

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Uji Etik

KEH FKH Unair



**KOMISI ETIK HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
*Animal Care and Use Committee (ACUC)***

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
“ETHICAL CLEARENCE”**

No : 1.KEH.052.01.2023

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA,
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA :**

PENELITIAN BERJUDUL : POTENSI EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN TERHADAP
PAPARAN TIMBAL ASETAT PADA GAMBARAN
HISTOPATOLOGI PULMO, HEPAR, DAN GINJAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

PENELITI UTAMA : Julia Calvina Fauzi

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT PENELITIAN : Program Studi Kedokteran Hewan
Sekolah Ilmu Kesehatan dan Ilmu Alam
Universitas Airlangga

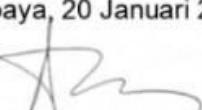
DINYATAKAN : LAIK ETIK

Mengetahui
Dekan FKH-Unair



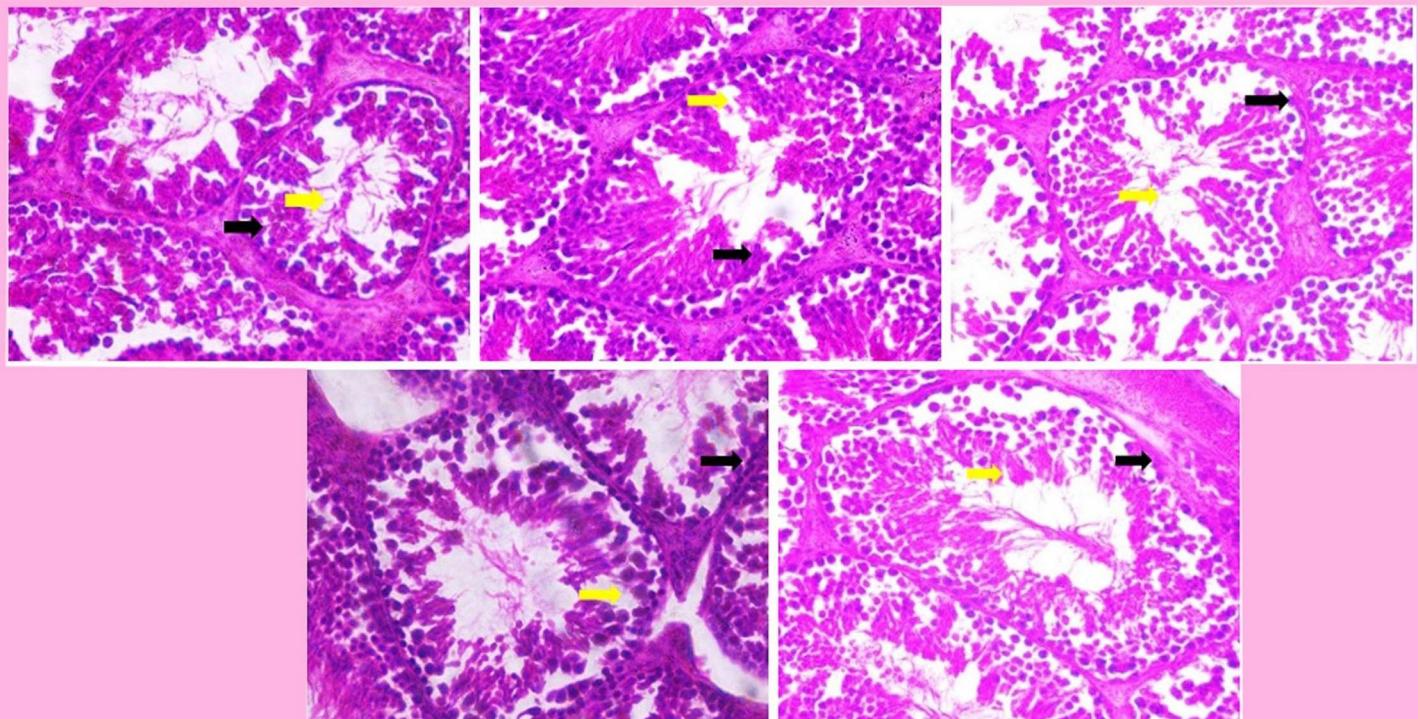
Prof. Dr. Mirmi Lamid, M.P.,Drh.
NIP. 196201161992032001

Ketua,

Surabaya, 20 Januari 2023

Dr. Nusdianto Triakoso, M.P.,Drh.
NIP. 196805051997021001

JURNAL MEDIK VETERINER

Terakreditasi oleh Dirjen Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia dengan Nomor: 28/E/KPT/2019, berlaku sejak 26 September 2019



Sumber gambar: Plumeriastuti et al. 2021, J Med Vet, 4(2), 243-248.



