

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU INKUBASI SEMEN HASIL SEXING
METODE KOLOM *Bovine Serum Albumin* (BSA) TERHADAP
MORFOLOGI DAN MEMBRAN PLASMA SPERMATOZOA
SAPI SIMMENTAL**

***THE EFFECT OF INCUBATION TIME OF SEXED SEMEN
FROM THE *Bovine Serum Albumin* (BSA) COLUMN METHOD
ON THE MORPHOLOGY AND PLASMA MEMBRANE OF
SIMMENTAL BOVINE SPERMATOZOA***



**Oktapiyansen
05041281722014**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
JURUSAN TEKNOLOGI DAN INDUSTRI PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

SUMMARY

OKTAPIYANSEN. The Effect of Incubation Time of Semen from Sexing Column Method *Bovine Serum Albumin* (BSA) on Morphology and Plasma Membrane of Simmental Cow *Spermatozoa* (Guided by **Muhakka**)

This study aims to study the effect of the incubation time of sexed semen on the morphology of the plasma membrane of *spermatozoa*. This research was carried out from August to September 2020 at the Regional Artificial Insemination Center Laboratory for Animal Reproduction and Health (BIBD). Sembawa Banyuasin, South Sumatra. This study used a completely randomized design (CRD) method with 3 treatments and 4 replications. The treatments consisted of P0 (20 minutes), P1 (45 minutes), P3 (60 minutes). Parameters observed were *spermatozoa* abnormalities, *spermatozoa* plasma membrane integrity. The results of this study showed that the incubation time for 20 minutes, 45 minutes, and 60 minutes had no significant effect. Based on the results of this study, it can be concluded that the incubation time at the time of sexing can increase abnormalities and decrease *spermatozoa* plasma.

Keywords: Sexing, Incubation, Bovine Serum Albumin (BSA), Simmental Cattle, Spermatozoa.

RINGKASAN

OKTAPIYANSEN. Pengaruh waktu inkubasi Semen Hasil Sexing Metode Kolom *Bovine Serum Albumin* (BSA) Terhadap Morfologi dan Membran Plasma *Spermatozoa* Sapi Simmental (Di bimbing Oleh **Muhakka**)

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh waktu inkubasi semen hasil sexing terhadap morfologi membran plasma *spermatozoa*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan September 2020 di Laboratorium Reproduksi dan Kesehatan Ternak Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Sembawa Banyuwasin Sumatera Selatan. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan terdiri dari P0 (20 Menit), P1 (45 Menit), P3 (60 Menit). Parameter yang diamati adalah abnormalitas *spermatozoa*, keutuhan membran plasma *spermatozoa*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu inkubasi selama 20 menit, 45 menit, dan 60 menit tidak berpengaruh nyata. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa waktu inkubasi pada saat sexing dapat meningkatkan abnormalitas dan menurunkan plasma *spermatozoa*.

Kata Kunci : Sexing, Inkubasi, Bovine Serum Albumin (BSA), Sapi Simmental, Spermatozoa.

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU INKUBASI SEMEN HASIL SEXING
METODE KOLOM *Bovine Serum Albumin* (BSA) TERHADAP
MORFOLOGI DAN MEMBRAN PLASMA SPERMATOZOA
SAPI SIMMENTAL**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Peternakan
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya



**Oktapiyansen
05041281722014**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
JURUSAN TEKNOLOGI DAN INDUSTRI PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH WAKTU INKUBASI SEMEN HASIL SEXING METODE
KOLOM BSA *Bovine Serum Albumin* (BSA) TERHADAP MORFOLOGI
DAN MEMBRAN PLASMA SPERMATOZOA SAPI SIMMENTAL**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Peternakan pada
Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

Oleh:

**Oktapiyansen
05041281722014**

Indralaya, Agustus 2021

Pembimbing




**Dr. Mubakka, S.Pt., M.Si.
NIP 196812192000121001**

Mengetahui,

Dekan Fakultas Pertanian




**Dr. Ir. H. A. Muslim, M. Agr.
NIP. 19641229199001100**

Skripsi dengan Judul “ Pengaruh Waktu Inkubasi Semen Hasil Sexing Metode Kolom *Bovine Serum Albumin* (BSA) Terhadap Morfologi dan Membran Plasma Spermatozoa Sapi Simmental ”oleh Oktapiyansen telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 21 Juni 2021 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

1. Dr. Muhakka, S.Pt., M.Si.
NIP 197507112005011002

Ketua

(.....)

