

SEX RATIO FETUS HASIL INSEMINASI BUATAN MENGGUNAKAN SEMEN BEKU DOSIS TUNGGAL DAN DOSIS GANDA PADA SAPI FRIESIAN HOLSTEIN

Sex Ratio Fetus of Artificial Insemination Result Using Frozen Semen Single Doses and Double Doses in Friesian Holstein Cow

Dandy Ulul Azmi¹⁾, Aulia Puspita Anugra Yekti²⁾, Trinil Susilawati^{*2)}

¹⁾ Mahasiswa Minat Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya Jalan Veteran, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia 65145

²⁾ Dosen Minat Produksi Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya Jalan Veteran, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia 65145

*Corresponding author: tsusilawati@ub.ac.id

Submitted 22 April 2022, Accepted 1 Juni 2022

ABSTRAK

Usaha sapi perah membutuhkan pedet betina untuk *replacement*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui *sex ratio* fetus hasil IB menggunakan semen beku dosis tunggal dan dosis ganda, mengetahui proporsi spermatozoa X dan Y dalam semen beku dan konfirmasi proporsi spermatozoa X dan Y dengan *sex ratio* fetus hasil IB. Materi dalam penelitian ini adalah 43 ekor fetus dari 100 ekor induk hasil IB semen beku dosis tunggal dosis dan 40 ekor fetus dari 98 ekor induk hasil IB semen beku dosis ganda menggunakan semen beku sapi FH. Metode yang digunakan adalah observasi langsung dengan menghitung persentase jenis kelamin fetus hasil IB menggunakan alat ultrasonografi (USG) dan proporsi spermatozoa X dan Y dalam semen beku. Data dianalisis menggunakan uji *Chi-square* dan dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semen beku memiliki persentase proporsi spermatozoa X sebesar 49,70% dan spermatozoa Y sebesar 50,30%. Jenis kelamin fetus yang berhasil diidentifikasi hasil IB menggunakan semen beku dosis tunggal dosis adalah fetus betina sebesar 72,89% dan fetus jantan 27,11%, sedangkan pada hasil IB menggunakan semen beku dosis ganda mendapatkan hasil fetus Betina 69,33% dan fetus jantan 30,67%. Sehingga kesimpulan dari penelitian ini adalah *sex ratio* fetus betina hasil IB lebih tinggi daripada jenis kelamin fetus jantan.

Kata Kunci: *Friesian holstein*, inseminasi buatan, proporsi semen beku, *sex ratio*, ultrasonografi

How to cite : Azmi, D. U., Yekti, A. P. A., & Susilawati, T. (2022). *Sex Ratio Fetus Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku Dosis Tunggal dan Dosis Ganda pada Sapi Friesian Holstein*. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production* Vol 23, No 1 (46-53)

ABSTRACT

Dairy farming business requires female calf as a replacement. The purpose of this study was to know sex ratio of fetus from AI using frozen semen single doses and double doses, to know proportion of sperm X and sperm Y in frozen semen and confirmation between proportion of sperm X and sperm Y in frozen semen with sex ratio of fetus from AI result using frozen semen single doses and double doses. The material used in this study was 43 fetus from AI cows result with single doses frozen semen and 40 fetus from AI cows result with double doses FH frozen semen. The method used is direct observation by calculating the percentage of fetus sex using ultrasound and the proportion of X and Y spermatozoa in frozen semen. Data analysis using chi square and descriptive analysis. The result of this study indicate that frozen semen has a percentage of sperm X is 49.70% and sperm Y is 50.30%. Analyzed data of proportion spermatozoa using chi square show not different comparison proportion that expected ($P>0.05$). The sex female and male fetus of AI result using frozen semen single doses has a percentage female fetus is 72.89% and male fetus 27.11%, while in the result of AI using frozen semen double doses is female fetus 69.33% and male fetus 30.67%. Than confirmation of proportion spermatozoa with sex ratio of AI result using chi square show different comparison ($P<0.05$). The conclusion of this study is the proportion of female fetus sex has a higher percentage than male fetus sex.