Kerja Sama
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
dengan
PERHIMPUNAN DOKTER HEWAN INDONESIA



SINTA RISTEKDIKTI



KERJA SAMA PENERBIT

Jurnal Medik Veteriner



Kerja Sama
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
dengan
Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia



ALAMAT REDAKSI

Program Studi S1 Kedokteran Hewan K. Banyuwangi
Kampus PSDKU Banyuwangi Universitas Airlangga
Jl. Wijaya Kusuma 113 Giri, Banyuwangi, Jawa Timur, Indonesia, 68425
Telp: 0333-417788, Fax: 0333-428890
e-mail: jmv@psdku.unair.ac.id
Homepage: <https://e-journal.unair.ac.id/JMV/index>



DEWAN REDAKSI

Ketua Dewan Redaksi

Faisal Fikri, drh., M.Vet., Universitas Airlangga, Indonesia

Asisten Dewan Redaksi

Muhammad Thohawi Elziyad Purnama, drh., M.Si., Universitas Airlangga, Indonesia

Anggota Dewan Redaksi

Agus Purnomo, drh., M.Sc., Universitas Gadjah Mada, Indonesia

Dr. Shekhar Chhetri, DVM, M.Sc., Royal University of Bhutan, Bhutan

Ahmad Kurniawan, drh., Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Indonesia

Etsuko Hashimoto, DVM., Azabu University, Japan

Parthiban Sivamurthy, DVM., M.Sc., Tamilnadu Veterinary and Animal Science University, India

Lalu Faisal Fajri, drh., M.Vet., BP3TR Disnakeswan Nusa Tenggara Barat, Indonesia

Assylkhanov Darkhan, DVM., Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan

Ali Ahmad Alsahami, DVM., MVM., Universiti Putra Malaysia, Malaysia

Syakirah Azmey, DVM., M.Sc., Universiti Brunei Darussalam, Brunei Darussalam

Staf Administrasi

Choirun Nisa, S.IIP., Universitas Airlangga, Indonesia

MITRA BESTARI

Terima kasih kepada mitra bestari yang membantu memberikan review dan menilai pada
Jurnal Medik Veteriner.

Prof. Dr. Bambang Sektiani L. DEA., drh., Universitas Airlangga, Indonesia

Prof. Hong Kean Ooi, DVM., PhD., Azabu University, Japan

Prof. Fedik A. Rantam, drh., Universitas Airlangga, Indonesia

Prof. Dr. Ir. I Wayan Suarna, MS., Universitas Udayana, Indonesia

Prof. Dr. RTS. Adikara, drh., M.S., Akp. TOT., Universitas Airlangga, Indonesia

Thomas Larsson Duran, DVM., M.Sc., PhD., James Cook University, Australia

Celia Hitomi Yamamoto, MD., Ph.D., Universidade Federal de Juiz de Fora, Brazil

Noor Hidayah Mohd Isa, DVM., MVM., PhD., Universiti Putra Malaysia, Malaysia

Dr. Rondius Solfaine, MP., APVET., drh., Universitas Wijaya Kusuma, Indonesia

Dr. Nanik Hidayatik, drh., M.Si., Bogor Agricultural University, Indonesia

Wipaporn Jarujareet, DVM., PhD., Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thailand

