukkan kualitas normal dan dapat di proses lebih lanjut yaitu pengenceran dan penyimpanan pada suhu dingin. Pengujian yang dilakukan pada uji kualitas semen segar dalam penelitian, menunjukkan hasil rata-rata volume semen yaitu $0,5 \pm 0,29$ ml.

Tabel 2. Kualitas semen segar kambing Kacang

Variabel	Rataan ± SD
Volume	0,5 ± 0,2 ml
Warna	Kream susu
Ph	6-7
Konsistensi	Kental
Bau	Khas
Konsentrasi	4105 x 10 ⁶ ± 267,145
Motilitas massa	3+
Motilitas individu (%)	85 ± 4,1 %
Viabilitas	89 ± 6,9 %
Abnormalitas	4,4 ± 2,5 %

Sumber: Data terolah (2021)

3.1.1. Volume Semen

Rata-rata volume yang didapat pada saat penampungan semen segar yaitu 0,5 ± 0,2 ml, volume ini tergolong normal untuk kambing kacang lokal. Menurut Pamungkas *et al.* (2008) volume ejakulat kambing kacang yaitu 0,5-0,7 ml/ejakulat. Faktor utama penelitian yang mempengaruhi ejakulasi pejantan kambing kacang antara lain libido, berat badan dan jumlah *false mounting*. Faktor yang juga dapat memberikan pengaruh pada volume semen yang dihasilkan antara lain yaitu nutrisi, umur, ukuran testes, perbedaan habitat, genetik, maupun frekuensi penampungan (Adhyatma *et al.*, 2013; Hafez, 2008; Muthiapriani *et al.*, 2019)

3.1.2. Warna Semen

Penilaian terhadap warna semen dapat dilihat langsung dari tabung koleksi semen (*collecting tube*) Warna semen yang digunakan sebagai bahan penelitian ini adalah semen yang berwarna putih kekuningan, Hal ini mengindikasikan bahwa semen tersebut normal. Menurut Pamungkas *et al.* (2008) kambing kacang memiliki warna semen yang bermacam-macam mulai dari warna krem, putih susu, dan kuning. Hanum *et al.* (2012) melaporkan bahwa warna semen kambing kacang cenderung krem daripada berwarna putih susu. Warna semen kambing yang berwarna krem sampai kuning masih termasuk dalam kategori normal.

3.1.3. Konsistensi Semen

Konsistensi semen yang digunakan pada penelitian ini adalah kental. Tingkat kekentalan atau konsistensi semen kambing sangat erat kaitannya dengan konsentrasi

semen, konsistensi semen yang kenyal menggambarkan bahwa konsentrasi spermatozoa kambing kacang masih relatif cukup tinggi. Dasar dari penentuan konsistensi semen yaitu semen yang krem kental mempunyai konsentrasi sekitar 1.000 – 2.000 juta sel/ml semen, konsistensi sedang warna putih susu encer memiliki konsentrasi 500 – 1.000 juta sel/ml semen, sedangkan semen dengan konsistensi encer kekuningan konsentrasi antara 200-500 juta sel/ml semen (Waluyo, 2014). Konsistensi merupakan derajat kekentalan dan dapat diperiksa dengan cara menggetar-getarkan tabung yang berisi semen. Semen yang baik derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu, sedangkan semen yang jelek, baik warna maupun kekentalannya sama dengan air buah kelapa (Partodihardjo, 1980). Konsistensi semen kambing kacang menurut penelitian Hanum *et al.* (2012) adalah sedang, sehingga tidak terlalu encer dan kental. Semakin kental semen dapat diartikan bahwa semakin tinggi konsentrasinya.

