

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU SENTRIFUGASI PADA *SEXING*
SPERMATOCYTES DENGAN *MEDIA BOVINE SERUM*
ALBUMIN TERHADAP MORFOLOGI DAN MEMBRAN
PLASMA UTUH SPERMATOCYTES X-Y SAPI SIMMENTAL**

***THE EFFECT OF CENTRIFUGATION TIME ON SEXING
SPERMATOCYTES WITH BOVINE SERUM ALBUMIN MEDIA
ON MORPHOLOGY AND WHOLE PLASMA MEMBRANE X-Y
SIMMENTAL***



**Khusnul Khotimah
05041181823011**

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

SUMMARY

KHUSNUL KHOTIMAH. The Effect of Centrifugation Time on Sexing Spermatozoa with Bovine Serum Albumin Media on Morphology and Whole Plasma Membrane X-Y Simmental (Supervised by **LANGGENG PRIYANTO**).

Sexing and centrifugation of spermatozoa is one way to improve the quality of spermatozoa. This study aimed to obtain the right centrifugation time for sexing spermatozoa with Bovine Serum Albumin media on the morphology and intact plasma membrane of X-Y spermatozoa in Simmental cattle. This research was carried out from October 2021 to November 2021 at the Laboratory of Animal Reproduction and Health at the Forage Breeding Center for Animal Feed, Sembawa. The design used in this study was a completely randomized design (CRD) with 3 treatments and 4 replications. Centrifugation treatment for sexing spermatozoa with BSA media P1: centrifugation time 4 minutes, P2: centrifugation time 8 minutes, P3: centrifugation time 12 minutes. The parameters observed were intact plasma membranes and morphology of spermatozoa X and Y. The results showed that the centrifugation time of sexing spermatozoa was different from that of Bovine Serum Albumin (BSA) media. Y spermatozoa abnormalities had a significant effect ($P < 0.05$). The intact plasma membrane of spermatozoa in both X and Y spermatozoa had a significant effect ($P < 0.05$) on the centrifugation time treatment. The results of using the right time are in the P1 treatment with a centrifugation time of 4 minutes where the value of the upper layer of intact plasma membrane X sexing cement is 62.93%, the lower layer Y is 63.94%, while the abnormality value in the upper X is 20,91% and the lower Y is 25,34%.

Keywords: Bovine Serum Albumin, Centrifugation, Spermatozoa, X-Y.

RINGKASAN

KHUSNUL KHOTIMAH. Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada *Sexing* Spermatozoa dengan Media *Bovine Serum Albumin* (BSA) Terhadap Morfologi dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa X-Y Sapi Simmental. (Dibimbing Oleh **LANGGENG PRIYANTO**).

Sexing dan sentrifugasi spermatozoa merupakan salah satu cara untuk meningkatkan kualitas spermatozoa. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan waktu sentrifugasi yang tepat pada *sexing* spermatozoa dengan media *Bovine Serum Albumin* terhadap morfologi dan membran plasma utuh spermatozoa X-Y pada sapi Simmental. Penelitian ini dilaksanakan Oktober 2021 sampai dengan November 2021 di Laboratorium Reproduksi dan Kesehatan Ternak Balai Pembibitan Hijauan Pakan Ternak Sembawa. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan sentrifugasi pada *sexing* spermatozoa dengan media BSA P1: waktu sentrifugasi 4 menit, P2: waktu sentrifugasi 8 menit, P3: waktu sentrifugasi 12 menit. Parameter yang diamati adalah membran plasma utuh dan morfologi spermatozoa X dan Y. Hasil menunjukkan bahwa waktu sentrifugasi pada *sexing* spermatozoa yang berbeda dengan media *Bovine Serum Albumin* (BSA) menunjukkan bahwa pada abnormalitas spermatozoa X tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) namun pada abnormalitas spermatozoa Y berpengaruh nyata ($P<0,05$). Membran plasma utuh spermatozoa baik pada spermatozoa X dan Y berpengaruh nyata ($P<0,05$) terhadap perlakuan waktu sentrifugasi. Hasil penggunaan waktu yang tepat yaitu pada perlakuan P1 dengan waktu sentrifugasi 4 menit dimana nilai lapisan atas membran plasma utuh X semen *sexing* yaitu sebesar 62,93%, lapisan bawah Y sebesar 63,94%, dan untuk nilai abnormalitas pada lapisan bawah Y yaitu 28,79%.

Kata Kunci: *Bovine Serum Albumin*, Sentrifugasi, Spermatozoa, X-Y.

