



Konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehyda* (MDA) Semen Cair Kambing Boer selama Pendinginan Menggunakan Pengencer Air Kelapa

(Concentration of *Superoxydase Dismutase* (SOD) and *Malondialdehyda* (MDA) Goat Boer Liquid Semen during Cooling using Coconut Water Diluent)

Muhammad Ade Salim^{1*}, Muhammad Nur Ihsan², Nurul Isnaini², dan Trinil Susilawati²

¹Program Studi Peternakan, Universitas Khairun, Ternate, Maluku Utara, Indonesia

²Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, Indonesia

ABSTRAK. Lama simpan semen cair yang berbahan dasar pengencer air kelapa muda varietas kelapa hijau (*C. Viridis*) hanya mampu bertahan selama 3 hari pada suhu 5°C akibat peroksidasi lipid yang menyebabkan kerusakan membran. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penggunaan pengencer air kelapa terhadap konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD) dan kadar *Malondialdehyda* (MDA) semen cair kambing Boer selama penyimpanan dingin. Durasi penelitian satu bulan bertempat di Laboratorium Fakultas Kedokteran dan Laboratorium Reproduksi Ternak, Unit Sumber Sekar, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang. Metode penelitian yaitu eksperimen. Dikoleksi dari semen 3 pejantan Boer umur 3-5 tahun interval 1 minggu 1 kali menggunakan Vagina Buatan. Air kelapa muda varietas *viridis* umur 5-7 bulan serta tris aminomethane sebagai kontrol. Rancangan penelitian didesain menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 perlakuan yaitu P0 (tris aminomethane + 10% Kuning Telur) dan P1 (air kelapa muda varietas *viridis* + 10% Kuning Telur) masing-masing diulang 3 kali. Data dianalisis dengan analisis Ragam (Anova) dengan software Genstat 18. Variabelnya yaitu konsentrasi SOD dan MDA. Hasil penelitian diperoleh untuk SOD P0 H1= 35,842 ± 1,82 ; H3= 33,342± 3,50 dan H8= 23,729± 9,02 dalam ng/100 ug. Untuk P1 diperoleh rerata H1 =36,676±2,19 ; H3= 36,527±2,20 ; H8= 24,830± 8,93 dalam ng/100ug. Kadar MDA P0 H1= 1,072±0,2 ; H3= 1,218± 0,4 dan H8= 1,439± 0,3 dalam ng/100ug. Hasil P1 H1= 0,941± 0,0 ; H3= 1,160± 0,4 dan H8= 1,370± 0,3. Hasil Anova Perlakuan tidak berpengaruh Nyata ($P>0,05$) disemua hari simpan, tetapi konsentrasi SOD terbaik di P1 dibandingkan P0. Kesimpulan 1. Penggunaan air kelapa sebagai pengencer semen cair kambing Boer selama pendinginan tidak berdampak pada konsentrasi SOD dan MDA. 2. Peningkatan konsentrasi MDA dan Penurunan konsentrasi SOD disebabkan karena, rendahnya antioksidant flavonoid dan vitamin C.

Kata kunci: air kelapa, Kambing Boer, *Malondialdehyda*, *Superoxydase Dismutase*

ABSTRACT. The shelf life of young coconut water thinner *viridis* for liquid semen quality Boer goat is only up to 3 days, because there is damage due to lipid peroxidation which causes damage to the spermatozoa membrane. This study aims to analyze the effect of using coconut water thinner on the concentration of *Superoxydase Dismutase* (SOD) and levels of *Malondialdehyda* in Boer goat liquid semen during cold storage. The duration of the research is one month at the Laboratory of the Faculty of Medicine and the Laboratory of Animal Reproduction, Sumber Sekar Unit, Faculty of Animal Husbandry, Brawijaya University, Malang. The research method is experimental. Collected from the semen of 3 Boer males aged 3-5 years 1 week interval using Artificial Vagina. Young *viridis* coconut water aged 5-7 months and tris aminomethane as a control. The research design was designed using a Randomized Block Design (RBD) with 2 treatments, namely T0 (tris aminomethane + 10% EY) and T1 (*viridis* young coconut water + 10% EY) each repeated 3 times. Data were analyzed by analysis of variance (Anova) with Genstat 18 software. The variables were SOD and MDA concentrations. The results obtained for SOD T0 D1 = 35.842 ± 1.82; D3 = 33.342 ± 3.50 and D8 = 23.729 ± 9.02 in ng / 100 ug. For T1, the mean D1 = 36.676 ± 2.19; D3 = 36.527 ± 2.20; D8 = 24.830 ± 8.93 in ng / 100ug. MDA levels T0 D1 = 1.072 ± 0.2; D3 = 1.218 ± 0.4 and D8 = 1.439 ± 0.3 in ng / 100ug. Result of T1 H1 = 0.941 ± 0.0; D3 = 1.160 ± 0.4 and D8 = 1.370 ± 0.3. The results of the ANOVA treatment had no significant effect ($P>0.05$) on all storage days, but the best SOD concentration was in T1 compared to T0. The conclusion is that 1. The use of coconut water as a liquid Boer goat semen thinner during cooling has no impact on the SOD and MDA concentrations. 2. Increased MDA concentrations and decreased SOD concentrations were due to low flavonoid and vitamin C antioxidants.

