

Penelitian

Tampilan Estrus dan Angka Kebuntingan Sapi Bali Pascapemberian Ekstrak Pituitari

(Clinical Sign of Estrus Cycle and Conception Rate of Bali Cow
after Pituitary Extract Administration)

Wilmientje Marlene Nalley*, Petrus Kune, Thomas Mata Hine

Program Studi Ilmu Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Nusa Cendana

* Penulis untuk korespondensi: nalleywm@yahoo.co.id

Diterima 29 November 2016, Disetujui 10 Maret 2017

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji potensi ekstrak pituitari sebagai sumber hormon alami yang murah dan aplikatif untuk meningkatkan produktivitas induk sapi bali. Kegiatan penelitian diawali dengan koleksi kelenjar pituitari dari rumah potong hewan dan diawetkan menggunakan aseton dengan konsentrasi bertingkat. Kelenjar pituitari kemudian dilarutkan dengan aquabidest menggunakan mortar hingga larut, kemudian larutan kelenjar pituitari disentrifugasi, dan supernatan disimpan sebagai ekstrak pituitari (EP). Dua belas ekor sapi bali dibagi ke dalam 4 kelompok. Berdasarkan dosis ekstrak kelompok I dengan dosis 0 mL (Po, kontrol), kelompok II dengan 10 mg/kg bobot badan (BB) (P1), Kelompok III dengan dosis 20 mg/kg BB (P2), dan kelompok IV dengan dosis 30 mg/kg BB (P3). Variabel penelitian adalah tampilan estrus, tingkat ovulasi, angka kebuntingan, dan *service per conception*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EP dengan dosis 20 mg/kg BB pada induk sapi bali mampu memperpendek siklus estrus ($P < 0,05$), yaitu 11,67 hari dibandingkan dengan kontrol yang mencapai 27 hari; meningkatkan angka kebuntingan hingga 100% vs 0%, dan menurunkan *service per conception*, yaitu 1,00 vs 3,33. Tidak terdapat perbedaan dalam *ovulation rate* dalam intensitas estrus antarperlakuan ($P > 0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak pituitari dapat meningkatkan produktivitas induksi sapi bali, dengan dosis terbaik yaitu 20 mg/kg BB.

Kata kunci: ekstrak pituitari, estrus, kebuntingan, performa reproduksi, sapi bali

ABSTRACT

The purpose of this study was to find out the natural hormones potency of pituitary extract as slaughterhouse waste products to improve the productivity of bali cows. The pituitary glands were collected and preserved using acetone, gradually until dry. Dried pituitary glands were then crushed and mixed with distilled water, centrifuged, and the supernatants were collected and stored as pituitary extracts (PE). Twelve bali cows were divided into 4 groups. Based on the the dose of PE the first group was control (Po) without PE administration, group II were given with 10 mg/kg body weight (BW) (P1), group III were given PE with a dose of 20 mg/kg BW (P2), group IV were given PE with a dose of 30 mg/kg BW (P3). The research variables were estrus intensity, ovulation rate, conception rate, and service per conception. The result showed that administration of EP at a dose of 10 mg/kg BW on bali cows are able to shorten the estrous cycle ($P > 0.05$), i.e 11.67 days compared with 27 days in control cows, demonstrated 100% of conception rates compared to 0% in control cows, and reduce service per conception, 1.00 in treatment vs 3.33 in control cows. There was no difference in the ovulation rate as well as in intensity of estrus among treatments ($P > 0.05$). It was concluded that PE extract can improve the productivity of the bali cow, the best dose was 20 mg/kg BW.

Keywords: pituitary extract, estrus, conception, reproductive performance, bali cow