SKRIPSI

PENGARUH WAKTU SENTRIFUGASI PADA *SEXING* SPERMATOZOA DENGAN *MEDIA BOVINE SERUM* ALBUMIN TERHADAP MORFOLOGI DAN MEMBRAN PLASMA UTUH SPERMATOZOA X-Y SAPI SIMMENTAL

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



Khusnul Khotimah
05041181823011

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

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH WAKTU SENTRIFUGASI PADA *SEXING* SPERMATOZOA DENGAN *MEDIA BOVINE SERUM* ALBUMIN TERHADAP MORFOLOGI DAN MEMBRAN PLASMA UTUH SPERMATOZOA X-Y SAPI SIMMENTAL

SKRIPSI

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

Oleh:

Khusnul Khotimah
05041181823011

Indralaya, 01 Maret 2022

Pembimbing



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



Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian

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

Skripsi dengan judul “Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada Sexing Spermatozoa dengan Media *Bovine Serum Albumin* Terhadap Morfologi dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa X-Y Sapi Simmental” oleh Khusnul Khotimah telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 01 Maret 2022 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

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

Ketua

(.....)

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

Sekretaris

(.....)

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

Anggota

(.....)

Indralaya, 01Maret 2022

Ketua Jurusan
Teknologi dan Industri Peternakan

Koordinator Program Studi Peternakan



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

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

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Khusnul Khotimah
NIM : 05041181823011
Judul : Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada *Sexing* Spermatozoa dengan Media *Bovine Serum Albumin* Terhadap Morfologi dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa X-Y Sapi Simmental.

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sebenarnya, bahwa seluruh data dan informasi yang disajikan dalam Skripsi ini adalah benar, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya adalah hasil pengamatan saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana lain atau gelar yang sama ditempat yang lain.

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



Indralaya, 01 Maret 2022
Yang membuat Pernyataan



Khusnul Khotimah

RIWAYAT HIDUP

Khusnul Khotimah atau biasa dengan nama Khusnul dilahirkan pada tanggal 07 Agustus 2000 di kota Bojong Rawa Lumbu, Bekasi Utara. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Irwan Ichsan dan Ibu Nuraini yang beralamat di Jalan Merdeka ling 1 Kayuara, Provinsi Sumatera Selatan.

Penulis menyelesaikan pendidikan Madrasah Ibtidayah Istiqomah pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Sekayu pada tahun 2015 dan Sekolah Menengah Atas pada tahun 2018. Pada tahun 2018 penulis tercatat sebagai mahasiswa Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Pada tahun 2018 penulis Anggota aktif Himpunan Mahasiswa Peternakan Universitas Sriwijaya (HIMAPETRI). dan tahun 2020 penulis dipercaya menerima beasiswa berprestasi mahasiswa Musi Banyuasin. Pada tahun 2019 penulis dipercaya sebagai asissten praktikum Anatomi dan Histologi Ternak dan pada tahun 2020 sebagai asissten pratikum Bahan Pakan dan Formulasi Ransum Ternak.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul. “Pengaruh Waktu Sentrifugasi pada Sexing Spermatozoa dengan Media Bovine Serum Albumin (BSA) Terhadap Morfologi dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa X-Y Sapi Simmental” yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Jurusan Teknologi dan Industri Peternakan Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Melalui kesempatan ini penulis sangat berterimakasih kepada Bapak Dr. Drh. Langgeng Priyanto M.Si sebagai Pembimbing Akademik dan Pembimbing Skripsi atas kesabaran serta bantuan dalam memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis sejak perencanaan, pelaksanaan dan analisa hasil penelitian sampai penyusunan dan penulisannya ke dalam bentuk skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Riswandi, S.Pt., M.Si sebagai dosen penguji yang telah memberikan arahan dan masukkan 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 dan membantu melaksanakan penelitian.

Ucapan Terima kasih yang tak terhingga penulis persembahkan kepada kedua orang tuaku yang tercinta yaitu Bapak Irwan Ichsan dan Ibu Nuraini Abdullah dan seluruh anggota keluarga lainnya yang telah memberikan do'a, dorongan semangat, bantuan baik moril maupun materil dan dukungannya kepada penulis. Ucapan terima kasih juga yang tak terhingga kepada Muhammad Ilham atas support dan kebaikan hati menemani penulis menghadapi tugas akhir ini dan Terima kasih untuk tim penelitian Eva, Suci , Faiz, Ikuar dan Joprinus atas kerjasama dan bantuan serta dukungan selama penelitian dalam suka dan duka. juga teman-teman seperjuangan Peternakan 2018 , dan terkhusus untuk Menyut, Fifah, Ike, Marwiyah, Erna, Rara, Aprizka, Salmi dan Aulia.

