

## **SKRIPSI**

**PENGARUH WAKTU INKUBASI TERHADAP PROPORSI  
SPERMATOZOA PEMBAWA KROMOSOM X-Y HASIL  
SEXING METODE KOLOM BSA (*bovine serum albumin*) SAPI  
SIMMENTAL**

**THE EFFECT OF INCUBATION TIME ON PROPORTION OF  
SPERMATOZOA X-Y CHROMOSOME SEXING RESULT  
BSA (*bovine serum albumin*) COLUMN METHOD OF  
SIMMENTAL**



**Icha Purnama Sari  
05041181722028**

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

## SUMMARY

**ICHA PURNAMA SARI.** The Effect of Incubation Time on Proportion of Spermatozoa X-Y Chromosome *Sexing* Result BSA (*bovine serum albumin*) Column Method of Simmental (Supervised by **Langgeng Priyanto**).

This study determined the effect of incubation time on proportion of spermatozoa X-Y chromosome *sexing* result BSA (*bovine serum albumin*) column method of Simmental. This research lasted for one month in the Artificial Insemination Hall Sembawa Banyuasin Sumatera Selatan and Reproduction and Health Livestock Laboratory. An experimental study with Randomized Design was done used semen of Simmenal. The study use 3 treatments and 4 replications consisting of 30, 45 and 60 minute incubation times. The variables observed were proportion of spermatozoa X and Y chromosome of Simmental. Data was analyzed with ANOVA and Duncan test 5%. The result of this study indicated that *sexing* incubation time using the BSA (*bovine serum albumin*) column method has no effect proportion of live spermatozoa X and Y chromosome of Simmental. The conclusion of this study is separation using the BSA (*bovine serum albumin*) method with incubation time which did not significantly ( $P>0,05$ ) affect the proportion of spermatozoa X and Y caused by damage and death of spermatozoa in the incubation and centrifugation.

Keywords: Incubation, Simmental Cattle, Centrifugation, *Sexing*, Spermatozoa.

## RINGKASAN

**ICHA PURNAMA SARI.** Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Proporsi Spermatozoa Pembawa Kromosom X-Y Hasil *Sexing* Metode Kolom BSA (*bovine serum albumin*) Sapi Simmental (Dibimbing oleh **Langgeng Priyanto**).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap proporsi spermatozoa pembawa kromosom X-Y hasil *sexing* metode kolom BSA (*bovine serum albumin*) sapi Simmental. Penelitian ini berlangsung selama 1 bulan di Balai Inseminasi Buatan Daerah Sembawa Banyuasin Sumatera Selatan dan Laboratorium Reproduksi dan Kesehatan Ternak. Penelitian dengan Rancangan Acak Lengkap dilakukan dengan menggunakan semen sapi Simmental. Penelitian menggunakan 3 perlakuan dan 4 ulangan yang terdiri dari 30, 45 dan 60 menit waktu inkubasi. Peubah yang diamati yaitu proporsi spermatozoa pembawa kromosom X dan Y sapi Simmental. Data dianalisa dengan ANOVA dan uji Duncan 5%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu inkubasi *sexing* dengan metode kolom BSA (*bovine serum albumin*) tidak berpengaruh terhadap proporsi spermatozoa hidup pembawa kromosom X dan Y sapi Simmental. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemisahan dengan metode kolom BSA (*bovine serum albumin*) dengan waktu inkubasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata ( $P>0,05$ ) terhadap proporsi spermatozoa X dan Y yang disebabkan oleh kerusakan dan kematian spermatozoa pada proses inkubasi dan sentrifugasi.

Kata Kunci: Inkubasi, Sapi Simmental, Sentrifugasi, *Sexing*, Spermatozoa.

## **SKRIPSI**

### **PENGARUH WAKTU INKUBASI TERHADAP PROPORSI SPERMATOZOA PEMBAWA KROMOSOM X-Y HASIL SEXING METODE KOLOM BSA (*bovine serum albumin*) SAPI SIMMENTAL**

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



**Icha Purnama Sari  
05041181722028**

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

## LEMBAR PENGESAHAN

### PENGARUH WAKTU INKUBASI TERHADAP PROPORSI SPERMATOZOA PEMBAWA KROMOSOM X-Y HASIL SEXING METODE KOLOM BSA (*bovine serum albumin*) SAPI SIMMENTAL

#### SKRIPSI

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

Oleh:

Icha Purnama Sari  
05041181722028

Indralaya, Juli 2021

Pembimbing

Dr. drh. Langgeng Priyanto, M.Si.  
NIP. 197403162009121001

Mengetahui  
Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. H. A. Muslim, M.Agr.  
NIP. 196412291990011001

Skripsi dengan judul "Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Proporsi Spermatozoa Pembawa Kromosom X-Y Hasil Sexing Metode Kolom BSA (*bovine serum albumin*) Sapi Simmental" oleh Icha Purnama Sari telah dipertahankan dihadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 6 Juli 2021 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan dari tim penguji.