Keywords: Boer, coconut water, *Malondialdehyda*, *Superoxidase Dismutase*

PENDAHULUAN

Air kelapa sebagai bahan pengencer semen cair dapat diaplikasikan pada berbagai jenis ternak untuk tujuan perbaikan mutu genetic maupun

peningkatan populasi. Pemanfaatan potensi yang ada di daerah untuk membantu peningkatan produktivitas ternak seperti penggunaan air kelapa sebagai bahan baku pembuatan semen cair pengganti pengencer sintesis merupakan sebuah terobosan ke arah tersebut. Aplikasi bioteknologi inseminasi buatan untuk meningkatkan populasi dan produktivitas ternak kambing perlu digalakkan (Sariadi *et al.*, 2014). Salah satu bahan

*Email Korespondensi: adesalim@gmail.com
Diterima: 19 Februari 2021
Direvisi: 25 Mei 2021
Disetujui: 21 Oktober 2021
DOI: <https://doi.org/10.17969/agripet.v22i1.20073>

yang digunakan adalah semen cair, yang bahan pengencer dasarnya menggunakan bahan lokal yang dari sisi teknis mudah dibuat dan dari sisi ekonomis murah dan mudah didapat. Penggunaan pengencer sintetik memiliki resiko terpapar residu kimiawi, selain itu secara teknis tidak efektif untuk daerah-daerah. Alternatif penggantinya adalah mengeksplorasi berbagai potensi lokal untuk dijadikan sebagai bahan pengencer alternatif.

Air kelapa dapat dijadikan sebagai bahan pengencer karena memiliki kandungan dan syarat-syarat biologis yang hampir mirip dengan pengencer sintesis. Prades *et al.* (2012) menjelaskan bahwa komposisi air kelapa dalam g/100 mL⁻¹ yaitu gula total 1,8 – 4,4; gula pereduksi 0,6-2,1; glucose 0,5-1,7; fructose 0,4-1,4; protein 0,03-0,55; lemak 0,14-0,74 pada beberapa jenis buah kelapa. Sedangkan khusus kelapa muda hijau (*viridis*) komposisinya yaitu glukosa 0,49%; protein 0,22%; lemak 0,044%; vitamin C 5,15 mg/100ml, pada kelapa tua *viridis*, Fe 0,05mg/L; Mg 290,770mg/L; Na 0,12%; Zn 0,6 mg/L; K 759,03ppm; Ca 71,10ppm; Antioxidant IC₅₀ (mg/ml) 2539.00 dan viscositas 2 cp (Salim *et al.*, 2020).

