

**PROPORSI DAN KUALITAS SPERMATOZOA SAPI BALI HASIL SEPARASI
DALAM KOLOM ALBUMIN BSA (*Bovine Serum Albumin*)**

NI MADE ANDRY KARTIKA

Fakultas Peternakan Univ. Nahdlatun Wathan Mataram

e-mail : andry.kartika@ymail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui separasi dengan metode kolom albumin BSA dapat memisahkan kromosom X dan Y dengan tingkat proporsi dan kualitas yang diharapkan. Penampungan dilakukan 1 kali setiap minggu dan diulang sebanyak 5 kali. Metode yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode kolom albumin BSA dapat memisahkan kromosom X dan kromosom Y dengan proporsi sperma setelah separasi sebesar 56.98 % untuk lapisan atas (X) dan 43.015 % untuk lapisan bawah (Y). Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas setelah Separasi BSA menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$) pada lapisan atas dan lapisan bawah. Selain itu motilitas dan daya hidup spermatozoa tertinggi pada lapisan bawah (Y) yaitu sebesar 70 % dan 78 %.

Kata kunci : Spermatozoa, sapi Bali, separasi.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Program sejuta sapi yang telah menjadi unggulan NTB sampai saat ini masih terus digalakkan. Berbagai upaya terus dilakukan untuk mendukung tercapainya program bumi sejuta sapi (BSS), baik dalam bidang pakan, manajemen dan reproduksinya. Inseminasi buatan (IB) adalah suatu teknologi mutakhir yang dapat digunakan untuk meningkatkan produktivitas dan reproduktivitas sapi dalam mengatasi tuntutan kebutuhan daging yang terus meningkat dari tahun ke tahun (Hardijanto *et al.*, 2010). Inseminasi buatan dapat dilakukan dengan menggunakan sperma cair maupun sperma beku yang telah dicairkan kembali (*thawing*).

Untuk menunjang kebutuhan pasar khususnya dalam menunjang program BSS produksi pejantan lebih dicari, hal ini sendiri berkaitan erat dengan kebutuhan daging nasional di Indonesia. Solusinya dengan melakukan IB menggunakan sperma yang sudah dipisahkan. Pemisahan sperma penting dilakukan, karena secara genetik sperma memberikan pengaruh kelamin pada keturunannya. Kromosom yang terkandung didalam spermatozoa adalah kromosom X dan Y, sedangkan untuk oosit sel telur hanya membawa kromosom ganda X. Pemisahan atau separasi spermatozoa X dan Y merupakan salah satu teknologi yang selama ini dikembangkan terutama untuk menunjang IB.

Perbedaan potensial antara spermatozoa berkromosom X dan Y adalah kontribusi dari kromosom seksnya (Gordon, 1997). Spermatozoa X mengandung kromatin lebih banyak pada bagian kepala sehingga ukuran dan berat kepala spermatozoa X lebih besar dibandingkan spermatozoa Y. Perbedaan ini mengakibatkan motilitas spermatozoa X lebih lambat dari pada spermatozoa Y (Check *et al.*, 1998). Sementara itu, spermatozoa pembawa kromosom X dan Y juga mempunyai perbedaan dalam hal besar, berat, pergerakan, muatan permukaan dan kandungan biokimia spermatozoa.

Pemisahan atau separasi umumnya menggunakan metode *flow cytometry*, namun di Indonesia alat pemisah DNA ini belum ada dan mahal. Untuknya, tidak sedikit pula para peneliti menggunakan metode – metode yang umum seperti metode sedimentasi, imunologi, elektroforesis dan metode filtrasi (Saili *et al.*, 1998). Salah satu metode yang dianggap baik untuk memisahkan sperma sapi adalah metode pemisahan dengan menggunakan kolom albumin (*Bovine Serum Albumin*, BSA) yang menghasilkan 75–80% sperma Y. Penggunaan metode pemisahan dengan kolom albumin ini menghasilkan pemisahan terbaik untuk sperma sapi dan manusia (Hafez, 1993). Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian Proporsi dan Kualitas Spermatozoa Sapi Bali Hasil Separasi dalam Kolom Albumin BSA (*Bovine Serum Albumin*).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan April – Juni 2015 di Laboratorium Imonologi MIPA UNRAM. Penelitian ini menggunakan Bahan sperma segar sapi Bali dengan 5 kali ulangan yang ditampung dari BIB milik Dinas Peternakan NTB setiap minggunya dengan menggunakan vagina buatan. Metode yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan level perlakuan yang digunakan adalah lapisan atas (LA) dan lapisan bawah (LB).