3.1.4. pH Semen

pH semen segar pada penelitian ini adalah 6,5-7,0. Nilai tersebut menunjukkan bahwa semen kambing kacang yang digunakan dalam keadaan normal. Nilai tersebut tidak jauh berbeda dengan pendapat Hanum *et al.* (2012) yang melaporkan bahwa rata-rata pH kambing kacang berkisar 6,4-6,7, sedangkan menurut Waluyo (2014) pH semen domba atau kambing berkisar 5,9-7,3. pH merupakan faktor pembatas kelangsungan hidup spermatozoa di dalam semen. Perubahan pH ke arah yang lebih asam (angka lebih kecil dari 7) akibat penimbunan asam laktat hasil metabolisme anaerob dapat menurunkan tingkat kelangsungan hidup spermatozoa (Toelihere, 1993). Menurut Pamungkas, Mahmilia and Elieser (2008) menyebutkan bahwa kisaran pH kambing kacang 6,6-7,2.

3.1.5. Motilitas Semen

Hasil evaluasi motilitas massa semen kambing kacang yaitu 3+, dimana semen ini memiliki pergerakan seperti awan yang bergerak cepat dan berwarna hitam dalam pandangan mikroskop. Semen yang diproses lanjut adalah jika memiliki motilitas massa minimal 2+ agar dapat mempertahankan kehidupan spermatozoa pada saat penyimpanan pada suhu dingin. Kriteria dalam penilaian pergerakan massa pada semen yaitu apabila dikatakan baik (+++) maka akan terlihat gerakan gelombang cepat dan

banyak. Apabila pergerakan massa semen sedang (++) maka akan terlihat pergerakan gelombang sedang. Sedangkan pergerakan massa semen jelek (+) maka akan terlihat gelombang lemah (hampir tidak terlihat) dan kosong (N) apabila tidak ada gerakan sama sekali (Waluyo, 2014). Persentase rata-rata motilitas individu semen segar hasil penampungan adalah baik yaitu $85 \pm 4,1\%$. Hasil tersebut lebih rendah dari hasil motilitas spermatozoa kambing kacang yang dilaporkan oleh Pamungkas, Mahmilia dan Elieser (2008) yaitu sebesar $88,57 \pm 7,85$. Semen segar hasil penampungan tersebut dapat diproses lebih lanjut oleh karena menurut (Waluyo, 2014) semen yang dapat diproses adalah jika memiliki motilitas lebih besar dari 70%.

Rata-rata viabilitas semen segar kambing kacang yang diperoleh selama penelitian adalah $89 \pm 6,9\%$. Hasil viabilitas tersebut lebih tinggi dibandingkan hasil yang dilaporkan oleh Hanum *et al.* (2012) yaitu $81,74 \pm 7,5\%$. Semen segar dapat diproses lebih lanjut menjadi semen cair, sebagaimana dilaporkan Arifiantini *et al.* (2006) yaitu jika memiliki presentase viabilitas spermatozoa 83,38-88,94%, hal ini berarti bahwa persentase viabilitas spermatozoa pada penelitian masih tergolong baik dan dapat diproses menjadi semen cair. Semen yang memiliki abnormalitas yang rendah dikategorikan sebagai semen yang berkualitas baik. Semen segar kambing kacang yang diperoleh memiliki rata-rata abnormalitas $4,4 \pm 2,5\%$, sehingga masih dapat digunakan untuk pembuatan semen cair. Menurut Ismaya (2014), menyatakan bahwa semen dikatakan berkualitas rendah serta berdaya konsepsi rendah jika memiliki persentase abnormalitas lebih dari 20%. Menurut (Susilawati, 2013), menjelaskan saat pejantan men ejakulasikan semen dan mengandung spermatozoa abnormal dengan persentase 20% atau lebih maka perlu dipertanyakan fertilitas pejantan tersebut, oleh karena abnormalitas spermatozoa berkorelasi positif dengan fertilitas pejantan.