Komisi Penguji

- |   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. Dr. drh. Langgeng Priyanto, M.Si.<br>NIP. 197403162009121001 | Ketua<br>(.....)      |
| 2. Dr. Rizki Palupi, S.Pt., M.P<br>NIP. 197209162000122001      | Sekretaris<br>(.....) |
| 3. Dr. Eli Sahara, S.Pt., M.Si<br>NIP. 197303052000122001       | Anggota<br>(.....)    |

Indralaya, Juli 2021

Mengetahui



Koordinator Program Studi  
Peternakan



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

## **PERNYATAAN INTEGRITAS**

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Icha Purnama Sari

Nim : 05041181722028

Judul : Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Proporsi Spermatozoa  
Pembawa Kromosom X-Y Hasil *Sexing* Metode Kolom BSA  
(*bovine serum albumin*) Sapi Simmental.

Menyatakan bahwa semua data yang saya muat dalam skripsi ini adalah hasil dari penelitian saya sendiri di bawah bimbingan dosen yang bersangkutan kecuali yang dengan jelas disebutkan 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, Juli 2021



**Icha Purnama Sari**  
**NIM. 05041181722028**

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan pada tanggal 2 Desember 1998 di Sekampung Lampung Timur merupakan anak tunggal dari pasangan bapak Sugito dan ibu Susanti. Pendidikan yang telah ditempuh oleh penulis yaitu Sekolah Dasar di SDN 1 Brantasena Mandiri dan SDN 1 Trimulyo tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama pada tahun 2014 di Mts Ma'arif NU 5 Sekampung, Sekolah Menengah Atas pada tahun 2017 di SMA Negeri 1 Sekampung.

Sejak September 2017 penulis tercatat sebagai mahasiswa Program Studi Peternakan Jurusan Teknologi dan Industri Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama kuliah penulis pernah menjadi anggota HIMAPETRI (Himpunan Mahasiswa Peternakan Unsri) Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya dan mengikuti salah satu kegiatan universitas yaitu PMW Universitas Sriwijaya.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Penelitian ini yang berjudul Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Proporsi Spermatozoa Pembawa Kromosom X-Y Hasil Sexing Metode Kolom BSA (*bovine serum albumin*) Sapi Simmental yang merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Peternakan di Jurusan Teknologi dan Industri Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada pembimbing penelitian Bapak Dr. drh. Langgeng Priyanto, M.Si dalam melaksanakan Penelitian yang telah memberikan arahan serta bimbingannya. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Meisji Liana Sari, S.Pt., M.Si selaku pembimbing akademik yang telah memberikan arahan selama masa perkuliahan. Ucapan terimakasih juga kepada pihak BIBD Sembawa yang telah mengizinkan untuk melaksanakan penelitian, rekan – rekan penelitian dan juga Candra Dayu Rizki, Julianti Priatin dan Pusparini Ambarwati yang telah bersama-sama selama masa perkuliahan sampai akhir dan terimakasih banyak kepada Allah SWT dan kedua orang tuaku yang sudah menjadi keluh kesahku dan motivasi untuk saya dapat menyelesaikan masa perkuliahan dan penelitian ini.

Mudah – mudahan skripsi ini dapat banyak memberikan sumbangan pemikiran yang berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Indralaya, Juli 2021

Penulis

Icha Purnama Sari

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	v
DAFTAR LAMPIRAN .....	vi
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan .....	2
1.3. Hipotesa .....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1. Sapi Simmental.....	4
2.2. Spermatozoa Sapi .....	4
2.3. Semen Sapi .....	5
2.4. <i>Sexing</i> Spermatozoa.....	5
2.5. Kromosom Seks Pada Sapi.....	6
2.6. <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA).....	7
2.7. Uji Makroskopis .....	10
2.8. Uji Mikroskopis .....	10
BAB 3 PELAKSANAAN PENELITIAN.....	12
3.1. Tempat dan Waktu.....	12
3.2. Materi Penelitian.....	12
3.2.1. Penampungan Semen.....	12
3.2.2. Separasi dan Pencucian Spermatozoa.....	12
3.2.3. Pengemasan Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> .....	12
3.3. Metode Penelitian .....	13
3.3.1. Rancangan Penelitian.....	13
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	13
3.4.1. Penampungan Semen.....	13
3.4.2. Evaluasi Semen Segar.....	13

3.4.2.1. Uji Makroskopis .....	14
3.4.2.2. Uji Mikroskopis.....	15
3.4.3. Separasi dan Pencucian Spermatozoa.....	16
3.4.4. Separasi dan Pencucian Spermatozoa Pembanding 1 .....	17
3.4.5. Separasi dan Pencucian Spermatozoa Pembanding 2 .....	18
3.4.6. Pembanding Proses Separasi dan Pencucian Spermatozoa .....	19
3.4.7. Perhitungan Persentase Hidup Spermatozoa X dan Y .....	20
3.4.8. Pengemasan Spermatozoa Hasil <i>Sexing</i> .....	20
3.5. Parameter yang diukur .....	20
3.6. Analisa Data.....	21
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
4.1. Hasil Evaluasi Semen Segar Sapi Simmental.....	22
4.2. Rataan Persentase Spermatozoa X Hidup Hasil Sexing .....	25
4.3. Rataan Persentase Spermatozoa Y Hidup Hasil Sexing .....	26
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1. Kesimpulan .....	38
5.2. Saran .....	38
DAFTAR PUSTAKA .....	39
LAMPIRAN	