PENDAHULUAN

Sapi bali merupakan salah satu ternak yang sangat potensial dikembangkan di daerah tropis, khususnya di Nusa Tenggara Timur (NTT). Total populasi sapi bali pada tahun 2011 di NTT adalah 778.665 ekor (Badan Pusat Statistik, NTT, 2012). Produktivitas sapi bali di NTT tergolong rendah yang dicerminkan oleh angka kelahiran yang rendah hanya 63,5% (Jelantik 2001) dan bobot lahir anak yang rendah (≤ 12 kg). Angka kematian pedet tinggi, yaitu mencapai 20-53% (Jelantik et al., 2004); tingkat pertumbuhan yang lamban (0,28-0,37 kg/hari), dengan pencapaian dewasa kelamin yang lamban berkisar 18-26 bulan (Wibisono, 2010), dan bobot badan dewasa yang rendah (225-335 kg). Rendahnya produktivitas sapi bali di NTT disebabkan oleh adanya *inbreeding*, yaitu perkawinan antarindividu dalam satu garis keturunan. Selain itu, seleksi negatif, yaitu ternak yang bergenetik unggul dijual dan yang berkualitas kurang baik dijadikan sebagai indukan, berdampak pada semakin rendahnya kualitas anak yang dilahirkan.

Salah satu upaya yang dilakukan untuk meningkatkan produktivitas sapi bali adalah melalui peningkatan produksi embrio dari sapi-sapi betina unggul yang selanjutnya ditransfer ke sapi-sapi betina resipien. Teknologi ini diharapkan akan meningkatkan populasi sapi bali yang bergenetik unggul melalui peningkatan jumlah kelahiran. Permasalahan dalam kegiatan produksi embrio adalah membutuhkan biaya yang sangat mahal untuk mengadakan hormon-hormon gonadotropin sintetik. Hormon-hormon tersebut didatangkan dari luar negeri dengan waktu tunggu mencapai 3 hingga 6 bulan. Hormon gonadotropin yang biasa digunakan dalam kegiatan produksi embrio sapi adalah *Follicle stimulating hormone* (FSH) dan *Luteinizing hormone* (LH) (Barati et al., 2006; Schieve et al., 2009).

Secara alami, FSH dan LH diproduksi oleh kelenjar pituitari (Kumar, 2007). Kedua hormon tersebut berperan dalam memperbanyak jumlah sel telur sehingga meningkatkan juga jumlah embrio yang dihasilkan oleh seekor ternak sapi. Peran FSH dan LH yang lain adalah produksi hormon progesteron yang bermanfaat untuk merangsang pertumbuhan kelenjar susu. Jumlah air susu yang dihasilkan oleh seekor ternak berkorelasi positif dengan jumlah kelenjar air susu. Selain memproduksi FSH dan LH, kelenjar pituitari juga menghasilkan hormon pertumbuhan atau *growth hormone* (GH). *Growth hormone* berperan dalam menunjang pertumbuhan fetus, dan juga bersama-sama dengan progesteron

berperan dalam produksi susu induk (Edward, 2005).

Kelenjar pituitari merupakan limbah rumah potong hewan yang biasanya dibuang bersama dengan tulang tengkorak pada saat pemotongan hewan untuk konsumsi. Beberapa peneliti sebelumnya telah menggunakan ekstrak pituitari dari berbagai ternak untuk merangsang estrus dan produksi sel telur pada domba, kambing, sapi, ayam, ikan, mencit, dan kambing dengan hasil yang memuaskan (Sutiyono et al., 2008; Siregar et al., 2013; Amiruddin et al., 2014; Andalusia et al., 2008; Nalley et al., 2010, 2012; Kaka, 2013). Hal ini mengindikasikan bahwa limbah pituitari yang diisolasi dari rumah potong hewan memiliki potensi yang cukup besar dalam memproduksi hormon gonadotropin.

Ekstrak pituitari memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan dengan penggunaan hormon sintetik, yaitu: i) menghasilkan hormon gonadotropin seperti FSH, LH, juga menghasilkan GH yang berperan dalam pertumbuhan fetus dan produksi susu induk; ii) hormon gonadotropin dan GH yang terkandung di dalam ekstrak pituitari bersifat alami sehingga tidak menimbulkan dampak negatif pada performa reproduksi sapi betina donor; iii) merupakan limbah rumah potong hewan yang umumnya dibuang atau tidak dimanfaatkan oleh masyarakat sehingga tidak membutuhkan biaya yang mahal untuk kegiatan produksi; iv) selalu tersedia secara lokal di setiap rumah potong hewan sehingga menjamin kontinuitas kegiatan produksi di setiap daerah.

Pemanfaatan ekstrak pituitari untuk meningkatkan produktivitas induk sapi bali belum tersedia, oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk menguji khasiat pemberian ekstrak pituitari pada produktivitas induk sapi dan mencari dosis ekstrak pituitari terbaik dalam meningkatkan produktivitas ternak.

