

Keberhasilan IB menggunakan semen beku hasil *sexing* dengan metode sentrifugasi gradien densitas *percoll* (SGDP) pada sapi Peranakan Ongole (PO)

Moh. Thoriq Fernanda, Trinil Susilawati dan Nurul Isnaini

Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145 Jawa Timur

trinil_susilawati@yahoo.com

ABSTRACT: The purpose of this study was to evaluate the implementation of Artificial Insemination using sexed frozen semen processed with percol density gradient centrifugation method on service per conception (S/C), Non Return Rate (NRR) and Conception Rate (CR) of Ongole crossbred cattle. The material used in this study were 54 Ongole crossbred cattle which were purposively selected with criteria had conditions of estrus 2A+. Fifty five cattle were divided into 2 treatments such as P0 (non sexed semen) with Post Thawing Motility (PTM) quality 40% and P1 (sexed semen) with PTM quality 5-10%. The study was conducted in the village Boro Bunut and Boro Kemantren Pakis subdistrict Malang. The study showed that P0 (non sexed semen) had S/C 1.3, NRR_{0-21} 74.07%, NRR_{22-42} 74.07%, NRR_{43-63} 74.07% and CR 74.07%, while P1 (sexed semen) had S/C 1.5, NRR_{0-21} 74.07%, NRR_{22-42} 59.25%, NRR_{43-63} 59.25% and CR 55.56%. These results indicated that P0 (non-sexed semen) had better results than P1 (sexed semen), but statistically the two treatments were not significantly different ($P > 0.05$). The highest percentage of cattle pregnancy (74.07%) was found in P0 (non sexed semen) as compared to P1 (sexed semen) which was 59.25%.

Keywords: Sexing, estrus, cattle

PENDAHULUAN

Kebutuhan daging sapi di Indonesia terus meningkat sejalan dengan meningkatnya jumlah penduduk Indonesia dan kesadaran masyarakat terhadap pentingnya protein hewani. Laju permintaan daging yang meningkat ini tidak diimbangi dengan peningkatan produksi daging dalam negeri, sehingga saat ini ketersediaan daging sapi nasional masih mengalami kekurangan dan 35% ditutupi melalui daging impor. Program nasional untuk swasembada daging sapi tahun 2014 sebenarnya merupakan ketiga kalinya yang dicanangkan pemerintah. Sasarannya

pada tahun 2014 impor sapi dan daging sapi hanya 10% dari total kebutuhan konsumsi masyarakat. Berbagai program dilakukan oleh pemerintah dalam mencapai sasaran tersebut dengan tujuan untuk meningkatkan populasi sapi lokal sebagai sumber utama daging sapi. Program dimaksud diantaranya adalah: (1) pengurangan pematangan sapi lokal betina produktif, dan (2) memperluas jangkauan program kawin silang sapi betina lokal dengan inseminasi buatan (Harmini dkk., 2011).

Usaha ternak sapi potong di Indonesia membutuhkan perhatian khusus dalam kaitannya dengan upaya

mempertahankan dan menunjang peningkatan populasi dimana teknologi tepat guna di bidang reproduksi dan pakan sudah seharusnya bisa diterapkan secara mudah dan efisien. Peningkatan efisiensi reproduksi dalam usaha optimalisasi penggunaan Inseminasi Buatan (IB) diantaranya adalah mengupayakan setiap sapi induk mampu menghasilkan anak setiap tahun dengan jenis kelamin sesuai keinginan, yakni jantan atau betina (Pamungkas dkk., 2004).

Pemanfaatan *sexing* atau pemisahan spermatozoa X dan Y merupakan pilihan tepat untuk mendukung peran IB dalam rangka meningkatkan efisiensi usaha peternakan. Berbagai macam metode *sexing* yang telah dilakukan antara lain metode sedimentasi, *albumin column*, sentrifugasi gradien densitas Percoll, elektroforesis, *H-Y antigen*, *flow cytometri* dan filtrasi dengan *sephadex column* (Hafez dan Hafez, 2008).

