

Peningkatan produktivitas sapi Bali melalui inseminasi buatan dengan sperma sexing di Techno Park Banyumulek, Nusa Tenggara Barat

Increasing Bali cattle productivity with sexed sperm artificial insemination in Techno Park Banyumulek, West Nusa Tenggara

MUHAMMAD GUNAWAN^{*}, EKAYANTI MULYAWATI KAIIN, RONI RIDWAN

Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jl. Raya Bogor km. 46, Cibinong, Bogor 16911, Jawa Barat. Tel./Fax. +62-21-8754587/8754588, *email: muhammadgunawan@ymail.com

Manuskrip diterima: 31 Agustus 2016. Revisi disetujui: 3 April 2017.

Abstrak. Gunawan M, Kaiin EM, Ridwan R. 2016. Peningkatan produktivitas sapi Bali melalui inseminasi buatan dengan sperma sexing di Techno Park Banyumulek, Nusa Tenggara Barat. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 3: 216-219*. Provinsi Nusa Tenggara Barat adalah salah satu daerah penghasil ternak terbesar untuk memenuhi kebutuhan daging nasional. Populasi terbesar yang dikembangkan oleh kelompok tani ternak adalah sapi Bali. Keunggulan yang dimiliki sapi Bali sebagai plasma nutfah asli Indonesia terbukti memiliki kekuatan adaptasi lingkungan dan perkembangbiakan yang baik. Upaya peningkatan produktivitas sapi Bali dilakukan dengan program inseminasi buatan menggunakan sperma dari pejantan sapi Bali unggul terseleksi. Melalui kegiatan Techno Park Banyumulek, penelitian ini dilakukan untuk mengaplikasikan hasil produksi sperma sapi sexing beku dari Balai Inseminasi Buatan Lelede Banyumulek, Nusa Tenggara Barat. Parameter produktivitas pejantan sapi Bali sebagai sumber sperma meliputi kualitas makroskopis dan mikroskopis serta uji motilitas setelah pembekuan. Produktivitas sapi di peternakan rakyat dalam penelitian ini dilakukan dengan mengukur nilai efisiensi reproduksi pada sapi betina akseptor Inseminasi Buatan (IB) menggunakan sperma sexing. Parameter nilai efisiensi reproduksi berdasarkan nilai *Service per Conception* (S/C) dan *Conception Rate* (CR).

Kata kunci: Efisiensi reproduksi, inseminasi buatan, produktivitas, sapi Bali, sperma sexing

Abstract. Gunawan M, Kaiin EM, Ridwan R. 2016. Increasing Bali cattle productivity with sexed sperm artificial insemination in Techno Park Banyumulek, West Nusa Tenggara. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 3: 216-219*. West Nusa Tenggara (NTB) province is one of the biggest districts for production meat to fulfilled national meat needed. The biggest population for breeding by the local farmer is the Bali cattle. The excellence having by the Bali cattle as an original Indonesian germplasm was proved to have good power in environment adaptation and breeding. An effort to increasing the Bali cattle productivity was held by artificial insemination program using the sperm of selected Bali's bull. By Techno Park activity in Banyumulek, this research was held to apply the final product of frozen sexed sperm from Artificial Insemination Center (AIC) Lelede Banyumulek in NTB. The productivity of bull's sperm parameter covered macroscopies and microscopies quality and motility tested after freezing. The productivity of Bali cattle on livestock was measured reproduction efficiency valve of cow acceptor artificial insemination (AI) using sexing sperm. The parameter based on *Service per Conception* (S/C) dan *Conception Rate* (CR).

Keywords: Productivities, bali cattle, sexing sperm, artificial insemination, reproduction efficiency

PENDAHULUAN

Peningkatan populasi dan mutu genetik ternak sapi Bali di Provinsi Nusa Tenggara Barat (NTB) yang telah berjalan adalah inseminasi buatan (IB) pada pembibitan sapi rakyat yang tergabung dalam kelompok-kelompok tani ternak. Pembibitan sapi di Provinsi NTB ditujukan untuk mengembangkan sapi Bali sebagai plasma nutfah asli asal Indonesia. Program Pemerintah Provinsi NTB untuk peningkatan populasi dan mutu genetik sapi Bali telah mencanangkan program Bumi Sejuta Sapi (BSS) dan Percepatan Swasembada Daging dan Susu (PSDS) mendukung program dari Departemen Pertanian. Peningkatan populasi dan mutu genetik ternak dengan aplikasi IB yang sudah dilakukan pada saat ini perlu

ditingkatkan efisiensinya dengan penerapan teknologi IB menggunakan sperma sexing. Melalui kegiatan Techno Park Banyumulek terjalin kerjasama antara Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI dengan Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan, Provinsi NTB, dalam alih teknologi sexing sperma sapi Bali di Balai Inseminasi Buatan Banyumulek.