Antioksidan yang terdapat dalam air kelapa yaitu flavonoid dari golongan enzim yang berperan menangkal terbentuknya oksidasi negative seperti *reaktif oxygen spesies* (ROS). Menurut Hamilton *et al.* (2016) antioksidan enzimatis dan nonenzimatis dalam plasma mani melindungi membrane plasma dari peroksidasi lipid. Adanya kandungan nutrient dan antioksidan pada air kelapa mampu menjamin kualitas semen cair sapi Madura mencapai lama simpan 6 hari dengan persentase motilitas individu 40% pada pengencer air kelapa muda hijau + putih telur 0,4% dan fruktosa 1% (Yekti *et al.*, 2018) sedangkan pada semen kambing Boer dengan perlakuan air kelapa dengan soya motilitasnya masih di atas 40% (Monova dan Ducha, 2019). Pengencer air kelapa + 10% kuning telur saat aplikasi fertilisasi *in vivo* dengan metode inseminasi buatan berhasil mencapai kebuntingan 40% (Salim *et al.*, 2020). Pengencer air kelapa belum dapat menjamin kualitas semen cair kambing sampai lebih dari 3 hari. Hal ini disebabkan karena terjadi kerusakan secara fisik maupun biokimiawi sebagai akibat dari menumpuknya kadar *Malondialdehyda* (MDA) suatu substansi penanda kerusakan seluler penyebab peroksidasi lipid. *Malondialdehyda* dapat diantisipasi secara internal dengan kehadiran *Superoxydase Dismutase* (SOD), suatu enzim

pengecegah terbentuknya peroksidasi lipid. Untuk konsentrasi SOD dan MDA pada pengencer air kelapa, secara teoritis belum banyak ditemukan, oleh karena itu penelitian ini dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehyda* (MDA) dalam pengencer semen cair kambing Boer selama pendinginan menggunakan pengencer dasar air kelapa.

MATERI DAN METODE

Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu semen kambing Boer umur 3-5 tahun, air kelapa varietas *viridis* muda, tris aminomethane, kuning telur, reagent MDA meliputi 1) buffer KCl 1,17% pH 7,6, KCl 1,17%, Tris 0,02M; 2). Triton, 3)TCA 100%, 4). HCl In, 5) Nat thio Barbiturat Acid 1%, 6 Tris HCl Buff 0,1; 7) NaCitrat 3,8%) EDTA, NaOH, Phsohpat, Aquabidest, Air, reagent SOD: NBT, Xantin, Xantin Oxidase.

Metode Penelitian

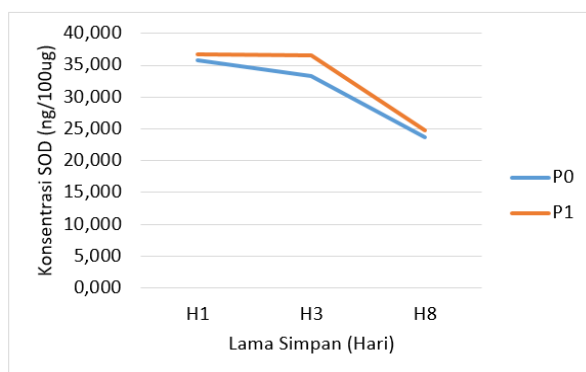
Metode yang digunakan yaitu eksperimen yang didesain dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) berdasarkan ulangan (Yitnosumarno, 1993), menggunakan 2 perlakuan yaitu P0: tris aminomethane + 10% kuning telur dan P1: air kelapa *viridis* muda + 10% kuning telur yang diulang sebanyak 3 kali. Variabel yang diamati yaitu: 1), Konsentrasi *Malondialdehyda* (MDA) dan 2). *Konsentrasi Superoxydase Dismutase* (SOD). Pengencer tris aminomethane dan air kelapa dibuat sebanyak 45ml + 5 ml kuning telur sehingga total pengencer dan kuning telur menjadi 50ml. Air kelapa sebelum dibuatkan sampel terlebih dahulu dinaktivasi pada suhu 56°C selama 20 menit untuk menonaktifkan enzim-enzim yang merugikan spermatozoa. Setelah dinaktivasi air kelapa dinetralkan asamnya dengan NaHCO₃. Semen dikoleksi dari pejantan Boer, selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikroskopis dan makroskopis untuk melihat kualitas semen. Setelah pemeriksaan mikroskopis dilanjutkan dengan pencampuran dengan pengencer air kelapa muda *viridis* + 10% kuning telur dan tris aminomethane + 10% kuning telur. Sampel kemudian disimpan pada suhu 5°C dalam refrigerator. Dilakukan pengukuran konsentrasi SOD pada panjang gelombang 580 nm. Pengukuran konsentrasi MDA menggunakan metode TBA, yang didahului dengan pembuatan kurva standar absorbansi 530 nm. Pengamatan sesuai variable penelitian yaitu konsentrasi SOD

