

Original Article

Persentase keberhasilan inseminasi buatan dosis ganda pada sapi persilangan Limousin dengan karakter lendir serviks yang berbeda

Nurul Layla, Yadi Malda, Aulia Puspita Anugra Yekti, Asri Nurul Huda, Rizki Prafitri, Kuswati Kuswati, Trinil Susilawati*

Faculty of Animal Science, Brawijaya University, Malang, 65145

*Correspondence: tsusilawati@ub.ac.id

Received: May 30th, 2022; Accepted: August 13rd, 2022; Published online: November 7th, 2022

Abstrak

Tujuan: Penelitian bertujuan untuk mengetahui keberhasilan inseminasi buatan pada sapi persilangan Limousin menggunakan metode IB dosis ganda pada karakter lendir serviks yang berbeda.

Metode: Materi yang digunakan sebanyak 45 ekor sapi betina dengan kriteria BCS 3-6 pada skala 1-9 dan berumur 1,8–6 tahun. Parameter karakter lendir yang di amati adalah kondisi lendir, pH lendir dan daya hambat arus listrik lendir. Metode IB menggunakan metode dosis ganda dengan deposisi semen 4+ (*cornua utery*).

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan persentase NRR 1 dan NRR 2 tertinggi ditunjukkan oleh ternak dengan kriteria kondisi lendir ada, banyak. Memiliki nilai pH 8 dan daya hambat arus listrik berada pada kisaran angka 20-29 Ω dengan persentase NRR 1 berturut-turut sebesar 62,22%, 53,33% dan 71,11%, sedangkan pada NRR 2 memiliki persentase berturut-turut sebesar 60,00%, 51,11% dan 68,89%. Persentase CR tertinggi juga ditunjukkan oleh ternak dengan karakter lendir tersebut yang memiliki persentase berturut-turut sebesar 33,33%, 33,33% dan 42,22%.

Kesimpulan: Disimpulkan bahwa persentase kebuntingan tertinggi ditunjukkan oleh sapi dengan kriteria lendir ada, banyak, memiliki nilai pH 8 dan memiliki nilai hambat arus listrik pada kategori 20-29 Ω .

Kata Kunci: *Conception rate*; Inseminasi buatan; Lendir serviks; *Non return rate*

Abstract

Objective: The aim of the study was to find out the successful pregnancy in Limousin crossbreed cattle using double-dose AI method on different characters of cervical mucus.

Methods: The material used in this study were 45 female cattle with BCS criteria 3-6 on a scale of 1-9 and aged 1.8-6 years. The parameters observed were the condition of the mucus, the pH of the mucus and the electrical resistance of the mucus. AI method uses a double dose method with 4+ semen deposition (*cornua utery*).

Results: The results showed that the highest percentages of NRR 1 and NRR 2 were shown by cattle with the criteria for mucus conditions being present and abundant. It has a pH value of 8 and an electric current resistance is in the range of 20-29 Ω with a percentage of NRR 1 of 62.22%, 53.33% and 71.11%, while the NRR 2 has a percentage of respectively 60.00%, 51.11% and 68.89%. The highest percentage of CR was also

shown by cattle with the mucus character, which had percentages of 33.33%, 33.33% and 42.22%, respectively.

Conclusions: It was concluded that the highest percentage of pregnancy was shown by cattle with the criteria of mucus being present and abundant, having a pH value of 8 and having an electric current resistance value in the 20-29 Ω category.

Keywords: Conception rate; Artificial insemination; Cervical mucus; Non return rate