Dr. Ahmad Shofy Mubarak, S.Pi., M.Si., Universitas Airlangga, Indonesia

Yance Hanzie Setya Pratama, dr., Sp.B, Universitas Brawijaya, Indonesia

Assylkhanov Darkhan, DVM., Kazakh National Agrarian University, Kazakhstan

Maria Imaculata Arifin, drh., M.Sc., PhD., University of Calgary, Canada



Dewi Klarita Furtuna, dr., M.Ked.Klin., Sp.MK., Universitas Palangkaraya, Indonesia

Budhy Jasa Widyananta, drh., M.Si., Bogor Agricultural University, Indonesia

Parthiban Sivamurthy, DVM., M.Sc., Tamilnadu Veterinary and Animal Science University, India

Hebert Adrianto, S.Si., M.Si., Universitas Ciputra, Indonesia

Dilasdita Kartika P., drh., M.Si., Balai Besar Veteriner Kelas I, Denpasar, Bali, Indonesia

Dr. Shekhar Chhetri, DVM, M.Sc., Royal University of Bhutan, Bhutan

Widodo Cipto Subagyo, drh., M.Si., Pusat Kesehatan Hewan, Banyuwangi, Indonesia

Agus Purnomo, drh., M.Sc., Universitas Gadjah Mada, Indonesia

Lalu Faisal Fajri, drh., M.Vet., BP3TR Disnakeswan Nusa Tenggara Barat, Indonesia

Etsuko Hashimoto, DVM., Azabu University, Japan

Junianto Wika Adi Pratama, drh., M.Si., Universitas Wijaya Kusuma, Indonesia

Samsuri, drh., M.Kes., Universitas Udayana, Indonesia

Ririn Rohmawati, drh., M.Si., Kementerian Pertanian, Republik Indonesia

Rama Arge Frismana, drh., M.Si., Klinik Habitat Satwa Surabaya, Indonesia

Arya Pradana Wicaksono, drh., M.Vet., Asosiasi Dokter Hewan Kuda Indonesia (ADHKI)

AKBP Drh. Chaindraprasto Saleh, Direktorat Polisi Satwa Baharkam Mabes Polri, Indonesia

Ahmad Kurniawan, drh., Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Indonesia

Muhammad Lukman, drh., Dinas Pertanian Banyuwangi, Indonesia



VISI DAN MISI

Jurnal Medik Veteriner (JMV) terdaftar dengan nomor pISSN 2615-7497; eISSN 2581-012X yang diterbitkan oleh Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga dan Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia (PDHI).

Jurnal Medik Veteriner (JMV) telah terakreditasi oleh Direktorat Jenderal Pengembangan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Republik Indonesia dengan Nomor: 28/E/KPT/2019 berlaku sejak 26 September 2019.

Jurnal Medik Veteriner (JMV) menyajikan artikel hasil penelitian, laporan kasus, dan studi literatur di bidang kedokteran hewan dan diterbitkan sebanyak 2 kali dalam setahun, yakni bulan April dan Oktober. Jurnal Medik Veteriner dimanfaatkan para praktisi, dosen, peneliti, mahasiswa dan relawan bidang kedokteran hewan. Pemuatan artikel di Jurnal Medik Veteriner dilakukan melalui *Open Journal System* (OJS). Informasi lengkap untuk pemuatan artikel dan petunjuk penulisan artikel tersedia di website dan setiap terbitan. Artikel yang masuk akan melalui proses seleksi editor dan mitra bestari.

VISI

Menjadi jurnal terkemuka dan bereputasi di tingkat nasional maupun internasional dalam bidang ilmu kedokteran hewan.

MISI

1. Menjadikan jurnal sebagai sarana untuk kemajuan dan perkembangan intelektualitas civitas akademika dalam menyongsong Universitas Airlangga *World Class University*;
2. Menyelenggarakan pengelolaan jurnal yang akuntabel dan berkualitas untuk meningkatkan jumlah produk intelektual berupa jurnal ilmiah;
3. Menjadi referensi unggulan bagi civitas akademika dan peneliti bidang kedokteran hewan dan dipublikasikan sebagai jurnal ilmiah.