2. Dr. Rizki Palupi, S.Pt., M.P.
NIP 197209162000122001


Sekretaris

(.....)

3. Dr. drh. Langgeng Priyanto, M.Si.
NIP 197440316200121001

Anggota

(.....)

Ketua Jurusan
Teknologi dan Industri Peternakan

Arfan Abrar, S.Pt., M.Si., Ph.D
NIP 197507112005011002

Indralaya, Agustus 2021
Koordinator Program Studi
Peternakan



Arfan Abrar, S.Pt., M.Si., Ph.D
NIP 197507112005011002

PERNYATAAN INTREGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Oktapiyansen

Nim : 05041281722014

Judul : Pengaruh Waktu Inkubasi Semen Hasil Sexing Metode Kolom
Bovine Serum Albumin (BSA) Terhadap Morfologi Dan Membran
Plasma Spermatozoa Sapi Simmental

Menyatakan bahwa seluruh data dan informasi yang dimuat dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian sendiri dibawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya. Apabila di kemudian hari ditemukan adanya unsur plagiasi dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak mendapat paksaan dari pihak manapun.



Indralaya, Agustus 2021



Oktapiyansen

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir dari pasangan Asmirudin dan Mardiana pada 08 Oktober 1999 di Catur Tunggal. Penulis adalah anak keempat dari empat bersaudara.

Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan pada tahun 2011 di SD Negeri 1 Catur Tunggal, Kecamatan Mesuji Makmur. Sekolah Menengah Pertama pada tahun 20014 di SMP Negeri 1 Mesuji Makmur dan Sekolah Menengah Kejuruan pada tahun 2017 di SMK Terpadu Takwa Belitang, Kabupaten OKU Timur, Sumatera Selatan. Sejak Agustus 2017 tercatat sebagai mahasiswa program studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya melalui jalur SBMPTN. Penulis juga pernah mengikuti organisasi Ikatan Mahasiswa Belitang dan anggota dari Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Pertanian serta anggota Himpunan Mahasiswa Peternakan Universitas Sriwijaya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT, karena atas segala rahmat dan karunianya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Pengaruh Waktu Inkubasi Semen Hasil Sexing Metode Kolom *Bovine Serum Albumin* (BSA) Terhadap Morfologi dan Membran Plasma Spermatozoa Sapi Simmental” Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Program Studi Peternakan Jurusan Teknologi dan Industri Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada orang tua penulis tercinta Bapak Asmirudin dan Ibu Mardiana yang telah memfasilitasi pendidikan penulis sampai sekarang, serta seluruh keluarga besar yang memberikan doa, dorongan semangat kepada penulis. Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis kepada Bapak Dr. Muhakka, S.Pt., M.Si. selaku pembimbing atas bimbingan dan arahan serta kesabarannya kepada penulis selama penelitian sampai dengan skripsi.

Terima kasih juga kepada BIBD Sembawa yang telah memfasilitasi penelitian ini sehingga berjalan dengan lancar. Terima kasih juga kepada Bapak Dr. Riswandi, S.Pt., M.Si selaku pembimbing akademik, Serta Ibu Dr. Meisji Liana Sari, S.Pt., M.Si. Selaku dosen pembimbing praktek lapangan. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Dr. drh. Langgeng Priyanto, M.Si. selaku pembahasn dan penguji skripsi dan memberikan saran, sehingga penulis dapat melalui semua proses dengan baik.

Terima kasih juga penulis sampaikan kepada rekan satu tim penelitian Ica Purnama Sari, Sinta Purnawa Dewi, dan Krisma Dwi Saputra terima kasih atas semangat serta dukungannya. Khususnya tidak lupa rasa terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh rekan seperjuangan Peternakan 2017 dan semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan pemikiran yang bermanfaat bagi penulis dan kita semua.