## **DAFTAR TABEL**

Halaman

Tabel 2.1. Komposisi asam amino BSA.....	8
Tabel 4.1. Hasil Pemeriksaan Semen Segar Sapi Simmental.....	22
Tabel 4.2. Persentase Spermatozoa X Hidup Sapi Simmental Hasil <i>Sexing</i> .....	25
Tabel 4.3. Persentase Spermatozoa Y Hidup Sapi Simmental Hasil <i>Sexing</i> .....	26

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Spermatozoa .....	5
Gambar 2.2. Serum Darah.....	8
Gambar 2.3. Struktur Kristal Bovine Serum Albumin .....	9
Gambar 3.1. Proses Pemisahan Spermatozoa X dan Y menggunakan BSA.....	16
Gambar 3.2. Proses Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Putih Telur .....	17
Gambar 3.3. Proses Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan BSA.....	18
Gambar 3.4. Perbandingan Proses Separasi dan Pencucian Spermatozoa .....	19
Gambar 4.1. Mekanisme Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan BSA .....	28
Gambar 4.2. Mekanisme Pemisahan Spermatozoa X dan Y Menggunakan BSA dalam Penelitian.....	30
Gambar 4.3. Proses Terjadinya Pemisahan Spermatozoa X dan Y.....	31
Gambar 4.4. Penjelasan Kematian Spermatozoa pada Proses Pemisahan .....	34
Gambar 1. Pembuatan BSA 5% dan BSA 10% .....	55
Gambar 2. Penampungan Semen Segar Sapi Simmental .....	55
Gambar 3. Pengecekan Semen Segar Sapi Simmental.....	55
Gambar 4. Persiapan Penginkubasian Semen Sapi Simmental.....	55
Gambar 5. Proses Penginkubasian Semen Sapi Simmental .....	55
Gambar 6. Pemisahan Spermatozoa X dan Y pada Tabung Berbeda .....	55
Gambar 7. Proses Sentrifugasi Spermatozoa X dan Y .....	56
Gambar 8. Proses Pengecekan Spermatozoa Hidup X dan Y .....	56
Gambar 9. Spermatozoa X Hidup dan Mati .....	56
Gambar 10. Spermatozoa Y Hidup dan Mati .....	56
Gambar 11. Penambahan Pengencer Andromed Sebelum Pengemasan .....	56
Gambar 12. Proses Pengemasan Spermatozoa X dan Y .....	56

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Halaman

Lampiran 1.	Rataan Semen Segar Sapi Simmental.....	50
Lampiran 2.	Persentase Spermatozoa X Hidup .....	51
Lampiran 3.	Persentase Spermatozoa Y Hidup .....	53
Lampiran 4.	Proses Pemisahan Spermatozoa .....	55

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Jenis sapi yang banyak dikembangkan di Indonesia adalah sapi Simmental. Sapi Simmental merupakan tipe sapi perah dan pedaging. Sapi Simmental mempunyai sifat jinak, tenang, dan mudah dikendalikan (Susilorini, 2008). Sapi Simmental banyak perkembangannya di Indonesia salah satunya di bidang pengembangan ternak sapi potong yang merupakan salah satu dari faktor dikembangkannya ternak sapi Simmental ini menjadi ternak pedaging dan penghasil susu (Susanti *et al.*, 2014). Penentuan jenis kelamin pedet telah berhasil memegang peran dalam penentuan sapi betina berkromosom X sebagai ternak penghasil susu (Taylor, 2005) dan spermatozoa berkromosom Y yang menghasilkan anak sapi jantan yang dapat dikembangkan sebagai ternak penggemukan. Secara alami, keberhasilan memiliki anak melalui perkawinan alami atau inseminasi buatan adalah betina dan jantan masing-masing 50%. Hewan betina memiliki sepasang kromosom X dan X, sedangkan hewan jantan memiliki kromosom X dan Y (Anwar *et al.*, 2019). Sel telur sapi betina mengandung kromosom X, sedangkan spermatozoa sapi jantan mengandung kromosom X dan Y (Said *et al.*, 2005).

Penerapan bioteknologi untuk membedakan spermatozoa pembawa kromosom X dan Y merupakan alternatif yang diciptakan untuk memprediksi jenis kelamin keturunan dan dapat diterapkan untuk keperluan peternakan (Bhalakiya *et al.*, 2018). Sexing spermatozoa adalah bioteknologi yang telah membuat kemajuan dan perkembangan yang cukup besar di seluruh dunia selama lebih dari 60 tahun (Prastiya *et al.*, 2014). Oleh karena itu, salah satu metode pemisahan spermatozoa pada sapi ini sangat menunjang perkembangan pembibitan ternak sesuai dengan keinginan. Pemisahan spermatozoa atau sexing adalah upaya untuk mengubah proporsi spermatozoa dengan kromosom X dan Y dengan cara tertentu, rasio yang biasa diubah, yaitu 50% : 50% (Takdir *et al.*, 2017). Pengembangan metode pemisahan jenis kelamin spermatozoa sapi yang dilakukan di Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI adalah penggunaan dengan

kolom albumin atau BSA (bovine serum albumin) 5-10% (Kaiin et al., 2007). Salah satu metode yang dianggap cocok untuk pemisahan spermatozoa sapi adalah metode pemisahan menggunakan kolom albumin (bovine serum albumin) yang menghasilkan 75-80% spermatozoa Y. Ketika metode pemisahan ini digunakan bersama dengan kolom albumin, pemisahan optimal diperoleh untuk spermatozoa sapi dan manusia (Hafez, 2008).

