

SKRIPSI

**PENGARUH WAKTU INKUBASI SPERMATOZOA HASIL
SEXING TANPA SENTRIFUGASI DENGAN MEDIA BOVINE
SERUM ALBUMIN TERHADAP ABNORMALITAS DAN
MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) SAPI SIMMENTAL**

***THE EFFECT OF INCUBATION PERIOD ON SEXING
WITHOUT CENTRIFUGATION SPERMATOZOES WITH
BOVINE SERUM ALBUMIN MEDIA TO ABNORMALITY AND
WHOLE PLASMA MEMBRANE SIMMENTAL***



**Joprinus Sinulingga
05041281823015**

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

SUMMARY

JOPRINUS SINULINGGA. The Effect of Incubation period to *Sexing* Without Centrifugation Spermatozoa with Bovine Serum Albumin Media in Abnormalitas and Whole Plasma Membrane Simmental (Supervised by **LANGGENG PRIYANTO**).

One of the more rapid advances in livestock reproductive technology is sperm *sexing*, which can separate X and Y chromosome sperm, which aims to increase reproductive efficiency in running a cattle business. The decrease in the quality of spermatozoa after *sexing* is common due to the centrifugation process. This study was conducted with the aim of conducting an experiment or evaluation of the 5-10% albumin column *sexing* method with different incubation times and not using the centrifugation process to improve the quality of spermatozoa. This research was conducted from August to October 2021 at the Sembawa Animal Feed Forage Nursery (BP-HPT) Sembawa Banyuasin, South Sumatra. The material used in this study was fresh semen of Simmental cattle which was treated with incubation time, namely P1 = incubation time of 40 minutes, P2 = incubation time of 50 minutes, P3 = incubation time of 60 minutes, repeated 4 times. The design used in this study was a Completely Randomized Design (CRD) and Duncan's Range Test (DMRT) follow-up test, the parameters observed were abnormality before clotting, abnormality after clotting and Intact Plasma membrane. The result of this study showed that according to a completely randomized design test (CRD) abnormality and intact plasma membrane had no significant effect ($p > 0,05$), an increase in abnormality after clotting was quite high, where the percentage exceeded 20% in each treatment.

Key words : BSA (Bovine Serum Albumin), bovine spermatozoa *sexing*, incubation period of *sexing*, abnormality spermatozoa, Membrane plasma.

RINGKASAN

JOPRINUS SINULINGGA. Pengaruh Waktu Inkubasi Spermatozoa Hasil *Sexing* Tanpa Sentrifugasi Dengan Media Bovine Serum Albumin (BSA) Terhadap Abnormalitas dan Membran Plasma Utuh (MPU) Sapi Simmental (Dibimbing oleh LANGGENG PRIYANTO).

Semakin cepatnya kemajuan teknologi reproduksi Ternak yang ada salah satunya adalah *sexing* spermatozoa yang dapat memisahkan sperma kromosom X dan Y yang bertujuan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi dalam menjalan usaha ternak sapi. Penurunan kualitas spermatozoa setelah *sexing* umum terjadi karena proses sentrifugasi. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan melakukan percobaan atau evaluasi pada metode *sexing* kolom albumin 5-10% dengan waktu inkubasi yang berbeda dan tidak melakukannya proses sentrifugasi untuk meningkatkan kualitas spermatozoa. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus sampai Oktober 2021 di Balai Pembibitan Hijauan Pakan Ternak (BP-HPT) Sembawa Banyuasin Sumatera Selatan. Materi yang digunakan pada penelitian ini yaitu semen segar sapi jenis Simmental yang diberi perlakuan waktu inkubasi yaitu P1= waktu inkubasi 40 menit, P2 = waktu inkubasi 50 menit, P3 = waktu inkubasi 60 menit di ulang sebanyak 4×. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan uji lanjut Duncant's Multi Range Test (DMRT), parameter yang diamati adalah abnormalitas sebelum pembekuan, abnormalitas setelah pembekuan dan membran plasma utuh (MPU). Hasil penelitan ini menunjukkan bahwa sesua uji rancangan acak lengkap (RAL) abnormalitas dan MPU tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$), terjadi peningkatan pada abnormalitas setelah pembekuan yang cukup tinggi, dimana persentasenya melebihi 20% pada setiap perlakuan.