Indralaya, Agustus 2021

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tinjauan	3
1.3. Hipotesis	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Sapi Simmental	4
2.2. Semen Sapi Simmental	5
2.3. Kromosom Sapi Simmental	5
2.4. Spermatogenesis.....	6
2.5. Morfologi Spermatozoa	6
2.6. Pengencer Andromed.....	7
2.7. <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)	8
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN	9
3.1. Tempat dan Waktu	9
3.2. Materi Penelitian	9
3.2.1. Penampungan Semen	9
3.2.2. Separasi Dan Pencucian Spermatozoa	9
3.2.3. Pengemasan Semen Cair	9
3.2.4. Pembekuan Semen	10
3.2.5. Thawing Straw	10
3.3. Metode Penelitian.....	10
3.3.1. Rancangan Acak Lengkap.....	10
3.3.2. Pelaksanaan Penelitian	10
3.3.2.1. Penampungan Semen	10
3.3.2.2. Separasi dan Pencucian Spermatozoa	11

3.3.2.3. Morfologi Spermatozoa	11
3.3.2.4. Membran Plasma Utuh (MPU)	11
3.3.2.5. Pengemasan Semen Cair	11
3.3.2.6. Equilibriasi	13
3.3.2.7. Pembekuan Semen	13
3.3.3. Parameter yang di amati	13
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1. Abnormalitas Spermatozoa X dan Y	14
4.2. Kerusakan Membran Plasma Spermatozoa X dan Y	20
BAB 5. PENUTUP	25
5.1. Kesimpulan	25
5.2. Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gamabar 1. Morfologi <i>Spermatozoa</i>	7
Gamabar 2. <i>Spermatozoa</i> Normal	17
Gamabar 3. <i>Narrow at the base</i>	17
Gamabar 4. <i>Macrocephalus</i>	17
Gamabar 5. <i>Microcephalus</i>	17
Gamabar 6. Kepala Saja	17
Gamabar 7. <i>Coiled Tails</i>	17
Gamabar 8. <i>Abnormal Mid Piece</i>	17
Gamabar 9. Membran Plasma <i>Spermatozoa</i>	22
Gamabar 10. Pembentukan Radikal Bebas	24

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel.4.1. Rataan Abnormalitas.....	14
Tabel.4.2. Rataan Membran Plasma <i>Spermatozoa</i>	20

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar Analisis Sidik Ragam Membran Plasma <i>Spermatozoa</i>	32
Lampiran 2. Analisis Sidik Ragam Abnormalitas <i>Spermatozoa</i>	33
Lampiran 3. Kegiatan Penelitian.....	34

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Permintaan daging sapi di Indonesia terus meningkat baik untuk kebutuhan masyarakat maupun untuk kebutuhan industri, upaya peningkatan produksi ternak sapi di masyarakat harus dilakukan agar ketergantungan akan impor dapat teratasi. Untuk itu pemilihan sapi yang memiliki karakteristik unggul harus dilakukan salah satu jenis sapi unggul adalah sapi Simmental. Sapi Simmental adalah jenis sapi yang bukan hanya dapat menghasilkan daging tapi juga mempunyai produksi susu yang cukup banyak. Sapi Simmental mempunyai sifat jinak, tenang, dan mudah dikendalikan (Susilorini *et al*, 2008). Sapi ini banyak dipilih peternak di Indonesia karena memiliki metabolisme yang baik dan untuk harga pedet Sapi Simmental cukup mahal dipasaran.

Penentuan jenis kelamin sapi di Indonesia dengan pemisahan kromosom X dan Y yang masih relatif rendah, padahal dengan adanya teknologi penentuan jenis kelamin pada ternak jauh lebih menguntungkan dan efisien bagi para peternak, keuntungan yang diperoleh dapat meminimalkan biaya produksi dan juga dapat menunjang dalam program *breeding* sapi potong maupun perah. Teknologi sexing merupakan teknologi yang sudah berkembang cukup lama, bioteknologi ini mempunyai prinsip memisahkan kromosom X dan Y. Adanya teknologi reproduksi dibidang peternakan diharapkan dapat menjadi solusi akan permasalahan peternakan di mana teknologi ini dapat mengatur jumlah populasi ternak di suatu wilayah. Sexing spermatozoa dilakukan dengan metode tertentu sehingga didapat jumlah spermatozoa X dan Y (Takdir *et al*, 2017). Peternak sapi perah lebih menginginkan kelahiran pedet betina dari pada jantan, disinilah fungsi teknologi sexing yang berperan sangat penting untuk membuat usaha peternak menjadi efisien. Penentuan pedet sangat penting dalam usaha ternak perah dimana peternak bisa memilih produksi bibit unggul ternak sapi betina untuk memproduksi susu (Taylor, 2005). Spermatozoa dengan kromosom Y akan menghasilkan pedet jantan yang akan besarkan dan nantinya akan menjadi sapi potong (Said *et al*. 2005). Jumlah DNA pada kromosom Y lebih sedikit dari

kromosom X (Grant B dan Chamley 2007. Teknologi sexing dilakukan dengan pemisahan kromosom berdasarkan perbedaan DNA, morfologi, perbedaan protein, berat spermatozoa dan pergerakan spermatozoa (Yan *et al.* 2006).