Keywords: Artificial insemination, friesian holstein, proportion frozen semen, sex ratio, ultrasound

PENDAHULUAN

Kebutuhan susu yang semakin meningkat tidak diikuti dengan peningkatan produksi susu sehingga menyebabkan tidak tercukupinya kebutuhan susu. Kementerian Pertanian (2021) menyatakan bahwa kebutuhan susu di Indonesia mencapai 4,3 juta ton per tahun sedangkan produksi susu pada tahun 2020 hanya 947 ribu ton atau hanya dapat memenuhi 22,7 persen dari kebutuhan nasional. Usaha yang perlu dilakukan untuk meningkatkan produksi adalah dengan program inseminasi buatan (IB). Inseminasi buatan merupakan teknologi reproduksi yang mampu dan telah berhasil untuk meningkatkan perbaikan mutu genetik ternak, sehingga dalam waktu pendek dapat menghasilkan pedet dengan kualitas baik (Susilawati, 2013).

Peningkatan produktivitas pada sapi perah betina dapat dicapai dengan pemeriksaan kebuntingan dan deteksi jenis kelamin fetus setelah IB. Pemeriksaan kebuntingan dan deteksi jenis kelamin fetus dapat dilakukan menggunakan metode ultrasonografi (USG). Reese, Pereira, Edwards, Vasconcelos and Pohler (2018)

menyatakan bahwa pemeriksaan kebuntingan menggunakan ultrasonografi dapat dilakukan pada hari ke-31 pasca inseminasi buatan sehingga dapat menguntungkan secara ekonomi dan praktis bagi peternak dan deteksi jenis kelamin fetus dapat dilakukan pada hari ke-55 setelah IB (Colloton, 2021). Hal tersebut sangat membantu untuk dapat mengetahui jenis kelamin fetus tanpa menunggu hingga lahir dan dapat mempersingkat waktu atau efisiensi waktu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proporsi spermatozoa X dan Y pada semen beku, mengetahui *sex ratio* fetus hasil IB menggunakan semen beku dosis tunggal dan dosis ganda dan mengonfirmasi antara proporsi spermatozoa X dan Y dengan *sex ratio* fetus hasil IB dengan menggunakan semen beku dosis tunggal dan dosis ganda.

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian dilaksanakan pada Bulan Agustus 2021 hingga Januari 2022 di peternak rakyat wilayah Kecamatan Pujon Kabupaten Malang dan Laboratorium

Reproduksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Sebanyak 43 ekor fetus yang telah diidentifikasi jenis kelaminnya dari 100 ekor induk sapi FH yang telah di IB menggunakan semen beku sapi FH dosis tunggal dan sebanyak 40 ekor fetus yang telah diidentifikasi jenis kelaminnya dari 98 ekor induk sapi FH yang telah di IB menggunakan semen beku sapi FH dosis ganda. Semen beku sapi FH didapatkan dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, Malang.

Metode

Metode yang digunakan adalah metode observasi langsung dilapang terhadap sapi FH yang dimiliki peternak rakyat sapi perah di Kecamatan Pujon, Kabupaten Malang dan observasional di laboratorium untuk mengetahui proporsi spermatozoa X dan Y. Sapi FH di IB pada deposisi 4 (korpus uteri). Kemudian setelah 2 bulan dari pelaksanaan IB terakhir dilakukan pemeriksaan kebuntingan menggunakan alat ultrasonografi (USG). Apabila bunting, maka dilanjutkan dengan pengamatan jenis kelamin fetus dengan melihat organ *genital* pada fetus jantan dan betina. Proporsi spermatozoa dalam semen beku didapatkan dengan mengukur ukuran kepala spermatozoa (Susilawati, 2014).

; *Pregnancy Rate* (PR), yaitu persentase induk bunting dari hasil IB ke-1 dan ke-2 dibagi dengan jumlah induk yang di IB

$$\%CR = \frac{\text{Jumlah Induk Bunting IB Pertama}}{\text{Total Akseptor}}$$

$$\%PR = \frac{\text{Jumlah Induk Bunting IB Pertama dan Kedua}}{\text{Total Akseptor}}$$

; Persentase jenis kelamin fetus hasil IB, yaitu dengan menghitung persentase fetus jantan atau betina yang berhasil teridentifikasi dan proporsi spermatozoa X dan Y dengan mengukur panjang dan lebar kepala spermatozoa.

$$\% \text{Jenis Kelamin Fetus} = \frac{\text{Jumlah Fetus Jantan/Betina}}{\text{Total Fetus}}$$

