

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU SENTRIFUGASI PADA *SEXING*
SPERMATOZOA DENGAN MEDIA *BOVINE SERUM*
ALBUMIN (BSA) TERHADAP MOTILITAS DAN VIABILITAS
SPERMATOZOA X-Y SAPI SIMMENTAL**

***THE EFFECT OF CENTRIFUGATION TIME ON SEXING
SPERMATOZOA WITH BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA)
MEDIA TOWARD THE MOTYLITY AND VIABILITY OF
SPERMATOZOA X-Y SIMMENTAL COW***



Eva Setianingsih

05041181823076

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
JURUSAN TEKNOLOGI DAN INDUSTRI PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2022**

SUMMARY

EVA SETIANINGSIH. The Effect of Centrifugation Time of Sexing Spermatozoa with *Bovine Serum Albumin* (BSA) Media Toward the Motility and Viability of Spermatozoa X-Y Simmental Cow (Supervised by **LANGGENG PRIYANTO**).

Spermatozoa separation technique (sexing) uses *Bovine Serum Albumin* (BSA) media to increase the birth of calves according to the desired sex. Sexing technology aims to improve reproductive efficiency in Simmental cattle farming. One of the factors that determine the motility and viability of spermatozoa is the time of the centrifugation process. This study aimed to determine the effect of centrifugation time of sexing spermatozoa with *Bovine Serum Albumin* (BSA) media toward the motility and viability of spermatozoa X-Y Simmental cow. This research was carried out from October to November 2021 at the Sembawa Banyuasin Animal Feed Breeding Center, South Sumatra and the Animal Reproduction and Health Laboratory. Research with a completely randomized design was carried out using Simmental type of cow semen. This study used 3 treatments with 4 repetitions consisting of P1 = centrifugation time 4 minutes, P2 = centrifugation time 8 minutes and P3 = centrifugation time 12 minutes. The parameters observed were the motility of spermatozoa X after centrifugation, motility of spermatozoa Y after centrifugation, viability of spermatozoa X after centrifugation and viability of spermatozoa Y after centrifugation. Data were analyzed using ANOVA and Duncan's test 5%. The results of this study indicated that the centrifugation time of spermatozoa had a significant effect ($P < 0.05$) on the motility of the upper layer (X), but had no significant effect ($P > 0.05$) on the motility of the lower layer (Y) and the centrifugation time of spermatozoa had a significant effect ($P < 0.05$) on the viability of both the top layer (X) and the bottom layer (Y). The results showed that the treatment with a centrifugation time of 4 minutes with a speed of 1500 rpm got the best results for the motility value of spermatozoa X = 61.54% and spermatozoa Y = 56.71%, the best value of spermatozoa viability X = 66.17 and spermatozoa viability Y = 62, 46%. It can be concluded that the longer the centrifugation time can affect the quality of the spermatozoa which results in a decrease in the motility and viability of spermatozoa X-Y Simmental Cow.

Keywords: BSA, Simmental Cow, Centrifugation, Sexing, Spermatozoa.

RINGKASAN

EVA SETIANINGSIH. Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada *Sexing* Spermatozoa dengan Media *Bovine Serum Albumin* Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa X-Y Sapi Simmental (Dibimbing oleh **LANGGENG PRIYANTO**).

Teknik pemisahan spermatozoa (*sexing*) menggunakan media *Bovine Serum Albumin* (BSA) untuk meningkatkan kelahiran pedet sesuai dengan jenis kelamin yang diinginkan. Teknologi *sexing* bertujuan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi dalam usaha peternakan Sapi Simmental. Salah satu faktor yang menentukan nilai motilitas dan viabilitas spermatozoa adalah waktu proses sentrifugasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu sentrifugasi pada *sexing* spermatozoa dengan media *Bovine Serum Albumin* (BSA) terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa X-Y sapi Simmental. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan November 2021 di Balai Pembibitan Hijauan Pakan Ternak Sembawa Banyuasin Sumatera Selatan dan Laboratorium Reproduksi dan Kesehatan Ternak. Penelitian dengan Rancangan Acak Lengkap dilakukan dengan menggunakan semen sapi jenis Simmental. Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dengan 4 kali pengulangan yang terdiri dari P1= waktu sentrifugasi 4 menit, P2= waktu sentrifugasi 8 menit dan P3= waktu sentrifugasi 12 menit. Parameter yang diamati adalah motilitas spermatozoa X setelah sentrifugasi, motilitas spermatozoa Y setelah sentrifugasi, viabilitas spermatozoa X setelah sentrifugasi dan viabilitas spermatozoa Y setelah sentrifugasi. Data dianalisa menggunakan ANOVA dan uji Duncan 5%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa waktu sentrifugasi spermatozoa berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas lapisan atas (X), namun tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap motilitas lapisan bawah (Y) dan waktu sentrifugasi spermatozoa berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap viabilitas baik lapisan atas (X) maupun lapisan bawah (Y). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan waktu sentrifugasi 4 menit dengan kecepatan 1500 rpm didapatkan hasil terbaik nilai motilitas spermatozoa X= 61,54% dan spermatozoa Y= 56,71%, nilai terbaik viabilitas spermatozoa X= 66,17 dan viabilitas spermatozoa Y= 62,46%. Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa semakin lama waktu sentrifugasi dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa yang mengakibatkan penurunan pada nilai motilitas dan viabilitas spermatozoa X-Y Sapi Simmental.

