

# TESIS

## **ANALISIS HASIL *SEXING* SPERMATOZOA SAPI SIMENTAL METODE KOLOM BOVINE SERUM ALBUMIN DARI DUA MACAM PENGENCER DENGAN TEKNIK *FLOWCYTOMETRY***

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh  
Gelar Magister Sains (M.Si).**



**INDAH AGUSTINA EKOWATI  
08082682125003**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI FAKULTAS  
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2023**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**ANALISIS HASIL *SEXING* SPERMATOZOA SAPI  
SIMENTAL METODE KOLOM BOVINE SERUM  
ALBUMIN DARI DUA MACAM PENGECER  
DENGAN TEKNIK *FLOWCYTOMETRY***

**TESIS**

Diajukan Untuk Melengkapi Salah Satu Syarat Untuk  
Memperoleh Gelar Magister Sains Biologi

Oleh :  
**INDAH AGUSTINAEKOWATI**  
**08082682125003**

**Pembimbing I**



**Prof. Dr. Arum Setiawan, M.Si.**  
**NIP. 197211221998031001**

Palembang, Juni 2023

**Pembimbing II**



**Ir. Arfan Abrar, S.Pt., M.Si., Ph.D.**  
**IPM, ASEAN. Eng**  
**NIP. 197507112005011002**

**Mengetahui**  
**Koordinator Program Studi Magister**  
**Biologi**



**Dr. Laila Hanum, M.Si**  
**NIP. 197308311998022001**

## HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa tesis dengan judul "Analisis Hasil *Sexing* Spermatozoa Sapi Simental Metode Kolom Bovine Serum Albumin Dari Dua Macam Pengencer Dengan Teknik *Flowcytometry*" telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Program Pascasarjana Universitas Sriwijaya pada tanggal 09 Juni 2023.

Palembang, Juni 2023

Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah berupa Tesis

### Pembimbing

1. Prof. Dr. Arum Setiawan, M.Si  
NIP. 197211221998031001

(  )

2. Ir. Arfan Abrar, S.Pt., M.Si., Ph.D, IPM,  
ASEAN. Eng  
NIP. 197507112005011002

(  )

### Penguji

1. Dr. rer.nat. Indra Yustian, M.Si  
NIP. 197307261997021001

(  )

2. Dr. Muhakka, S.Pt., M.Si  
NIP. 196812192000121001

(  )

Mengetahui



Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si, Ph.D  
NIP. 197111191997021001

Koordinator Program Studi  
Magister (S2) Biologi



Dr. Laila Hanum, M.Si  
NIP.197308311998022001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini :


Nama : Indah Agustina Ekowati  
NIM : 08082682125003  
Fakultas/Program Studi : MIPA/Magister Biologi

Menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil karya sendiri didampingi tim pembimbing dan bukan hasil penjiplakan/plagiat. Karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar akademik Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam tesis ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari tesis ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Palembang, Juni 2023

  
Indah Agustina Ekowati  
NIM. 08082682125003

## PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Indah Agustina Ekowati  
NIM : 08082682125003  
Judul : Analisis Hasil *Sexing* Spermatozoa Sapi Simental Metode Kolom Bovine Serum Albumin Dari Dua Macam Pengencer Dengan Teknik *Flowcytometry*

Memberikan izin kepada pembimbing dan Universitas Sriwijaya untuk mempublikasikan hasil penelitian saya untuk kepentingan akademik apabila dalam waktu satu (1) tahun tidak mempublikasikan karya penelitian saya. Dalam kasus ini saya setuju untuk menempatkan Pembimbing sebagai penulis korespondensi (*Corresponding author*).

Demikian surat pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.

Palembang, Juni 2023



Indah Agustina Ekowati  
NIM. 08082682125003

## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirahim, Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis dengan baik. Tesis berjudul “Analisis Hasil *Sexing* Spermatozoa Sapi Simental Metode Kolom Bovine Serum Albumin Dari Dua Macam Pengencer dengan Teknik *Flowcytometry*” berisi hasil penelitian yang dilaksanakan oleh penulis di Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak Sembawa dan Balai Riset dan Inovasi Nasional Bogor.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Ir Anis Saggaff, MSCE., selaku Rektor Universitas Sriwijaya
2. Prof. Hermansyah, S.Si., M. Si., Ph. D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya.
3. Dr. Laila Hanum, M.Si selaku koordinator program studi Magister Biologi dan ketua dalam pelaksanaan ujian tesis saya yang telah menyediakan waktu untuk hadir dalam sidang tesis saya.
4. Dr. Arum Setiawan, M.Si., selaku dosen pembimbing tesis pertama yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing, mengarahkan dan memotivasi penulis dari penyusunan proposal, penelitian sampai kepenyusunan ujian.
5. Bapak Ir. Arfan Abrar, S.Pt., M.Si., Ph.D, IPM, ASEAN. Eng, selaku dosen pembimbing tesis kedua yang telah memberikan arahan selama penelitian, menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing, mengarahkan dan memotivasi penulis dari penyusunan proposal, penelitian sampai kepenyusunan ujian.
6. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si selaku sekretaris dalam pelaksanaan ujian tesis saya yang telah menyediakan waktu untuk hadir dalam sidang tesis saya.
7. Bapak Dr. rer. nat. Indra Yustian, M.Si. dan Bapak Dr. Muhakka, S.Pt., M.Si., selaku penguji yang telah banyak memberi masukan dan membantu penulis untuk lebih berkembang dan meningkatkan kemampuan dalam menulis yang baik, tepat, dan benar.
8. Seluruh dosen dan staf administrasi Program Studi Magister Biologi,

Fakultas FMIPA, Universitas Sriwijaya yang telah mendidik dan mengajarkan ilmu pengetahuan di bidang biologi.