Data yang di peroleh dianalisis menggunakan *Analisis Varians* (ANOVA) dan hasil analisis yang berbeda nyata ($P < 0,05$) diuji lanjut dengan uji Duncan's.

Sebagai media Separasi digunakan media EBSS dan BSA. Media EBSS sendiri dibuat dari metode Yuliani (2002) terdiri dari BSA, EBSS, pyrovid acid dan FCS (fetal calf serum). Metode separasi yang digunakan adalah dengan menggunakan metode kolom albumen BSA.

Penilaian Kualitas Sperma yang dievaluasi yang diamati terdiri dari Variabel pokok dan variable penunjang. Variable pokok terdiri dari ukuran sperma X dan Y, progresif motilitas, viabilitas, abnormalitas. Sementara untuk variabel penunjang meliputi, bau, Warna sperma, Volume sperma, Kekentalan, Motilitas masa dan pH.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penilaian Sperma Secara Makrokopis Dan Mikrokopis

Penilaian spermatozoa segar dilakukan dengan memeriksa volume, warna, bau, konsistensi, pH, konsentrasi, motilitas massa dan motilitas individu. Adapun hasil pemeriksaan sperma segar sapi Bali selama 5 kali penampungan diperoleh sebagai berikut:

Tabel 1 Rataan Hasil Pemeriksaan Sperma Segar Secara Makroskopis Dan Mikrokopis.

Makrokopis	Referensi	Rata – rata
Volume	4.94 ± 1.24 ^a	8,5 ± 3,9
Warna	Putih susu ^{a b}	Putih susu
Bau	Khas ^{a b}	Khas sperma
pH	7 ^{c d}	7
Konsistensi	Kental ^c	Pekat/kental
Mikrokopis		
Motilitas massa	+++ ^b	+++
Motilitas individu(%)	80 ± 0.00 ^b 78.9±2.8 ^c	75 ± 5
Konsentrasi (x 10 ⁶ /ml sperma)	2077 ± 255 ^b 1000 – 3600 ^e	1846 ± 417

Sumber : Data Primer Diolah 2015

Keterangan:

- a. Sianturi *et al.*, (2004),
- b. Burhan (2013)
- c. Sails *et al.*, (2000)
- d. Ridwan (2009)
- e. Partodihardjo (1992)

Dari data mikrokopis dan makrokopis terlihat jelas hasil dari sperma segar dalam kondisi baik. Bahkan volume rata – rata yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan hasil dari Sianturi (2004), yaitu 8,5 ml. Volume sperma sapi Bali setiap penampungan dapat bervariasi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain umur sapi, besar tubuh, status kesehatan, status reproduksi, kualitas makanan dan penampungan (Partodihardjo,1992).

Warna dan bau hasil dari pengamatan sperma segar sapi bali ini juga menunjukkan hasil yang baik yaitu warna putih susu dengan bau khas sperma, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sianturi *et al.* (2004) dan Burhan (2013). Seperti yang diketahui, sperma yang kualitasnya bagus umumnya berwarna keputih – putihan atau hampir sama seperti susu, dengan derajat kekeruhan tergantung pada konsentrasi spermatozoa (Rusdin, 2006). Bau dari sperma juga dapat jelas diketahui sesuai warna yang terlihat. Jika berwarna krem

keputih – putihan maka baunya kas sperma (spesifik), sedangkan jika warna sperma kuning bau sperma akan sangat amis yang mengidentifikasi bahwa sperma tersebut mengandung bakteri dan tidak sehat (Kartika, 2012).