3.2. Pengaruh interaksi penambahan air kelapa dalam pengencer skim kuningTelur (SKT) dan lama penyimpanan pada suhu dingin 4-5° C terhadap kualitas semen cair (liquid semen) kambing kacang

3.2.1. Motilitas spermatozoa

Berdasarkan analisis ragam menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan penambahan air kelapa dalam pengencer SKT dan lama penyimpanan pada suhu dingin memberikan pengaruh interaksi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas

spermatozoa. Rata-rata motilitas spermatozoa pada masing-masing kombinasi perlakuan tertera pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Rata-rata Motilitas (%) spermatozoa pada masing-masing kombinasi perlakuan

Dosis air kelapa (D)	Lama Penyimpanan (H)			
	H0	H1	H2	H3
D0	51,19±3,11 ^e	42,50±4,38 ^{hi}	40,13±1,44 ⁱ	38,94±1,81 ⁱ
D1	55,25±3,75 ^{bcd}	52,06±2,24 ^{de}	47,63±1,64 ^g	44,00±2,03 ^h
D2	56,13±1,42 ^{bc}	53,81±1,31 ^{cde}	51,13±1,60 ^{ef}	47,88±1,79 ^{fg}
D3	66,75±1,76 ^a	63,69±0,85 ^a	58,38±2,13 ^b	54,50±1,34 ^{cde}

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Rata-rata tertinggi motilitas spermatozoa terdapat pada perlakuan D3H0 yaitu dosis penambahan air kelapa 90% dalam pengencer SKT dan lama penyimpanan selama 0 hari. Rata-rata motilitas terendah terdapat pada perlakuan D0H3 yaitu pada pengencer 100% SKT (dosis 0% penambahan air kelapa) dan lama penyimpanan suhu dingin selama 3 hari. Penambahan air kelapa 90% memberikan nutrisi yang cukup untuk kehidupan dan pergerakan spermatozoa. Hal ini sesuai dengan pendapat (Toelihere, 1993) yang menyatakan bahwa nutrisi yang lengkap serta tambahan kandungan kuning telur bisa membuat motilitas spermatozoa bertahan dengan baik serta melindungi spermatozoa dari efek yang diakibatkan *cold shock* selama penyimpanan.

Rata-rata motilitas terendah terdapat pada perlakuan D0H3. Pengencer susu skim dan kuning telur belum mampu secara optimal mempertahankan spermatozoa terhadap suhu dingin. Hasil penelitian Nunes *et al.* (2004) melaporkan bahwa pengencer kuning telur hanya bisa membantu mempertahankan motilitas sperma kambing dalam waktu 48 jam pada penyimpanan 5°C. Dapat dikatakan bahwa dengan menggunakan dosis kuning telur sebanyak 10 dan 15% belumlah mencukupi dalam melindungi spermatozoa dari pengaruh negatif suhu rendah yaitu adanya cekaman dingin (*cold shock*) selama proses penyimpanan di dalam refrigerator atau lemari es. Cekaman dingin yang berakibat buruk terhadap spermatozoa selama proses penyimpanan pada suhu rendah tidak dapat dihindari, namun demikian akibat yang ditimbulkan dapat diminimalkan yaitu dengan menambahkan komponen tertentu ke dalam pengencer semen (Varela Junior *et al.*, 2009). Air kelapa dapat ditambahkan dalam pengencer kuning telur sebagai upaya untuk memberikan tambahan nutrisi bagi spermatozoa.

Semakin lama waktu penyimpanan maka jumlah spermatozoa yang motil dapat terus menurun, menurut Yani *et al.* (2001), hal tersebut dapat dikarenakan jumlah energi yang ketersediannya makin menipis. Selama penyimpanan semen maka proses metabolisme spermatozoa tetap berjalan, serta menghasilkan produk yaitu asam laktat dan radikal bebas yang dapat merugikan bagi kehidupan spermatozoa. Proses preservasi yang dilakukan pada penelitian berlangsung secara anaerob (tanpa oksigen) dengan hasil akhir metabolisme berupa asam laktat. Asam laktat yang tertimbun selama preservasi menyebabkan derajat keasaman (pH) pengencer menjadi menurun. Toelihere (1993) menyatakan bahwa pH sangat mempengaruhi daya tahan hidup spermatozoa. Lebih lanjut Hunter *et al* (2011) menyatakan bahwa penyimpanan pada suhu dingin dapat meningkatkan jumlah spermatozoa yang rusak, menipisnya sumber energi yang tersedia di dalam pengencer, dan bertambahnya umur spermatozoa yang menyebabkan menurunnya daya hidup spermatozoa tersebut.