Peningkatan efisiensi reproduksi adalah suatu upaya untuk meningkatkan populasi dan angka kelahiran sapi. Faktor penting untuk mengetahui efisiensi reproduksi sekelompok ternak dapat diketahui dengan mengevaluasi *anestrus post partum* dan angka perkawinan per kebuntingan (*service per conception*) (Luthfi dkk., 2011). Beberapa hal yang dapat dijadikan parameter untuk menilai tingkat efisiensi reproduksi ternak adalah *service per conception* (S/C), *conception rate* (C/R) dan *Non Return Rate* (NRR). Penelitian ini bertujuan mengevaluasi keberhasilan IB menggunakan semen beku hasil *sexing* dengan metode sentrifugasi gradien densitas *percol* (SGDP) pada sapi PO berdasarkan S/C, NRR dan CR yang merupakan parameter evaluasi keberhasilan inseminasi buatan.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-September 2013 di Desa Boro Bunut dan Boro Kemantren Kecamatan Pakis Kabupaten Malang, Jawa Timur.

Materi

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah 54 ekor sapi betina PO. Sampel dipilih secara *purposive sampling* dengan kriteria sapi betina memiliki kondisi birahi minimal 2A+ yaitu “abang” (labia minor memerah), “anget” (suhu tubuh meningkat) dan berlendir (mucus yang berasal dari servix). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah semen beku non *sexing* dan *sexing* dengan metode sedimentasi gradien densitas percol (SGDP) dengan semen sapi yang digunakan berasal dari bangsa Simental. Pelayanan IB dalam penelitian ini dilakukan oleh salah satu inseminator setempat yang berpengalaman dan sudah melakukan pelayanan IB lebih dari 3000 akseptor.

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah percobaan dengan sampel sebanyak 54 ekor sapi. Dua puluh tujuh ekor sapi diinseminasi menggunakan semen beku tanpa perlakuan *sexing* (kontrol) dengan kualitas *Post Thawing Motility* (PTM) 40% dan diinseminasi *single* dosis, sedangkan 27 ekor sapi lainnya diinseminasi *double* dosis menggunakan semen beku hasil *sexing* metode (SGDP) dengan spermatozoa berkromosom Y dan PTM 5–10%. Indukan dipilih secara *purposive sampling* dengan kriteria antara lain siklus birahi normal, memiliki kondisi birahi 2A+ dan tidak pernah mengalami

gangguan reproduksi. Pelaksanaan IB dilakukan oleh inseminator di desa setempat menggunakan semen hasil sexing dengan metode sedimentasi gradien densitas percol Sp-A “Y” dan semen tanpa perlakuan (kontrol). Semen dideposisikan pada posisi 4+. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan keberhasilan kebuntingan. Susilawati (2011^a) menjelaskan bahwa untuk meningkatkan keberhasilan IB dapat dilakukan dengan mendeposisikan semen pada posisi 4+. Data yang diambil adalah data primer dan sekunder. Pengambilan data primer dilakukan dengan cara pengamatan secara langsung (observasi) yang meliputi beberapa variabel antara lain: jumlah sapi, keadaan *body condition score* (BCS) dan kualitas birahi. Sedangkan data sekunder meliputi identitas peternak, tanggal partus terakhir berdasarkan informasi peternak dan riwayat kesehatan ternak berdasarkan hasil wawancara langsung dengan peternak. Pengambilan sampel dilakukan dengan kriteria:

1. Sapi betina indukan minimal memiliki kondisi birahi 2A+.
2. Memiliki riwayat kesehatan yang baik.
3. Tidak pernah mengalami gangguan reproduksi.

Variabel Pengamatan

1. *Non Return Rate* (NRR)

NRR adalah persentase sapi betina akseptor IB yang tidak kembali lagi birahi selama 20–60 hari atau 60–90 hari pasca pelaksanaan IB. Metode NRR berpedoman pada asumsi bahwa jika sapi yang telah diinseminasi dan tidak birahi lagi, maka dianggap bunting

(Susilawati, 2011^a). NRR yang digunakan dalam penelitian ini adalah NRR_{0-21} , NRR_{22-42} dan NRR_{43-63} . NRR_{0-21} diamati pada hari ke 18-21, NRR_{22-42} diamati mulai hari ke 39-42 dan NRR_{43-63} diamati mulai hari ke 60-63. Sapi yang menunjukkan tanda-tanda birahi setelah IB ke tiga maka dianggap gagal. Menurut Iswoyo dan P Widiyaningrum (2008), rumus menghitung NRR adalah sebagai berikut:

$$NRR = \frac{\text{Jumlah sapi di IB} - \text{Jumlah sapi di IB ulang}}{\text{Jumlah sapi di IB}} \times 100\%$$

2. *Service per conception* (S/C)