Drajat keasaman (pH) dari hasil 5 kali pengamatan dapat diperoleh rata – rata pH sperma segar sapi Bali adalah 7. Hal ini sama dengan hasil yang diperoleh Saili *et al.* (2000) dan Ridwan (2009) yang menyatakan pH maksimal 7 atau cenderung kearah basa dengan variasi 6,5 – 6,9. Kondisi drajat keasaman (pH) yang tidak normal akan mempengaruhi proses metabolisme sperma itu sendiri. Dengan kata lain, semakin tinggi metabolisme dalam sperma maka drajat keasaman sperma akan semakin asam, sebaliknya semakin sedikit proses metabolisme maka drajat keasaman sperma menjadi semakin basa. Hal ini disebabkan oleh asam laktat di dalam glikolisis yang mengalami penumpukan. Sehingga daya tahan hidup sperma juga sangat dipengaruhi oleh keadaan pH sperma itu sendiri.

Konsistensi sperma sapi bali saat penelitian sama dengan hasil penelitian dari Sailiet *al.* (2000) yaitu kental atau pekat. Tingkat kekentalan dari sperma yang berbeda - beda pada saat penampungan juga menjadi salah satu dasar untuk memperkirakan konsentrasi spermatozoa. Rata – rata konsentrasi spermatozoa yang diperoleh adalah 1846×10^6 /ml sperma, hasil ini masih normal sesuai dari yang disampaikan Partodihardjo (1992) dimana konsentrasi sperma yang baik diantara $1000 - 3600 \times 10^6$ /ml sperma. Tetapi jika melihat hasil yang diperoleh Burhan (2013) konsentrasi sperma sapi bali lebih besar yaitu 2077×10^6 /ml sperma. Konsentrasi yang terlalu padat, akan membuat spermatozoa berkompetisi untuk mendapatkan makanan sehingga, penambahan pengencer sangat penting untuk meningkatkan motilitas hidup spermatozoa (Kartika, 2012).

Burhan (2013) mengungkapkan bahwa spermatozoa mempunyai kecenderungan untuk bergerak bersama - sama dalam kelompok (motilitas massa), sehingga akan membentuk gelombang - gelombang tebal dan tipis. Sementara itu juga, dengan pembesaran tertentu, spermatozoa yang terlihat bergerak aktif kedepan merupakan ciri motilitas individu yang bagus. Adapun hasil rata – rata gerakan massa sapi bali yang diperoleh adalah sangat baik (+++) dengan rata - rata motilitas individu yang diperoleh adalah sebesar 75%. Hal ini tidak berbeda jauh dari hasil yang diperoleh Burhan (2013) dan Saili (2000).

Pengukuran Spermatozoa X dan Y

Salah satu cara untuk memprediksi spermatozoa X dan spermatozoa Y adalah melalui evaluasi secara morfometrik, yaitu mengukur bagian panjang ekor, panjang kepala dan lebar kepala spermatozoa.

Tabel 2 rata – rata pengukuran hasil separasi X dan Y selama 5 kali ulangan.

Parameter	Lapisan atas (X)	Referensi LA	Lapisan bawah (Y)	Referensi LB
Panjang ekor(µm)	46.6±2.92	57.2±8 ^a	47.2± 1.44	56.9±5.2 ^a
Panjang kepala(µm)	7.1±0.26	9.1±0.6 ^a 9,6 ± 0,5 ^c	7.0± 0.32	8.0±0.42 ^a 9,1 ± 0,7 ^c
Lebar ekor(µm)	3.6±0.14	4.6±0.4 ^a 5,4 ± 0,5 ^c	3.5± 0.13	4.3±0.3 ^a 5,1 ± 0,4 ^c
Panjang *Lebar kepala(µm)	25.7±0.03	41.86±0.24 ^a 51.8±0.25 ^c 28,7 ± 2,7 ^c	24.5±0.04	34.4±0.12 ^a 46.4±0.28 ^c 22,2 ± 2,3 ^c
Kecepatan sperma (mm/menit)	2.07±0.31	1.6±0.29 ^d	1.7±0.4	1.9±0.31 ^d
Konsentrasi (x 10 ⁶ ml/sperma)	284 ± 49.79	195 ±13.8 ^a 350 ± 260.8 ^b	212 ± 13.04	175 ±53.9 ^a 275 ± 198.9 ^b
Proporsi sperma (%)	56.98 ± 4.056	60±0.4 ^a 57 ^c	43.02 ± 4.056	40±0.3 ^a 43 ^c