PENDAHULUAN

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi yang dapat diaplikasikan di peternakan rakyat untuk meningkatkan produktivitas ternak sapi, dengan cara memanfaatkan spermatozoa pejantan unggul agar dapat mengawini lebih dari satu induk, sehingga meningkatkan jumlah keturunan dengan cepat Susilawati *et al.* [1]. Ketepatan waktu IB merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap keberhasilan kebuntingan pada ternak. Munculnya tanda-tanda estrus menjadi pedoman untuk dilakukannya IB. Tanda estrus pada ternak ditandai dengan keluarnya lendir dan perubahan tampilan fisik pada vulva yang dipengaruhi oleh kadar hormon estrogen Nuryadi [2]. Ternak dengan kadar hormon estrogen yang tinggi, memiliki karakter estrus yang jelas. Karakter estrus yang tampak jelas menunjukkan kualitas estrus yang baik. Semakin jelas tanda-tanda estrus yang tampak, maka keakuratan identifikasi estrus semakin tinggi, sehingga waktu pelaksanaan IB akan semakin tepat Jannah *et al.* [3]. Penelitian yang dilakukan oleh Bernardi *et al.* [4] menunjukkan bahwa sapi yang mengeluarkan lendir banyak saat di IB memiliki nilai *conception rate* (CR) yang lebih tinggi sebesar 44%, sedangkan sapi yang mengeluarkan sedikit lendir memiliki nilai CR sebesar 21%.

Peluang keberhasilan IB dapat dipengaruhi oleh waktu inseminasi. Selain itu, teknik IB yang dilakukan dengan cara dosis tunggal dan ganda memiliki tingkat keberhasilan yang berbeda. Tingkat keberhasilan IB dosis tunggal pada sapi persilangan Limousin yang dilakukan oleh Arifin *et al.* [5] memiliki *non-return rate* (NRR) sebesar 70% dan CR sebesar 50%, sedangkan keberhasilan IB dengan teknik dosis ganda yang dilakukan pada jam ke 2 dan 8 setelah

estrus, dalam penelitian Wiranto *et al.* [6] memiliki CR sebesar 74,03% dengan NRR 1 dan NRR 2 sebesar 89,61% dan 84,42%.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persentase keberhasilan kebuntingan pada sapi persilangan Limousin menggunakan metode IB dosis ganda pada jam ke 2 dan jam ke 8 dengan karakter lendir serviks yang berbeda.

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian ini menggunakan sapi betina persilangan Limousin sebanyak 45 ekor dengan kriteria BCS 3-6 pada skala 1-9 dan berumur antara 1,8–6 tahun. Penentuan umur dilakukan berdasarkan susunan gigi seri permanen insisivus. Sapi yang digunakan dalam kondisi sehat dan menunjukkan tanda-tanda estrus dengan baik. Semen yang digunakan pada penelitian ini merupakan semen beku bangsa Limousin dari Balai Besar Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari, Malang.

Metode

Metode Penelitian ini menggunakan metode eksperimental lapang (*field experiment*), pengambilan sampel menggunakan teknik *purposive sampling*. Inseminasi buatan dilakukan dengan metode dosis ganda yaitu pada jam ke 2 dan jam ke 8 setelah ternak tersebut menunjukkan tanda-tanda estrus secara alami Deposisi semen dilakukan pada posisi 4+ (*cornua uteri*). Metode *thawing* menggunakan air dengan suhu 27-28°C selama 30 detik. Penyuntikan Bio ATP+ merek "Rheinbio" dilakukan setelah IB menggunakan metode injeksi intramuscular dengan dosis 10 ml/ekor.

Lendir serviks

Kondisi lendir diamati dengan melihat jumlah dan konsistensi kemudian

dikelompokkan dalam kriteria ada, basah, sedikit dan ada, basah, banyak Ansori *et al.* [7] Skor 1 = Lendir ada, basah, sedikit (konsistensi lendir kental tetapi hanya berada pada vulva dan tidan menggantung); Skor 2 = Lendir ada, basah, banyak (konsistensi lendir yang kental dan menggantung).

pH lendir serviks

Pengukuran pH lendir servik dilakukan dengan menggunakan kertas lakmus. Kertas lakmus di oleskan pada lendir yang terdapat di vulva, perubahan warna pada kertas kemudian di bandingkan dengan standar nilai yang terlampir Damarany [8].

Hambatan listrik lendir serviks

Nilai Hambatan listrik lendir serviks dapat diketahui melalui alat *Heat Detector*. *Heat Detector* yang digunakan dalam penelitian ini merek *Brunstmessgerat* dengan skala angka penilaian 1-60 Ω . Pengukuran dilakukan dengan cara memasukkan HD sedalam 20-30 cm melalui vulva secara perlahan kemudian ditekan kedua tombol. Ternak yang sedang estrus menunjukkan nilai HD yang semakin rendah Riyanto *et al.* [9].