Prinsip metode kolom BSA (*bovine serum albumin*) adalah memisahkan spermatozoa kromosom X dan spermatozoa kromosom Y menurut perbedaan kecepatan gerak (pergerakan) melalui kolom. Dengan demikian, keberhasilan proses pemisahan spermatozoa X dan spermatozoa Y dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah masa inkubasi spermatozoa. Jika waktu inkubasi terlalu pendek, sebagian kecil spermatozoa X dan Y akan dihasilkan, sedangkan jika waktu inkubasi terlalu lama, spermatozoa X dan Y dapat dicampur kembali dalam lapisan media dengan konsentrasi lain. Dan dapat merusak sel spermatozoa dan menurunkan kualitas spermatozoa (Anwar et al., 2019). Namun, produksi radikal bebas yang sangat berbahaya bagi sel spermatozoa dapat meningkat selama proses inkubasi. Ini karena membran plasma spermatozoa mengandung asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang tinggi. Ini sangat reaktif dengan radikal bebas (Yusrina et al., 2018). Oleh karena itu, semakin lama waktu inkubasi, semakin banyak radikal bebas yang dihasilkan oleh spermatozoa. Selain itu, pengaruh mekanisme proses sentrifugasi adalah penurunan motilitas spermatozoa dan kerusakan membran plasma. Sentrifugasi atau pencucian sperma adalah suatu metode penghilangan komponen plasma sperma (plasma semen) yang mengandung kolesterol dan unsur plasma sperma lainnya yang dapat mempengaruhi kualitas dan pembuahan. Gaya sentrifugal dari sentrifugasi memisahkan semen antara padatan (pelet) dan cairan (Indah dan Sri, 2010).

## 1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap proporsi spermatozoa X dan Y sapi Simmental hasil *sexing* metode BSA (*bovine serum albumin*).

### **1.3. Hipotesa**

Diduga pengaruh waktu inkubasi hasil *sexing* metode BSA (*bovine serum albumin*) dapat meningkatkan proporsi spermatozoa X dan Y.

## DAFTAR PUSTAKA

- [BSNI] Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 2017. Semen Beku-Bagan 1 : Sapi. [SNI-4869-1]. Badan Standarisasi Nasional Indonesia. Jakarta.
- Afiati, F. 2004. Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y Hasil Separasi Kolom Albumin. *Media Peternakan*. 27(1) : 17-20.
- Afriani, T., Udin, Z., Jaswandi, dan Asmairicen, S. 2011. Pengaruh Waktu Pelapisan Spermatozoa Sapi pada Media TALP yang Disuplementasikan Bovine Serum Albumin (BSA) Terhadap Jenis Kelamin Embrio In Vitro. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 13(2) : 141-142.
- Agarwal, Ashok and Zini, Armand. 2014. *Spermatogenesis an Over*. Researcrh Gate.
- Anwar., Nurcholidah, S., dan Siti, D. R. 2019. Pengaruh medium dan lama inkubasi dalam proses *sexing* sperma terhadap kualitas semen kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak*. 19(1):53-61.
- Arifiantini, R.I., T. Wresdiyati dan E.F. Retnani. 2006. Pengujian morfologi spermatozoa sapi Bali (*Bos Sondaicus*) menggunakan pewarnaan “Williams”. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* 31(2) :105-110.
- Ax, R. L., M. Dally, B. A. Didion, R. W. Lenz, C. C. Love, D. D. Varner, B. Hafez, and M. E. Bellin. 2000. Semen Evaluation. In : B. Hafez and E. S.E. Hafez (ed). *Reproduction in Farm Animals*. 7<sup>th</sup> Ed. Lippincott William & Wilkins : Baltimore, USA.
- Barrios, B., R. Perez-PE., M. Gallegor, A. Tato, J. Osada, T. Muino-Blancos and T.A. Lebrian Perez. 2000. Seminal plasma protein revert the cold shock damage on ram sperm membrane. *Biol. Repord.* 63 : 531- 537.
- BEARDEN, H.J. and J.W. FUQUAY, 2000. *Applied Animal Reproduction*. 5<sup>th</sup> Ed. Prentice Hall. New Jersey.
- Berry DP, Cromie AR. 2007. Artificial Insemination Increases The Probability of A Male Calf in Diary and Beef Cattle. *Theriogenology* 67(2): 346-352.
- Bhalakiya, N., Haque, N., Patel, D., Chaudhari, A., Patel, G., Madhavat, M., Patel, P., Hossain, S, and Kumar, R. 2018. Sperm *sexing* and its application in livestock sector. *Inc.J. Curr. Mikrobiol. App. Sci Special Issue*, 7:259-272.
- Brown, J.R.. 1975. Structure of Bovine Serum Albumin,Fed. Proc., (34), 591.
- Campbell, J. R., M.D. Kenealy, and K.L. Campbell. 2003. *Animal Science*. 4<sup>th</sup> Ed. New York : Mc Graw-Hill.