Sumber : Data Primer Diolah 2015

Keterangan : Burhan (2013) ^a, Siantauri *et al.* (2007) ^b, Afianti (2004) ^c, Hulfah (2012)^d, Parwati *et al.* (2006)^e

Tabel 2 di atas menunjukkan hasil pengukuran untuk panjang ekor, panjang kepala dan lebar kepala pada lapisan atas dan lapisan bawah lebih kecil dibandingkan hasil yang diperoleh Burhan (2013). Mahaputra (1993) menyatakan bahwa, jika dalam seratus hitungan spermatozoa dari preparat ulas yang mewakili tiap-tiap perlakuan terdapat spermatozoa dengan ukuran panjang kali lebar kepala lebih besar atau

sama dengan nilai rataan kontrolnya, maka dikatakan spermatozoanya berkromosom seks X, sedangkan yang lebih kecil dari nilai rataan kontrolnya dikatakan spermatozoanya berkromosom seks Y.

Panjang ekor spermatozoa lapisan bawah (47.2 ± 1.44) lebih tinggi dibanding panjang ekor lapisan atas (46.6 ± 2.92). Hasil ini berbanding terbalik dengan hasil yang diperoleh Burhan (2013) dengan nilai panjang lapisan atas (57.2 ± 8) lebih besar daripada lapisan bawahnya (56.9 ± 5.2). Hasil ini sendiri masih tergolong normal karena masih berkisar diantara rata – rata panjang anatomi sperma yaitu 50-55 μm (Toelihere (1985); Hulfah (2012)).

Panjang kepala dan lebar kepala pada lapisan atas lebih kecil dari hasil yang diperoleh Burhan (2013). Rata – rata panjang dan lebar kepala spermatozoa pada lapisan atas adalah 7.1 ± 0.26 dan 3.6 ± 0.14 . Sementara itu, untuk rata – rata panjang dan lebar kepala spermatozoa lapisan bawah adalah 7.0 ± 0.32 dan 3.5 ± 0.13 . Hasil ini juga lebih kecil dari hasil yang diperoleh Burhan (2013). Jika dilihat hasil ini ukuran panjang kali lebarnya yang diperoleh untuk fraksi atas 25.7 ± 0.03 dan fraksi bawah 24.5 ± 0.04 lebih kecil dari yang diungkapkan Toelihere (1985); Hulfah (2012) yang mestinya berkisar diantara 32-50 μm . Tetapi hasil rataan ini tidak jauh berbeda dari Parwati *et al.* (2006), untuk fraksi bawah yang diprediksikan sebagai spermatozoa Y (calon pedet jantan) menunjukkan ukurannya lebih kecil $22,2 \pm 2,3 \mu\text{m}$ dari pada fraksi atas $28,7 \pm 2,7 \mu\text{m}$ yang diprediksikan sebagai spermatozoa X (calon pedet betina).

Kecepatan spermatozoa sapi Bali lapisan atas yang diperoleh lebih lambat dibanding spermatozoa kambing yang diperoleh Hulfah (2012) yaitu 2.07 mm/menit. Sementara itu, pada lapisan bawah kecepatan gerak spermatozoa sapi Bali lebih cepat yaitu 1.7 mm/menit. Hasil ini memang lebih rendah dibanding spermatozoa pada ternak kambing yang diperoleh Hulfah (2012) yaitu 1.9 mm/menit. Tetapi jika melihat sifat antara kromosom X dan Y, hasil yang di dapat sangat sesuai dengan sifat spermatozoa jantan (Y) yaitu bergerak lebih cepat.