Menurut Jainudeen and Hafez [10], keberhasilan kebuntingan dinilai melalui beberapa indikator yang terdiri dari:

1. *Non Return Rate* (NRR-1 dan NRR-2)

$$\%NRR = (\text{Jumlah sapi di IB} - \text{Jumlah sapi di IB ulang}) / (\text{Jumlah sapi di IB}) \times 100\%$$
2. *Conception Rate*

$$\%CR = (\text{Jumlah ternak bunting pada IB pertama}) / (\text{Jumlah akseptor}) \times 100\%$$

Analisis data

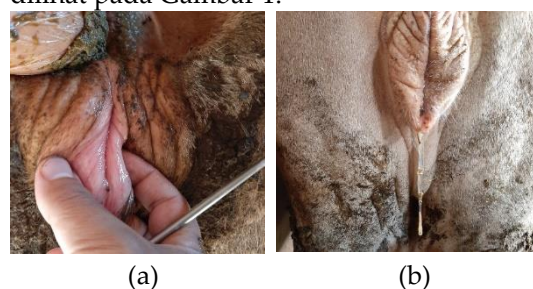
Data yang diperoleh ditabulasi dengan Microsoft Excel kemudian dianalisis dengan metode deskriptif kualitatif untuk mengetahui persentase keberhasilan kebuntingan sapi

persilangan Limousin berdasarkan karakter lendir yang dimiliki.

HASIL

Kondisi lendir serviks saat IB dan keberhasilan kebuntingan

Berdasarkan Tabel 1. didapatkan bahwa nilai NRR dan CR pada sapi dengan karakter lendir yang banyak saat dilakukan IB, lebih tinggi dari pada sapi dengan karakter lendir yang sedikit yaitu sebesar 62,22% pada NRR-1, 60,00% pada NRR-2 dan CR sebesar 33,33%. Kondisi lendir serviks pada saat IB dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (a) Kondisi lendir ada, sedikit
(b) Kondisi lendir ada, banyak.

Nilai pH lendir serviks saat IB dan keberhasilan kebuntingan

Hasil penelitian pada Tabel 2. menunjukkan bahwa sapi dengan kondisi pH lendir serviks pada angka 8 memiliki nilai CR yang lebih tinggi yaitu sebesar 33,33%, dengan NRR 1 sebesar 53,23% dan NRR 2 51,11%. Sedangkan, persentase kebuntingan sapi dengan kondisi pH lendir pada angka 7 yaitu hanya sebesar 8,89% dengan NRR 1 dan NRR 2 sebesar 20,00%.

Hambatan arus listrik lendir saat IB dan keberhasilan kebuntingan

Tabel 3. menunjukkan bahwa persentase kebuntingan sapi dengan nilai HD 20-29 Ω sebesar 42,22%, dengan NRR 1 dan NRR 2 berturut-turut sebesar 95,56% dan 71,11%.

Tabel 1. Persentase karakter lendir serviks saat IB dan keberhasilan kebuntingan pada sapi persilangan Limousin

Karakter lendir saat IB	Jumlah sampel (%)	NRR-1 (%)	NRR-2 (%)	CR (%)
Ada, sedikit	8 (17,78)	5 (11,11)	5 (11,11)	3 (13,33)
Ada, banyak	37 (82,22)	28 (62,22)	27 (60,00)	16 (33,33)
Total	45 (100)			

Tabel 2. Persentase kondisi pH lendir serviks saat IB dan keberhasilan kebuntingan pada sapi persilangan Limousin

pH Lendir serviks saat IB	Jumlah sampel (%)	NRR-1 (%)	NRR-2 (%)	CR (%)
7	13 (28,89)	9 (20,00)	9 (20,00)	4 (8,89)
8	32 (71,11)	24 (53,23)	23 (51,11)	15 (33,33)
Total	45 (100)			

Tabel 3. Persentase nilai hambatan arus listrik lendir saat IB dan keberhasilan kebuntingan pada sapi persilangan Limousin

Nilai hambatan arus listrik lendir (Ω)	Jumlah sampel (%)	NRR-1 (%)	NRR-2 (%)	CR (%)
20-29	43 (95,56)	32 (71,11)	31 (68,89)	19 (42,22)
30-40	2 (4,44)	1 (2,22)	1 (2,22)	0 (0)
Total	45 (100)			

Sapi dengan kategori nilai HD 30-40 Ω tidak menunjukkan adanya kebuntingan dengan nilai NRR 1 dan NRR 2 sebesar 2,22%.