Kata kunci: BSA, Sapi Simmental, Sentrifugasi, *Sexing*, Spermatozoa.

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH WAKTU SENTRIFUGASI PADA *SEXING*
SPERMATOZOA DENGAN MEDIA *BOVINE SERUM*
ALBUMIN (BSA) TERHADAP MOTILITAS DAN VIABILITAS
SPERMATOZOA X-Y SAPI SIMMENTAL**

SKRIPSI


Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Peternakan Pada
Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

Oleh:

**Eva Setianingsih
05041181823076**

Indralaya, April 2022

Pembimbing


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



**Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian**



Dr. Af. A. Muslim, M. Agr.
NIP 196412291990011001

Skripsi dengan judul “Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada *Sexing* Spermatozoa dengan Media *Bovine Serum Albumin* (BSA) Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa X-Y Sapi Simmental” oleh Eva Setianingsih telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 1 April 2022 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

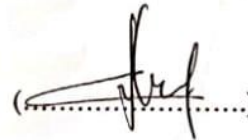
Dr. drh. Langgeng Priyanto, M.Si.
NIP 197403162009121001

Ketua

()

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

Sekretaris

()


Dr. Riswandi, S.Pt., M.Si.
NIP 196910312001121001

Anggota


()



Ketua Jurusan
Teknologi dan Industri Peternakan


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

Indralaya, April 2022
Koordinator Program Studi Peternakan


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

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Eva Setianingsih
NIM : 05041181823076
Judul : Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada *Sexing* Spermatozoa dengan Media *Bovine Serum Albumin* (BSA) Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa X-Y Sapi Simmental

Menyatakan bahwa seluruh data dan informasi yang dimuat dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian sendiri di bawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya. Apabila di kemudian hari ditemukan adanya unsur plagiarasi 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, 01 April 2022

Yang membuat Pernyataan



Eva Setianingsih

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Wringin Putih Kabupaten Magelang pada tanggal 07 Oktober 1999, penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Ayah yang bernama Romadhon dan Ibu yang bernama Marti.

Pendidikan Sekolah Dasar di SDN 2 Trans Batumarta VII yang diselesaikan pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama di MTs Darussalam Batumarta VI yang diselesaikan pada tahun 2015, Sekolah Menengah Atas di MA Darussalam Betumarta VI yang diselesaikan pada 2018.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya melalui jalur SNMPTN pada tahun 2018. Selama mengikuti Pendidikan di Universitas Sriwijaya penulis mengikuti organisasi Himpunan Mahasiswa Peternakan Universitas Sriwijaya (HIMAPETRI) sebagai anggota.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan karuni-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada *Sexing* Spermatozoa dengan Media *Bovine Serum Albumin* (BSA) Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa X-Y Sapi Simmental” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan di Jurusan Teknologi dan Industri Peternakan Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pembimbing akademik dan sekaligus pembimbing skripsi Bapak Dr. drh. Langgeng Priyanto, M.Si. yang telah memberikan arahan dan bimbingannya. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dr. Riswandi, S.Pt., M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan arahan dan masukan dalam menyelesaikan skripsi. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ketua Program Studi Peternakan Bapak Arfan Abrar, S.Pt., M.Si., Ph.D. serta seluruh staf pengajar dan administrasi di Program Studi Peternakan. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada pihak BPHPT Sembawa yang telah mengizinkan untuk melaksanakan penelitian.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Romadhon dan Ibu Marti, adik Helina dan teman terdekat penulis Tri Aprilianto serta keluarga besar yang selalu memberikan motivasi kepada penulis selama menjalankan proses perkuliahan sampai mencapai tahap akhir perkuliahan. Penulis mengucapkan terima kasih kepada rekan satu tim penelitian, Suci, Khusnul, Faiz, Joprinus dan Ikuar juga teman-teman seperjuangan peternakan 2018, dan terkhusus untuk Ayu, Mawar, Silvia, Zuvera, Mia, Merry, Novia, Yayang, Dinda, Fadjri, dan Silvi. Akhir kata penulis mengharapkan agar skripsi ini dapat memberikan sumbangan pemikiran dan bermanfaat bagi kita semua, khususnya di bidang peternakan.