Lingkup Jurnal, menerbitkan manuskrip berkualitas tinggi dan mempunyai kebaruan yang berfokus pada ilmu hewan dan kedokteran hewan. Bidang studi antara lain: anatomi, patologi, kedokteran dasar, kesehatan masyarakat veteriner, mikrobiologi, reproduksi hewan, parasitologi, peternakan dan kesejahteraan hewan. Nutrisi hewan, hewan kesayangan, kuda, hewan akuatik, hewan liar, obat herbal, akupunktur, epidemiologi, biomolekuler, forensik, hewan laboratorium dan hewan model infeksi manusia juga memenuhi lingkup jurnal.

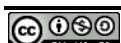
Bahasa

Utama : Bahasa Indonesia

Tambahan : Bahasa Inggris

Artikel yang diterima oleh Jurnal Medik Veteriner (JMV) adalah:

1. Artikel penelitian;
2. Laporan kasus;
3. Artikel studi literatur.



Efek Toksik Sari Kopi Robusta (*Coffee canephora*) Terhadap Spermatozoa Sapi Bali Setelah Ekuilibrasi

Toxic Effect of Robusta Coffee Extract (*Coffea canephora*) on Bali Cattle Spermatozoa After Equilibration

Adam Fahmi Fiqih^{1*}, Soeharsono², Hani Plumeriastuti³, Maya Nurwartanti Yunita³, Yeni Dhamayanti², Aditya Yudhana⁴

¹Mahasiswa, ²Departemen Anatomi Veteriner, ³Departemen Patologi Veteriner, ⁴Departemen Parasitologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia 60115.

*Corresponding author: fikihadam@gmail.com

Abstrak

Tujuan penelitian untuk menguji efek toksik sari kopi robusta pada semen sapi Bali. Radikal bebas dapat merusak spermatozoa selama rusak inseminasi buatan. Antioksidan dalam kopi robusta dianggap dapat menetralkan radikal bebas selama proses perbaikan. Sebanyak enam semen sapi diberi empat ulangan masing-masing, sampel P0 tanpa penambahan ekstrak kopi Robusta, P1 diberi tambahan 5%, P2 10%, dan P3 15%. Hasil diobservasi dengan melihat motilitas, viabilitas, dan abnormalitas. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Variant* (ANOVA) dua arah tanpa ada interaksi dan dilanjutkan duncan. Berdasarkan analisis varians dalam memperoleh hasil penelitian, itu menunjukkan bahwa motilitas P0 berbeda signifikan dari P1, P2, dan P3 ($p<0,05$). Viabilitas P0 berbeda signifikan dari P1, P2, dan P3 ($p<0,05$). Motilitas P3 berbeda dari P0, P1, dan P2 (10%) ($p<0,05$). Penambahan 10% dan 15% sari kopi robusta menurunkan kualitas spermatozoa.

Kata kunci: kopi robusta, sapi bali, spermatozoa, toksik

Abstract

The aim of this study was examine the effect of robusta coffee in bali cattle semen. A total of six cattles cement were given four treatments each P0 without adding Robusta coffee extract, P1 was given an additional 5%, P2 10%, and P3 15%. The results are observed by assessing motility, viability, and abnormalities. The data obtained were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) and continued with the duncan. Based on the analysis of variance in obtaining the results of the study, it was shown motility of P0 was significantly different from P1, P2, and P3 ($p<0.05$). Viability of P0 (control) different significantly from P1, P2, and P3 ($p<0.05$). P3 motility different significantly from P0, P1, and P2 ($p<0.05$). Addition of robusta coffee extract of 10% and 15% decreased spermatozoa quality.

Keywords: bali cattle, robusta coffee, spermatozoa, toxic

Received: 24 Januari 2020

Revised: 6 April 2020

Accepted: 11 Mei 2021

PENDAHULUAN

Peningkatan kualitas genetik pada aspek produktivitas dapat menunjang keunggulan sapi bali (Widyas *et al.*, 2017). Penyebaran genetik dari pejantan yang terseleksi salah satunya adalah menggunakan teknologi reproduksi untuk penyebaran genetik (Ax *et al.*, 2016). Salah satu pengembangan teknologi reproduksi yang telah berhasil dan banyak digunakan untuk penyebaran genetik pejantan adalah Inseminasi

Buatan (IB). Program inseminasi buatan dapat berhasil dengan beberapa faktor yaitu kualitas daripada semen sapi, pemilihan sapi jenis kelamin betina, keterampilan daripada teknisi, dan pengetahuan zooteknik dari peternak (Hastuti, 2008).