PEMBAHASAN

Evaluasi keberhasilan inseminasi buatan pada sapi dapat dinilai melalui beberapa indikator antara lain adalah NRR dan CR. Non-return rate merupakan suatu indikator penilaian berdasarkan jumlah sapi yang tidak birahi kembali pada siklus estrus berikutnya setelah IB, sehingga dapat diasumsikan bahwa ternak tersebut dalam keadaan bunting Dash *et al.* [11]. Penentuan angka kebuntingan atau *conception rate* pada penelitian ini dilakukan dengan cara palpasi rektal pada hari ke 60 setelah IB. Hal ini sesuai dengan penelitian Saputra *et al.* [12] yang menyatakan bahwa persentase kebuntingan sapi betina yang di IB dapat diketahui berdasarkan hasil pemeriksaan kebuntingan pada hari ke 40-60 setelah inseminasi. Lendir serviks merupakan suatu indikator untuk menilai kesehatan reproduksi dan status fertilitas ternak betina. Keluarnya lendir serviks dipengaruhi oleh kondisi hormonal pada ternak yang berperan penting dalam angka konsepsi yang dihasilkan Damarany [8].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bernardi [4] menunjukkan nilai CR sapi dengan lendir sedikit yaitu sebesar 21% dan nilai CR sapi dengan lendir yang banyak yaitu sebesar 44%. Lendir yang banyak pada saat IB merupakan media untuk keberlangsungan

hidup dan transportasi spermatozoa dalam organ reproduksi ternak betina, serta berperan dalam proses fertilisasi dan kapasitas spermatozoa. Kandungan lendir serviks terdiri dari 95-99% air, ion, enzim, musin, protein plasma dan protein bakterisida Yildiz [13]. Kondisi hormon pada ternak betina pada fase estrus memengaruhi kualitas dan kuantitas lendir serviks yang dihasilkan Pangestuningrum *et al.* [14]. Hormon estrogen mengakibatkan terjadinya sekresi lendir serviks dan mengalami hambatan akibat adanya hormon progesteron. Lendir serviks yang normal pada umumnya transparan, murni dan tidak berbau. Lendir yang transparan pada saat IB berkorelasi positif dengan peningkatan angka keberhasilan kebuntingan Lim *et al.* [15]. Warna lendir serviks berkaitan dengan adanya enzim lisosom yang berperan untuk merusak dinding sel bakteri yang patogen. Semakin tinggi jumlah enzim lisosom dalam lendir, maka jumlah mikroba dalam lendir akan menurun sehingga lendir keluar dalam bentuk transparan Nur *et al.* [16].

Kualitas lendir serviks dapat ditentukan melalui karakteristik fisiknya yaitu meliputi kuantitas, pH dan viskositas. Keadaan *heat stress* pada ternak dapat mempengaruhi karakteristik lendir sehingga berdampak terhadap tingkat fertilitas ternak tersebut Abd-Elhafeez *et al.* [17]. Kondisi lingkungan pada saat pengambilan sampel lendir dapat memengaruhi nilai pH, pH lendir menjadi lebih basa ketika berada di lingkungan

dengan kelembaban yang tinggi. Selain itu nilai pH juga rentan mengalami perubahan setelah lendirterpapar udara selama 5-10 menit Siregar *et al.* [18]. Penelitian yang dilakukan oleh Yildiz [13] menunjukkan bahwa angka kebuntingan yang paling tinggi dihasilkan oleh sapi yang memiliki pH lendir dengan kisaran 7,6-8 yaitu sebesar 60,87%. Sedangkan sapi yang memiliki pH lendir dengan kisaran 7-7,5 menunjukkan angka kebuntingan sebesar 45,45%. Tingginya angka kebuntingan pada kondisi pH tersebut dapat disebabkan oleh banyaknya spermatozoa yang bergerak progresif sehingga meningkatkan terjadinya fertilisasi, serta sebagai kondisi yang sesuai untuk perkembangan embrio. Lendir serviks dengan pH yang optimum dapat menjaga keberlangsungan hidup serta meningkatkan viabilitas dan motilitas spermatozoa. pH lendir yang optimum berada pada kisaran 7-8,5 Siregar *et al.* [18].