- Cave M., Appana S., Patel M., Falker KC., Clain MC., dan Brock G. 2010. Polychlorinated biphenyls, lead and mercury are associated with liver disease in American adult: NHANES2003-2004. *Environmental Health Perspectives* 118(12): 1735-1742.
- Cole HH, Cupps PT. 1977. *Reproduction in Domestic Animals*. New York: Academic Pr.
- Contri A, Gloria A, Robbe D, Valorz C, Wegher L, Carluccio A. 2013. Kinematic study on the effect of ph on bull sperm function. *J. Anim. Reprod. Sci.* 136(4): 252-259.
- Dasrul. 2005. Peran senyawa oksigen reaktif dalam mekanisme kerusakan integritas membran spermatozoa kerbau lumpur hasil sentrifugasi gradient densitas percoll. Disertai. 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 harapan. *Jurnal Agripet*, 13(1):6-15.
- Demural O, Un M, Abay M, dan Bekyurek T. 2007. The Effects of Artificial Insemination Timing on The Sex Ratio of Off Spring and Fertility in Diary Cows *Turk J Vet Anim Sci* 31(1):21-24.
- DESMEDT, V., N. CROZET, M.A. ALI, A. MARTINO and Y. CONIE. 1992. *In vitro* maturationand fertilization of goat oocytes. *Theriogenology*. 37:1049- 1060.
- Dhirgo, A. 2009. Perubahan Fungsi Hepar dan Ekspresi C-Reactive Protein (CRP) Pasca Operasi Laparotomi. *J Sain Vet*. Vol. 27. No. 2.
- Diliyana, D.F., Susilawati, T. dan Rahayu. R. 2014. Keutuhan membrane spermatozoa diskusensi sentrifugasi gradient densitas percoll berpengencer andromed dan CEP-2 yang ditambahkan kuning telur. *Jurnal Veteriner*. 15 (1) :23-30.
- Direktorat Jenderal Peternakan. 2007. Petunjuk teknis produksi dan distribusi semen beku. Jakarta.
- Dow MP, Bavister BD. 1989. Direct contact is required between serum albumin and hamster spermatozoa for capacitation in vitro. *Gamete Res.* 23 : 171-180.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.

- Firdaus, A., T. Susilawati, M. Nasich, dan Kuswati. 2012. Pertambahan Bobot Badan Harian Sapi Brahman Cross Pada Bobot Badan dan *Frame Size* yang Berbeda. *Jurnal Ternak Tropika*, 13(1):48-62.
- Ferlianti. R. 2016. Pengaruh lama inkubasi terhadap proporsi sperma pembawa kromosom X-Y dan kualitas semen kambing Peranakan Ettawah. Fakultas Peternakan, Universitas Padjajaran.
- Gardner, D. L and E. S. E. Hafez. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In Reproduction In Farm Animals. Edited by E. S. E. Hafez. 7<sup>th</sup> Edition. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. USA.
- Gardner, D.L and E.S.E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Plasma Semen. In Reproduction in Farm Animal. Hafez, E.S.E. and B. Hafez (eds). 7<sup>th</sup> ed. Lippincott & Williams. Baltimore, Marryland, USA : 82-95.
- GORDON, I. 1994. Laboratory Production of Cattle Embryos. Cab International. Ireland.
- Green MP, Spate LD, Parks TE, Kimura K, Murphy CN, Williams JE, Kerley MS, Green JA, Keisler DH, and Roberts RM. 2008. Nutritional Skewing Of Conceptus Sex In Sheep: Effects Of A Maternal Diet Enriched In Rumen-Protected Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA). *Reprod Bio and Endrocine* 6:21.
- Hafez, E. S. E. 1993. Reproduction in Farm Animal 5<sup>th</sup> Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hafez, E.S.E. 2008. Preservation and Cryopreservation of gametes and embryos. In : Reproduction in farm animals. Hafez, E.S.E. 7<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins Awollers Kluwer Company. Philadelphia : 431-442.
- Hafez, ESE and B. Hafez. 2008. X and Y Chromosome – Bearing Spermatozoa in Animal Reproduction in Farm Animal ed by ESE Hafez and B Hafez 7<sup>th</sup> Edition Black well : 390-393.
- Hartanti, D., Setiantin, E.T. dan Sutopo. 2012. Perbandingan penggunaan pengencer semen sitrat kuning telur terhadap persentase daya hidup spermatozoa sapi jawa Brebes. *Animal Agri Journal*, 1(1) : 33-42.
- Horne, Mima M., Pamela L. Swearingen, Indah Nurmala Dewi, dan Monika Ester. 2000. Keseimbangan Cairan, Elektrolit, dan Asam Basa. Edisi 2. Jakarta : EGC.
- Indah dan Sri, W. 2010. Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Kualitas Semen Kambing Peranakan Ettawah (PE) Post Thawing. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol. 4 No. 2.