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	3
1.3. Hipotesa Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Sapi Simmental	4
2.2. Semen Sapi.....	5
2.3. Sexing Spermatozoa.....	6
2.4. Bovine Serum Albumin (BSA)	8
2.5. Waktu Sentrifugasi Spermatozoa.....	11
2.6. Pengencer Tris Kuning Telur (TKT)	12
2.7. Membran Plasma Utuh.....	13
2.8. Morfologi Spermatozoa	14
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	15
3.1. Waktu dan Tempat	15
3.2. Bahan dan Metode.....	15
3.3. Metode Penelitian.....	16
3.3.1. Rancangan Acak Lengkap.....	16
3.4. Pelaksanaan Penelitian	16
3.4.1. Penampungan Semen	16
3.4.2. Separasi Semen dengan Larutan Bovine Serum Albumin	17
3.4.3. Pembuatan Pengencer Tris Kuning Telur (TKT)	17
3.4.4. Penentuan Morfologi Spermatozoa	18
3.4.5. Penentuan Membran Plasma Utuh	18
3.4.6. Ekuilibrasi dan Pengemasan Semen Cair	20
3.4.7. Penyimpanan Semen Beku.....	20
3.5. Paramater yang Diamati	20
3.5. Analisis Data	20
3.5. Bagan Alur Penelitian	21
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	22
4.1. Nilai Membran Plasma Utuh (X) Spermatozoa Sexing Sentrifugasi.....	22

4.2. Nilai Membran Plasma Utuh (MPU) Y Spermatozoa Sexing Sentrifugasi	27
4.3. Nilai Abnormalitas X Spermatozoa Sexing Sentrifugasi.....	30
4.4. Nilai Abnormalitas Y Spermatozoa Sexing Sentrifugasi.....	33
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1. Kesimpulan	39
5.2. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel. 4.1. Nilai rataan Membran Plasma Utuh (MPU) lapisan atas (X) spermatozoa sapi Simmental.....	22
Tabel. 4.2. Nilai rataan Membran Plasma Utuh (MPU) lapisan atas (Y) spermatozoa sapi Simmental.....	27
Tabel. 4.3. Nilai rataan abnormalitas spermatozoa lapisan atas (X) sapi Simmental setelah sentrifugasi.....	31
Tabel. 4.4. Nilai rataan abnormalitas spermatozoa lapisan bawah (Y) sapi Simmental setelah sentrifugasi.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Nilai rata-rata Membran Plasma Utuh (MPU) X-Y Spermatozoa Sapi Simmental	50
Lampiran 2. Nilai rata-rata Abnormalitas X-Y Spermatozoa Sapi Simmental ...	54
Lampiran 3. Penampungan Semen Segar Sapi Simmental	58
Lampiran 4. Pembuatan Larutan BSA dan Pengencer TKT	58
Lampiran 5. Analisa Sentrifugasi MPU dan Abnormalitas Spermatozoa.....	60

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ilmu pengetahuan teknologi di sektor peternakan yang berkembang memiliki fungsi yang strategis dalam upaya meningkatkan mutu kualitas ternak dan populasinya, salah satunya pada aplikasi Inseminasi Buatan (IB). Inseminasi Buatan yaitu metode yang dilakukan dengan memasukkan semen jantan ke reproduksi betina yang diharapkan dapat diperoleh bibit yang unggul. Pemanfaatan penggunaan semen IB dapat dilakukan dengan melihat produktivitas dan keunggulan dari jenis sapi yang akan digunakan, seperti halnya pada penggunaan semen sapi Simmental. Sapi Simmental (*Bos taurus*) merupakan ternak sapi yang memiliki keunggulan seperti pertumbuhan yang cepat, mudah beradaptasi dengan lingkungan terutama di Indonesia, mampu mengkonversi pakan menjadi daging yang baik sehingga dapat dimanfaatkan untuk sapi potong. Aidilof (2015) menjelaskan sapi Simmental disukai oleh para peternak, dikarenakan sapi ini memiliki kualitas baik dari pertumbuhan cepat, fertilitas tinggi dan mudah di peranakan. Inseminasi Buatan (IB) pada sapi Simmental juga mampu meningkatkan kualitas secara kualitatif dan kuantitatif dalam menghasilkan bakalan atau bibit dengan kualitas yang unggul berdasarkan jenis anakan yang dihasilkan dari minat dan tujuan pemeliharaan dengan teknologi *sexing* pada spermatozoa tersebut.