Service per Conception (S/C) adalah angka yang menunjukkan jumlah inseminasi untuk menghasilkan kebuntingan dari sejumlah pelayanan (*service*) inseminasi yang dibutuhkan oleh seekor ternak betina sampai terjadi kebuntingan. Rumus S/C menurut Hartatik dkk (2009) adalah sebagai berikut :

$$S/C = \frac{\text{Jumlah IB sampai terjadi kebuntingan}}{\text{Jumlah akseptor yang bunting}}$$

3. *Conception rate* (CR)

CR merupakan persentase kebuntingan pada IB ke 1. Jumlah akseptor bunting pada IB ke 1 dibagi jumlah akseptor kali 100%. Rumus CR menurut Susilawati (2005) adalah sebagai berikut:

$$CR = \frac{\text{Jumlah bunting IB ke 1}}{\text{Jumlah akseptor}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Service per conception

Data S/C penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data S/C pada perlakuan

Perlakuan	S/C
P0	1,3
P1	1,5

Tabel 1 menunjukkan P0 (non sexing) memiliki nilai S/C yang lebih rendah daripada P1 (sexing). Hartatik dkk (2009) menjelaskan S/C yang normal berkisar 1,6–2,0 artinya kedua perlakuan tersebut memiliki nilai S/C yang baik. Analisa statistik menunjukkan bahwa dua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

Hasil penelitian Susilawati (2011^a) menunjukkan nilai S/C pada sapi PO 1,2 atau lebih rendah dari S/C pada penelitian ini. S/C yang diperoleh pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Sasongko dkk., (2013), yakni S/C tertinggi 1,3 dan terendah 1,4. Nilai S/C dalam penelitian ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain deteksi birahi, deposisi semen, pakan, dan kualitas semen beku. Jalius (2011) menjelaskan tinggi rendahnya nilai S/C dipengaruhi oleh ketepatan deteksi birahi, ketepatan waktu IB dan kondisi reproduksi ternak betina. Ihsan dan Wahjuningsih (2011) menyatakan tingginya nilai S/C tidak terlepas dari rata-rata pemberian kandungan nutrisi dalam pakan yang sangat mempengaruhi kondisi reproduksi betina.

Hasil penelitian Susilawati (2011^a) menunjukkan tinggi rendahnya nilai S/C dipengaruhi oleh deposisi semen. Deposisi semen 4+ memberikan nilai S/C yang lebih rendah. Deposisi semen dalam penelitian ini sudah dila-

kukan di posisi 4+ namun nilai S/C masih lebih tinggi dari hasil penelitian Susilawati (2011^a). Hal ini dikarenakan terdapat faktor lain yang menyebabkan nilai S/C dalam penelitian ini menjadi tinggi antara lain deteksi birahi oleh peternak yang kurang tepat dan banyak terjadi *silent heat*, pakan yang diberikan hanya hijauan yang berkualitas rendah dan memiliki serat kasar tinggi (pucuk tebu dan tebon jagung), sehingga dengan pakan yang demikian kondisi reproduksi sapi betina dan birahi yang terjadi kurang optimal. Susilawati (2011^b) menjelaskan bahwa kebutuhan pakan untuk reproduksi sama dengan kebutuhan hidup pokok, sehingga apabila kebutuhan pokoknya terpenuhi maka ternak dapat bereproduksi dengan baik terutama pada ternak lokal. Pendapat ini didukung oleh Susilawati (2011^a) bahwa kekurangan protein dalam ransum ternak betina dapat mengakibatkan birahi lemah, kawin berulang, kematian embrio dini dan abortus. Selain faktor di atas, penyebab tingginya nilai S/C dalam penelitian ini adalah rendahnya nilai PTM yang berkisar antara 5-10% untuk semen sexing dan 40% untuk semen non sexing.