9. Kepala Dinas Ketahanan Pangan dan Peternakan Prov. Sumatera Selatan, Bapak Ir. Ruzuan Efendi, M.Si, dan Kepala Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak Sembawa, Bapak Drs. Iskandar Zulkarnain, yang telah memberikan izin dan dukungan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan.
10. Bapak Muhammad Gunawan, S.Pt, M.Si dan teman teman kelompok Riset Repronmik Hewan, Pusat Riset Zoologi Terapan, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Balai Riset dan Inovasi Nasional, KST Soekarno, Cibinong Jawa Barat, yang banyak membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dengan masukan, saran dan ide idenya.
11. Suamiku Dr. drh Langgeng Priyanto, M.Si, dan anak anaku, Aisyah Mahasiwi Azzahro dan Azmi Khalid Amrulloh, dengan cinta dan kasih sayangnya telah memberikan dukungan penuh kepada penulis untuk dapat menyelesaikan penulisan tesis ini.
12. Ibu, Kakak, adik dan saudara saudaraku semua, yang telah memberikan dukungan dan doa tanpa lelah kepada penulis.
13. Teman teman kelas Magister Biologi Universitas Sriwijaya angkatan 2020-2021.
14. Teman teman tim produksi dan pemasaran semen beku Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak Sembawa, yang telah banyak membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian hingga menulis tesis ini. Tetaplah menjadi tim yang solid dan kompak, mohon maaf tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Tesis ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dalam memperbaiki tulisan penulis dikemudian hari. Akhir kata, penulis berharap semoga apa yang telah dihasilkan ini dapat memberikan manfaat bagi pembacanya dan bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Palembang, Juni 2023

Penulis

## RINGKASAN

### **ANALISIS HASIL *SEXING* SPERMATOZOA SAPI SIMENTAL METODE KOLOM BOVINE SERUM ALBUMIN DARI DUA MACAM PENGENCER DENGAN TEKNIK *FLOWCYTOMETRY***

Karya tulis ilmiah berupa Tesis, Juni 2023

Indah Agustina Ekowati : Dibimbing oleh Arum Setiawan dan Arfan Abrar

Inseminasi Buatan (IB) merupakan teknologi reproduksi untuk memperbaiki mutu genetik ternak dengan tujuan membantu peternak memperoleh bibit unggul. Program IB berkembang melalui penggunaan semen hasil proses pemisahan spermatozoa berkromosom X dan Y atau semen *sexing*. IB dengan semen beku hasil *sexing* dapat meningkatkan efisiensi dalam usaha peternakan. Sapi betina yang diinseminasi dengan spermatozoa pembawa kromosom X akan menghasilkan pedet betina dan spermatozoa pembawa kromosom Y akan menghasilkan pedet jantan. Dalam proses pemisahan kromosom X dan Y ada bermacam macam metode yang digunakan antara lain metode kolom albumin, sentrifugasi dengan *gradient densitas percol*, metode elektrik, *electroforesis*, *swim up*, dan filtrasi *sephadex*. Untuk mengetahui tingkat kemurnian kromosom X dan Y spermatozoa hasil *sexing* secara cepat telah dikembangkan teknik *Flowcytometry* dengan menggunakan alat Flowcytometer. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan meneguhkan teknik *sexing* spermatozoa metode kolom Bovine Serum Albumin untuk tujuan diseminasi, mengevaluasi kualitas semen beku *sexing* dan menganalisis tingkat keberhasilan *sexing* dengan teknik *Flowcytometry*.

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak (BP-HPT) Sembawa dan dilanjutkan di Laboratorium Genomik Balai Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Bogor. Sapi yang digunakan pada penelitian ini adalah sapi Simental. Metode *sexing* yang digunakan adalah metode kolom albumin. Media pemisah yang digunakan yaitu Bovine Serum Albumin (BSA) 5% dan 10%, sedangkan media pengencer yang digunakan adalah Tris Kuning Telur (TKT) dan Bovifree (BF). Penelitian dilaksanakan secara bertahap yaitu *sexing* spermatozoa metode kolom Albumin, uji kualitas spermatozoa hasil *sexing* dan analisa kemurnian kromosom X dan Y spermatozoa hasil *sexing* dengan teknik *Flowcytometry*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil evaluasi spermatozoa semen segar sapi Simental memenuhi standar untuk dilanjutkan ke proses *sexing*. Setelah proses *sexing* dilakukan evaluasi kedua yang meliputi motilitas, viabilitas dan abnormalitas. Semen beku tanpa *sexing* memiliki rata-rata motilitas  $50,5\% \pm 1,76$ , viabilitas  $62,54\% \pm 0,57$  dan abnormalitas  $4,8\% \pm 0,41$ . Sedangkan semen beku *sexing* memiliki rata-rata motilitas  $41,25 \pm 6,85$ , viabilitas  $57,97 \pm 0,57$  dan abnormalitas  $3,93 \pm 0,18$ . Hasil analisis dengan Flowcytometer menunjukkan rata-rata persentase kromosom X dan Y pada kolom atas dengan pengencer TKT kromosom X sebesar  $74,69\% \pm 4,77$  dan kromosom Y sebesar  $23,14\% \pm 4,10$ .



Sedangkan pada kolom bawah kromosom X sebesar  $31,50\% \pm 5,74$  dan kromosom Y sebesar  $65,72\% \pm 5,75$ . Dengan pengencer BF rata-rata persentase kromosom X dan Y pada kolom atas adalah kromosom X sebesar  $70,99\% \pm 13,16$  dan kromosom Y sebesar  $25,32\% \pm 13,21$ . Sedangkan pada kolom bawah adalah kromosom X sebesar  $30,21 \pm 8,45$  dan kromosom Y sebesar  $66,73\% \pm 8,96$ .

Berdasarkan hasil dari penelitian dapat dilihat bahwa penggunaan media pengencer mempengaruhi kualitas semen beku *sexing* karena komposisi bahan yang terkandung dalam media pengencer tersebut. Hasil analisis flowcytometer, pada *sexing* metode kolom bovine serum albumin (BSA) dengan dua macam pengencer, menunjukkan adanya cemaran kromosom yang tidak diinginkan. Baik untuk *sexing* spermatozoa kolom atas (X) dengan media pengencer TKT maupun BF dan spermatozoa kolom bawah (Y) dengan media pengencer TKT maupun BF. Dari hasil penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan kualitas spermatozoa hasil *sexing* dengan bahan pengencer dan metode lainnya dan penelitian lanjutan untuk pembuktian keberhasilan hasil pemisahan kromosom X dan Y dengan pelaksanaan inseminasi di lapangan.