Tahapan dalam penyimpanan spermatozoa salah satunya adalah ekuilibrasi pada suhu 5°C. Pendinginan ekuilibrasi dapat menurunkan kualitas spermatozoa karena terdapat asam laktat hasil metabolisme yang bersifat racun bagi



spermatozoa (Sugiarti *et al.*, 2004). Spermatozoa dapat hidup lebih lama apabila dapat menangkal efek dari radikal bebas dari pendinginan tersebut. Antioksidan pada diluter dapat digunakan untuk menetralkisir efek buruk radikal bebas (Widiastuti, 2001).

Lopez dan Alvarino (2000) dalam penelitiannya menyatakan bahwa motilitas spermatozoa dapat meningkat dengan ditambahkan kafein pada tingkat konsentrasi 0 – 5 mM, sedangkan motilitas akan menurun dengan penambahan konsentrasi kafein yang lebih tinggi.

METODE PENELITIAN

Perlakuan

Perlakuan masing masing sampel adalah: Kontrol: semen + pengencer andromed 100%, perlakuan I (P1): semen + pengencer andromed 95% + sari kopi robusta 5%, Perlakuan II (P2): semen + pengencer andromed 90% + sari kopi robusta 10%, perlakuan III (P3): semen + pengencer andromed 85% + sari kopi robusta 15%.

Bahan utama yang digunakan adalah semen sapi bali dan sari kopi robusta. Bahan untuk pemeriksaan mikroskopis adalah pewarna Eosin negrosin dan NaCl fisiologis. Proses pemeriksaan spermatozoa sapi di BIBD Bali menggunakan pengencer andromed yang diencerkan dengan perbandingan 1:4.

Perhitungan % motilitas spermatozoa = [(jumlah spermatozoa progresif x total spermatozoa yang diamati⁻¹) x 100%]. Sementara itu untuk % viabilitas spermatozoa = [(jumlah spermatozoa hidup x total spermatozoa yang diamati⁻¹) x 100%] dan % abnormalitas spermatozoa = [(jumlah spermatozoa abnormal x total spermatozoa yang diamati⁻¹) x 100%].

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang dibutuhkan untuk menampung semen adalah vagina buatan lengkap dengan tabung iwaki, thermometer 100°C, gelas ukur, *beaker glass*, erlenmeyer, kertas pH indikator universal, rak reaksi *tube*, *reaction tube*, pembakar bunsen, pengaduk

penyu, pipet pasteur, alat penghitung, spuit tuberkulin 1 ml onemed, *alumunium foil*, kertas saring, mikroskop trinokuler, timbangan ohaus, pinset, *water bath*, kamar pendingin, gelas objek, dan komputer VOIS.

Analisis Data

Dalam penelitian ini data ditabulasi dalam bentuk rerata dan simpangan baku ($X \pm sd$). Analisis data untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian sari kopi terhadap kualitas spermatozoa diuji dengan Analysis of Variant dua arah tanpa interaksi. Hipotesis ditolak apabila hasil uji F lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$), jika Hipotesis diterima untuk mengetahui pasangan perlakuan yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa motilitas P0 berbeda nyata dengan P1 sari kopi robusta ($p < 0,05$). P1 tidak berbeda nyata dengan P2 dan P3 ($p > 0,05$). P2 tidak berbeda nyata dengan P3 ($p > 0,05$) namun berbeda nyata dengan perlakuan P0 ($p < 0,05$), P3 berbeda nyata dengan P0 ($p < 0,05$) (Tabel 1 dan Gambar 1a).