Pendapat Arifiantini dan Purwantara (2010) menyatakan bahwa keutuhan membran plasma sel berhubungan dengan motilitas dan daya hidup spermatozoa. Hal ini dapat dijelaskan bahwa keberadaan membran plasma sel memiliki peran ganda, yaitu memberikan perlindungan bagi organel-organel sel dari kerusakan baik secara mekanik maupun secara biokemik, mengatur lalu lintas seluruh substrat keluar dari dan masuk dalam sel serta elektrolit yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Jika terjadi kerusakan pada membran plasma sel bagian tengah spermatozoa, maka menyebabkan *aspartat aminotransferase* (AspAT) keluar dari dalam sel, akibatnya dapat terjadi gangguan dalam proses metabolisme, oleh karena AspAT merupakan enzim mitokondria utama dalam proses produksi adenosin trifosfat (ATP).

Semen masih layak untuk digunakan inseminasi buatan jika memiliki angka motilitas post thawing diatas 40%. Berdasarkan **Tabel 2** diketahui bahwa semen pada semua kombinasi perlakuan masih layak untuk digunakan inseminasi karena memiliki prosentase motilitas diatas 40%, kecuali pada perlakuan D3H3 dengan nilai motilitas (%) : $38,94 \pm 1,81$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan air kelapa pada pengencer skim kuning telur dengan lama penyimpanan suhu dingin 4-5°C sampai hari ke 3 (H3) masih menghasilkan persentase motilitas di atas 40%. Lama simpan pada penelitian ini sama dengan hasil penelitian Affandhy (2003); Afiati *et al.* (2003) menunjukkan bahwa motilitas sperma pada semen kambing kacang yang diencerkan

dengan kuning telur dan air kelapa bertahan sampai hari ke tiga. Menurut (Yong *et al.*, 2009) zat-zat nutrisi yang utama terkandung dalam air kelapa yaitu glukosa, fruktosa, dan sukrosa, sehingga keberadaannya dapat digunakan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Gerak atau motilitas spermatozoa sangat dipengaruhi oleh suplai energi yaitu ATP yang merupakan hasil metabolisme karbohidrat.

3.2.2. Viabilitas spermatozoa

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan air kelapa dalam pengencer SKT dan lama penyimpanan pada suhu dingin memberikan pengaruh interaksi yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap persentase viabilitas spermatozoa. Rata-rata persentase viabilitas spermatozoa sebagaimana tertera pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Rata-rata viabilitas spermatozoa pada masing-masing kombinasi perlakuan (%)

Dosis air kelapa (D)	Penyimpanan / Hari (H)			
	H0	H1	H2	H3
D0	61,66±4,36 ^{fg}	58,75±4,73 ^{gh}	52,93±2,46 ^j	49,76±0,33 ^l
D1	70,10±2,91 ^b	65,89±1,61 ^{cd}	63,43±1,82 ^{def}	56,10±3,56 ^{gh}
D2	70,83±0,5 ^b	7,59±1,63 ^{bc}	65,33±0,93 ^{cde}	57,03±2,50 ⁱ
D3	78,45±3,37 ^a	76,26±4,48 ^a	64,23±2,17 ^{cdef}	57,70±0,49 ^{hi}

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($P < 0,01$).