## ABSTRACT

### ANALYSIS OF SEXING RESULTS OF SIMENTAL CATTLE SPERMATOZOA USING BOVINE SERUM ALBUMIN COLUMN METHOD WITH TWO KINDS OF DILUENTS BY FLOWCYTOMETRY TECHNIQUE.

Scientific paper in the form of a thesis, Juni 2023

**Indah Agustina Ekowati : Supervised by Arum Setiawan dan Arfan Abrar**

Artificial Insemination (AI) is a reproductive technology to improve the genetic quality of livestock with the aim of helping farmers obtain superior seeds. The IB program is developed through the use of semen resulting from the process of separating X and Y chromosomal spermatozoa or sexing semen. IB with sexed frozen semen can increase efficiency in animal husbandry. Female cows inseminated with spermatozoa carrying the X chromosome will produce female calves and spermatozoa carrying the Y chromosome will produce male calves. In the process of separating X and Y chromosomes, there are various methods used, including the albumin column method, centrifugation with percol density gradient, electrical method, electrophoresis, swim up, and sephadex filtration. To determine the level of purity of X and Y chromosomes of sexed spermatozoa quickly, the Flowcytometry technique has been developed using the Flowcytometer tool. Based on this, this study was conducted with the aim of confirming the spermatozoa sexing technique of Bovine Serum Albumin column method for dissemination purposes, evaluating the quality of sexed frozen semen and analyzing the success rate of sexing with Flowcytometry technique.

This research was conducted at the Laboratory of the Center for Breeding and Forage Animal Feed (BP-HPT) Sembawa and continued at the Genomics Laboratory of the National Research and Innovation Center (BRIN) Bogor. The cattle used in this study were Simental cattle. The sexing method used was the albumin column method. The separation media used were Bovine Serum Albumin (BSA) 5% and 10%, while the diluent media used were Egg Yolk Tris (TKT) and Bovifree (BF). The research was carried out in stages, namely sexing spermatozoa using the Albumin column method, testing the quality of sexed spermatozoa and analyzing the purity of X and Y chromosomes of sexed spermatozoa using Flowcytometry technique.

The results showed that the evaluation results of fresh semen spermatozoa of Simental cattle met the standards to proceed to the sexing process. After the sexing process, a second evaluation was carried out which included motility, viability and abnormality. Frozen semen without sexing has an average motility of  $50.5\% + 1.76$ , viability of  $62.54\% + 0.57$  and abnormality of  $4.8\% + 0.41$ . While frozen semen sexing has an average motility of  $41.25 + 6.85$ , viability of  $57.97 + 0.57$  and abnormality of  $3.93 + 0.18$ . The results of analysis with Flowcytometer showed the average percentage of X and Y chromosomes in the upper column with TKT diluent X chromosome was  $74.69\% + 4.77$  and Y chromosome was  $23.14\% + 4.10$ . While in the lower column X chromosomes were  $31.50\% + 5.74$  and Y chromosome was  $65.72\% + 5.75$ . With BF diluent, the average percentage of X

and Y chromosomes in the upper column is X chromosome of 70.99% + 13.16 and Y chromosome of 25.32% + 13.21. While in the lower column the X chromosome was 30, 21 + 8.45 and the Y chromosome was 66.73% + 8.96.

Based on the results of the study, it can be seen that the use of diluent media affects the quality of sexing frozen semen due to the composition of the ingredients contained in the diluent media. The results of flowcytometer analysis, on sexing bovine serum albumin (BSA) column method with two kinds of diluent, showed the presence of unwanted chromosome contamination. Both for sexing upper column spermatozoa (X) with TKT and BF diluent media and lower column spermatozoa (Y) with TKT and BF diluent media. From the results of this study it is necessary to conduct further research to compare the quality of spermatozoa resulting from sexing with other diluents and methods and further research to prove the success of the results of X and Y chromosome separation with the implementation of insemination in the field.

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Kecamatan Berbek, Kabupaten Nganjuk, Provinsi Jawa Timur pada tanggal 01 Agustus 1978. Penulis merupakan putri ketujuh dari delapan bersaudara oleh pasangan Bapak Moeljono Mustofa (alm) dan Ibu Mudjayana Ahmad. Pada tahun 1997 penulis lulus dari Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 2 Nganjuk dan pada tahun yang sama diterima di Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor (IPB) lewat jalur undangan seleksi masuk Institut IPB. Gelar Sarjana Kedokteran Hewan diperoleh pada tahun 2001 dan wisuda pada bulan Februari tahun 2002. Penulis mengabdikan diri sebagai Aparatur Sipil Negara (ASN) dan ditempatkan di Dinas Ketahanan Pangan dan Peternakan Provinsi Sumatera Selatan. Semenjak tahun 2010 sampai dengan sekarang penulis ditugaskan di Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak (BP-HPT) Sembawa, Banyuasin. Tahun 2021 penulis melanjutkan studi jenjang magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>JUDUL TESIS</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	iii
<b>PERNYATAN KEASLIAN KARYA ILMIAH</b> .....	iv
<b>PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI</b> .....	v
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Berfikir.....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Spermatozoa Sapi .....	5
2.2 Semen Sapi .....	6
2.3 Evaluasi Sapi .....	7
2.4 Kromosom Seks Pada Sapi.....	7
2.5 Bovine Serum Albumin (BSA) .....	8
2.6 Sexing Spermatozoa .....	10
2.7 Sapi Simental.....	11
2.8 Flowcytometer.....	12
2.8.1 Sejarah Flowcytometer .....	12
2.8.2 Dasar Biologis .....	13