dan MDA pada hari ke-1; diulang pada hari ke-3 dan ke-8 dengan prosedur: untuk pengukuran konsentrasi SOD yaitu 1). Sampel semen 200 μ l, dihomogenisasi 2 cc buffer fosfat pH 7,4, disentrifuge pada 4°C pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Komposisi meliputi 200 ul sampel; EDTA 100 MM 200 ul + 500 ul buffer vortex; NBT 25 unit 100 ul; xantin 25 mM 100ul; xantin oksidase 1 unit 100 ul semuanya ditambah PBs sehingga menjadi 1 ml; 2). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, selanjutnya disaring bila ada koloid; 3). Pembacaan Kurva absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm. Untuk pengukuran konsentrasi MDA yaitu 1. Sampel semen cair dipipet sebanyak 150 ul, kemudian dihomogenisasi dengan buffer Phosphate +EDTA 2 ml; 2). Selanjutnya 200 ul aquabidest ditambahkan aquabidest 0,5ml + HCl 200 ul; 3). Dilakukan penambahan TCA 40% 250 ul + 25ul TBA (nathio) ; 4). Kemudian dipanaskan 100°C selama 25 menit; 5). Dilakukan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 25 menit; 6). Supernatannya diambil kemudian ditambahkan H₂O sampai 3 ml; 7). Pembacaan Kurva absorbansi pada panjang gelombang 532 nm dengan spektrofotometri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perlakuan terhadap Konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD)

Hasil perlakuan menunjukkan terjadi penurunan konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD) mengikuti durasi simpan yang semakin lama. Grafik menunjukkan bahwa untuk kontrol maupun perlakuan pada lama simpan hari ke-1 dan ke-3 kurva SOD nya menurun landai. Gambar konsentrasi SOD tersaji pada Gambar 1. Sedangkan pada hari ke-8 terjadi penurunan yang drastis



Gambar 1. Penurunan Konsentrasi SOD Semen Cair Kambing Boer

Hasil *analysis of variance* untuk melihat pengaruh perlakuan terhadap konsentrasi SOD, menunjukkan tidak adanya pengaruh ($P > 0,05$) terhadap tingkat konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD). Data konsentrasi SOD setelah perlakuan disajikan pada Tabel 1. Kondisi tersebut menandakan antara pengencer dasar air kelapa dan pengencer tris aminomethane konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD) tidak ada perbedaan. Tidak ada perbedaan diantara keduanya ini berlangsung sampai lama simpan kedua pengencer 8 hari pada suhu 5°C.

Konsentrasi *Superoxydase Dismutase* mengalami penurunan mengikuti durasi simpan yang semakin panjang. Faktor durasi simpan yang panjang, menjadi penyebab tidak ada perbedaan antara pengencer air kelapa dan tris amino methane dalam menjaga dan melindungi spermatozoa selama simpan dingin. Semakin lama pengencer disimpan menyebabkan terjadi kerusakan secara fisik maupun kimiawi kedua pengencer. Hal ini memengaruhi kualitas spermatozoa semen cair kambing Boer yang ada di dalam kedua pengencer selama penyimpanan dingin.

Sebagaimana hasil-hasil penelitian terhadap penggunaan pengencer air kelapa terhadap kualitas semen ternak kambing (Daramola *et al.*, 2016), domba (Dwitarizki *et al.*, 2015), (Cesaria *et al.*, 2019) maupun sapi (Muhammad, 2019) dan Ayam (Lubis, 2011) selalu menunjukkan bahwa terjadi penurunan mengikuti bertambahnya lama simpan. Selain itu juga dengan penggunaan pengencer tris aminomethane terjadi penurunan kualitas semen seiring waktu simpan yang lama (Agustian *et al.*, 2014). Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Sarangi *et al.* (2017) pada semen cair kambing Beethal yang menggunakan pengencer tris aminomethane yang disuplementasi dengan alpha-tocopherol (vitamin-E) dan glutathion, diperoleh terjadi peningkatan konsentrasi SOD seiring lamanya waktu simpan. Hal ini disebabkan karena pada alphetokopherol (Vitamin E) dan glutathion adalah antioksidant pemutus rantai utama dan larut dalam lemak yang berperan dalam mendukung mekanisme pertahanan sel (Sarangi, 2017). Sifat protektif yang menurun pada air kelapa merupakan hasil penurunan konsentrasi SOD sebagai antioksidant utama yang berperan dalam menjaga stabilitas membran spermatozoa saat simpan dingin. Peran antioksidan dari golongan enzim flavonoid dan vitamin C pada air kelapa untuk menjaga integritas membran dan keutuhan acrosome spermatozoa tidak berlangsung dengan baik