Sentrifugasi merupakan suatu cara untuk mengambil komponen-komponen plasma *spermatozoa* yang mengandung kolestrol, glikosaminoglikin, faktor dekapitasi, akrosin tripsin, inhibitor, dan unsur plasma *spermatozoa* lainnya yang dapat mempengaruhi kualitas dan fertilisasi *spermatozoa* dan adanya gaya sentrifugal yang ditimbulkan akibat sentrifugasi menyebabkan semen terpisah antara bagian padat (*pellet*) dan bagian dan bagian yang cair (Indah dan Sari, 2010). Energi yang diperlukan spermatozoa agar tetap hidup berasal dari metabolisme aerob ataupun anaerob. Banyaknya konsumsi energi dapat meningkatkan intensitas metabolisme pada sel, akhirnya membuat konsumsi oksigen spermatozoa meningkat (Susilawati, 2011).

Bovine Serum Albumin (BSA) dapat membuat membran lebih efektif dalam mengatur keluar masuknya kalsium melewati membran dan menghambat peningkatan Ca^{2+} intraseluler ke tingkat yang berbahaya bagi *spermatozoa*, sehingga spermatozoa yang belum terkapitasi dapat dipertahankan tetap tinggi (Purwoistri *et al.*, 2013). Bahan aditif yang digunakan dalam media *in vitro* perlu dikapasitasi untuk meningkatkan reaksi akrosom dan fertilitas. Bahan aditif yang digunakan adalah BSA (Dow dan Bavister, 1989 disitasi Gordon, 1994). Serum yang mengandung albumin dapat membantu kapasitasi spermatozoa dalam pengurangan kolestrol (De smedt *et al.*, 1992). Suhu berperan penting dalam kapasitasi, sehingga suhu yang ideal untuk inkubasi berkisar antara 37-38⁰C untuk kapasitasi secara *in vitro* (Susilawati, 2011). Morfologi pada *spermatozoa* hasil sexing perlu dilakukan untuk mengetahui abnormalitas setelah sexing. Bochenek *et al.*, 2010 melaporkan bahwa tingginya abnormalitas *spermatozoa* pada sapi dapat berpengaruh terhadap tingkat fertilitas hal ini dapat menyebabkan kegagalan kebuntingan. Frekuensi dalam pengambilan semen segar pada sapi Simmental dapat mempengaruhi kualitas morfologi spermatozoa (Tambing *et al.*, 2003). Menurut Toelihere (1985) abnormalitas spermatozoa yang melebihi dari 20 % dapat menurunkan angka pembuahan. Pendapat ini sesuai dengan Morrel dan Rodriguez-Martinez (2009) Spermatozoa dapat dikatakan layak jika memiliki

DNA yang baik dan mempunyai morfologi yang utuh serta motilitas yang tinggi untuk melakukan pembuahan. Pengamatan morfologi *spermatozoa* sapi Simmental perlu dilakukan untuk mengetahui tingkat abnormalitas *spermatozoa* hasil sexing.

1.2. Tujuan penelitian

Untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi *spermatozoa* hasil sexing dengan metode BSA terhadap morfologi dan membran plasma *spermatozoa* sapi Simmental.

1.3. Hipotesis

Diduga waktu inkubasi *spermatozoa* hasil sexing dengan metode BSA dapat berpengaruh terhadap morfologi dan membran plasma *spermatozoa* sapi Simmental.