2.8.3 Standar Operasional Prosedur Analisis Flowcytometer .....	14
---	----

### **BAB III. METODE PENELITIAN**

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	15
3.2 Alat dan Bahan .....	15
Tahap I. Sexing Spermatozoa Sapi Simental	
3.2.1 Penampungan Semen.....	15
3.2.2 Evaluasi Semen Segar .....	15
3.2.3 Proses Sexing Spermatozoa .....	15
3.2.4 Pengenceran Semen .....	16
3.2.5 Pengemasan Semen .....	16
3.2.6 Pembekuan Semen.....	16
3.2.7 Thawing Straw.....	16
Tahap II. Evaluasi Kualitas Spermatozoa Sexing.....	16
Tahap III. Analisis Spermatozoa Sexing dengan Flowcytometer.....	16
3.3 Metode Penelitian.....	17
Tahap I. Sexing Spermatozoa Sapi Simental	
3.3.1 Penampungan Semen.....	17
3.3.2 Evaluasi Semen Segar .....	17
3.3.2.1 Gerakan Spermatozoa (Motilitas) .....	18
3.3.2.2 Perbandingan Spermatozoa Hidup dan Mati (Viabilitas) .....	18
3.3.2.3 Morfologi Spermatozoa (Abnormalitas) .....	19
3.3.3 Proses Sexing Spermatozoa .....	19
3.3.4 Pengenceran Semen .....	20
3.3.5 Pengemasan Semen .....	20
3.3.6 Equilibrasi.....	20
3.3.6 Pembekuan Semen.....	20
3.3.7 Thawing Straw.....	20
Tahap II. Evaluasi Kualitas Spermatozoa Beku.....	21
3.3.8 Gerakan Spermatozoa (Motilitas).....	21
3.3.9 Perbandingan Spermatozoa Hidup dan Mati (Viabilitas).....	21
3.3.10 Morfologi Spermatozoa (Abnormalitas) .....	22
Tahap III. Analisis Spermatozoa Sexing dengan Flowcytometer.....	22

3.4 Analisis Data .....	23
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Evaluasi Kualitas Spermatozoa Semen Segar Sapi .....	24
4.2 Evaluasi Kualitas Spermatozoa Semen Beku Sapi .....	26
4.3 Evaluasi Kualitas Spermatozoa Kolom Atas (X) dan Kolom Bawah (Y) Dari 2 Macam Pengencer.....	29
4.3.1 Evaluasi Motilitas Spermatozoa Kolom Atas (X) dan Kolom Bawah (Y) .....	29
4.3.2 Evaluasi Viabilitas Spermatozoa Kolom Atas (X) dan Kolom Bawah (Y) .....	30
4.3.3 Evaluasi Abnormalitas Spermatozoa Kolom Atas (X) dan Kolom Bawah (Y) .....	31
4.4 Analisis Persentase Spermatozoa Sexing dengan Flowcytometer .....	32
4.4.1 Spermatozoa Sexing Kolom Atas (X) .....	34
4.4.2 Spermatozoa Sexing Kolom Bawah (Y).....	35
4.5 Korelasi Keberhasilan Sexing dengan Kualitas Spermatozoa Beku .....	36
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA .....	41
LAMPIRAN.....	46

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Hasil Rata-rata Kualitas Semen Segar Sapi Simental.....	25
Tabel 4.2. Hasil Rata-rata Evaluasi Kualitas Spermatozoa Semen Beku .....	27
Tabel 4.3. Hasil Rata-rata Motilitas Spermatozoa X dan Y Sapi Simental .....	29
Tabel 4.4. Hasil Rata-rata Viabilitas Spermatozoa X dan Y Sapi Simental ....	30
Tabel 4.5. Hasil Rata-rata Abnormalitas Spermatozoa X dan Y Sapi Simental.....	32
Tabel 4.6. Perbandingan Persentase Kromosom X dan Y Pada Kolom Atas (X) Berdasarkan Analisa Flowcytometer .....	34
Tabel 4.7. Perbandingan Persentase Kromosom X dan Y pada Kolom Bawah (Y) Berdasarkan Analisa Flowcytometer .....	35
Tabel 4.8. Rekapitulasi Data Tingkat Keberhasilan Sexing di Lapangan dari Berbagai Sumber .....	37
Tabel 4.9. Perbandingan Data Flowcytometer dengan Keberhasilan IB Semen Beku (SB) di Lapangan dari Berbagai Sumber .....	38



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1. Kerangka Berpikir .....	4
Gambar 2.1. Struktur internal Spermatozoa Sapi.....	5
Gambar 2.2. Media pemisah spermatozoa, kolom atas berisi BSA 5% + zat pewarna phenol red, kolom bawah berisi BSA 10% .....	9
Gambar 2.3. Sapi Simental.....	12
Gambar 2.4. Flowcytometer.....	13
Gambar 2.6. Pemilahan Sel Menggunakan Flow Cytometry dan Teknologi Tetesan .....	14
Gambar 3.1. Penampungan semen sapi Simental .....	17
Gambar 4.1. Pewarnaan spermatozoa menggunakan eosin negrosin untuk melihat viabilitas, a. spermatozoa hidup tidak menyerap warna.b. spermatozoa mati menyerap warna .....	26
Gambar 4.2. Pewarnaan spermatozoa menggunakan eosin-negrosin untuk melihat morfologi spermatozoa, tanda panah menunjukkan spermatozoa abnormal .....	26
Gambar 4.3. A. Kolom pemisah + semen, B. Setelah diinkubasi 30 menit, satu mililiter lapisan paling atas dianggap spermatozoa mati dan dibuang .....	28
Gambar 4.4. Plots bivariat fluoresens yang dipancarkan dari spermatozoa sapi yang diwarnai Hoechst 34580, yang menunjukkan populasi berukuran besar (X) dan spermatozoa berukuran kecil (Y) .....	33
Gambar 4.5. Profil Fluoresens populasi univariat spermatozoa X dan Y dengan pewarnaan Hoechst 34580 dari sapi, perbedaan kandungan relatif kedua populasi spermatozoa .....	33
Gambar 4.5. Diagram persentase kromosom X dan Y spermatozoa hasil sexing dengan dua macam pengencer. A. Kolom atas (X), B. Kolom bawah (Y). P1 : pengencer TKT, P2 : pengencer BF .....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Interpretasi Data Uji Anova.....	46
Lampiran 2. Interpretasi Data Uji T.....	49
Lampiran 3. Interpretasi Data Korelasi .....	52
Lampiran 2. Analisis spermatozoa <i>sexing</i> dengan Flowcytometer di Badan Riset dan Inovasi Nasional Bogor.....	53