BAHAN DAN METODE

Koleksi dan Pembuatan Ekstrak Pituitari

Tengkorak kepala sapi limbah RPH dibelah, otak dikeluarkan, dan kelenjar pituitari yang tertinggal pada sella tursica diambil secara hati-hati dan selanjutnya diawetkan secara kering dengan menggunakan acetone pro analysis (Susanto, 2001) Aseton diganti sebanyak tiga kali masing-masing selama delapan jam dan pada pergantian terakhir asetone dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, asetone dibuang dan selanjutnya diuapkan hingga kelenjar pituitari menjadi kering. Kelenjar pituitari

yang telah kering tersebut dimasukkan ke dalam botol gelap selanjutnya dan di simpan pada suhu kamar (28°C).

Pembuatan ekstrak pituitari dilakukan sesuai Susanto (2001), sebagai berikut :Kelenjar pituitari yang kering digerus hingga menjadi tepung, timbang tepung kelenjar pituitari sesuai perlakuan. Kelenjar pituitari kemudian dilarutkan dalam aquabidest sehingga terlarut. Larutan kelenjar pituitari tersebut dimasukkan ke dalam tabung mikro dan disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang terdapat pada bagian atas yang merupakan ekstrak pituitari diambil dengan menggunakan spuit, dan ekstrak pituitari dimasukkan ke dalam tabung mikro disimpan pada suhu -20 °C hingga saat digunakan.

Penyerentakan Estrus dan Inseminasi Buatan

Sebanyak 12 ekor sapi bali betina dikelompokkan ke dalam 4 grup dan selanjutnya dilakukan sinkronisasi estrus menggunakan 20 mg PGF_{2a}/ekor, dengan satu kali penyuntikan. Sapi-sapi yang menunjukkan gejala estrus selanjutnya diinjeksi dengan ekstrak pituitari dengan selang waktu tiga hari hingga ternak menunjukkan gejala estrus kembali. Dosis ekstrak pituitari yang diberikan adalah P₀ (diinjeksi NaCl fisiologis), P₁ (10 mg/kg BB), P₂ (20 mg/kg BB), dan P₃ (30 mg/kg BB). Ternak sapi yang menunjukkan gejala estrus diinseminasi dua kali menggunakan semen beku produksi Balai Inseminasi Buatan Singgосari dengan selang waktu 12 jam. Intensitas estrus diamati dan dinilai dengan skor : 1 = gejala estrus tidak jelas, 2 = gejala estrus jelas, dan 3 = gejala estrus sangat jelas. Ovation rate dihitung pada hari ke-7 setelah inseminasi, dengan cara menghitung jumlah korpus luteum (CL) yang terbentuk. Angka konsepsi (Conception Rate/CR) dihitung dengan cara membagi jumlah sapi betina yang bunting pada inseminasi pertama dengan jumlah sapi yang diinseminasi dikali 100%. Service per conception (S/C) adalah jumlah inseminasi sampai terjadi kebuntingan.

Tabel 1 Performa induk sapi bali pascapemberian ekstrak pituitari

Variabel	Ekstrak Pituitari (mL)			
	0	10	20	30
Siklus estrus (hari)	27 ± 1,00 ^c	20 ± 1,00 ^b	11,67 ± 2,89 ^a	11,67 ± 1,53 ^a
Intensitas estrus (skor)	2,33 ± 0,58	2,67 ± 0,58	3,00 ± 0,00	2,67 ± 0,58
Ovulation rate (buah)	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,33 ± 0,58	2,00 ± 1,73
Service per conception	3,33 ± 0,58 ^b	1,67 ± 0,58 ^a	1,00 ± 0,00 ^a	1,33 ± 0,58 ^a
Conception rate (%)	NIL	33,33	100	66,67

Superskrip yang berbeda pada kolom yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna pada taraf kepercayaan P<0,05.

Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati adalah siklus estrus, intensitas estrus, tingkat ovulasi, angka kebuntingan, dan service per conception.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Data yang terkumpul dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan Uji Duncan. Analisis menggunakan *software SPSS 19.0 for windows*.

