

Pengaruh Penambahan Fruktosa dalam Pengencer Air Kelapa Hijau Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi PO (Peranakan Onggole)

Effect of Addition of Fructose in Coconut Water Diluent to Motility of Ongole Crossbreed Sperm

D. Muhammad¹, N. Isnaini¹, Kuswati¹, A. P. A. Yekti¹, Aryogi², M. Luthfi²,
L. A. Sunarto², dan T. Susilawati¹

¹Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur

²Loka Penelitian Sapi Potong
Grati, Pasuruan 67184

Corresponding e-mail: dedi.pendidik@gmail.com, trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRACT

Coconut water is a cheap material and can be an alternative material in the process of making semen diluent, because it contains several substances needed by sperm such as an energy source like fructose. This study aims to determine the effect of fructose addition in coconut water diluents to the motility of Ongole Crossbreed cattle. This study used semen from Ongole Crossbreed cattle which were collected using the artificial vaginal. The methodology used was an experimental laboratory design using a Randomized Completely Block Design. This research uses 3 treatments, P1 = Coconut water + 20% egg yolk, P2 = Coconut water + 20% egg yolk + 0.4% egg white + fructose 1 mg/ml. P3 = Coconut + 20% egg yolk + 0.4% egg white + 2 mg/ml fructose. All treatments were repeated as 10 replications. The results showed that there was no significant difference in sperm motility and total motile sperm between the formulations of coconut water diluents (P1, P2, P3) during storage at 2-5 °C. Coconut water diluent are good at maintaining sperm motility and total motile sperm for the 5th day.

Key words: coconut water, liquid semen, total motil sperm

ABSTRAK

Air kelapa merupakan bahan lokal yang murah dan dapat menjadi bahan baku alternatif dalam proses pembuatan pengencer semen karena mengandung beberapa zat yang dibutuhkan oleh spermatozoa seperti sumber energi berupa fruktosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan fruktosa dalam pengencer air kelapa hijau terhadap motilitas spermatozoa sapi PO (Peranakan Onggole). Penelitian ini menggunakan semen dari bangsa sapi Peranakan Onggole yang ditampung menggunakan metode vagina buatan. Metodologi yang digunakan adalah eksperimental laboratorium menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan, P1 = Pengencer air kelapa + kuning telur 20%, P2 = Pengencer air kelapa + kuning telur 20% + putih telur 0,4% + fruktosa 1 mg/ml. P3 = Pengencer air kelapa + kuning telur 20% + putih telur 0,4% + fruktosa 2 mg/ml dengan 10 ulangan. Hasil memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada motilitas spermatozoa dan total spermatozoa motil antara formulasi pengencer air kelapa (P1, P2, P3) selama penyimpanan suhu 2-5 °C. Pengencer air kelapa baik dalam menjaga motilitas spermatozoa dan total spermatozoa motil hingga hari ke lima.

Kata kunci: air kelapa, total motilitas motil, semen cair

PENDAHULUAN

Air kelapa merupakan bahan lokal yang murah dan dapat menjadi bahan baku alternatif dalam proses pembuatan pengencer semen. Kandungan karbohidrat sederhana dan mineral dalam pengencer yang

diperlukan oleh spermatozoa dapat terpenuhi dari air kelapa. Vigliar *et al.* (2006) menyatakan bahwa air kelapa mengandung beberapa gula sederhana, misal: sukrosa, glukosa, dan fruktosa.

Hasil penelitian Mugiyati *et al.* (2017); Salim *et al.* (2018) menunjukkan

bahwa penggunaan pengencer air kelapa dengan varietas yang bebreda mampu mempertahankan motilitas spermatozoa di atas 40% hingga hari kedua pada penyimpanan suhu 3-5 °C. Sedangkan hasil penelitian Audia *et al.* (2017) yang menggunakan pengencer air kelapa hijau mampu menjaga motilitas spermatozoa di atas 40% sampai penyimpanan hari kedua selama penyimpanan pada suhu 3-5 °C.