Kata kunci : BSA (Bovine Serum Albumin), *Sexing* spermatozoa sapi, Abnormalitas spermatozoa, Membran Plasma Utuh (MPU), Waktu Inkubasi.

SKRIPSI

PENGARUH WAKTU INKUBASI SPERMATOZOA HASIL *SEXING* TANPA SENTRIFUGASI DENGAN MEDIA BOVINE SERUM ALBUMIN TERHADAP ABNORMALITAS DAN MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) SAPI SIMMENTAL

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



Joprinus Sinulingga
05041281823015

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

LEMBAR PENGESAHAN
PENGARUH WAKTU INKUBASI SPERMATOZOA HASIL
SEXING TANPA SENTRIFUGASI DENGAN MEDIA BOVINE
SERUM ALBUMIN TERHADAP ABNORMALITAS DAN
MEMBRAN PLASMA UTUH (MPU) SAPI SIMMENTAL

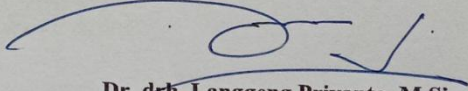
SKRIPSI

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

Oleh:

Joprinus Sinlingga
05041281823015

Indralaya, 05 Januari 2023
Pembimbing


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

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian

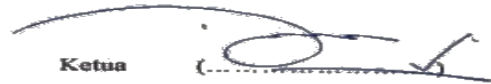

Prof. Ir. A. Muslim, M. Agr.
NIP. 196412291990011001

Skripsi dengan judul "Pengaruh Waktu Inkubasi Spermatozoa Hasil Sexing Tanpa Sentrifugasi Dengan Media Bovine Serum Albumin (BSA) Terhadap Abnormalitas dan Membran Plasma Uterus (MPU) Sapi Simmental" oleh Joprinus Sinulingga telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 2022 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

Komisi Penguji

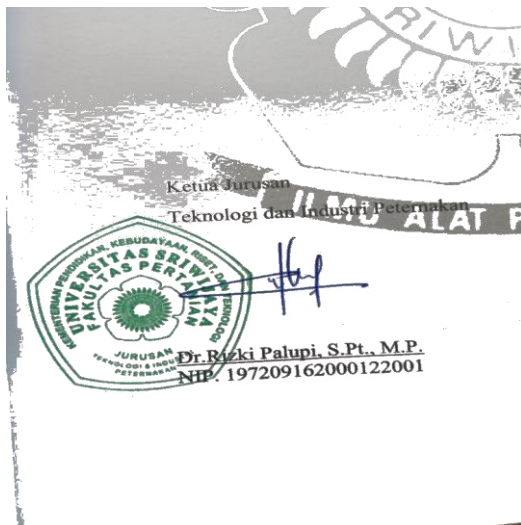
1. Dr. drh. Langgeng Priyanto., M.Si.
NIP 1974031620091210001

Ketua



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

Anggota



Indralaya, ... Januari 2023
Koordinator Program Studi Peternakan

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

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Joprinus Sinulingga
NIM : 05041281823015
Judul : Pengaruh Waktu Inkubasi Spermatozoa Hasil *Sexing* Dengan Media Bovine Serum Albumin (BSA) Terhadap Abnormalitas dan Membran Plasma Utuh (MPU) 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, 5 Januari 2023
Yang membuat Pernyataan



Joprinus Sinulingga

RIWAYAT HIDUP

Joprinus Sinulingga atau bias dipanggil nama Joprinus dilahirkan pada tanggal 02 Januari 2000 di Kabanjahe, Kabupaten Karo, Provinsi Sumatera Utara. Penulis merupakan anak ke empat dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Ridwan Sinulingga dengan Ibu Herlina Br Sembiring yang berasal dari Desa Lingga, Kecamatan Simpang Empat, Kabupaten Karo, Provinsi Sumatera Utara.

Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SDN 044832 Lingga pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama Swasta GBKP Kabanjahe pada tahun 2015 dan Sekolah Menengah Atas GBKP pada tahun 2018. Pada tahun 2018 penulis tercatat sebagai Mahasiswa Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negri (SBMPTN).

Tahun 2018 penulis masuk sebagai Anggota aktif Himpunan Mahasiswa Peternakan Universitas Sriwijaya (HIMAPETRI) dan Mahasiswa Karo Sriwijaya (MAKASRI). Tahun 2019 dipercayakan masuk kepengurusan MAKASRI di bidang keanggotanan Dana dan Usaha dan pada tahun 2020 dipercayakan sebagai Ketua Badan Pengurus Harian (BPH) Mahasiswa Karo Sriwijaya (MAKASRI).