Conception rate

Data CR penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data S/C pada perlakuan

Perlakuan	CR (%)
P0	74,07 %
P1	55,56 %

Tabel 2 menunjukkan P0 (non sexing) memiliki nilai CR yang lebih baik daripada P1 (sexing). Ihsan dan Wahjuningsih (2011) menyebutkan bahwa nilai CR ideal adalah 60%. Nilai CR dalam penelitian ini lebih rendah

dari hasil penelitian Susilawati (2011^a) yang menunjukkan CR pada sapi PO sebesar 80%, IB dilakukan pada posisi 4+ dengan semen beku yang memiliki kualitas PTM 40%. Nilai CR dalam penelitian ini juga lebih rendah dari

penelitian Sasongko dkk., (2013) yang menunjukkan nilai CR pada sapi potong di Kabupaten Tulungagung sebesar 77% dan terendah sebesar 75%. Secara numerik nilai CR pada P0 memiliki perbedaan yang sangat jelas dengan CR pada P1, akan tetapi hasil analisa statistik menunjukkan kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

Tinggi rendahnya angka konsepsi atau CR disebabkan oleh banyak faktor, salah satunya adalah deteksi birahi. Ketepatan deteksi birahi sangat mempengaruhi nilai CR. Pernyataan tersebut sesuai dengan penjelasan Jalius (2011) bahwa nilai CR dipengaruhi oleh ketepatan deteksi birahi dan waktu IB. Kesalahan deteksi birahi dapat dikarenakan terjadinya *silent heat* atau birahi tenang. Susilawati (2004) menyatakan bahwa tinggi rendahnya nilai CR disebabkan oleh banyak tidaknya ternak yang kembali birahi setelah IB pertama. Kembalinya birahi ternak disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya karena kurangnya perhatian peternak terhadap deteksi birahi dan keterlambatan melapor, sehingga menyebabkan keterlambatan pelaksanaan IB. Birahi dipengaruhi oleh pakan yang diberikan. Pada musim kemarau hijauan yang diberikan cenderung berkualitas jelek, sehingga menyebabkan birahi lagi dan berakibat pada rendahnya CR. Penelitian Susilawati (2004) menunjukkan bahwa nilai CR juga dipengaruhi oleh deposisi semen pada saat IB. Dalam penelitiannya IB yang dilakukan pada posisi 4+ diperoleh nilai CR yang lebih tinggi yaitu 80%. Sedangkan nilai CR pada IB yang dilakukan pada posisi 4 lebih rendah yaitu 70%.

Rendahnya CR pada P1 (*sexing*) juga disebabkan karena rendahnya kualitas semen beku yang digunakan dalam penelitian ini. Semen beku yang digunakan dalam penelitian ini adalah

semen beku hasil *sexing* dengan PTM 5-10%. Hasil penelitian Susilawati (2011^a) menunjukkan bahwa nilai CR dari IB yang dilakukan dengan semen PTM 5-20% menghasilkan CR 50%. Susilawati (2004) menjelaskan bahwa semen segar setelah dilakukan *sexing* dan pembekuan akan mengalami penurunan motilitas. Lebih lanjut dijelaskan bahwa persentase motilitas spermatozoa X dan Y setelah pemisahan adalah 55%. Setelah *thawing*, persentase motilitas X menurun menjadi 35% dan spermatozoa Y sebesar 40%. PTM semen *sexing* dalam penelitian dapat diasumsikan jelek. Hal ini dikarenakan kurang sempurnanya proses *sealing* pada saat pengemasan straw, sehingga masih terdapat rongga atau lubang pada ujung straw yang menyebabkan nitrogen cair masuk kedalam straw sehingga mempengaruhi motilitas spermatozoa.

Non return rate

Evaluasi keberhasilan IB dan kebuntingan ternak dapat dilihat dari timbulnya birahi kembali pada kurun waktu tertentu. Susilawati (2011^b) menjelaskan bahwa NRR merupakan persentase jumlah ternak yang tidak kembali birahi antara 60–90 hari. Susilawati (2011^a) melakukan evaluasi IB dengan perhitungan NRR_{0-30} , NRR_{30-60} , dan NRR_{60-90} . Sedangkan dalam penelitian ini pengamatan NRR dilakukan di hari 21, 42 dan 63. Sapi yang menunjukkan tanda-tanda birahi setelah IB pertama dilakukan IB kedua, kembali birahi setelah IB kedua dilakukan IB yang ketiga dan apabila terjadi birahi kembali setelah IB ketiga dianggap gagal. Metode NRR berpedoman pada asumsi bahwa sapi yang telah di IB dan tidak birahi kembali, maka dianggap bunting (Susilawati, 2011^a). Jalius (2011) menyatakan NRR merupakan gambaran

jumlah kebuntingan berdasarkan satu siklus birahi 17–35 hari yang tidak minta kawin kembali setelah di IB. Per-

sentase NRR dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan NRR_{0-21} , NRR_{22-42} dan NRR_{43-63}