HASIL PENELITIAN

Sapi-sapi kontrol (P₁) memiliki lama siklus estrus 27±1,00 hari, lebih panjang 6 hari daripada siklus normalnya. Sapi-sapi yang mendapat EP 20 dan 30 mg menunjukkan siklus estrus 11,67±2,89 hari, lebih pendek dari siklus normalnya (Tabel 1). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa siklus estrus sapi-sapi yang diberi EP 20 dan 30 mg berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan dengan sapi-sapi kontrol ataupun yang diinjeksi dengan 10 mg EP.

Jumlah pelayanan inseminasi buatan (S/C) tergolong tinggi, yaitu 3,33 kali pada sapi-sapi kontrol, sebaliknya rendah, yaitu 1,00 hingga 1,67 pada sapi-sapi yang mendapat injeksi EP. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa injeksi ekstrak pituitari 10 hingga 20 mg menghasilkan S/C yang lebih rendah (P<0,05) dibandingkan kontrol.

PEMBAHASAN

Lama siklus estrus sapi bali dalam penelitian ini berada pada kisaran waktu yang lebih lama dibandingkan sapi bali pada umumnya. Hasil penelitian ini mengindikasikan efek positif pemberian EP pada peningkatan produktivitas induk sapi bali. Pendeknya siklus estrus pada sapi-sapi yang mendapat injeksi EP, khususnya pada dosis 20 dan 30 mg BB, mungkin disebabkan oleh adanya

peningkatan hormon gonadotropin, khususnya FSH dan LH. Peningkatan kedua hormon tersebut diduga yang merangsang pertumbuhan dan pematangan folikel dari suatu gelombang folikel (*follicular wave*) tertentu yang sedianya akan mengalami degenerasi.

Sapi diketahui memiliki 2-3 gelombang folikel (Senger, 2005). Pematangan folikel-folikel tersebut menghasilkan estrogen dalam jumlah cukup signifikan yang selanjutnya berdampak pada timbulnya gejala estrus menjadi lebih cepat dibandingkan dengan kondisi normal. Pada kondisi normal, estrus timbul akibat estrogen dari folikel yang matang pada gelombang berikutnya. Hal ini yang mungkin menyebabkan pendeknya siklus estrus pada sapi-sapi yang mendapat injeksi ekstrak pituitari.

Keberhasilan IB dapat dinilai berdasarkan S/C dan CR. Sapi bali umumnya memiliki nilai S/C 2. Nilai S/C 2 tersebut artinya dibutuhkan 2 kali pelayanan inseminasi untuk menghasilkan satu kebuntingan. Sapi-sapi yang mendapat injeksi 20 mg EP menunjukkan nilai S/C 1. Nilai S/C 1 tersebut berarti bahwa setiap kebuntingan hanya membutuhkan 1 kali inseminasi. Hal ini mungkin disebabkan karena peningkatan dosis ekstrak pituitari akan berdampak pada peningkatan level hormon gonadotropin yang bekerja secara langsung untuk meningkatkan kualitas folikel dan secara khusus sel telur yang terdapat di dalam folikel tersebut. Peningkatan kualitas sel telur berkorelasi dengan tingkat fertilitas, yaitu kemampuan sel telur untuk berkembang menjadi embrio pascadibuahi oleh sperma.

Embrio yang dihasilkan oleh sel telur yang berkualitas juga memiliki daya hidup yang lebih baik sehingga terlihat bahwa ketika dilakukan pemeriksaan kebuntingan pada 2 bulan pascainseminasi sapi-sapi yang mendapat injeksi 20 mg EP memiliki angka kebuntingan 100% dibandingkan dengan 0% pada perlakuan kontrol.

Menurut Millar et al. (2004), ekstrak pituitari merupakan hasil ekstraksi kelenjar pituitari yang diambil dari dalam kepala hewan yang telah dipotong di rumah potong hewan. Secara anatomis, kelenjar pituitari terletak dekat otak yang secara alamiah berfungsi sebagai penghasil hormon yang meregulasi fisiologis fungsi tubuh. Kedudukan kelenjar ini di dalam tubuh sangatlah penting baik untuk menunjang pertumbuhan maupun untuk reproduksi. Beberapa hormon yang dihasilkan oleh kelenjar pituitari di antaranya adalah FSH, LH, dan GH (Millar et al., 2004).