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa yang telah memberikan limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul. “ Pengaruh Waktu Inkubasi Spermatozoa Hasil Sexign dengan Media Bovine Serum Albumin Terhadap Abnormalitas dan Membran Plasma Utuh (MPU) 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 Arfan Abrar, S.Pt., M.Si., Ph.D. sebagai dosen penguji yang telah memberikan arahan dan masukkan dalam menyelesaikan skripsi. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ketua program Studi Peternakan Ibu Dr. Rizki Palupi, S.Pt., M.P. 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 Ridwan Sinulingga dan Ibu Herlina Br Sembiring yang telah memberikan doa, dorongan semangat, bantuan baik moril maupun materil dan dukungannya kepada penulis. Ucapan terimakasih juga yang sangat dalam kepada abang saya Jupenti Sinulingga dan Ramadanta sinulingga serta kakak saya Lusi Aprita Br Sinulingga telah memberi dukungan kepada saya baik dalam kata kata maupun materi serta telah membantu kedua orang tua di kampung. Ucapan terima kasih juga kepada saudara-saudara saya SAIMARA yang telah mendukung, membantu dan menjaga saya di perantauan. Saya juga mengucapkan banyak terima kasih kepada teman satu penelitian ini yang telah membantu membimbing dan telah melakukan kerja sama dengan baik sebagai tim penelitian ini.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan.....	2
1.3. Hipotesa Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Sapi Simmental.....	4
2.2. Spermatozoa sapi.....	4
2.3. <i>Sexing</i> Spermatozoa.....	5
2.4. BSA(<i>Bovine Serum Albumin</i>).....	6
2.5. Uji Makrikopis (Volume, Warna dan pH).....	8
2.6. Uji mikroskopis	8
2.7. Membran Plasma Utuh (MPU).....	10
2.8. Abnormalitas	10
2.9. Pengencer Tris Kuning Telur (TKT)	10
2.10. Pembekuan Semen Sapi.....	11
BAB 3. PELAKSANAAN PENELITIAN.....	13
3.1. Tempat dan Waktu.....	13
3.2. Materi dan Metode.....	13
3.3. Metode Penelitian	13
3.3.1. Parameter yang Diamati	14
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	14
3.4.1. Penampungan Semen	14
3.4.2. Evaluasi Semen Segar	14
3.4.2.1. Uji Makroskopis	15
3.4.2.2. Uji mikroskopis	15
3.4.3. Pembuatan Pengencer Tris Kuning Telur	17
3.4.4. Pengemasan	17
3.4.5. Ekuibrasi.....	17
3.4.6. Pembekuan Semen	18
3.4.7. Thawing.....	18
3.5. Analisis Data.....	18
3.6. Alur Penelitian	19
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20

4.1. Abnormalitas X dan Y semen *sexing* Sebelum Pembekuan..... 20

4.1.1. Abnormalitas Semen Y sebelum Pembekuan.....	21
4.1.2. Abnormalitas semen X Sebelum Pembekuan.....	22
4.2. Abnormalitas Semen X dan Y Setelah Pembekuan.....	23
4.2.1. Abnormalitas Semen X Setelah Pembekuan	23
4.2.2. Abnormalitas semen Y setelah Pembekuan.....	24
4.3. Membran Plasma Utuh (MPU) X dan Y semen Tanpa Sentrifugasi.....	25
4.3.1. Membran Plasma Utuh (MPU) X Spermatozoa Tanpa Sentrifugasi	26
4.3.2. Membran Plasma Utuh (MPU) Y Spermatozoa Tanpa Sentrifugasi	27
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	31
5.1. Kesimpulan.....	31
5.2. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel. 4.1.	Nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa lapisan atas (X) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi sebelum pembekuan	2
	1	
Tabel. 4.2.	Nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa lapisan atas (Y) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi sebelum pembekuan	2
	2	
Tabel. 4.3.	Nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa lapisan atas (X) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi setelah pembekuan	2
	3	
Tabel. 4.4.	Nilai rata-rata abnormalitas spermatozoa lapisan atas (Y) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi setelah pembekuan	2
	4	
Tabel. 4.5.	Nilai rata-rata Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa lapisan atas (X) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi	2
	6	
Tabel. 4.6.	Nilai rata-rata Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa lapisan atas (Y) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi	2
	8	