Spermatozoa yang memiliki luas kepala lebih kecil dari rata-rata maka dihitung sebagai spermatozoa Y dan apabila

Pelaksanaan Inseminasi Buatan menggunakan Semen Beku

- Diawali dengan wawancara kepada peternak tentang identitas ternak, riwayat kesehatan ternak, waktu birahi dan pengamatan kualitas birahi meliputi kondisi lendir, pH dan suhu serviks, BCS dan kondisi kesehatan ternak.
- Pelaksanaan IB dilakukan pada sapi FH yang memiliki BCS $\geq 2,5$ menggunakan semen beku dosis tunggal dan dosis ganda sapi FH. IB menggunakan semen beku dosis tunggal dilakukan pada jam ke-2, sedangkan IB menggunakan semen beku dosis ganda dilakukan pada jam ke-2 dan ke-8 setelah muncul tanda-tanda birahi. Sapi disuntikkan Vitamin BIO-ATP sebanyak 10 ml.
- Dilakukan pemeriksaan kebuntingan (PKB) 2 bulan setelah pelaksanaan IB terakhir dengan metode ultrasonografi (USG) transrektal dan dilakukan pengamatan terhadap jenis kelamin fetus hasil IB.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati adalah *Conception Rate* (CR), yaitu persentase induk sapi yang berhasil bunting saat IB pertama (Susilawati, dkk. 2016).

spermatozoa yang memiliki luas kepala lebih besar dari rata-rata maka dihitung sebagai spermatozoa X (Susilawati, 2014).

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis *Chi-square* dan dianalisis secara deskriptif. Proporsi spermatozoa dalam semen beku diuji dengan uji *Chi-square* dengan nilai harapan 50:50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proporsi Spermatozoa X dan Y dalam Semen Beku

Proporsi spermatozoa dalam semen dapat diketahui dengan mengukur kepala spermatozoa. Pada penelitian ini sebanyak 1000 spermatozoa dalam semen beku diukur lebar dan panjang kepalanya. Luas kepala spermatozoa didapatkan dengan mengalikan lebar dan panjang kepala. Hasil rata-rata panjang kepala spermatozoa dalam semen beku sebesar $8,05 \pm 0,54 \mu\text{m}$ sedangkan lebar kepala spermatozoa sebesar $4,37 \pm 0,55 \mu\text{m}$ dan didapatkan rata-rata luas kepala spermatozoa sebesar $38,88 \pm 6,43 \mu\text{m}^2$.

Proporsi spermatozoa X dan Y pada semen beku (Tabel 1) menunjukkan bahwa persentase spermatozoa X sebesar 49,70% dan spermatozoa Y sebesar 50,30% dari total 10 straw yang diamati. Hasil proporsi spermatozoa dalam semen beku dianggap

seperti proporsi alamiah spermatozoa. Menurut Teken, Yusuf, Said dan Toleng (2020) bahwa proporsi alamiah spermatozoa dalam semen adalah 50:50. Berdasarkan uji *Chi-square* terhadap proporsi spermatozoa X dan Y dalam semen beku didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) dengan nilai harapan (50:50). Sehingga dapat disimpulkan bahwa proporsi spermatozoa X dan Y dalam semen beku adalah normal.

Sex Ratio Fetus Hasil Inseminasi Buatan Dosis Tunggal dan Dosis Ganda

Teknologi IB bertujuan untuk meningkatkan produksi dan populasi suatu ternak. Berbagai metode IB telah dilakukan untuk mencapai tujuan tersebut. Salah satu metode yang digunakan adalah dosis ganda. Pada penelitian ini IB dilakukan secara dosis tunggal (1 *straw*) dan dosis ganda (2 *straw* pada jam yang berbeda). IB dosis ganda dilakukan pada jam ke 2 dan jam ke 8 setelah munculnya tanda-tanda berahi. IB dilakukan dengan cara dosis tunggal dan dosis ganda akan mendapatkan nilai konsepsi yang berbeda (Ansori, Huda, Prafitri, Yekti dan Susilawati. 2021).