DAFTAR PUSTAKA

- Ax, R.L., Dally, M.R., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, C.C., Varner, D.D., Hafez., and Bellin, M.E., 2000. Semen evaluation. In: Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia (US): Lippincot Williams and Wilkins
- Arsiwan, S.T., Baa, L.O., dan Rahadi, S., 2014. Membran plasma utuh spermatozoa epididimis kambing peranakan ettawa dalam natrium klorida dengan konsentrasi berbeda. *Jitro*. 1(1): 79-87.
- Arifiantini, R.I., Yusuf, T.L., dan Yanti, D., 2006. Kaji banding kualitas semen beku sapi friesien Holstein menggunakan pengencer dari berbagai balai inseminasi buatan di Indonesia. *Animal Production*. 7 (3): 168-176.
- Asmarinah., 2010. Peran Molekul Kanal Ion pada Fungsi Spermatozoa. *Maj Kedokteran Indonesia*, 60(8).
- Azzahra, F.Y., Setiatin, E.T., dan Samsudewa, D., 2016. Evaluasi Motilitas dan Pesentase Hidup Semen Segar Sapi PO Kebumen Pejantan Muda. Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. Semarang. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*, (2):99-107.
- Barth, A.D and Oko, R.J., 1989. *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa State University Press. Iowa.
- Barth, A.D. and Oko, R.J., 1989. *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa, Iowa state University Press.
- Bloom, E., 1968. A new sperm defectpseudodroplets in the middle piece of the bull Sperm. *Nord Vet Met*, 20: 270 – 288.
- Bochenek, M., Smorag, Z., and Pilch, J., 2010. Sperm chromatin structure assay of bulls qualified for artificial insemination. *Theriogenology*. 56: 457-468.
- Bohlooli, S., Cedden, F., Bozoglu, S., Razzaghzadeh, S., and Pishjang, J., (2012). Correlation between conventional sperm assay parameters in cryopreserved Ram Semen. *Annals Biological Research*, 3: 884-889
- Ball, P.J.H., and Peters., 2004. *Reproduction in cattle*. 3th Ed. UK. Blackwell Publishing.

- Burhan., 2013. *Efektifitas Metode Kolom Albumen Sebagai Medium Separasi Untuk Mengubah Rasio Alamiah Spermatozoa Sapi Bali Pembawa Kromosom X Dan Y Pada Waktu Inkubasi Berbeda*. Tesis Fakultas Peternakan UNRAM. Mataram.
- Butarbutar, E., 2009. *Efektifitas Frekuensi Exercise Terhadap Peningkatan Kualitas Semen Sapi Simmental (Skripsi)*. Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara. Hal 23-50.
- Chenoweth, P.J., (2005) Genetic sperm defects. *Theriogenology*, 64: 457-468.
- Ciptadi, G., 1998. *Protokol percobaan kariotiping kromosom pada hewan dan ternak*. Fakultas Peternakan Unibraw.
- Colenbrander, Fazeli, A.R., Van, B.A., Parlevliet, J., and Gadella, B.M., (1992). Assesment of sperm cell membran integrity in the horse. *Acta Veterinaria Scandinavica Supplements*, 88: 49-58.
- Dasrul., 2005. *Peran Senyawa Oksigen Reaktif dalam Mekanisme Kerusakan Integritas Membran Spermatozoa Kerbau Lumpur Hasil Sentrifugasi Gradient Densitas Percoll*. Disertasi. Program Studi Ilmu Kedokteran Pasca Sarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Dasrul., Yaman, M.A., dan Zulfan., (2013). Pemisahan spermatozoa berkromosom x dan y kambing boer dan aplikasinya melalui inseminasi buatan untuk mendapatkan jenis kelamin anak sesuai harapan. *Jurnal Agripet*, 13(1).
- Desmdt, V.N., Crozet, M.A., Ali., Martino, A and Conie, Y., 1992. In vitro maturationand fertilitazion of goat oocytes. *Theriogenology*. 37:1049-1060.
- Diliyana, Y.F., Susilawati, T., dan Rahayu, S., 2014. Keutuhan Membran Spermatozoa disekuensing Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll Berpengencer Andromed dan CEP-2 yang Ditambahkan Kuning Telur. *Jurnal Veteriner* 15(1): 23-30.
- Else, P.L., dan Kraffe, E., 2015. Docosahexaenoic and Arachidonic Acid Peroxidation: It's A within Molecule Cascade. *Biochimica et Biophysica Acta* 1848: 417–421.
- Feradis., 2010. *Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak*. Alfabeta. Bandung.
- Garner, D.L., and Hafez, E.S.E., 2008. Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animals Edited by ESE Hafez, and B Hafez. Edition Blackwell: 96-109.