- Jaswandi. 1992. Penggunaan Lapisan Suspensi *bovine serum albumin* (BSA) 6% dan 10% dalam kolom untuk memisahkan sperma sapi pembawa kromosom X dan Y guna mengubah rasio seks pada pedet. Tesis. Prog Pasca Sarjana Institute Pertanian Bogor, IPB.
- Kaiin EM, Gunawan. M, dan Tappa. B. 2007. Aplikasi IB dengan sperma hasil pemisahan di Sumatera Barat. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Kaiin, E. M., Said, S. dan Tappa, B. 2008. Kelahiran anak sapi hasil fertilisasi secara *in vitro* dengan sperma hasil pemisahan. *Media Petern* 31(1):22- 28.
- Kaiin, E.M., Gunawan, M., Octaviana, S. dan Nuswantara, S. 2017. Verifikasi molekuler sexing sperma sapi dengan kolom BSA (bovine serum albumin). Pros SemNas Masy Biodiv Indon. 3(2):241-245.
- Kaneko JJ. 1997. Serum proteins and the dysproteinemias. Dalam: Kaneko JJ, JW. Harvey, ML Bruss (Eds). Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5th Ed. Academic press. London, New York, Tokyo: 129.
- Kartasudjana, R. 2010. Teknik inseminasi buatan. Jakarta : Departemen Pendidikan Nasional.
- Lailiyah, F., Srianto, P., Saputro, A.L., Madyawati, S.P., Agustono, B. dan Prastiya, Prastiya, R.A., Saputro, A.L., Zainap, S. dan Hermadi, H.A. 2014. Perbandingan kualitas spermatozoa hasil pemisahan kromosom X dan Y antara metode kolom albumin dan metode *electric separating sperm* (ESS) pada domba ekor gemuk. Jurnal veterenaria medika, 7(3):216-223.
- Luthan, F. 2010. Pedoman Teknis alat mesin dan ULIB. Direktorat Budidaya Ternak Ruminansia. Kementerian Pertanian. Direktorat Jenderal Peternakan. Jakarta Selatan.
- Mahfud, A., N. Isnaini, A.P.A. Yeksi, Kuswati, dan T. Susilawati. 2019. Kualitas spermatozoa post thawing semen beku sperma y hasil sexing pada sapi limousin. Jurnal Ternak Tropika. 20(1) : 1-7.
- Martini, F dan Nath, J. L. (2009). Fundamentals of anatomy & physiology (pp. 894- 895). San Francisco, Pearson/Benjamin Cummings.
- Maxwell, W.M.C and P.F.Watson. 1996. Recent Progress in the Preservation of Ram Semen. Anim. Reprod. Sci., 42 : 55-65.
- Maxwell, W.M.C.G.Mendoza and I.G.White. 1984. Post Thawing survival of motile ram sperm after isolation by layering on protein columns. Therionology, 21. (4).

- Mulyono, S. 1998. Teknik Pembibitan Kambing dan Domba. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Murray, R. K., Granner, D. K., dan Rodwell, V. W. 2009. Biokimia harper (27 ed.). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Murray, R.K. Granner, D.K., dan Rodwell, V.W. 2009. *Biokimia Happer*. (27 ed). Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Ningsih, Z. 2007. Proporsi Spermatozoa X dan Y Kambing Peranakan Ettawah (PE) dengan Konsentrasi Putih Telur dan Lama Inkubasi. Skripsi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang.
- NurAini, A., M.A. Setiadi, dan Ni Wayan K.K. 2016. Kemampuan Fertilisasi Spermatozoa Sexing dan Perkembangan Awal Embrio Secara *In Vitro* pada Sapi. Jurnal Sain Veteriner. 34(2) :225-232.
- Nurhidayah, Masriany, dan Masri M. 2013. Isolasi dan pengukuran aktivitas enzim bromelin dari ekstrak kasar batang nanas (ananas comosus) berdasarkan variasi pH. Jurnal Ilmiah Biologi Biogenesis. 1(2): 116-122.
- Nursyam. 2007. Pengembangan iptek bidang reproduksi ternak untuk meningkatkan produktivitas ternak.
- Pamungkas, F. A. dan Anwar. 2013. Daya tahan hidup spermatozoa kambing Boer dalam pengencer tris kuning telur yang disimpan pada temperatur berbeda. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 1(12) : 331-339.
- Pancahastana, H. 1999. *Upaya Merubah Sex Rasio Spermatozoa dengan Melakukan Pemisahan Spermatozoa X dan Y Menggunakan Putih Telur pada Sapi*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Partodiharjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara. Jakarta.
- Petterson J. E, and D. M. Geller. 1977. Bovine microsomal albumin: amino terminal sequence of bovine proalbumin. Biochemical and Biophysical Research Commucations. Department of Pharmacology. Washington University. Vol. 74, No. 3 : 1220-1226.
- Pierce E. 1993. Anatomi dan Fisiologi untuk Para Medis (pp. 201-210). PT Gramedia, Jakarta.
- Prastiya, R.A., Saputro, A.L., Zainap, S. dan Hermadi, H.A. 2014. Perbandingan kualitas spermatozoa hasil pemisahan kromosom X dan Y antara metode kolom albumin dan metode *electric separating sperm* (ESS) pada domba ekor gemuk. Jurnal veterenaria medika, 7(3):216-223.