Konsentrasi lapisan atas sperma hasil separasi yang diperoleh adalah $284 \pm 49.79 \times 10^6$ ml/sperma, sementara konsentrasi lapisan bawah hasil separasi lebih rendah lagi yaitu $212 \pm 13.04 \times 10^6$ ml/sperma. Siantauri *et al.* (2007) menunjukkan hasil lebih tinggi dalam penelitian yaitu $350 \pm 260.8 \times 10^6$ ml/sperma untuk lapisan atas dan $275 \pm 198.9 \times 10^6$ ml/sperma untuk lapisan bawah. Sementara hasil Burhan (2013) lebih kecil dari hasil yang ditunjukkan $195 \pm 13.8 \times 10^6$ ml/sperma untuk lapisan atas dan $175 \pm 53.9 \times 10^6$ ml/sperma untuk lapisan bawah. Konsentrasi sperma dari hasil semen yang dipisahkan akan mengalami penurunan yang sangat besar.

Proporsi sperma setelah separasi pada lapisan atas sebesar 56.98 % sementara lapisan bawah sebesar 43.015 %. Afianti (2004) tingkat kesesuaian fraksi atas (spermatozoa X) lebih tinggi yaitu 58%, sementara fraksi bawah (spermatozoa Y) lebih kecil yaitu 42% bila dibandingkan dengan hasil penelitian (tabel 2). Sementara Jaswandi (1992); Afianti (2004) yang melakukan pemisahan sperma pada sapi perah menggunakan larutan BSA 6% dan 10%, dan mengungkapkan bahwa inseminasi dengan fraksi semen bagian bawah didapatkan rasio jenis kelamin ternak jantan betina (62,5% :37,5%).

Kualitas Sperma Hasil Separasi

Sperma yang telah diseparasi selanjutnya akan diperiksa motilitas, viabilitas dan abnormalitas spermatozoa. Motilitas spermatozoa menentukan kualitas sperma yang dihasilkan karena berperan penting dalam proses fertilisasi dan sebagai ukuran kesanggupan spermatozoa untuk membuahi sel telur (Burhan, 2013). Dari 5 kali pengamatan di dapat hasil seperti yang tertera pada tabel di bawah ini;

Tabel 3 Rata – rata motilitas hasil separasi X dan Y selama 6 hari pengamatan

Variabel	Lapisan Atas (X)	Lapisan Bawah (Y)
Motilitas	68.0 ± 4.47^b	$70,0 \pm 0.00^a$
Viabilitas	$71.0 \pm 2,23^b$	78.0 ± 8.60^a
Abnormalitas	12.1 ± 11.38^b	11.2 ± 8.38^a

Keterangan : Data Primer Diolah 2015

^{abcd} Superskrip yang berbeda nyata ($P < 0,05$), pada lapisan atas dan lapisan bawah

Progresif motilitas spermatozoa cenderung menurun akibat bertambahnya waktu penyimpanan dan proses *Separasi*. Penurunan ini disebabkan karena kandungan nutrisi pada Spermatozoa sudah berkurang. Hal ini juga terjadi pada lapisan atas dan lapisan bawah setelah *Separasi*. Dari tabel 3 diatas dapat dilihat Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas setelah Separasi BSA menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$) pada lapisan atas dan lapisan bawah. dari tabel 3 diatas diketahui bahwa rata – rata hasil menunjukkan lebih baik pada lapisan bawah (Y) dibandingkan dengan lapisan atas (X)