bersamaan dengan bertambahnya lama penyimpanan. Bertambahnya waktu simpan memiliki konsekuensi terhadap 2 hal pokok untuk menjaga keutuhan membran spermatozoa. Pertama yaitu semakin menurunnya ketersediaan unsur nutrisi untuk kebutuhan energi spermatozoa selama penyimpanan. Kedua, meningkatnya asam laktat yang bersifat toksik karena berlangsungnya metabolisme spermatozoa. Air kelapa mengandung flavonoid karena merupakan metabolit sekunder dari polifenol yang ditemukan secara luas pada tanaman yang ditandai dengan adanya pigmen kuning, merah, orange, biru dan ungu (Arifin dan Ibrahim, 2018). Namun peran flavonoid dan vitamin C sebagai antioksidan pada air kelapa tidak sanggup mengimbangi produksi radikal bebas (ROS) karena konsentrasi kedua unsur antioksidan ini sangat kecil.

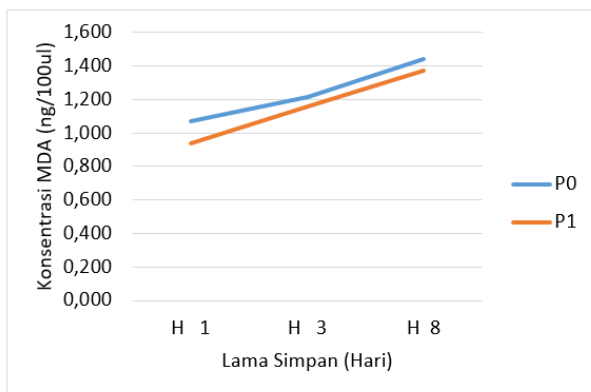
Tabel 1. Data Hasil Analisis SOD (ng/100 ug) setelah Perlakuan Semen Cair Kambing Boer

Perlakuan	H1	H3	H8
P0	35,842 ± 1,82	33,342 ± 3,50	23,729 ± 9,02
P1	36,676 ± 2,19	36,527 ± 2,20	24,830 ± 8,93

P0 : P0 : tris aminomethane + 10% kuning telur
 P1 : P1 : air kelapa viridis muda + 10% kuning telur

Pengaruh Perlakuan terhadap Konsentrasi Malondialdehyda (MDA)

Hasil perlakuan menunjukkan terjadi kenaikan konsentrasi *Malondialdehyda* (MDA) mengikuti durasi simpan yang semakin lama. Grafik menunjukkan bahwa untuk kontrol maupun perlakuan pada lama simpan hari ke -1 sampai pada hari ke-8 terjadi peningkatan konsentrasi MDA secara drastis. Gambar konsentrasi peningkatan konsentrasi MDA tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Kenaikan Konsentrasi MDA Semen Cair Kambing Boer

Tabel 2. Data Hasil Analisis MDA (ng/100ug) setelah Perlakuan Semen Cair Kambing Boer

Perlakuan	H 1	H 3	H 8
P0	1,072 ± 0,2	1,218 ± 0,4	1,439 ± 0,3
P1	0,941 ± 0,0	1,160 ± 0,4	1,370 ± 0,3

P0 : P0 : tris aminomethane + 10% kuning telur
 P1 : P1 : air kelapa viridis muda + 10% kuning telur

Hasil penelitian sebagaimana pada Tabel 2 menunjukkan terjadi peningkatan konsentrasi *Malondialdehyda*. Peningkatan ini terjadi karena adanya Penumpukan asam laktat sebagai hasil metabolisme spermatozoa selama simpan dingin. Kandungan antioksidan pada air kelapa dari golongan enzim flavonoid dan vitamin C yang konsentrasinya sedikit dalam larutan pengencer tidak mampu melakukan mekanisme proteksi yang maksimal mengikuti durasi simpan semen cair yang lama dalam pengencer tris maupun air kelapa. Hal ini memengaruhi kualitas spermatozoa semen cair kambing Boer yang ada di dalam kedua pengencer selama penyimpanan dingin. Sebagaimana hasil-hasil penelitian terhadap penggunaan pengencer air kelapa terhadap kualitas semen ternak kambing (Daramola *et al.*, 2016), domba (Dwitarizki *et al.*, 2015), (Cesaria *et al.*, 2019) maupun sapi (Muhammad, 2019) dan Ayam (Lubis, 2011) selalu menunjukkan bahwa terjadi penurunan mengikuti bertambahnya lama simpan juga dengan penggunaan pengencer tris aminomethane terjadi penurunan kualitas semen seiring waktu simpan yang lama (Agustian *et al.*, 2014).