Indralaya, April 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Hipotesa Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Sapi Simmental	4
2.2. Semen Sapi.....	5
2.3. Spermatozoa Sapi.....	7
2.4. <i>Sexing</i> Spermatozoa	8
2.5. <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)	10
2.6. Waktu Sentrifugasi.....	11
2.7. Pengencer	12
2.8. Pembekuan	14
2.9. Motilitas Spermatozoa	15
2.10. Viabilitas Spermatozoa.	16
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	17
3.1. Tempat dan Waktu	17
3.2. Materi Penelitian	17
3.3. Metode Penelitian.....	18
3.3.1. Rancangan Acak Lengkap.....	18
3.4. Pelaksanaan Penelitian	18
3.4.1. Penampungan Semen	18
3.4.2. Evaluasi Semen Segar	19
3.4.2.1. Uji Makroskopis.....	19
3.4.2.2. Uji Mikroskopis	20
3.4.3. Pembuatan Larutan BSA dan Pemisahan Spermatozoa	20
3.4.4. Pembuatan (TKT) Pengencer <i>Tris</i> Kuning Telur	21
3.4.5. Pemeriksaan Motilitas Spermatozoa.	22
3.4.6. Pemeriksaan Viabilitas Spermatozoa.	22
3.4.7. Ekuilibrasi dan Pengemasan Semen Cair.....	23
3.4.8. Penyimpanan Semen Beku.....	23
3.5. Paramter yang Diamati.....	23
3.5. Analisis Data	23
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24

4.1. Nilai Motilitas Spermatozoa X-Y Semen Sentrifugasi	24
4.2. Nilai Viabilitas Spermatozoa X-Y Semen Sentrifugasi	30
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1. Kesimpulan	35
5.2. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel. 4.1. Nilai Rataan Motilitas Spermatozoa X-Y <i>Sexing</i> Sentrifugasi	24
Tabel. 4.2. Nilai Rataan Viabilitas Spermatozoa X-Y <i>Sexing</i> Sentrifugasi	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Nilai Rataan Motilitas Spermatozoa X-Y Sapi Simmental	
.....	45
Lampiran 2. Nilai Rataan Viabilitas Spermatozoa X-Y Sapi Simmental	48
Lampiran 3. Bagan Alur Penelitian.....	53
Lampiran 4. Penampungan Semen Sapi Simmental	54
Lampiran 5. Pembuatan Larutan BSA dan Pengencer TKT	54
Lampiran 6. Analisa Sentrifugasi Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa	56

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sapi jenis Simmental di Indonesia memiliki potensi yang tinggi untuk dijadikan sebagai sapi potong dan perah karena selain memiliki daging yang banyak juga dapat dijadikan sebagai indukan yang dapat dimanfaatkan susunya. Sapi Simmental merupakan ternak sapi yang mempunyai keunggulan dengan tingkat pertumbuhan yang tinggi dan harga jual yang relatif mahal. Produksi dan kualitas semen yang dihasilkan dari pejantan unggul berperan penting dalam inseminasi buatan, hal ini dikarenakan faktor keberhasilan dari teknologi IB adalah produksi dan kualitas semen pejantan yang berkualitas tinggi. Produksi dan kualitas yang dihasilkan dari seekor pejantan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya bobot badan, umur, sifat genetik, frekuensi ejakulasi, pakan, suhu dan musim (Susilawati, 1993). Simmental merupakan jenis sapi dwiguna yang memiliki persentasi karkas tinggi, sapi Simmental memiliki penambahan bobot badan berkisar antara 0,6 sampai 1,5 kg per hari (Yunus, 2014). Upaya untuk meningkatkan kualitas sapi Simmental perlu dilakukan, salah satunya dengan meningkatkan mutu genetik dan populasinya. Penentuan jenis kelamin pedet memiliki peran penting untuk memperoleh bibit, jenis dan genetik yang baik.