Perkembangan IB dengan sperma sexing dapat berguna untuk mendapatkan pedet dengan jenis kelamin yang diharapkan. Jenis kelamin ditentukan oleh adanya kromosom X dan Y pada spermatozoa pejantan (Hafez 1993). Spermatozoa berkromosom X, jika membuahi sel telur akan menghasilkan embrio betina. Sedangkan spermatozoa berkromosom Y, akan menghasilkan embrio jantan (Susilawati et al. 1999). Spermatozoa X dan Y masing-masing berbeda dalam ukuran dan bentuk

spermatozoa, berat, densitas, motilitas, muatan dan kandungan biokimia pada permukaannya (Hafez 1993). Beberapa perbedaan ini menyebabkan spermatozoa X dan Y memungkinkan untuk dipisahkan. Berbagai metode pemisahan spermatozoa X dan Y telah banyak dilakukan. Metode pemisahan tersebut antara lain yaitu sedimentasi, kolom albumin, sentrifugasi gradient densitas, elektroforesis, H-Y antigen, flow cytometry dan filtrasi dengan kolom sephadex (Hafez 1993). Keberhasilan menggunakan spermatozoa hasil pemisahan spermatozoa X dan Y ini sekitar 85-95% (Garner and Seidel 2000), sedangkan rasio antara jumlah spermatozoa X dan Y sebelum pemisahan adalah 50% : 50% (Hunter 1982). Pemisahan spermatozoa dengan metode kolom *bovine serum albumin* (BSA) mudah dilakukan dan diaplikasikan serta dapat menghasilkan spermatozoa X dan Y antara 71-76%. (Kaiin et al. 2003).

Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan teknologi sexing sperma di BIBD Banyumulek NTB sebagai pusat penghasil semen beku dan untuk mengetahui peningkatan produktivitas sapi Bali di peternakan rakyat dengan aplikasi IB menggunakan sperma sexing.

BAHAN DAN METODE

Area kajian

Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahapan. Tahap pertama dari April sampai dengan Agustus 2015 pelaksanaan penelitian sexing sperma sapi Bali di BIB Lelede, Banyumulek, Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Nusa Tenggara Barat. Tahap kedua dari September 2015 sampai dengan Januari 2016 pelaksanaan IB sperma sexing dengan akseptor sapi Bali betina di kelompok-kelompok tani ternak. Lokasi kelompok tani ternak sebagai akseptor IB sperma sexing berada di Kabupaten Lombok Barat, Kabupaten Lombok Tengah dan Kabupaten Lombok Timur.

Cara kerja

Sexing sperma

Pejantan Sapi Bali sebanyak 5 ekor dari BIB Lelede Banyumulek digunakan sebagai sumber semen segar. Semen segar di tampung menggunakan vagina buatan dengan suhu 40°C pada saat ejakulat dengan bantuan sapi pemancing. Batasan kualitas rata-rata sperma sapi Bali yang dapat di sexing dengan kualitas makroskopis dan mikroskopis yaitu, volume 4 ml (2 ml s/d 6 ml), kepekatan sedang s/d kental, bau normal khas sapi, pH 6,5 - 7,5, gerakan massa + s/d ++++, motilitas 60-70% dan konsentrasi $\leq 1.000 \times 10^6$ /ml. Sexing sperma dilakukan dengan kolom BSA 5 dan 10% menggunakan tabung kaca dengan pengatur suhu di dalam waterbath selama 30 sampai dengan 60 menit. Sperma sexing yang telah terkoleksi kemudian diencerkan dengan pengencer tris kuning telur dan diekuilibrasikan selama 2 jam. Pembekuan dilakukan dengan menempatkan sperma diatas uap nitrogen cair selama 15 menit, kemudian dimasukkan kedalam nitrogen cair dan disimpan dalam container nitrogen cair. Evaluasi

kualitas sperma sexing beku dilakukan dengan thawing setelah 24 jam penyimpanan. *Post Thawing Motility* (PTM) mengacu pada standar SNI semen beku sapi tahun 2008.