Peran antioksidan dari golongan enzim yaitu flavonoid yang ada dalam air kelapa tidak berlangsung kontinu mengikuti lamanya masa penyimpanan spermatozoa karena ketersediaannya yang tidak sebanding dengan produksi asam laktat sebagai hasil metabolisme aerob maupun anaerob yang berlangsung dalam pengencer air kelapa. Begitupun vitamin C pada air kelapa dengan konsentrasi 0,00 mg/100ml pada air kelapa *viridis* muda (Salim *et al.*, 2020) yang digunakan sebagai pengencer pada penelitian ini menjadi penyebab juga terjadinya laju peningkatan konsentrasi MDA yang cepat pada semen cair kambing Boer selama simpan dingin, Sementara peran vitamin C pada spermatozoa adalah mampu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai yang menghindari kerusakan peroksidatif spermatozoa (Lubis *et al.*, 2013). Minimnya kandungan vitamin C dan flavonoid pada air kelapa *viridis* muda ini sebagai antioksidan menyebabkan peroksidasi lipid spermatozoa menjadi semakin massif yang ditandai dengan

penampakan visual pada pengencer air kelapa yang semakin keruh juga pada pengencer tris amino methan dan peningkatan kadar asam (pH) semen cair pada kondisi waktu penyimpanan yang lama. Akibat lamanya waktu penyimpanan ketersediaan nutrisi pada pengencer semakin menipis, turut membantu mempercepat penurunan konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD) yang berperan sebagai *scavenger* utama peroksidasi lipid yang menyebabkan terjadinya peningkatan kadar MDA, karena adanya penumpukan asam laktat sebagai hasil metabolisme anaerob selama proses penyimpanan dingin yang menimbulkan kehadiran Spesies Oksigen Reaktif (ROS). Menurut Sanocka *et al.* (2004) konsentrasi ROS yang tinggi dapat menyebabkan terjadi peroksidasi lipid, protein dan DNA sehingga menyebabkan kerusakan membrane spermatozoa yang menimbulkan efek lethal pada spermatozoa. Selain itu terjadi korelasi positif yang signifikan antara peningkatan konsentrasi ROS dengan berbagai macam kelainan pada spermatozoa seperti kepala abnormal, kelainan akrosom, anomali bagian *mid piece*, *sitoplasma droplet* dan cacat ekor (Kobayashi dan Suda, 2012). Dengan demikian aktivitas enzim SOD dan kadar MDA pada pengencer air kelapa berkorelasi dengan kualitas spermatozoa semen cair kambing Boer selama pendinginan.