Pemanfaatan teknologi *sexing* merupakan salah satu upaya untuk mendukung penerapan inseminasi buatan. Teknologi *sexing* merupakan teknologi reproduksi yang bertujuan dengan melakukan pemisahan antara spermatozoa X dengan spermatozoa Y. Prinsip metode ini yaitu dengan dibuatnya medium yang berbeda level dari konsentrasinya, sehingga spermatozoa yang pergerakannya cepat bisa ditembus konsentrasinya dengan medium yang lebih tinggi konsentrasinya, sedangkan spermatozoa yang memiliki pergerakan yang lambat maka akan tetap berada pada medium yang memiliki level konsentrasi yang rendah (Sianturi *et al.*, 2004).

Keunggulan dari teknologi *sexing* ialah suatu pilihan yang tepat untuk mendukung peningkatan produktivitas dari usaha sapi, baik pada sapi pengemukan atau perah.

Berbagai cara yang dilakukan untuk memisahkan spermatozoa X dan Y seperti dalam menggunakan media *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai medianya kemudian melakukan sentrifugasi untuk memisahkan spermatozoa dengan plasma sperma. *Sexing* spermatozoa dengan media BSA pada prinsipnya yaitu merupakan kombinasi konsentrasi antara fraksi atas dan fraksi bawah, karena untuk memisahkan spermatozoa kromosom X dan Y berdasarkan dari motilitasnya. Kombinasi konsentrasi BSA dapat digunakan sebagai media, karena dinilai mampu mempertahankan membran sperma dari kerusakan akibat proses *sexing* dan memperbaiki tingkat abnormalitas pada spermatozoa. Burhan (2013) melaporkan bahwa penggunaan media BSA sebagai medianya dapatkan hasil persentase abnormalitas spermatozoa yang terbaik, dimana dilapisan atas dan dilapisan dihasilkan rata-rata abnormalitas kurang dari 6%.

Sentrifugasi didalam *sexing* spermatozoa juga sangat mempengaruhi dalam meningkatkan kualitas sperma. Tujuan dilakukannya sentrifugasi yaitu untuk memisahkan spermatozoa motilitas dan yang tidak motilitas, fungsi lain sentrifugasi juga mampu memisahkan komponen plasma. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Fatahillah *et al.* (2016) bahwa dari kualitas spermatozoa hasil *sexing* dari sapi Limousin diperoleh hasil bahwa pada perlakuan 5 menit waktu sentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm memperlihatkan bahwa rata-rata total spermatozoa motil dilapisan atas memiliki jumlah lebih banyak dibandingkan lapisan bawah, sedangkan pada perlakuan 7 menit rata-rata total spermatozoa motil lapisan bawah lebih tinggi dibandingkan lapisan atas.

Berdasarkan penjelasan tersebut maka perlunya melakukan penelitian ini sebagai upaya untuk mendapatkan waktu yang tepat dari lama waktu sentrifugasi pada *sexing* spermatozoa dengan media *Bovine Serum Albumin* (BSA) terhadap morfologi spermatozoa dan membran plasma utuh X-Y pada sapi Simental.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan waktu sentrifugasi yang tepat pada *sexing* spermatozoa dengan media *Bovine Serum Albumin* (BSA) terhadap morfologi dan membran plasma utuh spermatozoa X-Y pada sapi Simmental.

1.3. Hipotesis Penelitian

Diduga dengan waktu sentrifugasi pada *sexing* spermatozoa pada media BSA yang tepat dapat meningkatkan kualitas spermatozoa terhadap morfologi dan membran plasma utuh spermatozoa X-Y pada sapi Simmental.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, L. 2004. Proporsi dan karakteristik spermatozoa X dan Y hasil separasi kolom albumin. *Media Peternakan* 27 (1):16-20.
- Arifiantini, R.I., Wresdiyati, T. dan Retnani, E.F. 2006. Kaji Banding Morfometri Spermatozoa Sapi Bali (*Bos sondaicus*) Menggunakan Pewarna Williams, Eosin, Eosin Nigrosin dan J. Ternak Tropika Vol. 17, No.1: 86-97, 2016 96 Formol-Saline. *J.Sain Vet.* 24(1) : 65-70.
- Aerens, C.D., Ihsan, M.N. dan Isnaini, N.. 2012. *Perbedaan Kuantitatif dan Kualitatif Semen Segar pada Berbagai Sapi Potong*. Malang.
- Agarwal, A., Gupta S dan Sharma, R.K., 2005. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3 (1): 28.
- Agarwal, Ashok and Zini, Armand. 2014. *Spermatogenesis an Over*. Research Gate.
- Aidilof. 2015. Penampilan reproduksi sapi Aceh dengan sapi Brahman dan dengan sapi Simental melalui inseminasi buatan di Kecamatan Padang Tiji. *Sains Riset*, 5(1) : 1-10.
- 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.
- Artika. 2014. Penentuan Waktu Optimal Pengujian Integritas Membran Plasma Spermatozoa Babi Menggunakan Hypo-osmotic Swelling (HOS) Test. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor.
- Ax, R.L., Dally, M., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, C.C., Varner, D.D., Hafez, B., dan Bellin, M.E., 2000. *Semen Evaluation*. Dalam : Hafez E.S.E (ed). *Reproduction in Farm Animals 7th Ed*. Lippincott Williams dan Wilkins, USA.
- Berg, G., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R. dan Smalla. K., 2005. Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(8):4203-4213.
- Bintara, S. 2010. Pengaruh pencucian sperma dengan lama waktu sentrifugasi yang berbeda terhadap kualitas sperma kambing bligon. *Buletin Peternakan*, 34(2), 70-74.