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang**

Seiring dengan laju pertumbuhan penduduk yang terus meningkat menuntut ketersediaan pangan asal hewani berupa daging dan susu yang meningkat juga. Ternak sapi baik berupa sapi potong dan sapi perah memberikan kontribusi besar bagi pemenuhan gizi berupa protein hewani. Badan Pusat Statistik (BPS) menyebutkan, rata-rata konsumsi daging sapi/kerbau di Indonesia sebesar 0,468 kilogram/kapita/tahun selama periode 2017-2021. Sedangkan produksi daging sapi di dalam negeri berfluktuasi. Produksi komoditas tersebut tertinggi sebesar 504.802 ton pada tahun 2019. Sementara produksi daging sapi terendah sebanyak 453.418 ton pada tahun 2020. Pada tahun 2021, kebutuhan daging sapi diperkirakan mencapai hampir 700.000 ton atau setara dengan 3,6 juta ekor sapi. Namun produksi daging sapi dalam negeri hanya sebanyak 400.000 ton sapi per tahun. Badan Pusat Statistik (BPS) mencatat, produksi daging sapi di Indonesia pada tahun 2022 sebesar 498.923,14 ton. Sedangkan kebutuhan daging di tahun 2022 sebesar 695.390 ton. Tingginya kebutuhan daging tersebut membuat Indonesia memiliki ketergantungan terhadap impor daging sapi hampir 50% dari permintaan. Untuk mengatasi jumlah sapi yang masih kurang dilakukan optimalisasi reproduksi. Salah satu cara optimalisasi reproduksi tersebut adalah dengan Inseminasi Buatan.

Inseminasi Buatan (IB) merupakan teknologi reproduksi untuk memperbaiki mutu genetik ternak yang telah diterima secara luas oleh peternak. Program IB membantu peternak untuk memperoleh bibit unggul. Nilai IB dapat ditingkatkan dengan menghasilkan bibit unggul dengan jenis kelamin sesuai harapan peternak. Balai Inseminasi Buatan Nasional (BIB) maupun Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) merupakan Instansi Pemerintah yang bertanggung jawab dalam penyediaan bibit unggul berupa semen beku. UPTD Balai Inseminasi Buatan Sembawa, Dinas Ketahanan Pangan dan Peternakan Prov. Sumatera Selatan merupakan Instansi pemerintah yang memproduksi semen beku, diresmikan pada tahun 2002. Pada tahun 2018 UPTD Balai Inseminasi Buatan Sembawa berubah

nama menjadi UPTD Balai Pembibitan dan Hijauan Pakan Ternak (BP-HPT) Sembawa.

Program IB mengalami perkembangan melalui penggunaan semen hasil proses pemisahan kromosom X dan Y atau semen *sexing* pada pelaksanaan IB. Pemanfaatan spermatozoa X dan Y di yakini meningkatkan efisiensi program IB dalam usaha peternakan (Setiyani *et al.*, 2018). Penentuan jenis kelamin sapi memiliki keunggulan antara lain dapat mengurangi biaya pemeliharaan, dapat mengatur rasio jenis kelamin sampai 90 : 10, mengurangi biaya dalam program progenerasi test dan embrio transfer (Rosita *et al.*, 2014). Pada sapi yang di IB spermatozoa pembawa kromosom X akan menghasilkan pedet betina yang diperlukan untuk memproduksi susu dan sebagai *replacement* indukan dan spermatozoa pembawa kromosom Y akan menghasilkan pedet sapi potong jantan bakalan untuk penggemukan (Kaiin *et al.*, 2017).

Secara alami, peluang kelahiran anak hasil kawin alam atau inseminasi buatan dengan semen beku tanpa *sexing* adalah 50% betina dan 50% jantan. Hewan betina mempunyai 1 pasang kromosom X dan X, sedangkan hewan jantan mempunyai kromosom X dan Y (Anwar *et al.*, 2019). Sel telur mengandung kromosom X, sedangkan spermatozoa mengandung kromosom X atau Y (Said *et al.*, 2005). *Sexing* spermatozoa merupakan upaya untuk mengubah proporsi perolehan spermatozoa yang berkromosom jenis X dan Y dengan metode tertentu, sehingga merubah proporsi normal yaitu 50% : 50% (Takdir *et al.*, 2017). Rosadi (2018) mengatakan, hasil IB semen tanpa *sexing* menunjukkan bahwa jumlah anak jantan dan betina berimbang. Jumlah spermatozoa X dan jumlah spermatozoa Y pada semen beku tanpa *sexing* mempunyai spermatozoa yang sama. Untuk memfertilisasi oosit, kedua jenis spermatozoa mempunyai peluang yang sama.

Semen beku hasil *sexing*, mempunyai proporsi spermatozoa X dan Y tidak sama. Inseminasi buatan menggunakan semen beku dengan proporsi Y lebih banyak, maka akan diperoleh fetus jantan lebih banyak dan apabila menggunakan semen beku dengan proporsi X lebih banyak maka akan diperoleh fetus betina lebih banyak. Fetus jantan diharapkan sebagai bakalan pedaging dan fetus betina diharapkan sebagai calon indukan. Hal ini menunjukkan bahwa *sexing*

spermatozoa merubah secara signifikan proporsi jenis fetus yang secara alamiah seimbang antara betina dan jantan.

Pengembangan metode pemisahan jenis kelamin spermatozoa sapi yang telah dilakukan di Balai Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) adalah dengan menggunakan kolom *Bovine Serum Albumin* (BSA) 5-10% (Kaiin *et al.*, 2007). Menurut Hafez (2008), salah satu metode yang dianggap baik untuk memisahkan spermatozoa sapi adalah metode pemisahan dengan menggunakan kolom albumin (*Bovine Serum Albumin*, BSA). Pada metode kolom BSA menggunakan prinsip yaitu memisahkan spermatozoa berkromosom X dan spermatozoa berkromosom Y berdasarkan pada perbedaan kecepatan bergerak (motilitas) menembus kolom. Menurut Kainn (2017), pemisahan jenis kelamin spermatozoa sapi (*sexing*) menggunakan metode kolom BSA 5% dan BSA 10% dapat diverifikasi secara molekuler menghasilkan spermatozoa X pada kolom BSA 5% dan spermatozoa Y pada kolom BSA 10%.