Persentase viabilitas tertinggi terdapat pada kombinasi perlakuan D3H0 yaitu sebesar 78,45±3,37%. Hasil persentase viabilitas spermatozoa dengan penambahan air kelapa menunjukkan angka diatas 50% mulai penyimpanan hari ke 0 (H0) sampai hari ke 3 (H3). Hal ini menunjukkan bahwa air kelapa dapat mempertahankan daya hidup spermatozoa selama proses penyimpanan. Air kelapa yang ditambahkan dalam pengencer skim kuning telur dalam penelitian ini mampu dengan baik memberikan proteksi bagi kehidupan spermatozoa dalam semen cair kambing kacang selama proses penyimpanan. Kemampuan protektif tersebut dapat bersumber dari aktivitas antioksidan. Antioksidan yang terkandung dalam air kelapa dapat mencegah terjadinya kerusakan oskidatif akibat peroksidasi lipid. Antioksidan dalam air kelapa ini berasal dari golongan polifenol (flavonoid) yang dapat menghambat aktivitas perusakan membran spermatazoa akibat peroksidasi lipid melalui donor atom hidrogen, eliminasi senyawa ROS penyebab peroksidasi lipid (Khalid Thebo *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2010).

Menurut Ax, Dally, Didion, Lenz, Love, and Vaner (2008) menyatakan bahwa semen yang normal biasanya mempunyai viabilitas minimum sebesar 50%. Pada perlakuan pengencer 100% SKT (D0) dengan lama penyimpanan pada suhu dingin selama 3 hari (DOH3) menghasilkan persentase sperma hidup terendah yaitu $49,76 \pm 0,33$. Kandungan bahan pengencer yang berbeda dapat mengakibatkan perbedaan kandungan nutrisi yang terdapat di dalamnya. Bahan pengencer yang mempunyai kandungan nutrisi jauh lebih lengkap dapat membuat spermatozoa bertahan hidup lebih lama.

Berdasarkan Tabel 3 diketahui bahwa pada semua kombinasi perlakuan memiliki rata-rata persentase sperma hidup diatas 50% kecuali pada perlakuan DOH3. Hal ini diduga dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kandungan nutrisi dalam pengencer, kurangnya energi di dalam pengencer, pH pengencer, dan tekanan osmotik dari bahan pengencer (Affandhy, 2003; Danang, Isnaini and Trisunuwati, 2012; Hafez, 2008). Semakin tinggi dosis air kelapa dalam pengencer skim kuning telur maka semakin tinggi pula persentase viabilitas spermatozoa. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan air kelapa pada pengencer skim kuning telur dapat lebih mempertahankan persentase viabilitas spermatozoa selama penyimpanan pada suhu dingin dibandingkan perlakuan tanpa penambahan air kelapa.

Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan berdampak pada, semakin menurunnya persentase viabilitas spermatozoa pada semua perlakuan. Sesuai pendapat (Affandhy, 2003) yang menyatakan bahwa persentase viabilitas pada semen yang diencerkan menggunakan kuning telur dengan air kelapa mulai mengalami penurunan sejak hari ke-1 sampai hari ke-7 masa penyimpanan. Menurut Yani, Nuryadi and Pratiwi (2001) menjelaskan bahwa persentase viabilitas spermatozoa yang masih tinggi pada awal penyimpanan dapat disebabkan karena masih tercukupinya zat energi yang dibutuhkan untuk kehidupan spermatozoa, larutan penyanggah yang masih stabil, tekanan osmotik yang masih isotonis, dan umur spermatozoa yang masih segar. Banyak faktor yang mempengaruhi viabilitas spermatozoa, salah satu diantaranya adalah faktor penurunan suhu atau kondisi lingkungan. Pendapat (Susilawati, 2011) mengatakan bahwa temperatur suhu yang menurun dapat mengakibatkan penurunan aktivitas metabolisme spermatozoa yang dapat berakibat pada menurunnya produksi

energi yang dapat dimanfaatkan sebagai energi mekanik (pergerakan) maupun sebagai energi kimiawi (biosintesis).

3.2.3. Abnormalitas spermatozoa

Analisis ragam menunjukkan adanya pengaruh interaksi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) pada abnormalitas spermatozoa dengan perlakuan penambahan air kelapa dalam pengencer SKT dan lama penyimpanan yang berbeda. Rata-rata abnormalitas spermatozoa sebagaimana tertera pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Rata-rata Abnormalitas (%) spermatozoa pada masing-masing kombinasi perlakuan

Dosis air kelapa (D)	Penyimpanan / Hari (H)			
	H0	H1	H2	H3
D0	5,51±0,31 ^d	6,60±0,17 ^c	7,66±0,12 ^c	12,20±0,40 ^a
D1	4,29±0,82 ^{ef}	5,59±0,89 ^d	6,86±0,93 ^c	11,55±0,42 ^a
D2	3,58±0,19 ^g	4,30±0,29 ^{ef}	5,01±0,90 ^{de}	9,51±0,22 ^b
D3	3,52±0,11 ^g	3,65±0,38 ^{fg}	4,71±0,19 ^e	8,91±0,32 ^b

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$).