Tabel 1. Proporsi Spermatozoa X dan Y Semen Beku

Spermatozoa	Proporsi (%)
X	49,70
Y	50,30
Total	100

Conception Rate (CR) merupakan persentase kebuntingan induk yang bunting pada IB pertama. Nilai CR didapatkan dari pemeriksaan kebuntingan menggunakan

metode USG. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan pada hari ke 60 setelah IB pertama menggunakan semen beku dosis tunggal dan dosis ganda.

Tabel 2. Persentase Kebuntingan Sapi Friesian Holstein Hasil Inseminasi Buatan Dosis Tunggal dan Dosis Ganda

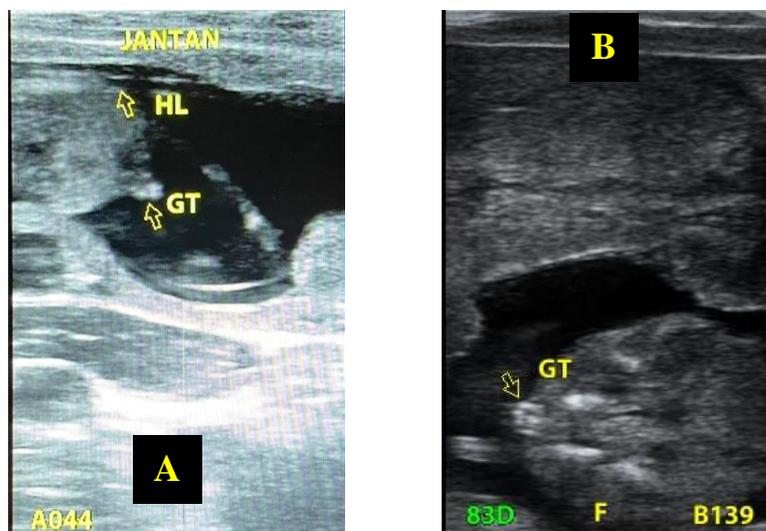
Perlakuan	Jumlah Akseptor (Ekor)	Jumlah Akseptor Bunting IB Pertama (Ekor)	<i>Conception Rate</i> (%)	Jumlah Akseptor Bunting (Ekor)	<i>Pregnancy Rate</i> (%)
Dosis Tunggal	100	49	49	59	59
Dosis Ganda	98	48	48,98	56	57,14
Total	198	97		115	

Tabel 2. menunjukkan bahwa pada penelitian ini nilai CR pada sapi FH menggunakan semen beku dosis tunggal dan dosis ganda menunjukkan hasil sebesar 49% dan 48,98%. Nilai CR pada penelitian ini lebih rendah daripada nilai yang diharapkan (60-75%) karena beberapa faktor. Menurut Yohana, Samik, Aksono, Sardjito, Hermadi dan Restiadi (2018) bahwa nilai CR berkaitan dengan akseptor ternak seperti status reproduksi, tingkat stress dan mutu genetik ternak.

Pengetahuan dari peternak rakyat yang kurang tentang lingkungan, nutrisi pakan yang rendah, deteksi estrus juga menjadi penyebab rendahnya nilai CR. *Pregnancy Rate* (PR) merupakan jumlah

induk betina bunting dibandingkan dengan jumlah induk betina yang di IB dikali 100% (Dapasesi, Tophianong dan Gaina. 2019). Hasil penelitian menunjukkan sebesar 59% dari 100 ekor induk yang bunting dengan IB dosis tunggal, sedangkan pada IB dosis ganda sebesar 57,14% dari 98 ekor induk yang di IB.

Faktor penyebab rendahnya angka kebuntingan disebabkan karena nutrisi yang diberikan kepada induk belum seimbang sehingga memengaruhi penampilan tanda-tanda berahi. Selain itu, faktor lain adalah terdapat gangguan reproduksi. Gangguan reproduksi dapat menyebabkan kegagalan kebuntinga terhadap sapi perah betina (Nurul, Sumartono dan Muwakhid. 2020).