Pemanfaatan teknologi *sexing* spermatozoa merupakan upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan efisiensi usaha peternakan, baik peternakan rakyat maupun komersial hal ini dikarenakan teknologi *sexing* dapat menentukan kromosom X dan Y. Metode pemisahan jenis kelamin spermatozoa (*sexing*) pada sapi telah berhasil memisahkan spermatozoa pembawa kromosom X yang akan menghasilkan pedet sapi perah betina untuk memproduksi susu sebagai *replecement* induk superior (Taylor, 2005) dan spermatozoa pembawa kromosom Y yang akan menghasilkan pedet sapi potong jantan bakalan untuk penggemukan (Said *et al.*, 2005). Secara alami, peluang kelahiran anak hasil kawin alam atau inseminasi buatan adalah 50% betina dan 50% jantan. Anwar *et al.*, (2019) berpendapat bahwa hewan betina mempunyai 1 pasang kromosom X dan X, sedangkan hewan jantan mempunyai 1 pasang kromosom X dan Y.

Sel telur mengandung kromosom X, sedangkan spermatozoa mengandung kromosom X atau Y (Said *et al.*, 2005). Berbagai metode *sexing* pada spermatozoa sapi telah dilakukan, salah satunya dengan menggunakan media *Bovine Serum Albumin* (BSA). Penggunaan media BSA sebagai pemisah sperma pembawa kromosom X dan Y ini mudah diperoleh. *Bovine Serum Albumin* (BSA) merupakan salah satu protein yang paling luas dan memiliki kandungan protein yang melimpah dalam plasma pada konsentrasi 5 gr / 500 ml. Pengembangan metode pemisahan jenis kelamin spermatozoa sapi yang telah dilakukan di Puslit Bioteknologi LIPI adalah dengan menggunakan kolom BSA 5-10% (Kaiin *et al.*, 2007). Friedli, (2006) menyatakan bahwa komposisi BSA terdiri dari asam amino sebanyak 20 macam. BSA juga memungkinkan membran untuk lebih efektif dalam mengatur pergerakan kalsium melewati membran dan menghambat akumulasi Ca^{2+} intraseluler ke tingkat yang toksik bagi spermatozoa, sehingga motilitas dan viabilitas spermatozoa yang belum terkapasitasi dapat dipertahankan tetap tinggi (Purwoistri *et al.*, 2013). BSA memiliki fungsi dalam pengencer, yaitu untuk melindungi integritas membran spermatozoa dari keadaan lingkungan misalnya keadaan panas maupun reaksi oksidatif (Uysal and Bucak, 2007).

Pencucian semen juga merupakan proses yang penting untuk dilakukan dalam teknologi *sexing* spermatozoa. Menurut Handayani *et al.* (2015) menyatakan bahwa pencucian semen dapat dilakukan dengan berbagai cara diantaranya melalui sentrifugasi dan *swimp up*. Sentrifugasi dilakukan untuk memisahkan antara spermatozoa dengan plasma spermatozoa. Sentrifugasi dilakukan agar dapat meningkatkan kualitas spermatozoa dan memisahkan antara spermatozoa yang motil dan yang tidak motil serta memisahkan komponen plasma seminalis yang dapat mempengaruhi kualitas spermatozoa (Hardjopranjoto, 2006). Agarwal *et al.* (2004) menyatakan bahwa spermatozoa sebelum difertilisasikan harus dilakukan proses pencucian terlebih dahulu guna memisahkan spermatozoa yang hidup dan yang mati serta memisahkan zat-zat toksik lainnya, sehingga dapat meningkatkan daya fertilitas spermatozoa. Metode pencucian spermatozoa dengan sentrifugasi dilakukan dengan cara memutar sperma di dalam tabung yang berisi medium isotonic dengan kecepatan dan waktu tertentu (Hafez, 2000). Berdasarkan hal tersebut, timbul inisiatif untuk meneliti serta mempelajari pengaruh waktu sentrifugasi

semen hasil *sexing* dengan media *Bovine Serum Albumin* terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa X-Y sapi Simmental.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu sentrifugasi pada *sexing* spermatozoa dengan media *Bovine Serum Albumin* (BSA) terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa X-Y sapi Simmental.

1.3. Hipotesis Penelitian

Diduga waktu sentrifugasi pada *sexing* spermatozoa dengan media BSA dapat meningkatkan motilitas dan viabilitas spermatozoa X-Y sapi Simmental.