- Garner, D.L., and Hafez E.S.E., 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In: Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins.
- Garner, D.L., and Hafez, E.S.E., 2000. Spermatozoa and seminal plasma. In: Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams and Wilkins.
- Gizejewski, Z., Marta, W., and Jolanta, P., 2002. Seasonal Changes in The Dimensions of Red Deer (*Cervus Elaphus*). M Polish Academy of Sciences. Research Station for Ecological Agriculture and Preserve Animal Breeding, Poland.
- Gordon, I., 1994. *Laboratory Production of Cattle Embryos*. Cab International. Ireland.
- Grant, J., and Chamley, L.W., (2007). Sex sorted sperm and fertility: An alternative view, *Biol reprod* 76:184-188.
- Guamares, A.C.G., Leivas, F.G., Santos, F.W., Schwenger, E.B., Giotto, A.B., Machado, C.I.U., Goncalves, C.G.M., Folichini, N.P., and Brum, D.S., (2014). Reduction of centrifugation force in discontinuous percoll gradientt increases in vitro fertilization rates without reducing bovine sperm recovery. *Journal Animal Science* 146: 103-110.
- Hafez, B. and Hafez, E. S. E., 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed.
- Hafez, E.S.E., (2004). *Reproduction in Farm Animals*. 7th Ed. Lea & Febiger. Philadelphia. P: 385-393. 394-398.
- Hafez, E.S.E., 1993. Semen Evaluation. In : *Reproduction In Farm Animal Edition*. Lea and Febiger. Philadelphia. USA.
- Hafez, E.S.E., 2008. *Anatomy of female reproduction*. Ed pp. 29-55.
- Hafez, E.S.E., (1993). Preservation and Cryopreservation of Gamete and Embryos In *Reproduction in Farm Animals*. Hafez E.S.E. and B. Hafez (eds.). 7th ed. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland, USA.
- Hammadeh, M.E., George, T., Rosenbaun, P., and Schmidt, W., 2001. Association Between Freezing Agent and Acrosome Damage of Human Spermatozoa From Sub Normal and Normal Sperm. *Journal Andrologia* 32:331-336.
- Kaiin, E.M., Gunawan, M., and Tappa, B., 2007. Aplikasi IB dengan sperma hasil pemisahan di Sumatera Barat Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007.

- Kaiin, E.M., Gunawan, M., Afianti, F., Said, S., and Tappa, B., 2013. Production of frozen sexing sperm separated with BSA column method with standardized on artificial insemination center. Proceedings International Conference on Biotechnology 2012. Bogor, 15-16 Agustus 2020.
- Mahaputra, L., dan Mustofa, I., 2002. Pemisahan Sel Sperma Pembawa Kromosom Kelamin dan Perkembangan Embrio Hasil Fertilisasi In Vitro pada Sapi Madura. Media Kedokteran Hewan, 18(1):8-10.
- Minitub., 2001. Certificate Andromed. Minitub Abfullund Lborttechnik GmbH and Co KG. Gemany.
- Morrel, J.M., and Rodriguez-Martonez, H., 2009. Biomimetic techniques for improving sperm quality in animal breeding: a review. *J The open Andr.* 1:1-9.
- Olmo, E.D.A., Bisbal, O.G., Alvarez, A.M., Morales, M., Ramon, P.J., Rabadan, L. A., Lopez, A.J., Soler, J.J., Garde., and Santos, M.R.F., 2014. Free-radical production after post-thaw incubation of ram spermatozoa is related to decreased in vivo fertility. Journal compilation CSIRO.
- Partodiharjo, S., 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- Rasad, S.D., Setiawan, R., Solihati, S., Widyastuti, R., and Nugraha, I., (2016). Derajat pemulihan dan persentase spermatozoa x dan y kambing peranakan etawah setelah separasi dengan gradient percoll. Jurnal Veteriner. Vol. 20 No. 1 : 14 – 19.
- Rath, D., and Johnson, L.A., (2008). Application and commercialization of flow cytometrically sex – sorted semen. *Reproduction in Domestic Animal*, 43(2): 338 – 346. Revell SG, Mrode RA. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim Reprod Sci* 36: 77-86.
- Rizal, M., (2009). Daya hidup spermatozoa epididimis sapi bali yang dipreservasi pada suhu 3-5 oC dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*, 14(2):142-149.
- Said, S., Kaiim, E.M., dan Tappa, B., 2005. Produksi anak sapi potong dan sapi perah berjenis kelamin sesuai harapan. Prosiding Seminar Nasional Industri Peternakan Modern II. Puslit Bioteknologi LIPI, Mataram.
- Saili, T., Toelihere, M.R., Boediono, A., dan Tappa, B., 2000. Keefektifan albumen sebagai media pemisah spermatozoa sapi pembawa kromosom X dan Y. *Hayati*7:106- 109.