Seleksi sapi betina asektor inseminasi buatan

Seleksi sapi Bali betina yang digunakan sebagai akseptor IB adalah sapi Bali betina yang pernah beranak satu sampai dengan dua kali (sapi akseptor tidak ada gangguan reproduksi). Nilai *Body Condition Score* (BCS) sapi Bali akseptor yang digunakan antara 2,5 sampai dengan 3.

Inseminasi buatan dengan sperma sexing

Pelaksanaan inseminasi buatan dengan sperma sexing dilakukan pada sapi betina yang mengalami siklus birahi alami (minta kawin) rata-rata interval 21 hari, dengan tanda-tanda yaitu sapi tampak gelisah, banyak bersuara, pada bagian alat kelamin luar (vulva) mengalami perubahan seperti: bengkak, merah dan basah berlendir. Birahi terjadi pada pagi hari maka IB pada sore hari dan birahi terlihat pada sore hari maka IB pada pagi hari berikutnya sebelum jam 12 siang (Toelihere 1993). Pelaksanaan IB dilakukan oleh petugas inseminator dengan perlengkapan lapang yaitu kontainer nitrogen cair sebagai tempat penyimpanan sperma sexing beku dan peralatan inseminasi untuk menginseminasikan sperma ke dalam uterus sapi.

Pemeriksaan kebuntingan dan jenis kelamin dari kelahiran pedet

Pemeriksaan kebuntingan dengan menggunakan dua metode yaitu pemeriksaan dengan alat Ultrasonografi (USG) dan dengan cara palpasi rektal. Pemeriksaan USG dilakukan pada kebuntingan 30 sampai 60 hari, sedangkan pemeriksaan palpasi rektal dilakukan pada umur kebuntingan 90 hari (3 bulan) (Gunawan et al. 2015). Kelahiran dengan pengamatan jenis kelamin pedet setelah kebuntingan selama 9 bulan diperoleh dari laporan peternak dan dibuktikan oleh petugas inseminator untuk pencatatan dan pelaporan.

Analisis data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah dengan parameter jenis sperma sexing untuk IB terhadap tingkat efisiensi reproduksi ternak betina akseptor, meliputi dua parameter yaitu: *Service per Conception* (S/C) yaitu jumlah semen (straw) yang digunakan dibagi dengan jumlah sapi yang berhasil bunting dan *Conception Rate* (CR) yaitu jumlah sapi yang berhasil bunting pada IB ke-1 dibagi dengan jumlah sapi akseptor IB dikalikan seratus persen. Analisis data dilakukan menggunakan software SPSS versi 17.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Penampungan semen segar sapi Bali dengan vagina buatan di peroleh hasil seperti pada Tabel 1. Kualitas sperma sexing beku setelah di thawing kemudian

Tabel 1. Kualitas makroskopis dan mikroskopis semen segar sapi Bali

Parameter	Nilai hasil
Volume (ml)	6,23
Warna	putih susu
Bau	normal khas sapi
Konsistensi	sedang s/d kental
pH	7
Gerakan Massa	++ s/d +++
Motilitas (%)	70
Konsentrasi (10 ⁶)	1.611,17
Membran Plasma Utuh (MPU) (%)	93,44
Abnormalitas (%)	8,42

Tabel 2. Kualitas sperma sexing sapi Bali setelah thawing

Parameter	Setelah thawing	
	X	Y
Motilitas (%)	42,15	39,52
Membran Plasma Utuh (MPU) (%)	75,24	74,29
Abnormalitas (%)	9,40	9,14

Tabel 3. Nilai *Service per Conception* (S/C) Hasil IB dengan Sperma Sexing X

Lokasi	Jumlah Straw	Jumlah sapi bunting hasil IB	S/C (%)
Kecamatan Gunung Sari, Kabupaten Lombok Barat	150	105	1,43
Kecamatan Wanasaba, Kabupaten Lombok Timur	342	235	1,46
Kabupaten Lombok Tengah	100	72	1,39