Gambar 1. Hasil Ultrasonografi Fetus Jantan (A) dan Betina (B)

Pemeriksaan jenis kelamin fetus dilakukan menggunakan metode Ultrasonografi (USG). Metode ini dilakukan dengan memasukkan probe kedalam saluran rektal (transrektal) dengan frekuensi 5 MHz. Jenis kelamin fetus dapat diamati dengan melihat keberadaan *Genital Tubercle* (GT) pada fetus. Perbedaan jenis kelamin fetus jantan dan betina terletak pada posisi GT. Apabila GT terletak di area tali pusar/abdomen maka dianggap sebagai fetus jantan Gambar 1 (A) dan apabila GT terletak di area ekor, maka dianggap sebagai fetus betina Gambar 1 (B). Hal ini diperkuat

oleh pendapat Colloton (2021) bahwa fetus jantan memiliki posisi GT yang terletak pada area *umbilicus* (tali pusar) dan akan menjadi penis, sedangkan fetus betina memiliki posisi GT yang terletak tepat dibawah ekor dan akan menjadi klitoris. Penentuan jenis kelamin fetus dapat dilakukan pada usia kebuntingan 55 hari.

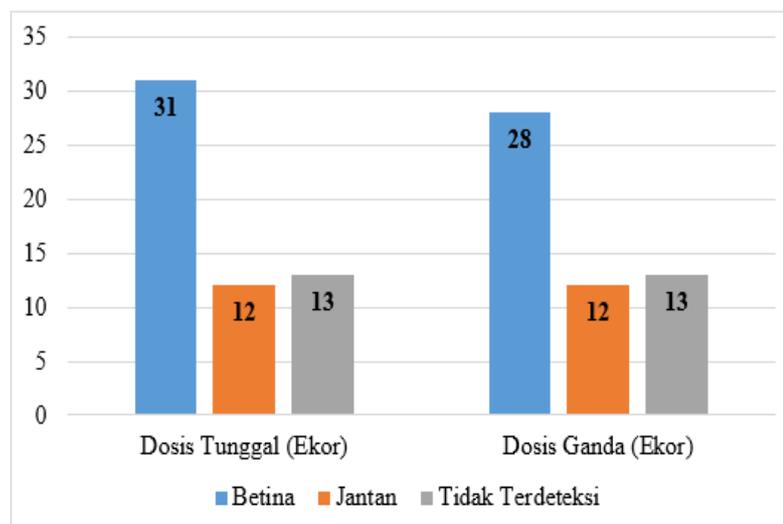
Hasil identifikasi jenis kelamin fetus pada hasil IB dosis tunggal dan dosis ganda tersaji pada grafik Gambar 2. *Sex ratio* fetus betina dan jantan hasil IB dosis tunggal dari 43 ekor fetus mendapatkan hasil 31 ekor fetus betina dan 12 ekor fetus jantan sehingga

persentase *sex ratio* fetus yang didapatkan sebesar 72,89% : 27,11%. Sedangkan *sex ratio* fetus betina dan jantan hasil IB dosis ganda dari 40 ekor mendapatkan hasil 28 ekor fetus betina dan 12 ekor fetus jantan sehingga persentase *sex ratio* fetus yang didapatkan sebesar 69,33% : 30,67. Fetus yang tidak terdeteksi dalam penelitian ini sebanyak 13 ekor pada hasil IB dosis tunggal dan 10 ekor hasil IB dosis ganda.

Berbagai macam penyebab terjadinya fetus yang tidak terdeteksi. Beberapa penyebabnya adalah usia fetus yang masih terlalu muda sehingga organ *genital* masih belum tumbuh dengan sempurna dan masih belum menuju posisi yang seharusnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Cenariu, Pall, Parlatan and Groza (2012) bahwa fetus pada usia ke-45 hari masih sulit dibedakan.

GT masih berupa *lobus* (organ bulat) tunggal yang terletak diantara kaki belakang (*hindlimb*) dan ditengah antara tali pusar (*umbilical cord*) dan ekor (*tail*).

GT akan mulai migras ke kranial (depan) pada jantan dan ke kaudal (belakang) pada betina pada rentang usia kebuntingan 45 hingga 50 hari dan akan mencapai posisi akhir yaitu bersentuhan dengan tali pusar untuk jantan dan bersentuhan dengan ekor untuk betina pada usia kebuntingan 59 hari. Menurut Bogdan, *et al* (2019) bahwa fetus pada usia 65 hingga 90 hari dapat diidentifikasi dengan melihat organ *genital* sekunder. Pada jantan terlihat skrotum diantara kaki belakang dan penis di kranial skrotum, sedangkan pada betina terlihat 4 buah puting susu diantara kaki belakang.