- Salisbury, G.W., and Van demark, N.L., 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. R. Januar (Penerjemah). Gajah Mada University Press Yogyakarta.
- Salmah, N., 2014. Motilitas, Presentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Pengenceran Andromed dan Tris Kuning Telur [Skripsi]. Fakultas Peternakan Unversitas Hasanuddin. Makassar. Hal 37-38.
- Saputri, A., 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) terhadap Motilitas Sperma Mencit Balb/c Jantan. Karya Tulis Ilmiah. Semarang. Fakultas Kedokteran UNDIP.
- Sato, L., 1992. Anatomy of Reproduction System. In : S. Kudo (Ed.). Artificial Insemination Manual for Cattle.
- Soehardi, K., dan Arsyad, K.M., (1983). *Analisis Sperma*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Srigandono, B., 1996. Produksi Unggas Air. Cetakan. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sugeng, Y.B., 1998. Sapi Potong : Pemeliharaan, Perbaikan Produksi, Prospek Bisnis, Analisis Penggemukan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sujoko, H.M., Setiadi, H.A., dan Boediono, A., 2009. Seleksi spermatozoa domba garut dengan metode sentrifugasi gradient.
- Surachman, M., Herdis., Yulnawati, M., Rizal., dan Maheshwari, H., 2009. Kualitas Semen Cair Asal Epididimis Kerbau Belang dalam Bahan Pengencer Andromed yang Mendapat Penambahan Sukrosa. Media Peternakan: Vol. 32 No. 2.
- Susilawati, T., 2000. Analisis membran spermatozoa sapi hasil filtrasi Sephadex dan sentrifugasi Gradient Densitas Percoll pada proses seleksi jenis kelamin (disertasi S3). [Surabaya (Indones)]: Universitas Airlangga.
- Susilawati, T., 2002. Sexing spermatozoa kambing peranakan Etawah menggunakan gradient putih telur. Widya Agrika. 10(2):97-105.
- Susilawati, T., Hermanto, P., Srianto., dan Yuliani., (2002). Pemisahan spermatozoa x dan y pada sapi brahman menggunakan gradient putih telur pada pengencer tris dan tris kuning telur. Jurnal Ilmu-ilmu Hayati, 14(2), 176 -181.

- Susilawati, T., Hermanto, P., Srianto dan Yuliani. (2002). Pemisahan spermatozoa x dan y pada sapi brahman menggunakan gradient putih telur pada pengencer tris dan tris kuning telur. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*, 14(2), 176 -181.
- Susilawati, T., Sumitro, S.B., dan Sutanto, H., 1997. Upaya Pembekuan Semen Sapi Hasil Sexing Serta Penerapannya dalam Inseminasi Buatan Pada Sapi untuk Mendapatkan Pedet dengan Jenis Kelamin Sesuai Harapan. Laporan Akhir Penelitian Riset Unggulan Terpadu. Universitas Brawijaya. Malang: 17-21.
- Susilorini, T.E., Manik, E.S., dan Muharlieni., 2008. *Budidaya 22 Ternak Potensial. Penebar Swadaya, Jakarta.*
- Susilawati, T., 2011. *Spermatology*. Malang (ID): Universitas Brawijaya Press.
- Takdir, M., Ismaya., dan Bintara, S., (2017). Proporsi X dan Y viabilitas dan motilitas spermatozoa domba sesudah pemisahan dengan putih telur. *Buletin Peternakan*, 41(1):1-7.
- Taylor, T.M., 2005. Comparing calf sex ratio and semen sex ratio determined by conventional by PCR [Thesis] The Interdepartmental Program in Animal and Dairy Science Southern Arkansas University, Arkansas.
- Toelihere, M.R., (1993). *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Trounson, A.D., Pushett, L.J., Maclellan, I., Lewis., and Gardner., (1994). Current status of IVM/IVF and embryos cultura in human and farm animals. *Theriogenolgy*, 39: 1153- 1171.
- Varasofiari, L.N., Setiatin, E.T., dan Sutopo., 2013. Evaluasi Kualitas Semen Segar sapi Jawa Brebes Berdasarkan Lama Waktu Penyimpanan. *Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro. Semarang. Animal Agriculture*, 2(1):201- 208.
- Yan, J., Feng, H.L., Chen, Z.J., Jingmei, H., Xuan, G., and YingYing, Q., (2006). Influence of swim-up on the ratio of x and Y spermatozoa *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol*, 129: 150-154.