- 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.
- BSN. 2005. *Semen Beku Sapi*. Badan Standarisasi Nasional. SNI 01- 4869.1-2005. BSN. Jakarta
- Carter, D.C dan Ho, J.X., 1994. *Struktur Albumin Serum*. *Adv. Kimia Protein*. 45 ; 153-203.
- Carvalho, J.O., Sartori, R., Machado, G.M, Mourão. G.B. dan Dode, M.A.N., 2010. Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometer and their use in vitro embryo production. *Theriogenology* 74:1521-1530.
- Carvalho, J.O., Sartori, R., Dode, M.A.N., 2014. Different ways to evaluate bovine sexed sperm in vitro. *Anim Reprod* 11(3): 199- 206.
- Centola, G.M., 2018. *Semen Analysis*. In. Skinner, M. K (ed). Encyclopedia of Reproduction. Publisher Elsevier Science Publishing Co Inc, USA.
- 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.
- Choudhary, R., Chawala, V.K., Soni, N.D., Kumar, J., Vyas, R.K., 2010. Oxidative stress and role of antioxidants in male infertility. *Pak J Physiol*. 6:54–59
- 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.
- Da Costa, N., T. Susilawati., N. Isnaini dan M.N. Ihsan. 2016. Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole (PO) Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer yang Berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 12(1): 53-62.
- 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.

- Donnelly, E.T., McClure, N. dan Lewis, S.E., 1995. The effect of ascorbate and α tocopherol supplementation in vitro on DNA integrity and hydrogen peroxide-induced DNA damage ion human spermatozoa. *J. Mutagenesis*. 14(5):505-512.
- Dow. M.P., Bavister, B.D. 1989. Direct contact is required between serum albumin and hamster spermatozoa for capacitation in vitro. *Gamete Res.* 23 : 171-180.
- Fatahillah, F., Susilawati, T., dan Isnaini, N., 2016. Pengaruh lama sentrifugasi terhadap kualitas dan proporsio 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.
- Figge, J., Rossing, T.H. dan Fencl, V., 1991. Peran serum-protein dalam Kesetimbangan Asam-Basa. *J.Lab. klinik Med.* 117 ; 453-467.
- Fitri, T.A., 2002. Pengaruh Kecepatan dan Sentrifugasi Terhadap Keutuhan Membran Plasma dan Tudung Akrosom Spermatozoa Sapi Madura. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- 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, D.L., dan Hafez, E.S.E., 2000. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. Dalam : Hafez E.S.E (ed). *Reproduction in Farm Animals 7th Ed.* Lippincott Williams & Wilkins, USA
- Garner, D.L and Hafez, E.S.E., 2008. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. In *Reproduction in Farm Animal*. Edited By Hafez, E. S. E., and B. Hafez 7th Edition. Blackwell Publishing. USA: 96- 108.
- Gordon, I., 1997. Laboratory production of cattle embryos. *Biotechnology in Agriculture*, 11. I. Gordon (editor) CAB International. Wallingford
- Guyton, A. C., dan Hall, J. E., 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Jakarta : EGC, 1022
- Guzman, E.G., M.Ollero., M.C Lopez., R.K Sharma., J.G Alvarez., A.J Thomas and A. Agarwal, 2001. Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum. Reprod.* Vol. 16.9: 1922-1930.