BRIN saat ini sedang mengembangkan Teknik *Flowcytometry* untuk mengetahui tingkat kemurnian kromosom X dan Y Spermatozoa hasil *sexing* secara cepat. Flowcytometer adalah alat untuk mengidentifikasi fenotipe dan karakteristik sel. Teknologi ini memiliki aplikasi di sejumlah bidang, biologi molekuler, patologi, imunologi, biologi tumbuhan, biologi kelautan dan pemilahan sperma untuk pemilihan jenis kelamin. *Flowcytometry* diterapkan secara luas untuk mendeteksi kelainan sel spermatozoa yang terkait dengan fragmentasi DNA pada sel spermatozoa. Lebih jauh lagi Susilowati (2019) melaporkan hasil *sexing* dikatakan berhasil apabila tingkat kelahiran jantan pada IB semen beku *sexing* kromosom Y dan betina pada IB semen beku kromosom X lebih dari 70% .

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui persentase kromosom X dan Y pada spermatozoa *sexing* sapi Simental dengan Teknik *Flowcytometry*. Pelaksanaan IB dengan semen beku hasil *sexing* akan sangat membantu dalam memenuhi kebutuhan sapi bakalan sesuai jenis kelamin yang dibutuhkan.

## 1.2. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, tujuan dalam penelitian ini sebagai berikut.

- 1.2.1 Meneguhkan teknik *sexing* spermatozoa dengan metode BSA untuk tujuan diseminasi.
- 1.2.2 Mengevaluasi kualitas semen beku hasil *sexing* yang menggunakan metode kolom BSA.
- 1.2.3 Menganalisis tingkat keberhasilan *sexing* menggunakan teknik *Flowcytometry*.

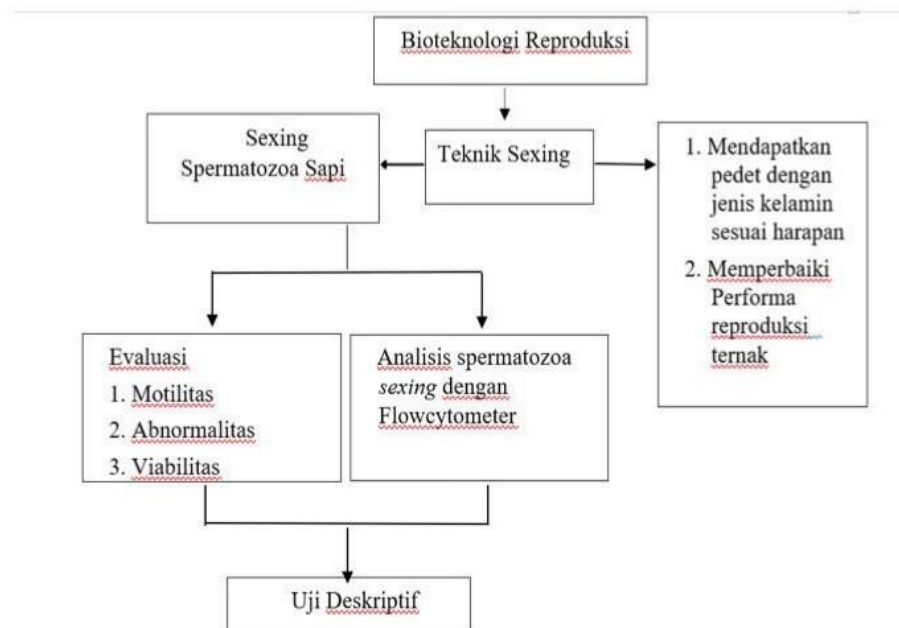
## 1.3. Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian, manfaat penelitian ini untuk :

- 1.3.1 Memberikan informasi prosedur pembuatan semen beku *sexing* dengan metode kolom BSA.
- 1.3.2 Mengetahui kualitas semen beku hasil *sexing* secara Mikroskopis meliputi Motilitas, Abnormalitas, Viabilitas.
- 1.3.3 Mengetahui persentase kromosom X dan Y pada spermatozoa hasil *sexing*.
- 1.3.4 Menyediakan informasi berupa data awal untuk penelitian lebih lanjut.

## 1.4. Kerangka Berfikir

Kerangka berfikir terkait dengan penelitian ini dapat dilihat pada gambar 1.1



Gambar 1.1. Kerangka berfikir

## DAFTAR PUSTAKA

- Aini, A.N., Setiadi, M.A., Karja, N.W.K. 2016. Kemampuan fertilisasi spermatozoa sexing dan perkembangan awal embrio secara in vitro pada sapi. *Jurnal Sain Veteriner*, 34 (2), 225–232.
- Ashari, L., Mustofa, I., Yunita, M. N., Sardjito, T., Saputro, A. L., Prastiya, R. A. 2019. Pengaruh durasi waktu pada sexing spermatozoa sapi bali terhadap kualitas dan efektivitas sexing spermatozoa dengan menggunakan alat Electric Separating Sperm (ESS). *Jurnal Medik Veteriner*, 2 (1), 24-29.
- Boro, P., Naha, B. C., Madkar, A. 2016. Sexing of semen in bulls : A mini review. *International Journal of Applied Research*, 2 (4), 460–462.
- Brito, B. F., Mara, B., Santos, B., Alves, L., Cabral, R., Fernando, M., Matta, D. R., Clemente, C., Salgueiro, D. M., Nunes, J. F. 2021. Ram and goat semen immunosexed and diluted in powdered coconut water-based preservation medium (ACP101/102c). *Acta Scientiae Veterinariae*, 49 (1820), 4–9.
- Buchori, A., Novita, M., Azhari, D. A., Kunci, K. 2021. Inseminasi buatan berbasis semen beku sexing-sperma guna memperbaiki kinerja reproduksi sapi dan biogas ebagai sumber energi alternatif di desa kuripan karangawen demak. *Journal of Dedicators Community*, 5 (1), 75- 84.
- Diwyanto, K., Herliantien. 2010. Aplikasi teknologi inovatif sexing dalam program inseminasi buatan dan usaha cow-calf operation. *Wartazoa V* 16 (4), 171-180.
- Gunawan, M., Kaiin, E. M., Said, S. 2015. Aplikasi inseminasi buatan dengan sperma sexing dalam meningkatkan produktivitas sapi di peternakan rakyat. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia*, 1 (1), 93-96.
- Gunawan, M., Kaiin, E. M., Ridwan, R. 2017. Peningkatan produktivitas sapi Bali melalui inseminasi buatan dengan sperma sexing di Techno Park Banyumulek , Nusa Tenggara Barat. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia*, 3 (2), 216–219.
- Gunawan M., *et al* (2020). Keberhasilan inseminasi buatan dengan spermatozoa sexing sapi bali di kabupaten Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat. *Prosiding seminar masyarakat biodiv Indonesia*, Vol 6, no 1, Juni 2020.
- Heinrichhs ME, De Corte D, Engelen B, Pan D. 2021. An advanced protocol for the quantification of marine sediment viruses via flow cytometry. *Viruses* 13(1), 102.
- Husein, N. (2019). Review on Opportunities of developing biotechnology in animal feed improvement and major constraints hinder biotechnology in developing countries. *International Journal of African and Asian Studies* 52,