DAFTAR PUSTAKA

- Aerens, C.D., M.N. Ihsan dan N. Isnaini. 2012. Perbedaan Kuantitatif dan Kualitatif Semen Segar pada Berbagai Bangsa Sapi Potong. Malang. 1-10.
- Afiati F. 2004. Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y hasil separasi kolom albumin. *Media Peternakan* 27 (1): 16-20.
- Afriani, T., Udin, Z., Jaswandi & 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. Spermatozoa and Over. Research Gate.
- Amirat L, Tainturier D, Janneau L, Thorin C, Gerard O, CourtenS JL, Anton M. 2004. Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with optidyl, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology* 61: 895-907.
- Anwar, A., N. Solihati, dan S. D. Rasad. 2019. Pengaruh medium dan lama inkubasi dalam proses sexing sperma terhadap kualitas semen kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*. 19(1):53-61.
- Arthur, H. 2001. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Saunders. Toronto. pp. 754-755, 768.
- Azzahra, F.Y., Setiatin, E.T. dan Samsudewa, D. (2016). Evaluasi motilitas dan persentase hidup semen segar sapi PO Kebumen pejantan muda. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11 (2): 99-107).
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay, 1984. *Applied Animal Reproduction*. 2nd Edition Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs. New Jersey.
- Bearden, H.J. and J.W. Fuquay, 2000. *Applied Animal Reproduction*. 5th Ed. Prentice Hall. New Jersey.
- Barden HJ, Fuquay JW, Willard ST. 2004. *Applied Animals Reproduction*. 6th ed. New Jersey (NJ): Pearson education Inc. Pp 155-234.
- Berg, G., C. Zachow, J. Lottmann, M. Gotz, R. Costa, and K. Smalla. 2005. Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (8):4203-4213.

- Butarbutar, E. 2009. Efektifitas Frekuensi Exercise Terhadap Peningkatan Kualitas Semen Sapi Simmental. Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara. Hal 23-50.
- Check, J.H., Shanis, B.S., Cooper, S.O. dan Bollendorf, A., 1998. Male sex preselection: Swim up technique and insemination of women after ovulation induction. *Journal Architect Andrology*. 23(2): 165-166.
- Chemineau, P., Y. Cagnie, P. Orgeanur, and J.C. Vallet. 1991. Training Manual on Artificial Insemination in Sheep and Goats. Food and Agricultural Organization of the United Nations. Rome.
- 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.
- Diliyana, D.F., Susilawati, T. dan Rahayu. R. 2014. Keutuhan membrane spermatozoa diskuensing sentrifugasi gradient densitas percoll berpengencer andromed dan CEP-2 yang ditambahkan kuning telur. *Jurnal Veteriner*. 15 (1) :23-30.
- Dow MP, Bavister BD. 1989. Direct contact is required between serum albumin and hamster spermatozoa for capacitation in vitro. *Gamete Res*. 23 : 171-180.
- Dwitarizki, N. D., Ismaya, dan W. Asmarawati. 2015. Pengaruh Pengenceran Sperma dengan Air Kelapa dan Aras Kuning Telur Itik serta Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Domba Garut pada Penyimpanan 5°C. *Buletin Peternakan* 39(3):149-156.
- Ericson, R.J. Langevind, C.N. and Nishino, M. 1973, Isolation of fractions rich in human Y sperm. *Nature*, 246, 421-424.
- Evans G, Maxwell WMC. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. London (UK): Butterworths.
- Fatahillah, F., Susilawati, T., dan Isnaini, N., 2016. Pengaruh lama sentrifugasiterhadap kualitas dan proporso spermatozoa XY sapi limousin hasil sexing dengan gradien densitas percoll menggunakan pengencer CEP-2 10% KT. *Ternak Tropika. Journal of Tropical Animal Production*. 17(1):86-97.
- 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.