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Nilai rataan abnormalitas spermatozoa lapisan atas (X) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi sebelum pembekuan	34
Lampiran 2. Nilai rataan abnormalitas spermatozoa lapisan atas (Y) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi sebelum pembekuan	35
Lampiran 3. Nilai rataan abnormalitas spermatozoa lapisan atas (X) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi setelah pembekuan	37
Lampiran 4. Nilai rataan abnormalitas spermatozoa lapisan atas (Y) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi setelah pembekuan	38
Lampiran 5. Nilai rataan Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa lapisan atas (X) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi	39
Lampiran 6. Nilai rataan Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa lapisan atas (Y) Sapi Simmental tanpa sentrifugasi	41
Lampiran 7. Penampungan Semen Segar Sapi Simmental	42
Lampiran 8. Pembuatan Larutan BSA dan Pengencer TKT	43
Lampiran 9. Pengamatan Abnormalitas dan MPU	44

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sapi Simmental merupakan sapi yang banyak diminati oleh peternak karena mempunyai daya tarik tersendiri. Sapi ini memiliki manfaat ganda yaitu penghasil susu dan daging dengan baik. Pengembangan Sapi Simmental saat ini sebagian besar cenderung menggunakan IB (Inseminasi Buatan) dengan semen beku. Sapi Simmental dapat difungsikan sebagai sapi potong dan sapi penghasil susu dimana Sapi Simmental memiliki persentasi karkas yang cukup tinggi yang dapat menghasilkan pertambahan bobot badan 0,6 sampai 1,5 kg per hari (Yunus, 2014). Ciri dari Sapi Simmental memiliki warna coklat kemerahan disertai dengan warna putih di bagian wajah, bagian lutut kaki kebawah, dan dada serta sebagian memiliki tanduk kecil atau tidak bertanduk.

Peningkatan efisien usaha peternakan baik dalam skala peternakan rakyat maupun komersial banyak menggunakan program IB (Inseminasi Buatan). Program IB yang diselenggarakan dapat didukung dengan memanfaatkan *sexing* dimana *sexing* merupakan teknologi pemisahan spermatozoa X dengan Y yang memudahkan pengaplikasian menentukan anak sapi dengan jenis kelamin tertentu. *Sexing* memiliki berbagai macam metode yang telah diaplikasikan kepada ternak antara lain yaitu metode filtrasi dengan *sephadex column*, *albumin column*, sedimentasi, elektroforesis, sentrifugasi gradient densitas percoll, *flow cytometri* dan H-Y antigen (Hafez dan Hafez, 2008)

mencatat bahwa jenis kelamin keturunan yang dilahirkan oleh pejantan dan betina hewan, ditentukan oleh kromosom sel spermatozoa X dan Y. Masing-masing sel ini membawa struktur DNA dan informasi dalam membedakan jenis kelamin pejantan dan betina. Sel spermatozoa dengan kromosom X menghasilkan embrio betina sedangkan kromosom Y menghasilkan embrio jantan. Kromosom Y memiliki *sex Determining region Y (SRY)* Gen yang menjadi penentu dalam pembentukan testis pada hewan jantan (Bianchi, 1991 dan Graves, 1994).

Dalam melakukan *sexing* memerlukan pengencer terhadap semen yang memiliki fungsi sangat penting dimana pengencer berfungsi untuk menyediakan

nutrisi, bersifat sebagai buffer untuk mempertahankan pH, tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit dalam melindungi spermatozoa. Hal utama yang harus dipenuhi oleh pengencer adalah dapat mensuplai nutrisi seperti fruktosa dan glukosa bagi spermatozoa sebagai penghasil energi, selain itu juga mampu untuk mempertahankan dari kejutan dingin (*Cold shock*) sehingga dapat mempertahankan kualitas dari spermatozo. Sangat penting mengetahui kualitas semen sebelum melakukan IB karena dapat memperkirakan sejauh mana daya tahan hidup dan fertilisasi dari spermatozoa didalam saluran reproduksi sapi betina (Tamyadi, 2021).