Tabel 4. Nilai *Conception Rate* (CR) Hasil IB dengan Sperma Sexing X

Lokasi	Jumlah sapi betina asektor IB	Jumlah sapi bunting hasil IB ke-1	CR (%)
Kecamatan Gunung Sari, Kabupaten Lombok Barat	115	78	67,83
Kecamatan Wanasaba, Kabupaten Lombok Timur	289	191	66,09
Kabupaten Lombok Tengah	75	51	68,00

Tabel 5. Persentase ketepatan IB dengan sperma sexing X terhadap jenis kelamin pedet yang dilahirkan

Lokasi	Kelahiran pedet betina (ekor)	Kelahiran pedet jantan (ekor)
Kecamatan Gunung Sari, Kabupaten Lombok Barat	19 (76%)	6 (24%)
Kecamatan Wanasaba, Kabupaten Lombok Timur	23 (76,7%)	7 (23,3%)
Kabupaten Lombok Tengah	18 (75%)	6 (25%)

dievaluasi kualitas motilitas, viabilitas dan abnormalitas seperti pada Tabel 2. Efisiensi reproduksi tahap pertama dengan evaluasi nilai *Service per Conception* (S/C) untuk mengetahui tingkat fertilitas sperma sexing untuk menghasilkan sapi akseptor menjadi bunting seperti pada Tabel 3. Efisiensi reproduksi tahap kedua dengan evaluasi nilai *Conception Rate* (CR) untuk mengetahui tingkat fertilitas sperma sexing dengan satu kali IB seperti pada Tabel 4. Persentase ketepatan IB dengan sperma sexing X terhadap jenis kelamin pedet yang dilahirkan ditunjukkan pada Tabel 5.

Pembahasan

Provinsi Nusa Tenggara Barat merupakan salah satu provinsi lumbung ternak sapi di Indonesia. Jenis sapi yang banyak dibudidayakan di peternakan rakyat adalah sapi Bali dan sedikit persilangan sapi Simmental dan Limousin. Program Pemerintah Provinsi Nusa Tenggara Barat untuk meningkatkan populasi dan mutu genetik ternak sapi Bali dengan Program Bumi Sejuta Sapi telah mendorong penggunaan teknologi inseminasi buatan secara luas. Balai Inseminasi Buatan Daerah Banyuwangi sebagai produsen semen (sperma) beku merupakan penyedia bibit unggul untuk IB di Provinsi Nusa Tenggara Barat. Kerjasama antara LIPI dan Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Nusa Tenggara Barat melalui kegiatan Techno Park Banyuwangi telah melakukan alih teknologi sexing sperma pada sapi Bali untuk meningkatkan efisiensi reproduksi dalam budidaya sapi di peternakan rakyat. Penggunaan sperma sexing diharapkan untuk meningkatkan kelahiran anak sapi betina sebagai calon induk. Aplikasi inseminasi buatan dengan sperma sexing di peternakan pembibitan komersial telah lama dilakukan untuk mendapatkan efisiensi dalam usaha yang dijalankan. Perkembangan IB sperma sexing dengan tujuan efisiensi usaha ini menjadi dasar untuk menyebarkan hasil bioteknologi reproduksi sperma sexing di peternakan rakyat sebagai lumbung ternak utama di Indonesia.

Alih teknologi sexing sperma sapi Bali di BIBD Banyuwangi telah berhasil memproduksi sperma sexing beku karena didukung oleh pejection-pejection sapi Bali yang berkualitas. Kualitas semen segar dari tiga ekor pejection terpilih dengan kualitas semen segar seperti Tabel 1, telah memenuhi standar untuk di produksi menjadi sperma beku. Kualitas semen sapi Bali menurut hasil penelitian Kusdiantoro et al. (2010), semen segar sapi Bali memiliki rata-rata volume ejakulat 6,06 ml; konsentrasi 1.370 juta sperma/ml; motilitas 79% dan abnormal 9,15%. Hasil penelitian kualitas semen segar sapi Bali untuk tujuan sexing sperma yaitu rata-rata volume ejakulat 4,3 ml; konsentrasi 1.256 juta sperma/ml; motilitas 70-75% dan membran plasma utuh (MPU) 66,7% (Kaiin et al. 2012). Sedangkan nilai kualitas semen sapi Bali tertinggi hasil penelitian Said et al, (2012), dengan volume ejakulat 6,47 ml; konsentrasi 1.741 juta sperma/ml dan motilitas 90,44%.