- Friedli, Georges- Louis. 2006. Interaction Of SWP With Bovine Serum Albumin (BSA) <http://www.friedli.com/research/PhD/chapter5.html> Tanggal akses 20 April 2011.
- Gadea J. 2003. Pig industry-semen extenders used in the artificial insemination of swine. A review. Spanish J. Agric. Res. 1(27): 17-27
- Garner DL., Hafez ESE. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma. In: Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins. Pp 96-109.
- Garner DL, Seidel GE Jr. 2000. Sexing bull sperm. In: Chenoweth PJ (ed). *Tropics in Bull Fertility*. Internasional Veterinary Services IVISO. Colorado State University, Fort Collins, Colorado, USA.
- Garner, 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.). 7th ed. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland, USA: 82-95.
- Gazali M, Tambing SN. 2002. Kriopservasi sel spermatozoa. J Hayati. 9(1):27-32.
- Grant, V.J. and Chamley, L.W. (2007). Sex sorted sperm and fertility: An alternative view. Biol reprod 76:184-188.
- Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins. pp 431-442.
- Handayani, L., Dasrul, M. Akmal, C.N. Thasmi, Hamdan, dan M. Adam. 2015. Pengaruh metode pencucian spermatozoa sapi aceh terhadap motilitas, persentase hidup, dan integritas membran plasma utuh spermatozoa. J. Med Vet. Vol 9 (2) : 104 -110.
- Hardjopranjoto, S. 2006. *Perkembangan Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Hasan Al Aslam, S. K., Dasrul, & Rosmaidar. (2014). Pengaruh penambahan vitamin C dalam pengencer andromed terhadap persentase motilitas dan membran plasma utuh spermatozoa sapi aceh setelah pembkuan. Medika Veterinaria, 8(1), 20-26.
- Hendri. 1992. Upaya Pemisahan Sperma X dan Y Menggunakan BSA 6% dengan menggunakan metode kolom terhadap angka kelahiran, angka kebuntingan dan sex ratio anak pada kambing. Prog. Pasca Sarjana. IPB. Tesis. Program Biologi Reproduksi.
- Herdis, M.R. Toelihere, I Supriatna, B. Purwantara dan RTS. Adikara. 2005. *Optimalisasi Kualitas Semen Cair Domba garut (Ovis aries) melalui*

Penambahan Maltosa ke Dalam Pengencer Semen *Tris* Kuning Telur. Media Kedokteran Hewan.

- Horne, M.H. dan S.L. Pamela. 2009. Keseimbangan Cairan, Elektrolit dan Asam Basa. Edisi ke-25 (diterjemahkan oleh: Indah Nurmala Dewi dan Monika Ester). EGC, Jakarta.
- Ihsan, N.M. 2011. *Bioteknologi Reproduksi Ternak*. Universitas Brawijaya. Malang. 38 hal.
- Indiah dan S. Wahjuningsih. 2010. Pengaruh kecepatan sentrifugasi terhadap kualitas semen kambing Peranakan Etawah (PE) post thawing. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 2 (4): 74-80.
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ismaya dan N.D. Dwitarizki. 2021. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Domba dan Kambing*. Penerbit UGM PRESS: Yogyakarta.
- Isnaini, N. dan W.A. Fazrien. 2020. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Kerbau*. Malang: UB Press.
- 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.
- Juniandri, Susilawati T, Isnaini N. 2014. Perbandingan Pengencer Andromed dan CEP-2 terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Hasil Seksing dengan Sentrifugasi Gradian Densitas Percoll. *Jurnal Veteriner* Vol 15 (2): 252-262.
- Kaiin EM, Gunawan M, Tappa B. 2007. Aplikasi IB dengan sperma hasil pemisahan di Sumatera Barat. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2007*.
- Kaneko JJ. 1997. Serum protein 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.
- Khalifa TAA, El-Saidy BE. 2006a. Testing usability of butylated hydroxytoluene in conservatoin of goat. *J Agric and Environ Sci*. (13):288-293.
- Khalifa TAA, El-Saidy BE. 2006b. Pellet-freezing of Damascus goat semen in a chemically defined extender. *Anim Reprod Sci*. 93:303-315. survival of motile ram sperm after isolation by layering on protein comums *Therionology*, 21. (4).

- Lopes, F.P. 2002. Semen collection and evaluation in ram. ANS 33161. University of Florida.
- Mahfud, A., N. Isnaini, A.P.A. Yeksi, Kuswati, & T. Susilawati. 2019. Kualitas spermatozoa post thawing semen beku sperma y hasil sexing pada sapi limousin. *Jurnal Ternak Tropika*. 20(1) : 1-7.
- Maxwell, W.M.C.G. Mendoza and I.G. White. 1984. Post-Thawing.
- Maxwell, W.M.C and P.F. Watson. 1996. Recent progress in the preservation of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 42: 55–65.
- Morotti, F., Sanches, B.V., Pontes, J.H.F., Basso, A.C., Siqueira, E.R. and Lisboa, L.A. (2014). Pregnancy rate and birth rate of calves from a large-scale IVF program using reverse-sorted semen in *Bos indicus*, *Bos indicus-taurus* and *Bos taurus* cattle. *Theriogenology* 81: 696:701.
- Murray, R.K. Granner, D.K., & Rodwell, V.W. 2009. *Biokimia Happer*. (27 ed). Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- 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, 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.
- Pellegrino, C.A.G., Morotti, F., Untura, R.M., ontes, J.H.F., Pellegrino, M.F.O., Campolina, J.P., Seneda, M.M., Barsosa, F.A. and Henry, M. (2016). Use of sexed sorted semen for fixed time artificial insemination or fixed time embryo transfer of in vitro produced embryos in cattle. *Theriogenology* xxx: 1-6.
- Partodihardjo, S. 1992. *Fisiologi Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber Widya. IPB. Bogor.
- Presicce GA, Antonimo Bella, Jie Xu, Guochun Gong, Ellena M. Senatore, Juan F. Moreno, Xiangzhong Yang, Sanjeev Chaubal,. Cindy Tian, Fei Xiu, Fuliang Du. 2011. Oocyte Source and Hormonal Stimulation for In Vitro Fertilization Using Sexed Spermatozoa in Cattle. *Veterinary Medicine International*, Article ID 145626, 8 pages doi:10.4061/2011/145626.
- Purdy PH, Moce E, Stobart R, Murdoch WJ, Moss GE, Larson B, Ramsey S. Graham JK, Blackburn HD. 2010. The fertility of ram sperm held for 24h at 5°C prior to cryopreservation. *Anim Reprod Sci*. 188:231-235.