Proses ekuilibrasi dengan suhu 5°C dapat menyebabkan penurunan motilitas karena adanya asam laktat sisa dari metabolisme yang membuat pH turun sehingga bersifat racun bagi spermatozoa (Sugiarti *et al.*, 2004). Tingkat konsentrasi mempengaruhi kualitas spermatozoa. Lopez dan Alvarino (2000) dalam penelitiannya menyatakan bahwa motilitas spermatozoa dapat meningkat dengan ditambahkan kafein pada tingkat konsentrasi 0 – 5 mM, sedangkan motilitas akan menurun dengan penambahan konsentrasi kafein yang lebih tinggi. Siklus nukleotida fosfodiesterase diduga dapat dihambat oleh kafein, siklus nukleotida berhubungan terhadap penurunan cAMP, maka konsentrasi cAMP intraseluler dapat meningkat apabila siklus dihambat kafein.

Hasil penelitian menunjukkan viabilitas bahwa P0 berbeda nyata dengan P1, P2, dan P3 ($p < 0,05$). P1 tidak berbeda nyata dengan P2 ($p > 0,05$). P2 dibanding dengan P3 tidak berbeda



Tabel 1. Motilitas spermatozoa sebelum dan sesudah perlakuan

Perlakuan	Sebelum	Sesudah	Selisih ± SD
P0	76,12 ± 12,10	72,33 ± 9,54	-3,78 ^b ± 4,85
P1	72,33 ± 12,01	72,33 ± 10,98	0 ^a ± 5,59
P2	65,67 ± 11,45	56 ± 3,74	-9,67 ^a ± 8,48
P3	56,83 ± 14,86	50,50 ± 2,34	-6,33 ^a ± 14,37

^{a,b}superskrip menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$) pada kolom yang sama

Tabel 2. Viabilitas spermatozoa sebelum dan sesudah perlakuan

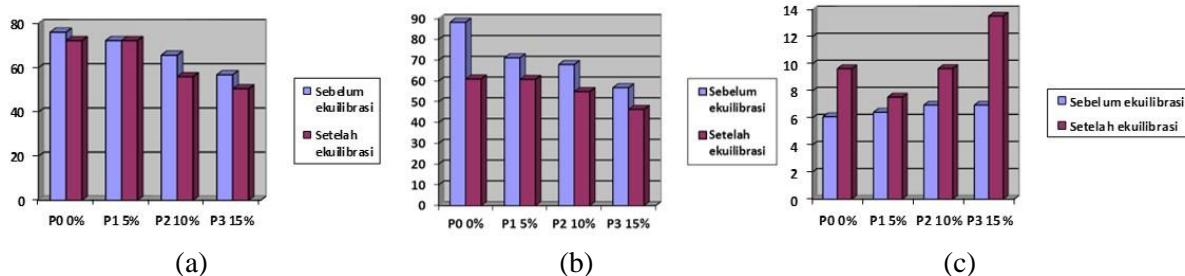
Perlakuan	Sebelum	Sesudah	Selisih ± SD
P0	76,12 ± 12,10	72,33 ± 9,54	-3,78 ^b ± 4,85
P1	72,33 ± 12,01	72,33 ± 10,98	0 ^a ± 5,59
P2	65,67 ± 11,45	56 ± 3,74	-9,67 ^a ± 8,48
P3	56,83 ± 14,86	50,50 ± 2,34	-6,33 ^a ± 14,37

^{a,b}superskrip menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$) pada kolom yang sama

Tabel 3. Abnormalitas spermatozoa sebelum dan sesudah perlakuan

Perlakuan	Sebelum	Sesudah	Selisih ± SD
P0	76,12 ± 12,10	72,33 ± 9,54	-3,78 ^b ± 4,85
P1	72,33 ± 12,01	72,33 ± 10,98	0 ^a ± 5,59
P2	65,67 ± 11,45	56 ± 3,74	-9,67 ^a ± 8,48
P3	56,83 ± 14,86	50,50 ± 2,34	-6,33 ^a ± 14,37

^{a,b}superskrip menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$) pada kolom yang sama

**Gambar 1.** Grafik (a) motilitas, (b) viabilitas dan (c) abnormalitas spermatozoa selama perlakuan.

nyata ($p>0,05$) (Tabel 2 dan Gambar 1b). Ketersediaan energi untuk mempertahankan kondisi fisiologis pada proses penyimpanan dapat mempengaruhi persentase spermatozoa pada saat penyimpanan (Hasbi *et al.*, 2011).