- Hardjopranjoto, S, 2006. Perkembangan Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Pidato Ilmiah. Pada Acara Temu Ilmiah Sehari Dalam Rangka Purnabakti Prof. Dr. Soehartotojo Hardjopranjoto MSc, Drh. Dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Hafez, E. S. E. and B. Hafez. 2000. *X and Y Chromosome Bearing Spermatozoa. Reproduction in Farm Animals*. E.S.E. Hafez (ed). 7th edn. Blackwell Publishing Professional USA: 390-394.
- Hafez, E.S.E., 2008. Preservation and cryopreservation of gametes and embryos. In: *Reproduction in farm animals*. Hafez, E.S.E. 7th ed. Lippincott Williams and Wilkins. Awollers Kluwer Company. *Philadelphia*: 431-442.
- Hafez, E.S.E dan Hafez. B., 2008. *X and Y Chromosome-Bearing Spermatozoa in Animal Reproduction in Farm Animal*. ed by ESE Hafez and B Hafez 7th edition Blackwell Publishing. pp: 390-394.
- Hafez, E.S.E dan Hafez. B., 2013. *Reproduction in Farm Animals*. Edition 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins. Maryland. Dunfermline. 165.
- Ihsan, N.M. 2009. *Bioteknologi Reproduksi Ternak*. Universitas Brawijaya. Malang
- Indiah dan S. Wahjuningsih. 2010. Pengaruh kecepatan sentrifugasi terhadap kualitas semen kambing Peranakan Etawah (PE) post thawing. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 2 (4): 74 -80.
- Indriani., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2013. Daya hidup spermatozoa sapi Limousin yang dipreservasi dengan metode water jacket dan free water jacket. *Jurnal Veteriner*. 14(3): 379-386.
- Ismaya. 2014. *Bioteknologi Inseminasi Buatan pada Sapi dan Kerbau*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Isnaini, N. 2011. Viabilitas spermatozoa kambing boer pasca pendinginan dan pembekuan menggunakan pengencer dasar tris dengan level trehalosa yang berbeda. *J. Ternak Tropika*. 12 (1): 27 -37.
- Jaenudeen, M.R., dan Hafez, E.S.E., 2000. *Cattle and Buffalo*. Dalam : Hafez E.S.E (ed). *Reproduction in Farm Animals 7th Ed*. Lippincott Williams & Wilkins, USA.
- Kain, E.M., Said, S. dan Tappa, B. 2008. Kelahiran anak sapi hasil fertilisasi secara in vitro dengan sperma hasil pemisahan. *Media Peternak*. 31(1):22-28.
- Kusumawati, 2015. *Sexing Spermatozoa Kambing*. Penerbit Media Nusa Creative.

- Kuswahyuni, I. S. 2009. Pengaruh lingkaran skrotum dan volume testis terhadap volume semen dan konsentrasi sperma pejantan simmental, limousin dan brahman. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 157-162. Semarang.
- Landim-Alvarenga, F.C., Graham, J.K., Alvarenga, M.A., Squires, E.L., 2004. Calcium Influx Into Equine and Bovine Spermatozoa During In Vitro Capacitation. *Journal Animal Reproductive* 1(1):96-105.
- Landim, A.F.C, Graham, J.K, Alvarenga, M.A, Squires, E. L., 2004. Calcium influx into equine and bovine spermatozoa during invitro capacitation. *Journal Animal Reproductive*1(1):96-105.
- 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.
- Mardiyah, E. 2006. Pemisahan Sperma Pembawa Kromosom X dan Y Sapi Dengan Kolom Media Pemisah Albumin. *Temu Teknis Nasional Tenaga Fungsional Pertanian* 2006: 225 – 231.
- Muchtadi, T. R., Sugiyono, dan F. Ayustanigwarno. 2010. Ilmu pengetahuan bahan Pangan. Alfabeta. Bogor. ISBN: 978-602-8800-13-6
- Nurhidayah, N., Masriany, M., Mashuri, M., 2013. Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Batang Nanas (*Ananas comosus*) Berdasarkan Variasi pH. *BioGenesis* 1, 116–122.
- Nuraini, A., Setiadi, M.A. dan Ni Wayan, K.K., 2016. Kemampuan fertilisasi spermatozoa *sexing* dan perkembangan awal embrio secara *in vitro* pada Sapi. *Jurnal Sains Veteriner*. 34(2) :225-232.
- Noakes, D.E., T.J. Parkinson, dan G.C.W. England. 2009. *Veterinary reproduction and obstetrics*. Edition 9th. Elsevier Inc. London.
- Pancahastana, H. 1999. Upaya Merubah Sex Rasio Spermatozoa Dengan Melakukan Pemisahan Spermatozoa X dan Y Menggunakan Putih Telur pada Sapi Bali. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Pratiwi, W.C, Affandhy L, Pamungkas D. 2005. Observasi Kualitas Spermatozoa Pejantan Simental dan PO dalam Straw Dingin Setelah Penyimpanan Selama 7 Hari pada Suhu 5° C. Cibinong. Pusat Penelitian Bioteknologi. LIPI. 200-205.