1–9.

- Islas, A. F., 2021. Reproductive biotechnologies in beef cattle: five decades of research in Mexico. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 12 (3), 39–78.
- J.M. DeJarnette, B.R. Harstine, K. McDonald, C.E. Marshall. 2019. Commercial application of flow cytometry for evaluating bull sperm. *Animal Reproduction Science* 246 (2022) 106838.
- K. Bucher, E. Malama, M. Siuda, F. Janett, and H. Bollwein. 2019. Multicolor flow cytometric analysis of cryopreserved bovine sperm: A tool for the evaluation of bull fertility. *J. Dairy Sci.* 102:11652–11669 <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16572>.
- Kaiin, E. M., Gunawan, M., Octaviana, S., Nuswantara, S. 2017. Verifikasi molekuler metode sexing sperma sapi dengan kolom BSA (Bovine Serum Albumin). Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia, 3 (2), 241–245.
- Kaiin, E. M., Gunawan, M. 2017. Kualitas sperma sapi hasil sexing setelah kapasitas secara in vitro. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia, 3 (3), 466–470.
- Lopulalan, F., Saili, T., Ba'a, L. O. 2018. Kualitas dan fertilitas spermatozoa sapi bali hasil *sexing* dengan menggunakan metode Swim-Down. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Peternakan Tropis*, 5(2), 24-33.
- Mahfud, A., Susilawati, T., Yekti, A. P. A., Kuswati, K. 2019. Tingkat keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) menggunakan semen beku hasil sexing pada sapi persilangan Ongole. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 29(2), 185– 192.
- Molina LCP, Gunderson S, Riley J. et al. 2020. Membrane potential determined by flow cytometry predicts fertilizing ability of human sperm. *Front. Cell Dev. Biol.* 7, 387.
- Mudawamah, Retnaningtyas, I. D., Wajdi, M. F., Badriyah, Susilowati, S., Aulanni'am, Ciptadi, G. 2014. Analysis of genetic similarity between PE goats derived from natural service and artificial. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 8(2), 2006–2009.
- Mutmainna, A. 2020. Evaluasi keberhasilan inseminasi buatan pada sapi potong di Kecamatan Pammana Kabupaten Wajo. *Jurnal of Animal Science*, 4(2), 107–114.
- Naniwa, Y., Sakamoto, Y., Toda, S., Uchiyama, K. 2019. Bovine sperm sex - selection technology in Japan. *Wiley Reproductive Medicine and Biology*, 18 (1), 17–26.
- Noviantari, A. 2020. Prosiding seminar nasional sains pemanfaatan teknologi biologi sel dalam dunia kedokteran modern abstrak. *Sinasis*, 1(1), 121-127.



- Pasino, S., Waru, A.T., Mirnawati, M. 2020. Peningkatan produktivitas sapi betina melalui inseminasi buatan dengan metode retrovaginal. *Jurnal Peternakan Lokal*, 2(2): 39-45.
- Puspitaningrum, R., Adhiyanti, C., Solihin. 2018. Genetika molekuler dan aplikasinya. Yogyakarta : Deepublish.
- Putra, E.R., Khaerudin, K., Armayanti, A.K., Farida S., Syarif, M., dan Amin, S. 2022. Kualitas spermatozoa sapi peranakan limosin dalam pengencer Andromed yang ditambahkan berbagai level glukosa. *Musamus Journal of Livestock Science*, 5(1) : 6-15
- Putri, R. D. A. 2015. Uji kualitas sperma sexing sapi Friesian Holstein (FH) pasca thawing. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiv Indonesia, 1 (8), 2057–2061.
- Priyanto L., Budiyanto A., Kusumawati, A. 2019. Tingkat kerusakan DNA spermatozoa memengaruhi profil protein spermatozoa pada Semen Beku Sapi Brahman. April. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.4.512>
- Priyanto L., Arifiantini R., Yusuf, T.L. 2015. Deteksi kerusakan DNA spermatozoa semen segar dan Semen beku sapi menggunakan pewarnaan toluidine blue. *16(1)*, 48–55.
- Priyanto L, Herdis H, Santoso S, Anwar RI, Priyatno TP, Sitaresmi PI, Azhari F, Gunawan M, and Putranti OD. 2023. The reproductive success of Simmental bovine after sex-sorting under various incubation and centrifugation protocols. *Veterinary World*, 16(3): 631–637.
- Quelhas, J., Santiago, J., Matos, B., Rocha, A., Lopes, G., Fardilha, M. 2021. Bovine semen sexing: Sperm membrane proteomics as candidates for immunological selection of X- and Y- chromosome- bearing sperm. *Wiley Veterinary Medicine Science*, 7(5), 1633–1641.
- Rahman, M.S. and Pang, M.G. 2020. New biological insights on X and Y chromosome-bearing spermatozoa. *Front. Cell Dev. Biol.*, 7: 388
- Ratnawati, D., Luthfi, M., Affandhy, L. 2020. Aplikasi Semen Cair Hasil Sexing dengan Gradien Albumin Putih Telur di Kabupaten Lumajang. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Virtual 2020 Pelaksanaan, 98–104.
- Robinson, J. P. 2022. Flow cytometry: past and future. *BioTechniques* 72: 159– 169 (April 2022) 10.2144/btn-2022-0005.
- Rosita, E. A., Susilawati, T., Wahyuningsih, S. 2014. Keberhasilan IB menggunakan semen beku hasil sexing dengan metode sedimentasi putih telur pada sapi PO cross. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(1), 72–76.
- Santoso, S., Herdis, H., Arifiantini, R.I., Gunawan, A. and Sumantri, C. 2021. Characteristics and potential production of frozen semen of Pasundan bull. *Trop. Anim. Sci.*, 44(1): 24–31