Progresif motilitas dipengaruhi kemampuan metabolisme spermatozoa yang ditunjang oleh lingkungannya antara lain temperatur, lama hidup serta komponen-komponen yang terdapat dalam medium pengenceran. Motilitas spermatozoa mengalami penurunan akibat kandungan nutrisi pada spermatozoa dan media pendukung semakin berkurang. Selain itu, lamanya waktu penyimpanan dan prosesing saat *Separasi* juga menurunkan motilitas spermatozoa. Pada hasil separasi spermatozoa akan lebih berkurang diakibat oleh proses sentrifugasi yang dilakukan saat separasi. Hal ini sesuai yang diungkapkan Sitomorang (2002) bahwa, penurunan persentasi motilitas spermatozoa akibat waktu pemisahan dan lamanya penyimpanan yang disebabkan oleh rusaknya tudung akrosom. Proses lain yang rusak dalam sentrifugasi selain rusaknya tudung akrosom juga bisa mengurangi seminal plasma (Afiati, 2004). Proses sentrifugasi menyebabkan hilangnya *decapaction factor* (DF) dari membrane spermatozoa. DF yang terkandung dalam plasma semen berperan melindungi stabilitas membrane spermatozoa dan mengatur aktivitas Ca^{2+} - ATPase yang terdapat pada membrane kepala spermatozoa (Purwoistri *et al.*, 2013).

Viabilitas pada lapisan bawah(Y) lebih baik dibanding lapisan atas (X). Semakin kecil viabilitas spermatozoa maka semakin kecil pula motilitas spermatozoa tersebut. Sebaliknya, semakin besar nilai viabilitas spermatozoa maka semakin tinggi motilitas spermatozoa (Kartika, 2012). Yuliani (2002) ungkapkan, spermatozoa berkromosom Y mempunyai kemampuan bermigrasi lebih cepat dibandingkan spermatozoa berkromosom X, sehingga apabila dilakukan sentrifugasi spermatozoa berkromosom X cenderung lebih cepat membentuk endapan. Hal ini terbukti dari ketahanan kromosom X yang tidak bisa bertahan lebih baik dari kromosom Y.

Lapisan bawah lebih mampu bertahan disbanding lapisan atas juga disebabkan oleh proteksi BSA pada saat separasi. BSA dapat melindungi membrane akrosom dan integritas membrane. *Bovine serum albumen* merupakan makromolekul yang berperan mencegah dan mengikat masuknya Ca^{2+} yang berlebihan ke sitosol dan melindungi membran spermatozoa, sehingga meminimalisir spermatozoa yang mengalami kapasitasasi dan reaksi akrosom dini (Landim *et al.*, 2004).

Selain itu 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 viabilitas dan motilitas spermatozoa yang belum terkapasitasi dapat dipertahankan tetap tinggi (Purwoistri *et al.*, 2013). Hasil ini juga sama dengan penelitian Pratiwi *et al.* (2006) yang juga melakukan pengamatan pada hasil separasi dengan BSA dimana motilitas lapisan bawah lebih tinggi dari lapisan atas yaitu $56,0 \pm 8,2$ (motilitas) $67,9 \pm 10,2$ (daya hidup) untuk lapisan bawah, $46,3 \pm 12,5$ (motilitas) $64,3 \pm 14,5$ (daya hidup) untuk lapisan atas.