Kualitas sperma sexing beku setelah thawing pada penelitian ini di peroleh hasil motilitas pada sperma X sebesar 40,45 dan sperma Y sebesar 39,14%. Hasil ini menunjukkan perbedaan motilitas sperma X lebih baik dan memenuhi standar SNI dibandingkan motilitas sperma Y.

Pada penelitian Kaiin et al. (2012) melaporkan kualitas sperma sexing setelah pencairan kembali (thawing) tidak terdapat perbedaan dibandingkan sperma tanpa sexing dengan motilitas diatas 40% sebagai syarat SNI 4869.1: 2008. Penurunan kualitas sperma sexing dibandingkan dengan sperma tanpa sexing terdapat pada perpanjangan waktu 4 jam setelah thawing menunjukkan sperma sexing mengalami penurunan motilitas dibawah 40% (Said et al. 2004).

Pada penelitian ini telah diperoleh hasil tingkat efisiensi reproduksi dengan parameter angka *conception rate* (CR) dan *service per conception* (S/C) pada aplikasi IB dengan sperma sexing X (betina) untuk meningkatkan jumlah populasi sapi Bali betina sebagai indukan. Pada penelitian ini diperoleh nilai rata-rata S/C sebesar 1,84 dan nilai CR sebesar 56,19%. Hasil penelitian terdahulu yang dilaporkan oleh Gunawan et al. (2013) menunjukkan bahwa tingkat efisiensi reproduksi aplikasi IB dengan sperma sexing mempunyai nilai CR lebih rendah (48.5-58.3%) dibandingkan sperma tanpa sexing (73.6%), sedangkan nilai S/C pada IB dengan sperma sexing memiliki nilai lebih besar (1.78-1.97) dibandingkan dengan sperma tanpa sexing (1.54). Nilai S/C yang diperoleh dalam penelitian ini masih menunjukkan nilai yang normal, seperti pendapat Toelihere (1985) yang menyatakan bahwa nilai S/C yang normal berkisar antara 1,6 sampai 2,0. Semakin rendah nilai S/C, maka semakin tinggi nilai kesuburan ternak betina dan sebaliknya semakin tinggi nilai S/C, maka semakin rendah nilai kesuburan ternak betina. Faktor menurunnya nilai CR dan naiknya nilai S/C pada IB dengan sperma sexing dibandingkan IB dengan sperma tanpa sexing dapat disebabkan oleh proses pemisahan (sexing). Keberhasilan kebuntingan dan ketepatan jenis kelamin pedet yang dilahirkan merupakan pembuktian akhir dari aplikasi IB dengan sperma sexing ini. Pada penelitian ini belum diperoleh hasil kelahiran anak sapi untuk mengetahui kesesuaian jenis kelamin karena sapi akseptor pada tahap kebuntingan. Situmorang et al. (2014) melaporkan bahwa IB dengan sperma sexing hasil pemisahan dengan albumin telur pada sperma X mencapai 65%. Nilai efisiensi reproduksi yang masih rendah merupakan indikator dan kendala dalam peningkatan produktivitas sapi di peternakan rakyat adalah manajemen pemeliharaan yang belum baik. Kebutuhan pakan masih tergantung dengan musim, pada musim penghujan ternak mendapat pakan hijauan yang melimpah, akan tetapi pada saat musim kemarau mengalami kekurangan pakan dan hanya diberikan pakan jerami kering. Pencatatan sistem pembibitan yang lemah dengan tidak adanya pencatatan silsilah ternak yang dipelihara juga menyebabkan program pembibitan yang dijalankan belum terarah dengan baik.