- Pratiwi, W.C., Pamungkas, D. Affandhy, L. dan Hartati. 2006. *Evaluasi Kualitas Spermatozoa Hasil Sexing pada Kemasan Straw Dingin yang Disimpan pada Suhu 5°C Selama 7 Hari*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 2006 : 143 -150.
- Purwoistri. R.F, Susilawati. T. dan Rahayu. S. 2013. Membran Spermatozoa Hasil Seksing Gradien Albumin Berpengencer Andromed dan *Cauda Epididymal Plasma-2* Ditambahkan Kuning Telur. Jurnal Veteriner 14(3): 371-378.
- Putra, A.N. 2015. Laju Metabolisme pada Ikan Nila Berdasarkan Pengukuran Tingkat Konsumsi Oksigen. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 5(1) : 13- 18.
- Putrianti, O. D., Kustono dan Ismaya. 2010. Pengaruh penambahan *crude tannin* pada sperma cair kambing Peranakan Etawa yang disimpan selama 14 hari terhadap viabilitas spermatozoa. Buletin Peternakan. 34(1) : 1-7.
- Rahmawati, M.A., T. Susilawati dan M.N. Ihsan. 2015. Kualitas Semen dan Produksi Semen Beku pada Sapi dan Bulan Penampungan yang berbeda. *Jurnal Ilmu-ilmu peternakan*. 25(3) :25-36.
- Ratnawati, D., L. Affandhy, W. C. Pratiwi dan P. W. Prihandini. 2008. Pengaruh Pemberian Suplemen Tradisional Terhadap Kualitas Semen Pejantan Sapi Bali. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 116-121.
- Ridwan. 2009. Pengaruh pengencer semen terhadap abnormalitas dan daya tahan hidup spermatozoa kambing lokal dalam penyimpanan suhu 5°C. *J. Agroland*, 16(2) : 187-192.
- Riviana, O. 2019. Pengaruh kadar hemoglobin dalam serum terhadap hasil pemeriksaan kadar albumin. *Skripsi*. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- Rizal M, dan Herdis. 2008. Inseminasi Buatan pada Domba. Penerbit Rineika Cipta.
- Rizal, M., Herdis. 2010. Inseminasi Buatan pada Domba. Penerbit Rineika Cipta. Jakarta.
- Rodiah, E. Yuliani, A.S., Dradjat, C., Arman. 2015. Efektifitas Kinerja Penoksinifilin Terhadap Kualitas dan Intrgritas Membran Plasma Utuh pada Sperma Sapi Bali Hasil Pemisahan dengan Menggunakan Albumin. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Indonesia*. 1(1): 60-65.
- Rorie RW. 1999. Effects of timing of artificial insemination on sex ratio. Rosenfeld CS, Roberts RM. 2004. Maternal Diet and Other Factors Affecting Off Spring Sex Ratio: A Review. *J Bio Reprod* 71(1063-1070).

- Rusdin dan K. Jumdi. 2006. Motilitas dan Recovery Sperma Domba dalam Berbagai Pengencer Selaman Penyimpanan pada Suhu 5°C. Laporan Penelitian. Fakultas Pertanian. Universitas Tadulako, Palu.
- Sacher, R. A., and McPherson, R. A., 2004, Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium, 519, EGC, Jakarta.
- Sadikin. M, 2013. Biokimia Darah, cetakan 2013, widiya medika, Jakarta.
- Said S, Kainin. EM, 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. 1999. Efektivitas penggunaan albumin sebagai medium separasi dalam upaya mengubah rasio alamiah spermatozoa pembawa kromosom X dan Y pada sapi. Tesis. Program Pasca Sarjana, IPB. Bogor.
- Saili, T., M. R. Toelihere, A. Boediono, dan B. Tappa. 2000. Keefektifan albumin sebagai media pemisah spermatozoa sapi pembawa kromosom X dan Y. Jurnal Hayati. 7(4) : 106-109.
- Salisbury, G. W. dan N. L. VanDenmark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi. Penerjemah R. Januar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Saputro, A.L., Hermadi, H.A. dan Sosiawati, S.M. 2016. Kualitas spermatozoa domba merino pada sisi anoda hasil pemisahan dengan teknik ESS (*electric separating sperm*). Jurnal veterina medika, 9(3):61-66.
- Sariadi., Dasrul, dan Akmal, M. 2014. Rasio jenis kelamin kelahiran anak kambing peranakan etawa (PE) hasil inseminasi buatan menggunakan spermatozoa swim up. Jurnal agripet, 14(2): 132-138.
- Sianturi, G. R. dan Diana, A.K. 2017. Pengaruh waktu pemisahan spermatozoa terhadap kualitas sperma kerbau hasil sexing. Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan. Fakultas Peternakan. Univeristas Jenderal Soedirman.. 238-244.
- Siti A. 2005. Keragaman Protein Darah (Albumin, Transferrin, Ceruloplasmin, dan Post Transferrin) Sebagai Parameter Biogenetik pada Sapi Jawa. Semarang. Master's Thesis (pp. 9-10). Universitas Diponegoro. Semarang.
- Solihati N, Lestari TD, Setiawan R, Arifin J, dan Hariyanti T. 2008. Penggunaan albumen untuk separasi spermatozoa epididymis domba garut. Jurnal Ilmu Ternak. 8(1): 95-100.