Proses metabolisme tidak berhenti seluruhnya, sehingga nutrisi dalam bahan pengencer dapat habis pada waktu penyimpanan. Waktu yang semakin lama pada inkubasi (0 – 5 jam) akan mempengaruhi persentase hidup dan motilitas spermatozoa walaupun sudah ditambah dengan bahan pengencer fungsi optimal bahan pengencer akan menurun dan mengakibatkan

daya gerak spermatozoa juga menurun (Susilawati *et al.*, 2002).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa P0 tidak berbeda nyata dengan P1 dan P2 ($p>0,05$), tetapi berbeda nyata dengan P3 ($p<0,05$). P1 dibanding dengan P2 tidak berbeda nyata ($p>0,05$) tetapi berbeda nyata dengan P3 ($p<0,05$). P2 berbeda nyata dengan P3 ($p<0,05$) (Tabel 3 dan Gambar 1c).

Abnormalitas sekunder terjadi karena penyimpanan dan kesalahan teknik saat membuat ulas preparat seperti ekor kusut, melingkar, bengkok, menggulung, dan spermatozoa tanpa kepala (Garner dan Hafez,

2000; Susilowati *et al.*, 2010). Spermatozoa dimunginkan dapat terpapar oleh konsentrasi oksigen yang tinggi pada penyimpanan suhu 5°C dan meningkatkan pembentukan ROS sehingga berakibat pada kerusakan membran spermatozoa (Thuwanut *et al.*, 2008). Kerusakan membran spermatozoa berpengaruh terhadap motilitas, persentase hidup, dan abnormalitas.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi sari kopi robusta berefek toksik menurunkan kualitas spermatozoa sapi bali setelah ekuilibrasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Bali yang berkenan memberikan kesempatan dan waktu untuk dapat melangsungkan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ax, R. L., Dally, M. R., Didion, B. A., Lenz, R. W., Love, C. C., Varner, D. D., & Bellin, M. E. (2016). Artificial Insemination. In *Reproduction in Farm Animals*, pp: 376–389).
- Garner, D. L. and E. S. E. Hafez. (2000). Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Hafez E.S.E. *Reproduction in Farm Animals 5th edition*. Philadelphia (US). Lea and febringer.Pp 9 – 109.
- Hasbi, Sonjaya, H., & Gustina, S. (2011). Pengaruh medium pemisah, penambahan ekstrak kopi sebelum proses pemisahan spermatozoa pembawa kromosom x dan y dan lama penyimpanan terhadap kualitas semen cair kambing peranakan etawa. *JITP*, Vol 1 (2).

Hastuti, D. (2008). Tingkat keberhasilan inseminasi buatan sapi potong ditinjau dari angka konsepsi dan *service per conception*. J. Fakultas Pertanian Universitas Wahid Hasyim. *Mediagro*, 4(1).

Lopez & Alvariano. (2000). Effect of added caffeine on results following artificial insemination with fresh and refrigerated rabbit semen. *Animal science*, 58, 147 – 154.

Susilawati, T. (2002). *Sexing* spermatozoa kambing peranakan etawa menggunakan gradien putih telur. *Widya agrika*, 10(2), 97 – 105.

Susilowati, S., Hardijanto, T. W Suprayogi, T Sardjito, & Hernawati, T. (2010). Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan. Surabaya. Airlangga University Press. 29 – 37.

Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, R. G. Sianturi & D. A. Kusumaningrum. (2004). Penggunaan katalase dalam produksi semen dingin sapi. Puslitbang Peternakan. Bogor.

Thuwanut, P., Chatdarog, K., Techakumphu, M., and Axne'r, E. (2008). The effect of antioxidants on motility, viability, acrosome integrity and DNA integrity of frozen-thawed epididymal cat spermatozoa. *Theriogenology*, 70: 233 – 240.

Widiastuti, E. (2001). Kualitas semen beku sapi FH dengan penambahan antioksidan vitamin c dan e. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Widyas, N., Nugroho, T., & Prastowo, S. (2017). Rooms for genetic improvement in Indonesian bali cattle population. *IOP Conferencen Series: Materials Science and Engineering*, 193(1), 012037.