Penambahan pengenceran pada semen dapat menyebabkan berkurangnya konsentrasi zat-zat yang secara alami terdapat dalam plasma semen seperti sumber energi, lipid, protein dan ion-ion yang dapat merubah keseimbangan tekanan osmose pada pengencer sehingga mempengaruhi motilitas dan daya hidup (Adnani *et al.* (2012). Penambahan fruktosa sebagai sumber energi serta protein eksogenus berupa putih telur dalam pengencer air kelapa diharapkan dapat mensubstitusi beberapa zat yang hilang dari plasma semen akibat proses pengenceran sehingga dapat menunjang kehidupan spermatozoa.

Formulasi pengencer dengan bahandasar air kelapa dengan penambahan fruktosa sebagai sumber energi tambahan, putih telur sebagai makromolekul, dan kuning telur sebagai krioprotektan diharapkan dapat mempertahankan motilitas spermatozoa dan total spermatozoa motil sebaik mungkin. Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan pengencer air kelapa hijau terhadap motilitas spermatozoa sapi PO (Peranakan Onggole) selama penyimpanan.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan dan Laboratorium Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya pada bulan Februari – Maret 2018.

Semen sapi

Semen yang digunakan berasal dari sapi PO yang dipelihara di Loka Penelitian Sapi Potong Grati. Adapun kriteria semen

yang layak untuk digunakan adalah motilitas massa minimal 2+, motilitas individu $\geq 70\%$. Semen ditampung menggunakan metode vagina buatan.

Pengencer Air Kelapa

Pengencer air kelapa dibuat dari air kelapa hijau (*Cocos nucifera*) dengan usia buah 5 sampai 8 bulan. Air kelapa terlebih dahulu disaring dengan kertas saring halus kemudian dipasteurisasi pada suhu 56 °C selama 20 menit dengan tujuan untuk menonaktifkan enzim-enzim pada air kelapa. Selanjutnya, ditambahkan NaHCO₃ 1 mg/ml, antibiotik penicillin 1 mg/ml, streptomycin sulfate 1 mg/ml, kuning telur ayam 20%, dan sebagai perlakuan yaitu putih telur ayam 0,4%, fruktosa 10 dan 20 mg/ml.

Pengencer CEP-3

Bahan pengencer CEP-3 terdiri dari NaCl 0,88 gr/l; KCl 0,52 gr/l; CaCl₂(H₂O)₂ 0,44 g/l; MgCl₂(H₂O)₆ 0,81 g/l; NaHCO₃ 1 g/l; NaH₂PO₄ 0,96 g/l; KH₂PO₄ 2,72 g/l; Fruktosa 9,9 g/l; Sorbitol 1 g/l; Tris Aminomethan 16,19 g/l; Gentamicin 0,05 g/l; Asam Sitrat 8,24 g/l. Bahan-bahan dicampur hingga menghasilkan osmolaritas 320 mOsm dan pH 6,6. Pengencer CEP-3 ditambahkan kuning telur segar (umur < 3 hari) dengan 20 % dan putih telur 0,4%.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Pengelompokan pada penelitian ini dilakukan berdasarkan waktu penampungan yang berbeda. Adapun perlakuan dalam penelitian ini terdiri dari 3 perlakuan dan 10 ulangan. P1 = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur. P2 = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur + 0,4% putih telur + fruktosa 1 mg/ml. P3 = Pengencer air kelapa + 20% kuning telur + 0,4% putih telur + fruktosa 2 mg/ml.

Pengamatan Motilitas Spermatozoa

Pengamatan motilitas individu spermatozoa diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400

kali, kemudian dilakukan pengamatan spermatozoa yang bergerak secara progresif (Garner and Hafez, 2008).