- Solihati N., Rasad S. D., Hilmia N., Winangun K., Toha, dan Zule O. V. 2020. Characteristic several level of bovine serum albumin (BSA) and its combination as albumin column for sperm sexing. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. 386-394.
- Solihati, N., Rasad, S.D., Yusrina, A., and Dimyati, D.I. 2017. Identifikasi morfometrik sperma domba lokal sebagai dasar aplikasi sexing sperma. *Jurnal ilmu ternak*, volume 17, No. 2, 112.
- Srigandono, B. 1996. Kamus Istilah Peternakan. Gadjah Mada University Press.
- Stzezeck, I., F. Saizcidnha, P. Wysocki, A. Tyszkiewiez and M. Jastrzebski. 2002. Seminal plasma protein as maker of biological value of Boer semen. *Anim. Sci. Paper Report* 20 : 255-266.
- Sugeng, Y. B. 1998. Beternak Sapi Potong. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sugiarti, T., E. Triwulanningsih, P. Situmorang, RG Sianturidan, dan DA Kusumaningrum. 2004. Penggunaan katalase dalam produksi semen dingin sapi. Pro. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Dokter Hewan. Bogor 4-5 Agustus 2004. Puslitbang Peternakan Bogor. 195-205. 223.
- Sugiarto, N., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsi. 2004. Kualitas semen cair sapi Limousin selama pendinginan menggunakan pengencer CEP-2 dengan penambahan berbagai konsentrasi dari kedelai. *J. Ternak Tropika*. 15(1) : 51-57.
- Sukmawati, E., R.I. Arifiantini dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa Terhadap Proses Pembekuan pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. *JITV*. 19(3) :168-175.
- Sunarti., Saili, T, dan Nafiu, L.O.D. 2016. Karakteristik spermatozoa sapi Bali setelah sexing menggunakan metode kolom albumin dengan lama waktu sexing yang berbeda. *JITRO*, 1(1):65-76.
- Susanti, Y., Dominicus, S.P. dan Mulatsih, S. 2014. Pengembangan peternakan sapi potong untuk peningkatan perekonomian provinsi Jawa Tengah: Suatu Pendekatan Wilayah Perencanaan Wilayah. *Jurnal Agribisnis Indonesia*, 2(2): 177-190.
- Susilawati, T, Hermanto, P. Srianto, dan E. 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. 2000. Analisis membran spermatozoa sapi hasil filtrasi sephadex dan sentrifugasi gradient densitas percoll pada proses seleksi jenis kelamin. Disertai Universitas Airlangga, Surabaya. Susilawati, T. 2011. Spermatology. Universitas Brawijaya (UB) Press. Malang. ISBN 978-602-8960-04-5.
- Susilawati, T. 2014. *Sexing Spermatozoa*. Hasil Penelitian Laboratorium dan Aplikasi pada Sapi dan Kambing. UB Press. Malang.
- Susilorini, E. T. 2008. Budi Daya 22 Ternak Potensial. Penebar Swadaya, Jakarta.
- 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.
- Tambing, S. N., M.R.Toelihere, T.L. Yusuf, dan I. K. Sutama. 2000. Pengaruh gliserol dalam pengencer tris terhadap kualitas semen beku kambing Peranakan Ettawah. *J. Ilmu Ternak dan Vet.* Vol 5(2) :1-8.
- Taylor TM. 2005. Comparing calf sex ratio and semen sex ratio determined by conventional PCR. [Thesis]. The Interdepartmental Program In Animal and Diary Sciences. Southern Arkansas University, Arkansas. *Theriogenoogy* 52:1273-1280.
- Toelihere, M. R. 1985. Inseminasi Buatan pada Ternak Cetakan II. Angkasa, Bandung.
- Toelihere, M. R. 1993. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Angkasa Bandung.
- Tohamy, M.M. 2012. The mechanisms by which oxidative stress and free radical damage produces male infertility. *Life Science Journal*. 9 : 674- 688.
- Turner, M. R. 1977. The Tropical Adaption Of Beef Cattle. An Australian Study In: *Animal Breeding: Selected Articles From The Word Anim. Rev. FAO Animal Production and health Paper* 1:92-97.
- Uysal, O. and M. N. Bucak. 2007. Effect of oxidized glutathione, *bovine serum albumin*, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. *Acta Vet. BRNO*. 76:383-390.
- Wahyudi, L., Susilawati, T., dan Isnaini, N. 2014. Tampilan reproduksi hasil inseminasi buatan menggunakan semen beku hasil sexing pada sapi persilangan Ongole di peternakan rakyat. *Jurnal Ternak Tropika*, 15(1), 80-88.
- Wibisono, H. 2010. *Atlas Spermatologi Buku-Kedua dari Panduan Laboratorium Andrologi*, Refika Aditama, Bandung.

Wulan Cahya Pratiwi, L. Affandhy, dan P. Situmorang. 2007. *Observasi Kualitas Semen Cair Sapi Peranakan Ongole Terhadap Perbedaan Waktu Inkubasi pada Proses Pemisahan Spermatozoa*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 198-199.

Yulianto, P dan C. Saparinto. 2010. Pembesaran Sapi Potong Secara Intensif. Penebar Swadaya. Jakarta.

Yusrina, A., Nurcholidah, S., dan Nena, H. 2018. Pengaruh Waktu Inkubasi Pada Proses Sexing Sperma Berbasis *Glutathione* Terhadap Motilitas Dan Membran Plasma Utuh *Chilled* Semen Domba Lokal. *Jurnal Ilmu Ternak*. 18(1): 45-50.

Yusuf, T.L., Arifiantini, R.I., and Mulyadi, Y. 2006. Efektivitas waktu pemaparan gliserol terhadap motilitas spermatozoa pada pembekuan semen domba lokal menggunakan pengencer tris kuning telur. *Animal Production*. 8 (3) pp 168-1.

Ziae E., B. Shareghi, and Farhadian S. 2021. A comparative study of structural and dynamical properties of bovine serum albumin in the presence of spermine. *Journal of Molecular Liquids*. Faculty of Science, Shahrekord University, Iran.