- Purwoistri. R.F, Susilawati. T. dan Rahayu. S. 2013. Membran Spermatozoa Hasil Sexing Gradien Albumin Berpengencer Andromed dan *Cauda Epididymal Plasma-2* Ditambahkan Kuning Telur. *Jurnal Veteriner* 14(3): 371-378.
- Rasad, S.D., Setiawan, R., Solihati, N., Widyastuti, R., Nugraha, I., 2019. Derajat pemulihan dan persentase spermatozoa X dan Y kambing Peranakan etawah setelah seperasi dengan gradient percoll. *Jurnal Veteriner*. Vol. 20 No. 1 : 14 – 19.
- Rurangwa, E., *et al.* 2003. The Measurement of Sperm Motility and Factors Affecting Sperm Quality in Cultured Fish Aquac. *Aquatic Science Journal*. Vol.4. Hal. 1-28.
- Said S, Kaiin EM, Afiati F, Gunawan M, Tappa B. 2004. Pengaruh metode dan lama thawing terhadap kualitas semen beku sapi peranakan Ongole. *J Protein* 12 (1): 81-88.
- Said S, Kaiin. EM, 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.
- Salisbury, G. W. dan Vandenmark, N. L., 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Diterjemahkan Oleh Djanuar, N., UGM Press, Yogyakarta.
- Salmah, N. 2014. Motilitas, Persentase Hidup dan Abnormalitas Spermatozoa Semen Beku Sapi Bali pada Pengenceran Andromed dan Tris Kuning Telur. *Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin*. Makassar. Hal 37-38.
- Sarastina, T. Susilawati dan G. Ciptadi. 2012. Analisis Beberapa Parameter Motilitas Spermatozoa pada Berbagai Ternak Menggunakan Computer Assisted Semen Analysis (CASA). *Jurnal Ternak Tropika*, 6(2):1-12.
- Sasongko, W, T. 2010. Optimalisasi Peningkatan Tanin Daun Nangka dengan Protein Bovine Serum Albumin. *Jurnal Buletin Peternakan*, 34(3): 154-158).
- Sianturi, R. G. dan D. A. Kusumaningrum. 2017. Pengaruh waktu pemisahan spermatozoa terhadap kualitas spermakerbau hasil sexing. *Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan*. Teknologi dan Agribisnis Peternak untuk Mendukung Ketahanan Pangan, Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman. 238-244.

- Sinha, S., B.C. Deka, M.K. Tamulu, and B.N. Borgohain. 1992. Effect Of Equilibration Period and Glycerol Level In Tris Extender Of Quality Of Frozen Goat Semen. *Indian Vet. J.* 69 : 1107-1110.
- 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., Idi, R., Rasad, S. D., Rizal, M., & Fitriati, M. (2008). Kualitas spermatozoa cauda epididymis sapi peranakan ongole (PO) dalam pengencer susu, tris dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5⁰C. *Animal Production*, 10(1), 22-29.
- Solihati N, Lestari TD, Setiawan R, Arifin J, 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 Dimiyati, D.I. 2017. Identifikasi morfometrik sperma domba lokal sebagai dasar aplikasi sexing sperma. *Jurnal ilmu ternak*, volume 17, No. 2, 112.
- Solihati, N., Rasad, S.D., Hilmia, N., Winangun, K., Toha, Zule, O.V. 2020. Karakteristik beberapa level *Bovine Serum Albumin* (BSA) dan kombinasinya. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Virtual. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Bandung.*
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Penerjemah: Sumantri, B. Gramedia Pustaka Utama, 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.
- 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., Sali T. dan Nafiu, L.O. (2016). Karakteristik spermatozoa sapi bali setelah sexing menggunakan metode kolom albumin dengan lama waktu sexing yang berbeda. *JITRO*, 1 (1): 65-75.