Beberapa factor yang dapat mempengaruhi keberhasilan proses *sexing* terhadap spermatozoa, salah satu factor yang mempengaruhi yang mempengaruhi proses *sexing* adalah proses inkubasi. Waktu inkubasi dapat mempengaruhi morfologi yang kurang akurat terhadap spermatozoa X dan Y apabila waktu inkubasi terlalu singkat, sedangkan dapat menyebabkan peningkatan kerusakan apabila waktu inkubasi terlalu lama sehingga kualitas penurunan kualitas terhadap spermatozoa. Proses inkubasi menyebabkan terjainya proses kimiawi yang dapat merusak plasma spermatozoa (Yusrina *et al*, 2018).

Penelitian ini menggunakan media *bovine serum albumin* (BSA) dengan konsentrasi berbeda, dimana masing masing konsentrasi yang digunakan BSa 5% dan 10% dimana BSa 10% dibagian bawah dan di ikuti BSA 5% diatasnya dan menambahkan spermatozoa 2ml diatasnya yang akan berenang kebawah menembus tiap konsentrasi sehingga memisahkan spermatozoa X dan Y. Diharapkan BSA dapat menyeleksi jenis kelamin spermatozoa dan dapat memisahkan antara plasma semen dengan spermatozoa.

Penelitian ini ditujukan untuk dapat mengetahui pengaruh lama waktu inkubasi terhadap Abnormalitas dan kualitas Membran Plasma Utuh (MPU) spermatozoa Sapi Simmental hasil *sexing*, sehingga hasil yang didapatkan dari proses *sexing* tidak hanya menentukan jenis kelamin pada ternak Sapi Simmental. Diharapkan hasil *sexing* dapat menjaga kemampuan fertilisasi yang baik.

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu inkubasi terhadap Abnormalitas dan Membran Plasma Utuh Spermatozoa X dan Y hasil pemisahan menggunakan gradien *bovine serum albumin* (BSA) tanpa Sentrifugasi.

1.3. Hipotesa

Diduga pengaruh waktu inkubasi hasil *sexing* metode BSA (*bovine serum albumin*) tanpa sentrifugasi dapat mempengaruhi Abnormalitas dan Membran Plasma Utuh spermatozoa X dan Y.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandhy, L., 2003. Pengaruh penambahan kolesterol dan kuning telur di dalam bahan pengencer tris-sitrat dan air kelapa muda terhadap kualitas semen cair sapi potong. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 77-83. Bogor.
- Afiati, F. 2010. Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y Hasil Sparasi Kolom Albumin. *Media Peternakan*, 27, 5.
- Anwar., Nurcholidah, S., dan Siti, D.R., 2019. Pengaruh medium dan lama inkubasi dalam proses *sexing* spermatozoa terhadap kualitas semen kambing Boer. *Jurnal Ilmu Ternak*. 19(1):53-61.
- Ax, R.L, Dally, M., Didion, B.A., Lenz, R.W., Love, CC., Verner, D.D, Havez, B. dan Berllin M.E., 2008. Semen Evaluation in Farm Animal Reproduction ed By Haves ESE. 7th *LeaFebiger*
- Beran, J., L. Stadnik.,J. Duchacek., R.Tausova., F. Lauda and L. Stolc 2011. Effect of Bull's Breed, Age and Body Codition Score on Quantitative and Qualitative Traits off Their Semen. *ACTA Universitas Agriculture et Silviculturae Mendelianae*. 59(6):37-44
- Bhalakiya, N., Chaudhari, A., Patel, P., Haque, N., Patel, G., Madhavatar, M., *et al.* 2018. Sperm *Sexing* and its Application in Livestock Sector. *Internatonal Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*(7), 14.
- Bianchi, N. O. 1991. Sex Determination in Mammals. How Many Genes Are Involved? *Biologi of reproduction*, 44, 5.
- D. Carvalho, A. R.-G. 2014, December 1. Offshore wind energy resource simulation forced by different reanalyses: Comparison with observed data in the Iberian Peninsula. *Applied Energy*, 134, 9.
- Ditjennak. 2000. Petunjuk teknis pengawasan mutu bibit ternak direktorat pembibitan. *Dapartemen pertanian*. Jakarta.
- Ericson, R.J. Langevind, C.N. and Nishino,M.1973, Isolation of fractions rich in human Y Sperm. *Nature*, 246: 421 - 424.
- Feradis. 2010. *Bioteknologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Alfabet.