Analisis Data

Data penelitian dianalisa menggunakan analisis varian (ANOVA) dan kemudian dilakukan pengujian lanjut menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*). Pada akhir waktu penyimpanan yang nilai persentase motilitasnya sekitar 40% dilakukan uji *Chi square* untuk menentukan kesesuaian motilitas akhir dengan nilai harapan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Semen Sapi PO

Kualitas semen sapi PO sebelum diencerkan meliputi pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis terdiri dari warna, volume, pH, dan konsistensi spermatozoa. Pemeriksaan mikroskopis yang meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas, konsentrasi. Rataan dan simpangan baku kualitas semen sapi PO ditunjukkan pada Tabel 1.

Rata-rata volume semen dari sapi PO yang digunakan untuk penelitian adalah $4,00 \pm 1,41$ ml. Hasil tersebut tergolong rendah jika dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Garner and Hafez (2008) bahwa volume semen sapi dalam penampungan sekiraat 5-8 ml. Warna semen sapi PO yang diperoleh

adalah putih susu. Susilawati (2011) menjelaskan bahwa semen sapi pada umumnya berwarna putih kekuning-kuningan atau hampir seputih susu. Adapun rata-rata pH semen yang didapatkan adalah $6,50 \pm 0,12$. Hasil penampungan tersebut menunjukkan bahwa pH semen yang digunakan adalah normal. Sebagaimana yang disampaikan oleh Ax *et al.* (2008) bahwa pH semen sapi antara 6,4 sampai 7,8.

Rata-rata motilitas massa semen sapi PO yang digunakan dalam penelitian adalah 2+. Persyaratan motilitas massa agar semen dapat diproses minimal 2+ (Ducha *et al.*, 2013). Rata-rata motilitas individu semen segar sapi PO yang digunakan adalah $71,25 \pm 2,50\%$. Muhammad *et al.* (2016) menyampaikan bahwa syarat minimal motilitas semen untuk dilakukan pengenceran adalah 70%. Konsentrasi spermatozoa semen sapi PO yang digunakan adalah $1245,00 \pm 184,30$ juta/ml. Garner dan Hafez (2008) bahwa konsentrasi semen sapi bervariasi dari 1.000-1.800 juta spermatozoa setiap mililiter.

Rata-rata viabilitas spermatozoa sapi PO yang digunakan dalam penelitian ini adalah $92,31 \pm 2,67\%$. Hal tersebut menunjukkan bahwa semen sapi PO yang digunakan termasuk memenuhi syarat untuk dilakukan proses selanjutnya. Ducha *et al* (2013) yang menyampaikan bahwa semen yang akan diencerkan harus memiliki viabilitas minimal 70%.

Tabel 1. Rata-rata kualitas semen sapi PO yang digunakan dalam penelitian

Parameter	Rata-rata \pm sd
Makroskopis	
Volume per ejakulat (ml)	$4,00 \pm 1,41$
Warna	Putih susu
pH	$6,50 \pm 0,12$
Konsistensi	Sedang - kental
Mikroskopis	
Motilitas massa	2+
Motilitas individu (%)	$71,25 \pm 2,50$
Viabilitas (%)	$92,31 \pm 2,67$
Abnormalitas (%)	$2,60 \pm 0,78$
Konsentrasi (juta/ml)	$1245,00 \pm 184,30$
Total spermatozoa motil	$886,75 \pm 129,85$

Rata-rata persentase abnormalitas semen sapi PO yang digunakan dalam penelitian adalah $2,60 \pm 0,78\%$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa semen sapi PO yang digunakan memiliki kategori yang baik. Ismaya (2014) menyampaikan bahwa semen termasuk jelek dan daya fertilisasinya rendah jika persentase abnormalitasnya lebih dari 20%.

Motilitas Spermatozoa

Motilitas spermatozoa menunjukkan nilai spermatozoa yang bergerak progresif kearah depan. Rata-rata dan simpang baku motilitas spermatozoa dari sapi PO dengan berbagai formulasi pengencer air kelapa ditunjukkan pada Tabel 2.