Dalam kesimpulan, aplikasi inseminasi buatan dengan sperma sexing dapat meningkatkan produktivitas ternak dengan meningkatkan efisiensi reproduksi dalam usaha pembibitan ternak yang dijalankan. Penggunaan IB dengan sperma X dapat digunakan untuk tujuan memperbanyak kelahiran anak betina sebagai calon induk. Keberhasilan IB sperma sexing di peternakan rakyat dapat ditingkatkan dengan seleksi sapi Bali betina calon akseptor yang memiliki nilai BCS antara 2,5 sampai dengan 3, serta

perbaiki mutu pakan dan pola pemeliharaan yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Sekretariat Kegiatan Techno Park (TP) Banyumulek, Nusa Tenggara Barat (NTB), Laboratorium Reproduksi Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI dan Balai Inseminasi Buatan Daerah Banyumulek, Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Propinsi Nusa Tenggara Barat, atas kerjasama dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Garner DL, Seidel GE Jr. 2000. Sexing bull sperm. In: Chenoweth PJ (ed). Topics in Bull Fertility. International Veterinary Information Services IVISO. Colorado State University, Fort Collins, Colorado, USA.
- Gunawan M, Kaiin EM dan Said S. 2015. Aplikasi Inseminasi Buatan dengan Sperma Sexing dalam Meningkatkan Produktivitas Sapi di Peternakan Rakyat. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia. Depok, 20 Desember 2014. Vol. 1. No. 1. Hal:93-96. Maret 2015.
- Gunawan M, Kaiin EM, Said S dan Tappa B. 2013. Keberhasilan Kebuntingan Hasil Inseminasi Buatan Menggunakan Sperma Sexing di Kawasan Peternakan Sapi Perah Bogor dan Tasikmalaya. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan : Membangun Center of Excellence untuk Pembangunan Industri Peternakan Menuju Swasembada Daging Nasional. Jakarta 3 Juni 2013. Hal:81-85.
- Hafez ESE. 1993. Reproduction in Farm Animals. 6th ed. Lea Febiger. Philadelphia.
- Kaiin EM, Gunawan M, Afiati F, Said S, Tappa B. 2012. Production of frozen sexing sperm separated with BSA column method with standardized on artificial insemination center. Proceedings International Conference on Biotechnology 2012. Bogor, 13-14 November 2012. Hal:67-72.
- Kaiin EM, Tappa B, Said S, Afiati F, Gunawan M, Yanthi ND. 2003. Aplikasi Bioteknologi untuk produksi bibit sapi yang sudah diketahui jenis kelaminnya. [Laporan Teknik Penelitian]. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong, Bogor.
- Kusdiantoro M, Purwantara B, Djuwita I. 2000. Evaluasi Fisiologi Semen dan Variasi Genetik Sapi Bali dalam Rangka Seleksi Pejantan Bibit Guna Menunjang Program Inseminasi Buatan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Said S, Kaiin EM, Afiati F, Gunawan M, Tappa B. 2004. Pengaruh metode dan lama thawing terhadap kualitas semen beku sapi Peranakan Ongole. J Protein 12 (1): 81-88.
- Said S., B. Tappa, M. Gunawan, C. Arman. 2012. Conception Rates of Bali Cattle After Oestrus Synchronization with PGF_{2a} and Artificial Insemination using Frozen-Thawed Sexed Semen. Proceedings International Conference on Biotechnology 2012. Bogor, 13-14 November 2012. Hal:33-40.
- Situmorang P, Sianturi RG, Kusumaningrum DA, Maidaswar R. 2014. Kelahiran anak sapi perah betina hasil inseminasi buatan menggunakan sexed sperma yang dipisahkan dengan kolom albumin telur. JITV 18 (3): 185-191.
- SNI [Standar Nasional Indonesia] 4869.1:2008 tentang semen beku-bagian 1: sapi
- Susilawati T, Sumitro SB, Harjopranto S, Mantara Y, Nuryadi. 1999. Pola kapasitas spermatozoa X dan Y sapi hasil pemisahan menggunakan filtrasi sephadex dan setrifugasi gradient densitas percoll. J Penelitian Ilmu-ilmu Hayati 11: 29-40.
- Toelihere MR. 1985. Ilmu Kebidanan pada Ternak Sapi dan Kerbau. Universitas Indonesia Press, Depok.
- Toelihere MR. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Penerbit Angkasa, Bandung.