- Graves, J. 1994. *Mammalian Sex Determining Genes in the Differences Between The sexes*. (R. Short, & E. Balaban, Penyunt.) Cambridge University Press.
- Hafez, D. G. 2000. Spermatozoa and Seminal Plasma in Reproduction in Farm Animal. (E. Hafez, Penyunt.) *Lippincott Williams and Wilkins*, 96-109.
- Hafez, E., & Hafez, B. 2008. X and Y Chromosom Bearing Spermatozoa in Reproduction in Farm Animal. *lippincott and wikins*. Philadelphia: Hafez and Hafez.
- Jaswandi. 1992. *Penggunaan Lapisan Suspensi Bovine Serum Albumin (BSA) 6% dan 10% Dalam Kolom Untuk Memisahkan Spermatozoa Sapi Pembawa Kromosom X dan Y Guna Mengubah Rasio Seks Pada Pedet*. Tesis. Prog Pasca Sarjana Institute Pertanian Bogor.
- Jeyendra, R.S, Van der Ven, H.H, Perez-peleaz, M., Crabo, B.G., Zaneveld, L.J., 1984. Developmen of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristic. *J. Reprod. Fertil* 70: 219-228.
- Kaiin, E., Gunawan, M, M., Said, S. dan Tappa, B. 2004. Fertilisasi dan Perkembangan Oosit Hasil IVF Dengan Spermatozoa Hasil Pemisahan *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*: 21-25. Bogor.
- Landim, A.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]:96-105.
- Lindsay, D.R., Entwistel, K.W. dan Winantea, A ., 1982. *Reprodusion in Domestic Livestock in Indonesia*. Australia Qniversity. Queensland.
- Mishra, C., Palai, T. K., Sarangi, L. N., Prusty, B. R., dan Maharana, B. R. 2013. Candidate gene markers for sperm quality and fertility in bulls. *Veterinary World*. (6). 905–910.
- Nurcholidah Solihat, S. D. 2019, Desember. Quality anf Longevity of Local Ram's Sexed Sperm with Albumin Coloms. *Jurnal Ilmu ternak*, 8.
- Purnama Yulianto, C. S. 2010. *PEMBESARAN SAPI POTONG SECARA INTENSIF*. Jakarta: Penebar swadaya.
- Rothe, N.H.I., 2003. Insemination of cryopreserved bull semen portions with sperm numbers after dilution with two egg yolk-free extenders. *Prossiding. European AI Vest Meeting Cattle Session; Budapest (Hungry)*.14-23.

- Saili, T., Toelihere, M. R., & Tappa, A. B. 2000. *Effectivity of Albumen as Separation Media for X and Y Chromosome-Bearing Bovine Spermatozoa* (Vol. 7). Kendari: Hayati.
- Susilawati, Hardijanto, S., Suprayogi, T. W., Sardjito, T. dan Hernawati, T. 2010. *Penuntun Praktikum Inseminasi Buatan*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Malang: UB Press.
- Susilawati, T. 2011. *SPERMATOLOGY*. Malang: Universitas Brawijaya Press (UB Press).
- Susilawati, T. 2014. *Sexing Spermatozoa Hasil Penelitian Laboratorium dan Aplikasi pada Sapi dan Kambing*. Malang: UB Press.
- Suyadi, S. 1992. *Pengantar Fisiologi reproduksi*. Malang: LUW Animal Hisbandry Project Universitas Brawijaya.
- Tamyadi, A. a. 2021, Agustus 16. Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Persentase Membran Plasma utuh (MPU) dan Tudung Akrosom Utuh (TAU) Spermatozoa Sapi Bali Hasil *Sexing*. Universitas Hasanuddin.
- Toelihere, M. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung: Angkasa.
- Toelihere, M. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Bandung: Angkasa.
- Trinil Susilawati, A. P. 2018. *Teknologi inseminasi buatan : menggunakan semen cair (liquid semen) / Trinil Susilawati, Aulia Puspita Anugra Yekti*. Malang: UB Press.
- Yunus, A. 2014. *Sukses Usaha Pembibitan Sapi dan Kambing*. (Flo, Penyunt.) Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Yusrina, H. Yamtinah, S., & P., R. 2018. Implementation of Thematic Learning on Curriculum 2013 in 4th Grade. *International Journal of Pedagogy and Teacher Education (IJPTE)*, 2, 9-18.