Pada hewan betina, FSH berperan dalam memengaruhi aktivitas ovarium, terutama dalam menunjang pertumbuhan, dan pematangan folikel untuk produksi sel telur (Mappletoft et al., 2002; Quaresma et al., 2003; Millar et al., 2004; Situmorang, 2006). Jumlah sel telur yang dihasilkan sangat ditentukan oleh profil FSH yang dihasilkan oleh kelenjar pituitari. Selain itu, berdasarkan pengaruhnya pada jumlah sel telur yang dihasilkan, FSH juga berperan dalam meningkatkan produksi embrio, sehingga dalam praktiknya hormon ini sering digunakan untuk merangsang peningkatan jumlah embrio yang dihasilkan oleh seekor sapi betina.

FSH bersama dengan LH juga berperan dalam pembentukan CL (Millar et al., 2004) yang selanjutnya CL ini akan menghasilkan hormon progesteron yang sangat penting untuk memelihara kebuntingan. Level progesteron akan meningkat dan berada dalam konsentrasi yang tinggi selama periode kebuntingan karena salah satu peranan dari hormon ini adalah menciptakan lingkungan uterus yang dapat menunjang perkembangan fetus. Progesteron juga sangat penting untuk menunjang perkembangan kelenjar susu (Conneely et al., 2002) selama masa kebuntingan sapi. Semakin banyak CL yang terbentuk di ovarium, semakin banyak hormon progesteron yang dihasilkan dan selanjutnya berdampak pada perkembangan kelenjar susu yang optimal. Jumlah kelenjar susu yang terbentuk pada ambung selama masa kebuntingan berkorelasi positif dengan jumlah produksi susu yang dihasilkan oleh seekor induk sapi selama masa menyusui (Wang et al., 2009; Topal et al., 2010)

Pemberian EP yang secara alami mengandung FSH dan LH diharapkan dapat meningkatkan ovulasi induk sapi melalui peningkatan jumlah sel telur yang berovulasi dalam satu kali estrus. Pemberian EP juga diharapkan dapat merangsang peningkatan jumlah produksi susu induk melalui perbaikan pertumbuhan kelenjar susu selama masa kebuntingan. Peningkatan produksi susu induk pada sapi bali yang ada di NTT merupakan langkah strategis yang sangat penting mengingat sebagian besar kematian pedet (anak sapi) disebabkan oleh rendahnya produksi susu induk. Keuntungan lainnya dengan pemberian EP adalah memicu peningkatan konsentrasi hormon progesteron; semakin tinggi kadar progesteron maka semakin tinggi pula kemampuan induk sapi dalam memelihara kebuntingan yang dicerminkan oleh peningkatan angka kelahiran. Intensitas estrus pada semua kelompok perlakuan tidak berbeda ($P > 0,05$). Hal ini disebabkan karena semua sapi

penelitian menunjukkan gejala estrus yang jelas yang ditandai oleh vulva berwarna merah, bengkak, banyak lendir keluar dari vulva, hangat dan menunjukkan sikap diam dinaiki oleh sapi lainnya.

Ekstrak pituitari selain menghasilkan FSH dan LH, juga mengandung GH, sesuai dengan namanya, hormon ini secara alami berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan ternak. Berdasarkan kenyataan tersebut diharapkan pemberian EP pada masa kebuntingan akan meningkatkan pertumbuhan embrio atau fetus yang selanjutnya terjadi peningkatan bobot lahir (BL) anak yang dilahirkan oleh seekor induk sapi. Bobot lahir merupakan salah satu faktor yang menentukan daya hidup dan pertumbuhan anak selanjutnya. Semakin tinggi BL anak, daya hidup dan pertumbuhan selanjutnya akan semakin tinggi, dan strategi ini dapat menekan angka kematian anak dan juga penting untuk pencapaian bobot dewasa pada umur yang lebih muda.