Hasil analisis ragam motilitas spermatozoa sapi PO dalam formulasi pengencer air kelapa yang berbeda selama disimpan dalam suhu $2-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ menunjukkan pada hari penyimpanan ke-5 sampai ke-6 menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P>0,05$) antara perlakuan P1, P2, dan P3.

Hasil uji *Chi square* terhadap motilitas spermatozoa pada penyimpana hari ke-5 menunjukkan sesuai dengan nilai harapan dan nilai SNI yaitu diatas 40%, sedangkan pada penyimpanan hari ke-6 menunjukkan nilai yang berbeda dengan nilai harapan maupun SNI. Penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Aziz *et al.* (2018); Salim *et al.* (2018) yang melaporkan bahwa pengencer air kelapa mampu menjaga motilitas spermatozoa hingga penyimpanan hari ke dua.

Antar perlakuan penambahan fruktosa pada pengencer air kelapa (P1, P2, P3)

dengan proporsi yang berbeda dimana menunjukkan hasil yang tidak berbeda. Hal tersebut diduga karena kebutuhan energi spermatozoa berupa *Adenosine Triphosphate* (ATP) dalam mempertahankan hidup secara alami telah terpenuhi didalam plasma semen dan kandungan fruktosa yang ada dalam air kelapa. Jika selama peyimpanan hingga hari ke 6 kebutuhan sumber energi spermatozoa sudah terpenuhi dari plasma semen dan air kepala maka penambahan fruktosa tidak akan memberikan pengaruh yang nyata terhadap motilitas spermatozoa. Susilawati (2011) menjelaskan bahwa fruktosa adalah gula dasar dari seminal. Fruktosa termasuk sumber energi yang sangat baik bagi spermatozoa dikarenakan jalur metabolisme yang lebih pendek yaitu melalui proses fruktoliasis.

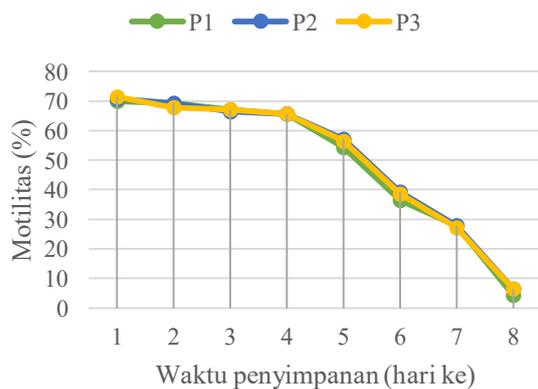
Grafik pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa perlakuan pengencer yang berbasis air kelapa (P1, P2, dan P3) meskipun dalam hal menjaga motilitas spermatozoa masih tergolong singkat, akantetapi air kelapa berpotensi untuk dikembangkan menjadi pengencer semen dengan kualitas yang baik. Hal tersebut karena air kelapa merupakan bahan yang mudah didapat, harganya murah dan yang paling penting adalah mampu mempertahankan kualitas spermatozoa. Farapati dan Sayogo (2014) menyatakan bahwa air kelapa dapat menjadi bahan pengencer alternatif yang mudah didapatkan karena banyak tersedia di lingkungan sekitar dan harganya terjangkau. Kandungan air kelapa berbeda-beda tergantung varietas, umur dan faktor iklim.

Tabel 2. Rata-rata motilitas spermatozoa sapi PO selama penyimpanan pada suhu $2-5\text{ }^{\circ}\text{C}$

Perlakuan	Rata-rata motilitas selama penyimpanan (%) \pm Simpang baku							
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8
P1	70,0 \pm 0,0	69,29 \pm 1,89	67,14 \pm 3,93	65,71 \pm 4,50	54,29 \pm 9,32	36,43 \pm 6,27	27,86 \pm 10,35	4,29 \pm 5,35
P2	70,71 \pm 1,89	69,29 \pm 1,89	66,43 \pm 3,78	65,70 \pm 4,45	57,14 \pm 7,56	39,29 \pm 4,50	27,86 \pm 8,59	6,43 \pm 3,78
P3	71,43 \pm 2,44	67,86 \pm 2,67	67,14 \pm 3,93	65,70 \pm 4,45	56,43 \pm 6,90	38,57 \pm 5,56	27,14 \pm 9,94	6,43 \pm 2,44