KESIMPULAN

Penggunaan pengencer air kelapa dan tris aminomethane tidak berpengaruh terhadap konsentrasi *Superoxydase Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehyda* (MDA) semen cair kambing Boer selama penyimpanan dingin. Peningkatan konsentrasi MDA dan Penurunan konsentrasi SOD disebabkan karena, rendahnya antioksidant flavonoid dan vitamin C. Berdasarkan kesimpulan tersebut, disarankan tidak menggunakan air kelapa sebagai pengencer semen cair jika durasi penyimpanan lebih dari 3 hari karena kecilnya semakin menurunnya unsur flavonoid dan vitamin C sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian, M.F., Ihsan, M.N., N Isnaini, N., 2014. Pengaruh lama simpan semen dengan pengencer tris aminomethan kuning telur pada suhu ruang terhadap kualitas spermatozoa kambing Boer. *J. Ternak Tropika*. 15: 1-6.
- Cesaria, M. A., Estoepangestie, A.T.S., Susilowati,, Hernawati, T., Madyawati S.P., Triana, I.N., 2019. Pengaruh pengencer kuning telur ayam dengan air kelapa muda terhadap integritas membran plasma dan abnormalitas spermatozoa domba Sapudi. *Ovozoa*. 8 : 139-143.
- Daramola, J. O., Adekunle, E.O., Oke, O.E., Onagbesan, O. M., Oyewusi, O.K., Oyewusi, J.A., 2016. Effects of coconut (*Cocos nucifera*) water with or without egg-yolk on viability of cryopreserved buck spermatozoa. *Anim. Reprod.* 13: 57 – 62.
- Dwitarizki, N. D., Ismaya., Asmarawati, W., 2015. pengaruh pengenceran sperma dengan air kelapa dan aras kuning telur itik serta lama penyimpanan terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa domba Garut pada penyimpanan 5°C. *Buletin Peternakan*. 39: 149-156.
- Hamilton, T.R.S., Castro, L. S.C., Delgado, J. C., Assis, P. M.A., Siqueira, A.F.P., Mendes, C. M., Goissis, M. D., Blanco, T. M., Pérez, J.A. C., Nichi M., Visintin, J. Assumpcao, M. E. O. D.A., 2016. Induced lipid peroxidation in ram sperm: semen profile, DNA fragmentation and antioxidant status. *Reproduction*. 151: 379 – 390.
- Lubis, T.M., 2011. Motilitas Spermatozoa Ayam Kampung dalam Pengencer Air Kelapa, NaCl Fisiologis dan Air Kelapa-NaCl Fisiologis pada 25-29°C. *J. Agripet*. 11: 45–50.
- Lubis, T.M., Dasrul, C. N., Thasmi., Akbar, T., 2013. Efektivitas penambahan vitamin C dalam pengencer susu skim kuning telur terhadap kualitas spermatozoa kambing Boer setelah penyimpanan dingin. *J. S. Pertanian*. 3: 347- 361.
- Kobayashi, C. I., Suda, T., 2012. Regulation of reactive oxygen species in stem cells and cancer stem cells. *J. Cell. Physiol.* 227: 421 – 430.
- Monova, H.A., Ducha, N., 2019. Pengaruh penambahan soya dalam pengencer dasar air kelapa (*Cocos nucifera*) terhadap motilitas spermatozoa domba Ekor Gemuk (DEG) pada penyimpanan di suhu 4-5°C. *Lentera Bio*. 8: 268-272.
- Muhammad, D., Isnaini, N., Kuswati., Yekti, A.P.A., Aryogi., Lutfi, M., Lukman, H.Y.,

- Susilawati, T., 2019., Pengaruh berbagai formulasi pengencer dasar air kelapa terhadap kualitas semen cair sapi PO (Peranakan Ongole) selama simpan dingin. *J. Ilmu-Ilmu Peternakan*. 29: 1 - 8.
- Prades A., Dornier, M., N, Diop., Pain, J.P., 2012. Coconut water uses, composition and properties. A Review, *Fruits*. 67: 87–107.
- Salim, M.A., Ihsan, M.N., Isnaini, N., Susilawati, T., 2020. Kidding rate of artificial insemination with Boer goat liquid semen during chilled preservation using coconut water-based diluent. *J. Ilmu-Ilmu Peternakan*. 30: 184 – 189.
- Sarang, A., Singh, P., Vermani, M., Yadav, A.F., Sahu, S., Ajithakumar, H.M., Kumari, A., Rath, A.R., 2017. Effect of antioxidants supplementation on the quality of Beetal buck semen stored at 4°C. *Veterinary World*. 10: 1185 – 1188.
- Sariadi., Dasrul, D., Akmal, M., 2014. Rasio jenis kelamin kelahiran anak kambing peranakan etawa (PE) hasil inseminasi buatan menggunakan spermatozoa swim up. *J. Agripet*. 14: 132-138.
- Yekti, A. P. A., Harsa, J., Luthfi, M., Dikman, M., Huda, A.N., Kuswati., Susilawati, T., 2018. kualitas semen dengan berbagai formulasi pengencer dasar air kelapa hijau selama simpan dingin pada sapi Madura. *J. Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*. 5: 37-44
- Yitnosumarto, S. 1993. Percobaan Perancangan, Analisis dan Interpretasinya. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Sanocka, D, and Kurpisz, M., 2004. Reactive Oxygen Species and Sperm Cells. *Reprod. Biol. Endocrinol*. 2: 12.