Heat detector (HD) merupakan suatu alat untuk mengetahui fase estrus pada ternak. Alat yang digunakan pada penelitian ini menggunakan merek *Brunstmessgerat*. Sulistya *et al.* [19] menyatakan bahwa prinsip kerja alat ini berdasarkan pada nilai hambatan aliran listrik pada lendir serviks dengan satuan Ω (*Ohm*). Persentase sapi dengan nilai hambatan listrik 20-29 Ω lebih banyak dari pada 30-40 Ω . Hal ini terjadi karena peningkatan hormon estrogen, sehingga mempengaruhi vasodilatasi vagina dan terjadi peningkatan volume lendir serviks. Lendir serviks memiliki konduktifitas yang relatif tinggi. Semakin banyak lendir serviks yang dihasilkan, menyebabkan daya hambat listrik yang semakin rendah Meydilasari *et al.* [20]. Konduktifitas lendir dipengaruhi oleh jumlah ion-ion elektrolit dalam lendir. Semakin banyak kandungan ion elektrolit dalam lendir, maka konduktifitas yang dimiliki juga semakin tinggi Yasa *et al.* [21]

Tingginya persentase kebuntingan pada nilai HD yang rendah disebabkan oleh adanya peningkatan konsentrasi hormon estrogen yang memberikan *positive feedback* terhadap *hypothalamus* untuk menginduksi keluarnya hormon LH. Hormon LH merupakan hormon yang berperan dalam proses ovulasi Hafez *et al.* [22].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa persentase kebuntingan tertinggi ditunjukkan oleh sapi dengan karakter lendir ada, banyak, memiliki nilai pH 8 dan memiliki nilai hambat arus listrik pada kategori 20-29 Ω . Persentase kebuntingan pada kriteria tersebut berturut-turut sebanyak 33,33%, 33,33% dan 42,22%.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dengan pihak manapun dalam penyusunan publikasi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Susilawati, T., N. Isnaini, A. P. A. Yekti, I. Nurjannah, Errico, dan N. da Costa. 2016. Keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen beku dan semen cair pada sapi peranakan Ongole. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 26(3):14-19. Doi: 10.21776/ub.jiip.2016.026.03.03
2. Nuryadi. 2014. *Ilmu reproduksi ternak*. UB Press, Malang.
3. Jannah, R., C. N. Thasmi, H. Hamdan, dan T. N. Siregar. 2020. Kinerja birahi pada Sapi Aceh yang mengalami kawin berulang. *Ovozoa: J. Anim. Reprod.* 9(2):48-52. Doi: 10.20473/ovz.v9i2.2020.48-52
4. Bernardi, S., A. Rinaudo, and P. Marini. 2016. Cervical mucus characteristics and hormonal status at insemination of Holstein Cows. *Iran. J. Vet. Res.* 17(1):45-49.
5. Arifin, M. Z., N. Humaidah, dan D. Suryanto. 2020. Studi tingkat keberhasilan inseminasi buatan (IB) ditinjau dari induk *breed* murni dan persilangannya pada sapi potong di Kabupaten Probolinggo. *Dinamika Rekasatwa*. 3(1):55-59.
6. Wiranto, Kuswati, R. Prafitri, A. N. Huda, A. P. A. Yekti, dan T. Susilawati. 2020. Tingkat keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen beku *sexing* pada bangsa sapi yang berbeda. *Jurnal Agripet*. 20(1):17-21. Doi: 10.17969/agripet.v2i1.15811
7. Ansori, A. I., Kuswati, 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. Doi: 10.33474/rekasatwa.v3i1.11820
8. Damarany, A. I. 2020. Physical traits of vaginal mucus discharge and their relations to conception rate of Egyptian Baladi Cows. *Egyptian J. Anim. Prod.* 57(2):63-70.
 9. Riyanto, J., Sunarto, D. S. Widyawati, and Lutojo. 2015. The use of vaginal smear method based on the morphology of the vaginal mucosa epithelial cells for the dairy cows cycle estrus detection. In *International Seminar on Tropical Animal Production*. 498-501.