No	Jenis semen beku hasil sexing	Jumlah sampel (ekor)	NRR (%)					
			Ternak bunting	NRR_{21}	Ternak bunting	NRR_{42}	Ternak bunting	NRR_{63}
1	Non sexing (P0)	27	20 ekor	74.07	20 ekor	74.07	20 ekor	74.07
2	SGDP (P1)	27	20 ekor	74.07	16 ekor	59.25	16 ekor	59.25

Tabel 3 menunjukkan pada pengamatan NRR_{21} diperoleh persentase yang sama antara P0 dan P1 yaitu 74,07%. Sedangkan NRR_{42} diperoleh 74,07% untuk P0 dan 59,25% untuk P1. Demikian pula dengan hasil NRR_{63} diperoleh 74,07% untuk P0 dan 59,25% untuk P1. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian Susilawati (2011^a) maka hasil NRR dalam penelitian ini dapat dikatakan rendah. Susilawati (2011^a) memperoleh nilai NRR hari ke 60–90 rata-rata sebesar 90% dari 4 perlakuan dengan sampel sapi 10 ekor tiap perlakuan. Rendahnya nilai NRR dalam penelitian ini disebabkan oleh berbagai macam faktor, antara lain deteksi birahi, ketepatan waktu IB, pakan, kualitas semen beku dan terjadinya kematian embrio dini. Sesuai pendapat Susilawati (2011^a) bahwa kekurangan protein dalam ransum ternak betina dapat mengakibatkan birahi lemah, kawin berulang, kematian embrio dini dan abortus. Pernyataan tersebut didukung oleh Jaenudin and Hafez (2008) yang menyatakan bahwa angka konsepsi dapat dipengaruhi oleh kualitas pakan. Pemberian pakan dengan kualitas rendah pada saat pasca partus sampai dengan pelaksanaan IB dapat menyebabkan fertilitas rendah dan meningkatnya kematian embrio dini.

Tabel 3 menunjukkan jumlah ternak yang bunting pada perlakuan P0 lebih tinggi (20 ekor) dibandingkan pada P1 (16 ekor). Rendahnya angka

konsepsi pada P1 disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah kualitas semen beku hasil sexing yang memiliki PTM 5-10%. Sedangkan semen beku yang digunakan pada P0 adalah semen beku tanpa perlakuan sexing dengan kualitas PTM 40% sehingga kemampuan spermatozoa untuk membuahi lebih besar. Meskipun secara numerik hasil NRR pada P0 dan P1 berbeda, akan tetapi setelah diuji statistik menggunakan percobaan tersarang (*nested*) kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) sehingga H_0 diterima yaitu tidak terdapat perbedaan NRR antar perlakuan yang tersarang.

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan kebuntingan diantaranya adalah kualitas semen, proses *thawing*, keterampilan inseminator, deposisi semen dan keadaan organ reproduksi sapi betina. Berdasarkan pengamatan pada saat penelitian diketahui bahwa kondisi estrus juga mempengaruhi keberhasilan kebuntingan. Pada P0, dari 20 ekor sapi yang berhasil bunting, 6 ekor berhasil bunting dengan kondisi estrus 2A+ dan 14 ekor berhasil bunting dengan kondisi estrus 3A+. Pada P1, sapi yang berhasil bunting dengan kondisi estrus 2A+ sebanyak 5 ekor dan sapi yang bunting dengan kondisi estrus 3A+ sebanyak 11 ekor. Sesuai dengan penjelasan Endrawati dkk., (2010) dan Nuryadi (2000), sapi yang sedang estrus akan menampakkan tanda–tanda estrus,

yang biasa dikenal dengan 3A yakni “abang” (labia minor memerah), “aboh” (vulva membengkak) dan “anget” (suhu tubuh meningkat, lebih hangat dari biasanya), berlendir (keluarnya mucus yang berasal dari servix berwarna jernih atau bening) dan diam apabila dinaiki penjantan. Estrus sapi berlangsung selama 12-18 jam. Dalam lingkungan panas sapi mempunyai lama estrus lebih pendek (10–12 jam) sedangkan di lingkungan beriklim dingin lama estrus rata-rata 18 jam.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Keberhasilan IB pada sapi PO yang menggunakan semen beku hasil sexing dengan kualitas PTM 5-10% lebih rendah daripada IB menggunakan semen beku non sexing dengan kualitas PTM 40%. Pada sapi yang di IB dengan semen beku hasil (sexing) memiliki S/C 1,5, CR 55,56% dan NRR₀₋₂₁ 74,07%, NRR₂₂₋₄₂ 59,25, NRR₄₃₋₆₃ 59,25% sedangkan IB dengan semen beku non sexing memiliki nilai S/C 1,3, CR 74,07% dan NRR₀₋₂₁ 74,07%, NRR₂₂₋₄₂ 74,07, NRR₄₃₋₆₃ 74,07%.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan pengaruh pakan yang diberikan terhadap keberhasilan IB yang dilihat dari nilai S/C, C/R dan persentase kebuntingan atau NRR.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang keberhasilan IB menggunakan semen beku hasil *sexing* metode (SGDP) dengan PTM 40%.