Gambar 2. Grafik Hasil Ultrasonografi pada Dosis Tunggal dan Dosis Ganda

Apabila identifikasi dilakukan pada usia lebih dari 90 hari, maka identifikasi akan lebih sulit karena GT mulai migrasi kedalam rongga perut. Sehingga identifikasi jenis kelamin fetus dengan melihat organ sekunder tidak disarankan. Beberapa penelitian mengatakan bahwa identifikasi jenis kelamin fetus dapat dilakukan hingga usia kebuntingan 100 hari (Cenariu, *et al.* 2012) atau 120 hari (Stroud, 2005; Bogdan, *et al.* 2019). Kesulitan lain dalam identifikasi jenis kelamin fetus adalah induk

yang berukuran besar dan tua dengan paritas tinggi (Quintela, *et al.* 2011).

Konfirmasi Proporsi Spermatozoa X dan Y dengan *Sex Ratio* Fetus Hasil Inseminasi Buatan

Tabel 3. menunjukkan hasil proporsi spermatozoa dalam semen beku memiliki proporsi 49,70% (spermatozoa X) dan 50,30% (spermatozoa Y). Sedangkan hasil identifikasi jenis kelamin fetus hasil IB dosis tunggal menggunakan metode USG mendapatkan hasil sebesar 72,89% (betina)

dan 27,11% (jantan). Pada perlakuan IB dosis ganda mendapatkan *sex ratio* sebesar 69,33% (betina) dan 30,67% (jantan). Hasil analisis menggunakan Uji *Chi-square* untuk konfirmasi antara proporsi spermatozoa dalam semen beku dengan jenis kelamin fetus hasil IB dosis tunggal didapatkan

perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Hal serupa didapatkan pada hasil IB dosis ganda menunjukkan hasil perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antara proporsi spermatozoa dalam semen beku dengan jenis kelamin fetus hasil IB.

Tabel 3. Data Persentase Jenis Kelamin Fetus Hasil Inseminasi Buatan

Jenis Kelamin	Proporsi	Dosis Tunggal		Dosis Ganda	
	Spermatozoa	Jenis Kelamin		Jenis Kelamin	
	Persentase (%)	Jumlah (ekor)	Persentase (%)	Jumlah (Ekor)	Persentase (%)
Betina (X)	49,70	31	72,89	28	69,33
Jantan (Y)	50,30	12	27,11	12	30,67
Total	100	43	100	40	100

Hasil yang berbeda antara proporsi spermatozoa dalam semen beku dengan jenis kelamin fetus hasil IB diduga karena beragam faktor yang memengaruhi. Pada penelitian ini semen dideposisikan pada posisi 4 atau *corpus utery*. Deposisi semen dalam organ reproduksi merupakan salah satu faktor yang menyebabkan jenis kelamin fetus betina lebih banyak daripada fetus jantan.

Hal tersebut disebabkan karena karakteristik spermatozoa X dan Y yang berbeda. Spermatozoa X dan Y memiliki perbedaan motilitas (Purwoistri, Susilawati dan Rahayu. 2013). Spermatozoa X memiliki ukuran yang lebih besar, bergerak lambat dan tidak cepat mati sedangkan spermatozoa Y memiliki ukuran yang kecil sehingga bergerak lebih cepat dan cepat mati.

Hal ini sebanding dengan pendapat Fatahillah, Susilawati dan Isnaini (2017) bahwa spermatozoa Y memiliki kecepatan yang lebih tinggi dan energi yang lebih sedikit daripada spermatozoa X yang lebih lambat dan memiliki energi yang lebih banyak.

Kemudian pada penelitian ini waktu IB dilakukan pada awal waktu. Hal tersebut memungkinkan spermatozoa Y sampai terlebih dahulu pada tempat fertilisasi sedangkan sel telur belum diovulasikan sehingga memungkinkan spermatozoa Y mati terlebih dahulu sedangkan spermatozoa X masih bertahan dan membuahi sel telur

sehingga terjadi fertilisasi dan menghasilkan fetus betina.