Dilihat dari hasil penelitian diatas abnormalitas tertinggi pada lapisan atas (X) dibandingkan lapisan Bawah (Y). Persentase abnormalitas spermatozoa pada sapi berbeda-beda pada setiap peneliti. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan dalam teknik pengumpulan, penanganan semen, *breed* dan kualitas hewan Toelihere(1993); Hulfah(2012).Burhan (2013) menunjukkan hasil penelitian rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa lebih baik, pada lapisan atas dan lapisan bawah diperoleh hasil abnormalitas dibawah 6%.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan maka dapat disimpulkan, Metode kolom albumen BSA dapat memisahkan kromosom X dan kromosom Y dengan Proporsi sperma setelah separasi sebesar 56.98 % untuk lapisan atas (X) dan 43.015 % untuk lapisan bawah (Y). Motilitas, Viabilitas dan Abnormalitas setelah Separasi BSA menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$) pada lapisan atas dan lapisan bawah. Selain itu motilitas dan daya hidup spermatozoa tertinggi pada lapisan bawah (Y) yaitu sebesar 70 % dan 78 %.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F., 2004. *Pusat Penelitian Proporsi dan Karakteristik Spermatozoa X dan Y Hasil Separasi Kolom Albumin*. Media Peternakan vol. 27 No 1. ISSN 0126-0472.
- 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.
- Check, J. H., Shanis, B. S.; Cooper, S. O. and Bollendorf, A. 1998. *Male sex preselection: Swim up technique and insemination of women after ovulation induction*. Journal Architect Andrology. 23(2): 165-166.
- Gordon, I., 1997. *Laboratory production of cattle embryos*. Biotechnology in Agriculture, 11. I. Gordon (editor) CAB International. Wallingford.
- Hulfah, 2012. *Identifikasi Spermatozoa Kambing Peranakan Ettawa Berkromosom X Dan Y Hasil Separasi Renang Atas Melalui Pendekatan Ukuran Dan Kecepatan Geraknya*. Fakultas Peternakan UNRAM. Mataram.
- Hafez E.S.E, 1993. *Reproduction In Farm Animal*. 6 th Edition. *Lea and Fibiger*. Philadelphia.
- Hardijanto, T. S. ; T. Hernawati ; S. Susilowati dan T.W. Suprayogi ,2010. *Buku Ajar Inseminasi Buatan*. Airlangga University Press. Surabaya.
- 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 Reproduction 1(1):96-105.
- Parthodihardjo, S., 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit PT. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- 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.
- Pratiwi, W. C., Pamungkas, D. Affandhy, L. dan Hartati. 2006. *Evaluasi Kualitas Spermatozoa Hasil Sexing Pada Kemasan Straw Dingin Yang Disimpan Pada Suhu 5°C Selama 7 Hari*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Ridwan, 2009. *Pengaruh Pengencer Semen Terhadap Abnormalitas Ddan Daya Tahan Hidup Spermatozoa Kambing Lokal Pada Penyimpanan Suhu 5°C*. http://isjd.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/620597103_1412-3657.pdf. 29 November 2011.
- Rizal, M., M.R. Toelihere, T.L. Yusuf, B. Purwantara, dan P. Situmorang. 2002. *Kualitas Semen Beku Domba Garut Dalam Berbagai Konsentrasi Gliserol*. J. Ilmu Ternak dan Veteriner 7:193-198
- Sianturi, R.G., Situmorang, P., Triwulanningsih, E. dan Kusumaningrum, D.A., 2007. *Pengaruh Penambahan Glutathione Dan Kolesterol Pada Pemisahan Spermatozoa X Dan Y Dengan Metode Kolom Albumin Telur*. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Sianturi, R.G., Situmorang, P., Triwulanningsih, E. dan Kusumaningrum, D.A., 2004. *Pengaruh Isobutil Metilxantina (IMX) Dan Waktu Inkubasi Terhadap Kualitas Dan Efektifitas Inkubasi Spermatozoa Dengan Metode Kolom Albumen Telur*. JITV 9(4):246-251.
- Susilawati T. 2002. *Fisiologi Spermatozoa: Kapasitas, Reaksi Akrosom dan Fertilisasi*. Lembaga Penerbitan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Susilawati T. 2002. *Sexing Spermatozoa Kambing Peranakan Etawah Menggunakan Gradien Putih Telur*. WidyaAgrika 10(2):97-105.
- Saili, T., M. R. Toelihere; A. Boediono & B. Tappa. 1998. *Pengendalian jenis kelamin anak melalui sexing spermatozoa untuk reproduksi ternak*. Warta Biotek, Th.XII No. 1-2.Hlm. 1-5.
- Saili T, Toelihere MR, Boediono A, Tappa B. 2000. *Keefektifan Albumen sebagai Media Pemisah Spermatozoa Sapi Pembawa Kromosom X dan Y*. Jurnal Hayati 7(4):106-109.
- Yuliani, E., 2000 *Pemisahan spermatozoa dengan metode swim up dan kombinasi swim up dengan aside migration pengaruhnya terhadap rasio kromosom seks*. Disertasi Universitas Airlangga.
- Yuliani, E., 2002. *Produksi Anak Sapi Secara Masal Melalui Seleksi Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y serta Aplikasi Fertilitas In Vitro*. Oriza pVol 1/ No.3, Oktober 2002.