- Pratiwi, W. C., D. Pamungkas, L. Affandhy, dan Hartati. 2006. Evaluasi kualitas spermatozoa pada kemasan straw dingin yang disimpan pada suhu 5°C selama 7 hari. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. pp. 143-150.
- Purwoistri, R.F., Susilawati, T dan Rahayu, S., 2013. Membrane spermatozoa hasil seksing Gradient Albumin Berpengencer Andromed Dan Cauda Epididymal Plasma-2 Ditambah Kuning Telur. *Jurnal Veteriner*. Vol. 14 No. 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.
- Rincker, C.B., Pyatt., N.A, Berger, L.L., Faulkner, D.B., 2006. Relationship among GeneSTAR marbling marker, intramuscular fat deposition, and expected progeny differences in early weaned Simmental steers. *J Anim Sci* 84: 686-693.
- Rizal, M., M. R. Toelihere, T. L. Yusuf, B. Purwantara, dan P. Situmorang. 2003. Karakteristik penampilan reproduksi pejantan domba Garut. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 8: 134-140.
- Rizal, M., Herdis., Boediono, A., Aku, A.S., Yulnawati., 2006. Peranan beberapa jenis gula dalam meningkatkan kualitas semen beku domba Garut. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 11:123-130
- Rizal, M. dan Herdis 2008. *Inseminasi Buatan Pada Domba*. Penerbit Rineka Cipta.
- Roceyana. 2011. Produktivitas Indukan Sapi Simmental pada Umur yang Berbeda dengan Pemeliharaan Intensif (Studi Kasus di Peternakan Roni, Harau, Kabupaten 50 Kota. *Skripsi*. Fakultas peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Safitri, D.H., 2011. Pengaruh Lama Waktu Sentrifugasi Semen Domba Ekor Gemuk terhadap Persentase Kapasitas dan Reaksi Akrosom Spermatozoa. *Artikel Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 1-11.
- Sansone G, Nastri MJF, Fabbrocini A. 2000. Storage of buffalo (Bubalus bubalis) semen. *Anim Reprod Sci* 62: 55-76.
- Septiyani, R. 2012. Hubungan Antara Viabilitas, Motilitas, dan Keutuhan Membran Plasma Spermatozoa Semen Beku Sapi Limousin. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan, IPB. Bogor.

- Sharpe, J.C., K.M, Evans., 2009. Advances in flow cytometry for sperm sexing. *Theriogenology* 71: 4-10.
- 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, Toelihere MR, Boediono A, Tappa B. 2000. Keefektifan Albumin sebagai Media Pemisah Spermatozoa Sapi Pembawa Kromosom X dan Y. *Hayati* : 106-109.
- Salim, M.A., T. Susilawati dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO. *Agripet*. 12: 14-19.
- Sariadi, Dasrul, Akmal, M. 2014. Rasio jenis kelamin kelahiran anak kambing Peranakan Ettawa (PE) hasil inseminasi buatan menggunakan spermatozoa swim up. *Agripet* 14 (2): 132-138.
- Sianturi, R. G., P. Situmorang, E. Triwulaningsih, dan D. A. Kusumaningrum. 2004. Pengaruh isobutil metilixantina (IMX) dan waktu pemisahan terhadap kualitas dan efektifitas pemisahan spermatozoa dengan metode kolom albumin putih telur. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*. 9: 246–251.
- Sianturi, R. G. dan Kusumaningrum, D.A., 2017. Pengaruh waktu pemisahan spermatozoa terhadap kualitas sperma kerbau hasil sexing. *Prosiding Seminar Teknologi dan Agribisnis Peternakan*. Teknologi dan Agribisnis Peternakan untuk Mendukung Ketahanan Pangan, Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman.
- Sujoko, H., Setiadi, M.A. dan Boediono, A. 2009. Seleksi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Jurnal Veteriner*. 10 (3) : 125-132.
- Sugeng, Y.B. 2006. *Sapi Potong*. Cetakan Kelima Belas. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Susilawati, T. 2000., Analisis Membran Spermatozoa Sapi Hasil Filtrasi Sephadexs dan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. *Disertasi*. Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Susilawati, T. 2001. Perubahan Kontrol Sistem Transport Ion Kalsium Spermatozoa Sapi Hasil Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll Pada Proses Seleksi Jenis Kelamin. *JJIP*. 11 (2) :1 -9.