- Sundari, T.W., T.R. Tagama dan Maidaswar. 2013. Korelasi Kadar pH Semen Segar dengan Kualitas Semen Sapi Limousin di Balai Inseminasi Buatan Lembang. Fakultas Peternakan Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1 (3): 1043-1049.
- Sureka, P., Nilani, K., Eswaramohan, T. and Balasubramaniam, K. (2013). Sex pre-selection by quantification of Y chromosome bearing spermatozoa in goat species. *International Journal of Scientific and Research Publications* 3(1):1-4.
- Susilawati, T., Suryadi, Nuryadi, Isnaini, N., dan Wahyuningsih, S. 1993. Kualitas Semen Sapi FH dan Sapi Bali pada berbagai Umur dan Berat Badan. Laporan Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang.
- Susilawati T. 2000. Analisis Membran Spermatozoa Sapi Hasil Filtrasi Sephadex dan Sentrifugasi Gradient Densitas Percoll pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Susilawati, T., 2000. Teknologi Preservasi dan Kriopservasi Spermatozoa dan Ova. Tesis. Program Pasca Sarjana Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Susilawati, T. 2002. Sexing spermatozoa kambing peranakan Etawah menggunakan gradien putih telur. *Widya Angrika*. 10(2):97-105.
- Susilawati, T. 2003. Perubahan Fungsi Membran Spermatozoa Sapi pada Proses Seleksi Jenis Kelamin Menggunakan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Jurnal Widya Agrika*, 11(1) : 27-33.
- 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.
- Susilowati, S., Hardijanto., Suprayogi, T. W., Sarjito, T., & Hernawati, T. (2010). *Penuntun Praktikum Fisiologi dan Teknologi Reproduksi (IB)*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Tambing, S.N., I.K. Utama dan R.I. Arifiantini. 2003. Efektivitas Berbagai Konsentrasi laktosa dalam Pengencer Tris terhadap Viabilitas Semen Cair Kambing Saanen. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* Vol. 8 No.2. M Puslitbangnak Balitbang Pertanian Departemen Pertanian. 84-90
- Taurin, B., Santi, D., Putri, K. H., 2000. *Inseminasi Buatan*. Universitas Terbuka Jakarta.

- Taylor TM. 2005. Comparing calf sex ratio and semen sex ratio determined by conventional PCR. [Thesis]. The Interdepartmental Program In Animal and Dairy Sciences. Southern Arkansas University, Arkansas. *Theriogenology* 52:1273-1280.
- Toelihere, M.R. 1993. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Trilas, S. (2003). Pengaruh sentrifugasi spermatozoa sapi terhadap integritas membran, resistensi dan kelayakan kondisi pada proses kapasitas in vitro. Disertasi, Universitas Airlangga.
- Uysal, O. and M. N. Bucak. 2007. Effect of oxidized glutathione, *bovine serum albumin*, cystein and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. *Acta Vet. BRNO*. 76:383-390.
- Varasofiarai, L.N., E.T. Setiatin, 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.
- Wibisono, H. 2010. *Atlas Spermatologi Buku-Kedua dari Panduan Laboratorium Andrologi*. Refika Aditama. Bandung.
- 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 bearing spermatozoa. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 129: 150-154.
- Yumte, K., Wantou, B. dan Queljoe, E.D. (2013). Perbedaan motilitas spermatozoa sapi jantan (*Frisian holstein*) setelah pemberian cairan kristaloid-ringer laktat. *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 1 (1): 184-189.
- Yunus, A. 2014. Sukses usaha pembibitan sapi dan kambing. Pustaka Baru Press. Bantul, Yogyakarta.
- Zulfan, M. 2008. Hubungan Antara Libido dengan Kualitas Semen Segar pada Pejantan *Bos Turus*. Fkultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negri Malang. Malang. Hal. 27-34.
- Zulyazaini, Dasrul, S. Wahyuni, M. Akmal dan M.A.N. Abdullah. 2016. Karakteristik Semen dan Komposisi Kimia Plasma Seminalis Sapi Aceh yang Dipelihara di BPHPT Saree Aceh Besar. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syah Kuala. *Agripet*, 16(2):121-130.