Keterangan: : P = Perlakuan, H = Hari penyimpanan. Tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$)

Kewilaa *et al* (2014) menegaskan bahwa air kelapa adalah salah satu bahan yang biasa digunakan untuk pengencer semen yang memenuhi kriteria, karena buah kelapa di negara-negara tropis seperti Indonesia sangat mudah diperoleh dengan harga murah dibandingkan dengan bahan-bahan kimia sintetik.



Gambar1. Grafik motilitas spermatozoa sapi PO dalam berbagai formulasi pengencer air kelapa selama penyimpanan pada suhu 2 – 5 °C.

Total Spermatozoa Motil

Total spermatozoa motil merupakan hasil perkalian antara konsentrasi spermatozoa dengan motilitas spermatozoa dalam suatu semen cair. Hal ini sesuai dengan Nikbakht dan Saharkhiz (2011) yang menyatakan bahwa jumlah spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan konsentrasi spermatozoa dengan spermatozoa yang motil progresif. Apabila total

spermatozoa yang motil diketahui, maka dapat diketahui pula apakah semen cair yang digunakan memenuhi syarat untuk inseminasi buatan. Rata-rata total spermatozoa yang motil pada penyimpanan hingga hari ke-8 dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisis ragam nilai total spermatozoa motil antar formulasi pengencer yang berbeda pada bangsa sapi PO menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P>0,05$) pada penyimpanan hingga hari ke-8. Rata-rata nilai total spermatozoa motil antar formulasi pengencer air kelapa yang berbeda (P1, P2, P3) pada bangsa sapi PO dari nilai terbesar hingga terkecil pada penyimpanan hingga hari ke-5 berturut-turut adalah P2 sebesar 66,8 juta/ml, P1 sebesar 65,8 juta/ml, P3 sebesar 65,4 juta/ml. Rata-rata nilai total spermatozoa motil dari semua perlakuan (P1, P2, P3) hingga penyimpanan hari ke-5 masih menunjukkan hasil yang baik yaitu diatas 40 juta/ml. Standar 40 juta/ml ditentukan berdasarkan dari standart persentase motilitas spermatozoa untuk digunakan dalam IB yaitu 40%, kemudian dikalikan dengan standart konsentrasi spermatozoa minimal untuk semen yang digunakan IB yaitu 25 juta/ministraw atau setara dengan 100 juta/ml. Muhammad *et al.* (2016) menyatakan bahwa nilai total spermatozoa motil semen yang digunakan untuk IB minimal 40 juta/ ml.

Tabel 3. Rata-rata total spermatozoa motil sapi PO selama penyimpanan pada suhu 2-5 °C

Perlakuan	Rata-rata total spermatozoa motil (Juta/ml) ± Simpang baku							
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8
P1	80,5± 1,7	79,5± 9,4	77,2± 9,8	75,9 ± 9,2	65,8± 14,2	42,8± 8,6	31,5± 12,4	7,0± 7,7
P2	80,4±1,1	79,2± 3,3	76,4± 4,8	75,2 ± 5,0	66,8 ± 9,5	44,5± 4,9	31,3± 7,9	7,4± 3,8
P3	80,9± 1,5	78,2 ± 10,6	76,4 ± 10,6	74,4± 7,6	65,4 ± 10,6	43,0 ± 9,1	30,3 ± 8,2	6,8 ± 2,3

Keterangan: : P = Perlakuan, H = Hari penyimpanan. Tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$)