- Susilawati, T. 2002. Sexing spermatozoa kambing Peranakan Etawah menggunakan gradien putih telur. *Jurnal Widya Agrika*. 10 (2): 97-105.
- Susilawati T. 2004. Keberhasilan IB menggunakan semen sexing setelah dibekukan. *Seminar nasional teknologi peternakan dan veteriner* : 199–202.
- Susilowati S, 2007. Peran IGF-I Complex Plasma seminalis kambing terhadap kandungan malondialdehid (MDA) pada spermatozoa hasil sentrifugasi. Penelitian Mandiri.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. UB Press. Malang.
- Susilawati, T. 2014. *Sexing Spermatozoa (Hasil Penelitian Laboratorium dan Aplikasi pada Sapi dan Kambing)*. UB Press. Malang.
- Susilawati, T., Kusumawati, E. D., Isnaini, N., Yekti, A.P.A., Sudarwati, H. dan Ridhowi, A., 2017. Effect of sexing process using percoll density gradien centrifugation and frozen on motility and damage to spermatozoa membrane of filial Ongole. *Animal in Healt Science Research*. 5: 227-231.
- Susilowati, S. 2010. Efek Waktu Sentrifugasi Terhadap Motilitas, Daya Tahan Hidup, dan Tudung Akrosom Spermatozoa Kambing. *Veterinaria Medika*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga, 3(1), 61-63
- Susilowati., Hardijanto, S., Suprayogi, T.W., Sardjito, T., Hernawati, T. 2010. *Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. p11- 24, 29-30.
- Sutovsky, P and G. Munandhar. 2006. *Mammalian spermatogenesis and sperm structure : Anatomoccal and Compartment Analysis in the sperm cell production, maturation, fertilization, regenerations*. Edited by C.J. De Jonge and C.L.R Barrat. Cambridge University Press.
- Solihati, N., Ruhijat, I., Rasad, S.D., Rizal, M., Fitriati, M., 2008. Kualitas spermatozoa cauda epididimis sapi peranakan ongol (PO) dalam pengencer Fsusu, Tris, dan sitrat kuning telur pada penyimpanan 4-5°C. *Anim Prod* 10: 22-29.
- Solihati N, Rasad SD, Yusrina A. 2017. Evaluation the natural proportion of x-y chromosome bearing sperm of west java local ram using morfometric methode. *Proc. International Seminar on Animal Production*. Vol 7. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

- Solihati, N., Rasad, S.D., Hilmia, N., Winangun, K., Toha, Zule, O.V., 2020. Characteristic Several Level of Bovine Serum Albumin (BSA) and Its Combination as Albumin Column for Sperm Sexing. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Virtual*. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran
- Tubman, L.M., Z. Brink, T.K. Suk dan G.E. Seidel. Jr. 2004. Characteristics of Calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cel sorting. *J. Anim. Sci.* 82: 1029–1036.
- Tohamy, M.M. 2012. The mechanisms by which oxidative stress and free radical damage produces male infertility. *Life Science Journal*.9 : 674-688.
- Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Bandung: Angkasa.
- Utomo, B., S. Prawirodigdo, Sarjana, Sutjadmogo. 2006. Perfomans Pedet Sapi Perah Dengan Perlakuan Induk Saat Masa Akhir Kebuntingan. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Verberckmoes, S., Van Soom, A., Dewulf, J., de Kruif, A., 2004. Comparison of Three Diluents for The Storage of Fresh Bovine Semen. *Theriogenology* 42-63.
- Wahjuningsih, S., Susilawati, T., Ihsan, M. N., Busono, W., Isnaini, N. dan. Yekti. A. P. A., 2019. *Teknologi Reproduksi Ternak*. Universitas Brawijaya Press.
- Wibisono, H., 2010. *Atlas Spermatologi Buku-Kedua dari Panduan Laboratorium Andrologi*. Refika Aditama, Bandung
- Wiyanti DB, Isnaini N, Trisunuwati P. 2013. Pengaruh lama simpan semen dalam pengencer NaCl fisiologis pada suhu kamar terhadap kualitas spermatozoa ayam kampung (*Gallus gallus domesticus*). *J Ked Hewan* 7(1): 53-55.
- Yulnawati, Setiadi MA. 2005. Motilitas dan Keutuhan Plasma Spermatozoa Epididimis Kucing Selama Penyimpanan pada suhu 4°C. *Media Kedokteran Hewan* 21(3) : 100- 104.
- Zule, Oktavia., 2019. Identifikasi Sifat-Sifat Fisik Kombinasi Konsentrasi *Bovine Serum Albumin* (BSA) dan Pengaruhnya terhadap Motilitas Sperma Chilled Semen Domba. *Skripsi*. Universitas Padjadjaran. Bandung.