Berdasarkan Tabel 4 diketahui bahwa angka persentase abnormalitas terendah adalah 3,52±0,11 yang terdapat pada perlakuan D3H0, sedangkan angka persentase abnormalitas tertinggi ditunjukkan pada perlakuan D0H3 yaitu 12,20±0,40. Nilai rata-rata abnormalitas yang didapat tidak ada yang melebihi angka 20%, hal ini dapat diartikan bahwa dosis pengencer yang digunakan dalam penelitian ini dapat mempertahankan kualitas terutama morfologi dari spermatozoa. Menurut pendapat Susilawati (2011) yang mengatakan bahwa ada dua jenis abnormalitas spermatozoa antara lain abnormalitas primer yang berhubungan dengan kepala dan akrosom serta abnormalitas sekunder ketika adanya sitoplasmik droplet pada midpiece pada ekor. Berdasarkan Tabel 4 diperoleh hasil nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa pada seluruh kombinasi perlakuan menunjukkan bahwa semen masih layak digunakan untuk inseminasi buatan dengan lama penyimpanan sampai pada hari ke-3, karena nilainya dibawah 20%. Menurut Ax, Dally, Didion, Lenz, Love, and Vaner (2008) dan Gubartallah et al. (2005) berpendapat bahwa spermatozoa yang memiliki abnormalitas lebih dari 20% tidak dapat diperuntukkan untuk proses inseminasi buatan. Sesuai dengan pendapat Toelihere, (1993) yang mengatakan bahwa spermatozoa yang memiliki abnormalitas tinggi bisa mengakibatkan turunnya tingkat fertilitas pada

pelaksanaan inseminasi buatan. Menurut Hafez (2008) menyatakan bahwa abnormalitas yang bagus untuk IB adalah yang memiliki abnormalitas antara 5-15%.

Semakin tinggi dosis air kelapa dalam pengencer skim kuning telur maka semakin rendah prosentase abnormalitasnya. Sedangkan semakin lama penyimpanan maka semakin tinggi pula prosentase abnormalitas spermatozoa. Semakin lama penyimpanan membran sel akan rusak yang berpengaruh terhadap metabolisme spermatozoa. Keadaan membran sel spermatozoa yang tidak sempurna akan meningkatkan abnormalitas spermatozoa. Persentase abnormalitas terendah terdapat pada perlakuan D3H0. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan air kelapa sebanyak 90% pada skim kuning telur dan tanpa proses penyimpanan pada suhu dingin dapat mempertahankan morfologi spermatozoa diduga karena kandungan elektrolit dalam air kelapa mampu mempertahankan tekanan osmotik pada membran spermatozoa dan sebagai penyangga sehingga mampu mempertahankan pH semen. Menurut Gubartallah, *et al.* (2005), menyatakan bahwa terjadinya peningkatan abnormalitas spermatozoa disebabkan oleh efek cold shock dan ketidak seimbangan nutrisi.. Abnormalitas spermatozoa semakin meningkat seiring dengan lamanya waktu penyimpanan. Menurut Toelihere (1993) menyatakan bahwa penambahan waktu penyimpanan menyebabkan derajat keasaman (pH) semen menurun. Ditambahkan oleh Suyadi dan Rachmawati, (2012) menyatakan bahwa adanya suhu yang berubah selama proses pengenceran semen dapat menyebabkan perubahan permeabilitas sel membran spermatozoa, sehingga dapat berakibat pada meningkatnya kejadian spermatozoa yang abnormal.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis air kelapa dalam pengencer skim kuning telur dapat ditambahkan sampai 90% dengan lama penyimpanan pada suhu dingin 4-5°C selama 3 hari untuk mempertahankan kualitas semen cair (Liquid semen) kambing kacang yang layak digunakan untuk inseminasi buatan oleh karena mempunyai nilai persentase motilitas lebih dari 40%.