KESIMPULAN

Kesimpulan

Proporsi spermatozoa X dan Y dalam semen beku adalah 49,70% dan 50,30%. *Sex ratio* fetus betina hasil IB dosis tunggal dan dosis ganda memiliki persentase 72,89% dan 69,33%, sedangkan fetus jantan memiliki persentase 27,11% dan 30,67%. Jenis kelamin fetus betina hasil IB menggunakan semen beku dosis tunggal dan dosis ganda lebih tinggi daripada fetus jantan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah memberikan dana dalam program Merdeka Belajar Kampus Merdeka *Competitive fund*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansori, A. I., A. N. Huda., R. Prafitri., A. P. A. Yekti dan T. Susilawati. (2021). Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan Double Dosis Pada Sapi Persilangan Ongole Dengan Kualitas Berahi Yang Berbeda. *Rekasatwa: Jurnal Ilmiah Peternakan*. 3(1): 36-46.
- Bogdan, L. M., A. B. Petrean., I. Coman., G. Nadas., M. Cenariu., I. Bogdan., S. Bogdan and D. Berean. (2019). The Diagnosis of Fetal Sexing in Cattle

- Using Ultrasound. *Bulletin UASVM Veterinary Medicine*. 76(2): 149-153.
- Cenariu, M., E. Pall., L. Parlapan and I. Groza. (2012). Ultrasonographic Determination of Fetal Sex in Cattle. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*. 69: 1-2.
- Colloton, J. (2021). *Bovine Reproduction Second Edition*. USA: Wiley Blackwell. p 486-508.
- Dapasesi, J., T. C. Tophianong dan C. D. Gaina. (2019). Tinjauan Hasil Inseminasi Buatan Sapi Bali di Desa Pukdale Kecamatan Kupang Timur Kabupaten Kupang. *Jurnal Veteriner Nusantara*. 3(1): 32-40.
- Fatahillah, F., T. Susilawati dan N. Isnaini. (2017). Pengaruh Lama Sentrifugasi Terhadap Kualitas dan Proporsi Spermatozoa X-Y 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.
- Kementrian Pertanian. (2021). *Kementan Berkomitmen Kembangkan Produksi Susu Segar Dalam Negeri*. <https://ditjenpkh.pertanian.go.id>
- Nurul, M., S. Sumartono dan B. Muwakhid. (2020). Tingkat Gangguan Reproduksi Yang Menyebabkan Kegagalan Kebuntingan di Koperasi Agro Niaga (KAN) Jabung. *JITP*. 1(1): 28-34.
- Purwoistri, R. F., T. Susilawati dan S. Rahayu. (2013). Membran Spermatozoa Hasil Seksing Gradien Albumin Berpengencer Andromed dan Cauda Epididymal Plasma-2 Ditambahkan Kuning. *Jurnal Veteriner*. 14(3): 371-378.
- Quintela, L. A., J. J. Becerra., C. C. Perez-Marin., M. Barrio., J. Cainzos., A. Prieto., C. Diaz and P. G. Herradon. (2011). Fetal Gender Determination by First-trimester Ultrasound in Dairy Cows Under Routine Herd Management in Northwest Spain. *Animal Reproduction Science*. 125(1): 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.022>
- Reese, S. T., Pereira, M. H. C., Edwards, J. L., Vasconcelos, J. L. M., and Pohler, K. G. (2018). Pregnancy Diagnosis in Cattle Using Pregnancy Associated Glycoprotein Concentration in Circulation at Day 24 of Gestation. *Theriogenology* 106: 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.10.020>
- Susilawati, T. (2013). *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Malang: UB Press.
- Susilawati, T. (2014). *Sexing Spermatozoa*. Malang: UB Press.
- Susilawati, T., N. Isnaini., A. P. A. Yekti., I. Nurjannah dan E. Errico. (2016). Keberhasilan Inseminasi Buatan Menggunakan Semen Beku dan Semen Cair pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan (Indonesian Journal of Animal Science)*. 26(3): 14-19.
- Teken, G. E., Yusuf, M., Said, S., & Toleng, A. L. (2020). The Quality of Sexed Sperm Separated Using Bovine Serum Albumin Column And Extended Using Tris Aminomethane at Different Temperatures. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 492(1). p. 012067.
- Yohana, N., A. Samik., B. Aksono., T. Sardjito., H. A. Hermadi dan T. I. Restiadi. (2018). Conception Rate dan Service Per Conception Pada Sapi Perah Akseptor Inseminasi Buatan di KUD Argopuro Kecamatan Krucil Kabupaten Probolinggo. *Ovozoa Journal Of Animal Reproduction*. 7(2): 143-147.