DAFTAR PUSTAKA

Endrawati E, E Baliarti dan S. P. Budhi Sasmito 2010. Performans induk sapi silangan Simental–Peranakan

Ongole dan induk sapi Peranakan Ongole dengan pakan hijauan dan konsentrat. Buletin Peternakan. 34 (2) : 87–89.

Hafez, E. S. E and B. Hafez. 2008. X and Y chromosom bearing spermatozoa in reproduction in farm animal. Lippincott Williams and Wikins, Philadelphia. Ed by Hafez and Hafez.

Harmini, R., W. Asmarantaka dan J. Atmakusuma. 2011. Model dinamis sistem ketersediaan daging sapi nasional. Jurnal Ekonomi Pembangunan. 12 (1) : 128–146.

Hartatik, T., D. A. Mahardika, T. S. M.Widi dan E. Baliarti. 2009. Karakteristik dan kinerja induk sapi silangan Limousin-Madura dan Madura di Kabupaten Sumenep dan Pamekasan. Buletin Peternakan. 33 (3) : 25–28.

Ihsan, M. N. dan S. Wahjuningsih. 2011. Penampilan reproduksi sapi potong di Kabupaten Bojonegoro. Jurnal Ternak Tropika 12 (2) : 77–79.

Iswoyo dan Priyanti Widiyaningrum. 2008. Performans reproduksi sapi Peranakan Simental (PSM) hasil inseminasi buatan di Kabupaten Sukoharjo Jawa Tengah. Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Peternakan. 11 (3) : 127–129.

Jainudeen, M. R. and E. S. E., Hafez. 2008. Cattle and buffalo. Dalam *Reproduction in farm animals*. 7th edition edited by Hafez E. S. E. Lippincott Williams & Wilkins. Maryland. USA.159 : 171.

Jalius. 2011. Hubungan mortalitas progresif dan keutuhan membran sperma dalam semen beku sapi Bali dengan keberhasilan inseminasi. Agrinak. 01 (1) : 44–46.

- Luthfi M, Y. N. Anggraeny dan Darminto. 2011. Perbedaan performan reproduksi sapi PO dan Brahman cross di berbagai lokasi di Jawa Tengah dan Jawa Timur. Seminar nasional teknologi peternakan dan veteriner : 80–84.
- Nuryadi. 2000. Dasar–dasar reproduksi ternak. Nes Press. Malang.
- Pamungkas, D, L. Affandhy, D.B. Wijono, A. Rasyid dan T. Susilawati. 2004. Kualitas spermatozoa sapi PO hasil sexing dengan teknik sentrifugasi menggunakan gradient putih telur dalam beberapaimbangan tris-buffer semen. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner : 37 – 40.
- Sasongko, G. S, C. Anwar dan S. Utama. 2013. Conception rate, services per conception, dan calving rate setelah IB pada sapi potong di Kabupaten Tulungagung periode Januari–Desember 2010. Veterinaria. Medika. 6 (1) : 45 – 47.
- Susilawati T. 2004. Keberhasilan IB menggunakan semen sexing setelah dibekukan. Seminar nasional teknologi peternakan dan veteriner : 199–202.
- Susilawati T. 2005. Tingkat Keberhasilan kebuntingan dan ketepatan jenis kelamin hasil inseminasi buatan menggunakan semen beku sexing pada sapi Peranakan Ongole. Animal production. 7 (3) : 161–164.
- Susilawati T. 2011^a. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan dengan kualitas dan deposisi semen yang berbeda pada sapi Peranakan Ongole. Jurnal Ternak Tropika 12 (2) : 17–22.
- Susilawati T. 2011^b. Spermatology. UB Press. Malang.