 10. Jainudeen, M. R., and E. S. E. Hafez. 2000. *Cattle and buffalo in reproduction in farm animals* ed by E. S. E. Hafez and B. Hafez. Blackwell Publishing, USA.
 11. Dash, S., A. K. Chakravarty, A. Singh, A. Upadhyay, M. Singh, and S. Yousuf. 2016. Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: A review. *Vet. World*. 9(3):235-244. Doi: 10.14202/vetworld.2016.235-244
 12. Saputra, R., M. Hartono, dan S. Suharyati. 2021. Conception rate pada Sapi Krui di Kecamatan Pesisir Selatan Kabupaten Pesisir Barat. *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan*. 5(1):8-13. Doi: 10.23960/jrip.2021.5.1.8-13
 13. Yıldız, A. 2021. The validity of the scores of cervical mucus during artificial insemination for estimating the probability of conceiving in clinically healthy cows. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*. 7(1):58-65. Doi: 10.17582/journal.vsr/2021.7.1.58.65
 14. Pangestuningrum, J., S. P. Madyawati, H. Eliyani, R. Damayanti, and S. E. Rochmi. 2021. Etawa Goat Estrus Quality with Estrus Synchronization. *Journal of Applied Veterinary Science And Technology*. 2(1):15-21. Doi: 10.20473/javest.V2.I1.2021.15-21
 15. Lim, H. J., J. K. Son, H. B. Yoon, K. S. Baek, T. I. Kim, Y. S. Jung, and E. G. Kwon. 2014. Physical properties of estrus mucus in relation to conception rates in dairy cattle. *J. Embryo. Transf.* 29(2):157-161. Doi: 10.12750/JET.2014.29.2.157
 16. Nur, M. O., S. Mulyati, T. Sardjito, S. Chusniati, W. Tyasningsih, dan M. Mafruchati. 2020. Profil bakteri non spesifik dalam lendir serviks sapi perah pada fase folikuler dan fase luteal. *Ovozoa: J. Anim. Reprod.* 9(1):17-22. Doi: 10.20473/ovz.v9i1.2020.17-22
 17. Abd-ElHafeez, A. M., A. M. S. Amin, M. H. Ramadan, A. Helal, and M. Y. Mohamed. 2020. The most applicable physical properties of cervical mucus correlated with high pregnancy rate in Egyptian cows under heat stress condition. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 8(s2):122-131. Doi: 10.17582/journal.aavs/2020/8.s2.122.131
 18. Siregar, T. N., T. Armansyah, B. Panjaitan, G. Gholib, Herrialfian, A. Sutriana, Z. Abidin, M. A. Reynaldi, F. Razak, Y. Artaliani, and Yuswar. 2019. Changes in cervical mucus as an indicator of fertility in Aceh cattle. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 7(4):306-314. Doi: 10.17582/journal.aavs/2019/7.4.306.314
 19. Sulistya, T. A., N. Isnaini, dan T. Susilawati. 2021. Penurunan durasi berbaring harian sapi berahi, sebagai peluang untuk dijadikan teknologi otomatisasi peringatan dini sapi berahi. *Jurnal Agripet*. 21(1):92-96. Doi: 10.17969/agripet.v21i1.18461
 20. Meydilasari, N. I., T. Hernawati, S. Hidanah, T. D. Lestari, E. Safitri, T. Sardjito, dan Ismudiono. 2020. Hubungan antara skor hasil bacaan *heat detector* dengan gambaran sitologi vagina sebagai parameter penentuan estrus pada kambing. *Ovozoa: J. Anim. Reprod.* 9(1):7-11. Doi: 10.20473/ovz.v9i1.2020.7-11
 21. Yasa, N. F., N. W. K. Karja, dan M. A. Setiadi. 2018. Karakteristik dan respons estrus domba setelah pemberian *progesteron-controlled internal drug release* Selama 12 dan 13 Hari. *Jurnal Veteriner*. 19(4):135-140. Doi: 10.19087/jveteriner.2018.19.4.502
 22. Hafez, E. S. E., M. R. Jainudeen, and Y. Roshina. 2000. *Hormone, growth factors and reproduction in reproduction farm Animals* 7th ed. by E.S.E. Hafez and B. Hafez. Blackwell Publishing, USA.