- Said, S., Agung, P. P., Putra, W. P. B., Kaiin, E. M. 2020. The role of biotechnology in animal production. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 492, 1-8.
- Saili, T., Baa, L. O., Sani, L. O. A., Rahadi, S., Sura, I. W., & Lopulalan, F. 2016. Sinkronisasi estrus dan inseminasi buatan menggunakan semen cair hasil sexing pada sapi Bali induk yang dipelihara dengan Sistem yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Ternak*, 16(2), 49–55.
- Saili, T., Nafiu, L. O., Baa, L. O., Rahadi, S., Napirah, A., Syamsuddin, S., Sura, W., & Lopulalan, F. 2017. Efektivitas sinkronisasi estrus dan fertilitas spermatozoa hasil sexing pada sapi bali di Sulawesi Tenggara. *Jurnal Veteriner*, 18(3).
- Salinas, P. 2016. Flow cytometry and sperm sexing in animals paulo. *International Journal of Medical and Surgical Sciences*, 3(3), 893–902
- Sahiruddin., Widjiati., Madyawati, S.P., Toleng, A.L., Yusuf. M., Masturi, Ako,A. Amrullah, M.F. 2021. The quality of Bali bull sexed sperms at different incubation time using egg white sedimentation method. *The 3rd International Conference of Animal Science and Technology*, 1-5
- Setiyani, D. S., Yekti, A. P. A., Kuswati, K., & Susilawati, T. 2018. Keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen sexing beku pada Sapi Persilangan Ongole. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 28(3), 259-264.
- Shah, S.A.H. and Andrabi, S.M.H. 2021. A systematic review and meta-analysis of spermatozoa cryopreservation, in vitro and in vivo fertility practices in water buffalo. *Vet. Res. Commun.*, 45(2–3): 47–74.
- Solihati, N, Rasad, S. D., Yusrina, A., Dimiyati, Y. I. 2017. Identifikasi morfometrik sperma domba lokal sebagai dasar aplikasi sexing sperma. 17(2), 109–113.
- Solihati, N, Sd, R., Hilmi, N., Winangun, K., Ov, Z. 2020. Karakteristik berbagai konsentrasi Bovine Serum Albumin (BSA) dan kombinasinya sebagai kolom albumin untuk media sexing sperma. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Virtual 2020*, 386–394.
- Solihati, Nurcholidah, Rasad, S. D., Yusrina, A., Winangun, K. 2019. Kualitas dan daya tahan hidup sperma domba lokal hasil sexing dengan Kolom albumin. 19(2), 113–121. <https://doi.org/10.24198/jit.v19i2.25632>
- Sringarm, K., Thongkham, M., Mekchay, S., Lumsangkul, C., Thaworn, W., Pattanawong, W., Rangabpit, E., Rachtanapun, P., Jantanasakulwong, K., Sathanawongs, A. and Hongsihsong, S. 2022. High efficiency bovine sperm sexing used magnetic-acti vated cell sorting by coupling scFv antibodies specific to Y-chromosome-bearing sperm on magnetic microbeads. *Biology (Basel)*, 11(5): 715.

- Sunarti, S., Saili, T., Nafiu, L. O. 2016. Karakteristik spermatozoa sapi Bali setelah sexing menggunakan metode kolom albumin Dengan Lama Waktu Sexing Yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Peternakan Tropis*, 3(1), 65-76.
- Sutarno, S. 2016. Rekayasa genetik dan perkembangan bioteknologi di bidang peternakan. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), 23–27.
- Teken, G.E., Yusuf, M., Said, S. and Toleng, A.L. 2020. The quality of sexed sperm separated using bovine serum albumin column and extended using tris aminomethane at different temperatures. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 492: 012067.
- Turri, F., Capra, E., Lazzari, B., Cremonesi, P., Stella, A., and Pizzi, F., 2021. A combined flow cytometric semen Analysis and miRNA profiling as a Tool to discriminate between high and Low-Fertility Bulls. 10.3389/fvet.2021.703101.
- Volkandari, S. D., Margawati, E. T. 2020. The Application of UTY and SRY molecular markers for determination of unknown sex samples in Bali cattle. *Jurnal Ilmu Dasar*, 21(1), 55–60.
- Wiranto, W., Kuswati, K., Prafitri, R., Huda, A. N., Yekti, A. P. A., Susilawati, T. (2020). Tingkat keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen beku sexing pada bangsa sapi yang berbeda. *Jurnal Agripet*, 20(1), 17–21.
- Yekti, A. P. A., Kurniaesa, T. U., Isnaini, N., Kuswati, K., Susilawati, T. 2018. Conception rate hasil inseminasi buatan menggunakan semen sexing beku pada Sapi Persilangan Ongole. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 28(3), 241.
- Yendraliza., Harap, A. E., Handoko, J., Rodiallah, M. 2019. Quality of sexed sperm of Bali bull in regional artificial insemination center of Riau Province. *Bulletin of Animal Science*, 43(2), 86–91.
- Zuidema, D., Kerns, K., Sutovsky, P. 2021. An exploration of current and perspective semen analysis and sperm selection for livestock artificial insemination. *Animals*, 11 (21), 1-15.