Daftar Pustaka

- Adhyatma, M., N. Isnaini, dan Nuryadi. 2013. Pengaruh bobot badan terhadap kualitas dan kuantitas semen sapi Simmental. *Jurnal Ternak Tropika*. 14(2): 53-62
- Affandhy, L. 2003. Pengaruh Penambahan Kolesterol dan Kuning Telur di dalam Bahan Pengencer Tris-Sitrat dan air Kelapa Muda terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Potong. in *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor, pp. 29–30.
- Afiati, B. Tappa and Djuarsawidjaja. 2003. Pengaruh Perbandingan Kuning Telur dan Air Kelapa terhadap Daya Tahan Hidup (Viabilitas) Spermatozoa Sapi Hasil Pemisahan. *Media Peternakan*. 26(3): 82–87.
- Allai, L., X. Druart, J. Contell, N. Louanjii, and A.B. Moula. 2015. Effect of argan oil on liquid storage of ram semen in Tris or skim milk based extenders. *Animal Reproduction Science*. doi: 10.1016/j.anireprosci.2015.07.003.
- Arifiantini, R. T, W. and EF, R. 2006. Pengujian Morfologi Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Menggunakan Pewarnaan Wilimams. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis*. 31(2): 105–110.
- Arifiantini, R. I. and B. Purwantara. 2010. Motility and viability of friesian holstein spermatozoa in three different extender stored at 5°C, *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*. doi: 10.14710/jitaa.35.4.222-226.
- Audia, R.P, M. A. Salim, N. Isnaini, dan T. Susilawati. 2017. Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau Sebagai Bahan Pengencer Yang Ditambah 10% Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. *Ternak Tropika Journal of Tropical Animal Production*. doi: 10.21776/ub.jtapro.2017.018.01.8.
- Ax, R.M., B. Dally, R. Didion, C. Lenz, D. Love, H. Vaner and M. B. 2008. *Semen Evaluation in Reproduction in Farm Animal*. Seventh. Edited by E. S. . Hafez. South Carolina United States of America: Reproductive Health Kiawah Island.
- Danang, D. R., N. Isnaini dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh Lama Simpan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung Dalam Pengencer Ringer's Pada Suhu 4 C. *Jurnal Ternak Tropika*. 13(1): 47-57
- Gubartallah, A., A. Ahmed, O. Bakhiet. 2005. Comparative Studies on Reproductive Performance of Nubian and Saanen Bucks under the Climatic Conditions of Khartoum. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 4(11): 942-944
- Gupta, S., L. Sekhon, Y. Kim, A. Agarwal, A. 2010. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Assisted Reproduction. *Current Women's Health Reviews*. doi: 10.2174/157340410792007046.
- Hafez, E. 2008. *Reproduction in Farm Animals*. seventh ed. Edited by E. Hafez and B. Hafez. Blackwell Publishing. Philadelphia USA
- Hafez, E. S. 2008. Preservation and Cryopreservation of Gametes and Embryos. in *Reproduction in Farm Animals*. 7 th. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. Awollers Kluwer Company. 431-442.
- Hanum, A.N., E.T. Setiatin, D. Samsudewa, D. E. Kurnianto, E. Purbowati, S. Sutopo. 2012. Perbandingan Kualitas Semen Kambing Kejobong Dan Kambing Kacang Di Jawa Tengah', in *Prosiding Seminar Nasional Peternakan Berkelanjutan*. Bandung: Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Jatinangor, pp. 1–7. Available at: <http://peternakan.unpad.ac.id>.
- Hunter, R. H. F., P. Coy, J. Gadea, D Rath. 2011. Considerations of viscosity in the preliminaries to mammalian fertilisation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. doi: 10.1007/s10815-010-9531-3.

- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Kewilaa, A., Y. Ondho, dan E. Setiatin. 2014. Efisiensi penambahan kuning telur dalam pembuatan pengencer air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa pada semen cair domba ekor tipis (Det). *Agrilan*. 2(2): 1–12.
- Thebo, K. N., A.A. Simair, and G.S. Mangrio. 2016. Antifungal Potential and Antioxidant Efficacy in the Shell Extract of *Cocos nucifera* (L.) (Arecaceae) against Pathogenic Dermal Mycosis. *Medicines*. doi: 10.3390/medicines3020012.
- Muthiapriani, L. Herwijanti, and I. Novianti. 2019. The estimation of semen production based on body weight and scrotal circumference on PO Bull at Singosari National Artificial Insemination Center. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. doi: 10.21776/ub.jiip.2019.029.01.09.
- Nunes, J. F., Ferreira, Campos, Monteiro, Pinhero, and Araujo. 2004. Viability of Washed and Unwashed Goat Sperm Diluted in Coconut Water, Cooled and Storage at 4°C. *Revista Brasileira de Ciencia Veterinaria*, 11(3):178–182.
- Pamungkas, F., Mahmilia, F. dan Elieser, S. 2008. Perbandingan karakteristik semen kambing boer dengan kacang', in *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner: inovasi teknologi mendukung pengembangan agribisnis peternakan ramah lingkungan*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, pp. 367–370.
- Pamungkas, F. A. 2009. Potensi Dan Kualitas Semen Kambing Dalam Rangka Aplikasi Teknologi Inseminasi Buatan. *Wartazoa*. 19(1): 17–22.
- Pamungkas, F. A., F. Mahmilia, dan S. Elieser. 2008. Perbandingan Karakteristik Semen Kambing Boer Dengan Kacang. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Performance of Kacang Goat Fattening Intensive Using Compliit Feed with Different Levels of Liquid Smoke. (2019) *Advances in Environmental Biology*. doi: 10.22587/aeb.2018.12.12.4.
- Sunarlim, R. dan H. Setiyanto. 2005. Potongan komersial karkas kambing Kacang jantan dan domba lokal jantan terhadap komposisi fisik karkas, sifat fisik dan nilai gizi daging. in *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, pp. 666–673.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Penerbit Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Universitas Brawijaya Press. Malang
- Suyadi, A.Rachmawati, N. I. 2012. Pengaruh α -Tocopherol yang Berbeda dalam Pengencer Dasar Tris Aminomethanekuning Telur Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer yang Disimpan pada Suhu 5°C. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan*. 22(3): 1–8.
- Suyadi, S. 2019. Reproduction Index of Kacang Goat Dam Reared under Closed Population in Buduran Sub-District, Sidoarjo Regency, East Java, Indonesia', in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. doi: 10.1088/1755-1315/391/1/012007.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Varela Junior, A. S. 2009. Effect of low density lipoprotein on the quality of cryopreserved dog semen', *Animal Reproduction Science*. doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.11.002.

- Vigliar, R., Sdepanian, V. L. and Fagundes-Neto, U. 2006. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region', *Jornal de Pediatria*. doi: 10.2223/jped.1508.
- Waluyo, S. 2014. *Reproduksi Aplikatif Pada Sapi*. PT SEWU. Bandung.
- Yani, A., Nuryadi and Pratiwi, T. 2001. Pengaruh Tingkat Substitusi Santan Kelapa pada Pengencer Tris dan Waktu Penyimpanan terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Ettawah (PE). *Jurnal Biosain*. 1(1): 23–29.
- Yong, J. W. H., L. Ge, Y. F. Ng, S. N. Tan. 2009. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos Nucifera* L.) water. *Molecules*. doi: 10.3390/molecules14125144.
- Zhang, Y. J., R. Gan, S. Li, Y. Zhou, A. Li, D. Xu, and H. Li. 2015. Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules*. doi: 10.3390/molecules201219753.