KESIMPULAN

- 1) Tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada penambahan fruktosa dalam pengencer air kelapa terhadap motilitas spermatozoa sapi PO selama penyimpanan pada suhu 2-5 °C.
- 2) Pengencer berbasis air kelapa dengan berbagai formulasi mampu mempertahankan motilitas diatas 40% hingga hari ke-5.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kemenristek DIKTI memberikan dana dengan skema PUPTN serta LPDP (Lembaga Pengelola Dana Pendidikan) melalui program BPI. Terima kasih juga disampaikan kepada Loka Penelitian Sapi Potong Grati yang telah memberikan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnani, L. P. D. H, W. Bebas, M. K. Budiasa. 2012. Penambahan bovine serum albumin pada pengencer kuning telur terhadap motilitas dan daya hidup spermatozoa anjing. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1 (4): 519 – 529.
- 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. *Jurnal Ternak Tropika*. 18 (1):58-68.
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, Hafez, and M. Bellin. 2008. Semen Evaluation. In *Reproduction in Farm Animal* (7th edition). Edited by Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA: 365-370.
- Aziz, A. F., M. A. Salim, N. Isnaini, A.P. A. Yekti, dan T. Susilawati. 2018. Pengaruh pengencer air kelapa tua yang berbeda varietas terhadap kualitas semen cair kambing Boer pada penyimpanan 3-5°C. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 28(2):112 – 120.
- Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, dan S. Wahjuningsih. 2013. Motilitas dan viabilitas spermatozoa sapi Limousin selama penyimpanan pada refrigerator dalam pengencer CEP-2 dengan suplementasi kuning telur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 7 (1): 5-8.
- Farapati dan S. Sayogo. 2014. Air kelapa muda pengaruhnya terhadap tekanan darah. *Cermin Dunia Kedokteran*. 41(12): 896-900.
- Garner, D.L. and E.S.E. Hafez. 2008. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In *Reproduction in Farm Animals* (7th edition). Edited by E.S.E Hafez and B. Hafez. 2008. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland. USA: 96-109.
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. ISBN 979-420-848-5.
- Kewilaa, A. I., Y. S. Ondho, dan E. T. Setiatin. 2014. Efisiensi penambahan kuning telur dalam pembuatan pengencer air kelapa-kuning telur terhadap kualitas spermatozoa pada semen cair Domba Ekor Tipis (DET). *Agriland*. 2 (2): 1-12.
- Muhammad, D., T. Susilawati, S. Wahjuningsih. 2016. Pengaruh penggunaan CEP-2 dengan suplementasi kuning telur terhadap kualitas spermatozoa sapi FH (Frisian Holstein) kualitas rendah selama penyimpanan suhu 4-5°C. *Jurnal Ternak Tropika*. 17 (1): 66-76.
- Mugiyati, Salin M. A., N. Isnaini, dan T. Susilawati. 2017. Pengaruh air kelapa merah yang muda dan tua sebagai pengencer terhadap kualitas semen kambing Boer selama penyimpanan dingin. *Jurnal Ternak Tropika*. 18(1): 20-26.

- Nikbakht, R. and N. Saharkhiz. 2011. The influence of sperm morphology, total motile sperm count of semen and the number of motile sperm inseminated in sperm samples on the success of intrauterine insemination. *International Journal of Fertility and Sterility*. 5(3): 168-173.
- Salim, M. A., M. N. Ihsan, N. Isnaini, A.P.A. Yekti, and T. Susilawati. 2018. Quality of Boer goat liquid semen on different coconut water diluent (*Cocos nucifera*) during cold storage. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*. 20: 150-157.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-8960-04-5.
- Susilawati, T., D. Ratnawati, N. Isnaini, Kuswati and A. P. A. Yekti. 2018. Character of liquid semen motility in various diluents on Balinese cattle during cold storage. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*. 20 (1): 166-172.
- Vigliar, R., V. L. Sdepanian, U. Fagundes-Neto. 2006. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an Inland Region. *Journal de Pediatria*. 82(4): 308-312.