Beberapa penelitian sebelumnya telah menggunakan EP untuk superovulasi produksi embrio, peningkatan *litter size*, dan peningkatan produksi susu pada mencit (Kaka *et al.*, 2013), superovulasi dan peningkatan *litter size* pada kambing (Nalley & Marawali, 2010; Nalley *et al.*, 2012; Siregar *et al.*, 2013), peningkatan produktivitas ayam petelur (Amiruddin *et al.*, 2014), dan merangsang keberhasilan pembuahan dan penetasan pada ikan (Andalusia *et al.*, 2008). Simpulan penelitian ini ialah ekstrak pituitari dapat meningkatkan produktivitas induksi sapi bali. Dosis 20 mg/kg BB merupakan dosis terbaik yang mampu meningkatkan produktivitas sapi bali.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dirjen DIKTI yang telah memberikan bantuan dana melalui Penelitian Hibah Bersaing tahun 2016 dengan kontrak no244/UN15.19.1/LT/2016.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiruddin, Siregar TN, Hamdan, Azhari, Jalaluddin, Zulkifli, Rahman AA. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak hipofisa sapi terhadap peningkatan produktivitas ayam petelur pada fase akhir produksi. *Jurnal Kedokteran Hewan* 8 (1): 80-84.
- Andalusia R, Mubarak AS, Dhamayanti Y. 2008. Respon pemberian ekstrak hipofisa ayam broiler terhadap waktu latensi, keberhasilan pembuahan dan penetasan pada pemijahan ikan komet (*Carassius auratus auratus*). *Berkala Ilmiah Perikanan* 3 (1): 21-27.
- Barati F, Niasari-Naslaji A, Bolourchi M, Sarhaddi F, Razavi K, Naghzali E, Thatcher WW. 2006. Superovulatory response of Sistani cattle to three different doses of FSH during winter and summer. *Theriogenology* 66:1149-1155.
- Conneely OM, Mulac-Jericevic B, DeMayo F, Lydon Jp, O'Malley BW. 2002. Reproductive functions of progesterone receptors. *Recent Progress in Hormone Research* 57:339-355.
- Edward DP. 2005. Regulation of signal transduction pathways by estrogen and progesterone. *Annual Review of Physiology* 67: 335-376.
- Jelantik IGN. 2001. Improving bali cattle (bibos banteng wagner) production through protein supplementation. PhD. Thesis. The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark.
- Jelantik IGN, P Kune, TT Nikolaus, D Taolin. 2004. Strategi suplementasi dan pemeliharaan dalam kerangka menekan angka kematian dan meningkatkan produksi pedet sapi Bali yang digembalakan pada padang penggembalaan alam di Propinsi Nusa Tenggara Timur. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Dirjen DIKTI.
- Kumar TR. 2007. Multiple ovulations, ovarian epithelial inclusion cysts, and It²SMAD two!. *Endocrinology* 148: 3591-3594.
- Mappletoft RJ, Steward KB, Adams JP. 2002. Recent advances in the superovulation in cattle. *Reproduction Nutrition Development* 42:601-611.
- Millar RP, Lu, Z-L, Pawson, AJ Flanagan, CA Morgan, K Maudsley SR. 2004. Gonadotropin-releasing hormone receptors. *Endocrine Reviews* 25: 235-275.
- Nalley WM, Warawali A. 2010. Penggunaan ekstrak hipofisa dalam rangka meningkatkan angka ovulasi pada kambing peranakan etawah. Laporan Penelitian Mandiri, Fapet Undana.
- Nalley WM. 2012. Penggunaan ekstrak hipofisa untuk meningkatkan *litter size* kambing kacang di Kabupaten Kupang. Penelitian Mandiri, Fapet Undana.
- Kaka A. 2013. Induksi peningkatan ovulasi, produksi embrio, *litter size* dan produksi susu mencit betina Swiss Webster menggunakan ekstra pituitari kering. Thesis, Undana.

- Topal M, Aksakal V, Bayram B, Yağanoğlu AM. 2010. An analysis of the factors affecting birth weight and actual milk yield in Swedish red cattle using regression tree analysis. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 20 (2): 63-69.
- Quaresma MA, da Costa LL, Silva JR. 2003. Superovulation of Mertolenga cows with two FSH preparations (FSH-P and follitropin). *Revista portuguesa de ciências veterinárias (RPCV)* 98: 81-84.
- Schieve LA, Devine O, Boyle CA, Petrini JR, Warner I. 2009. Estimation of the contribution of non-assisted reproductive technology ovulation stimulation fertility treatments to us singleton and multiple births. *American Journal of Epidemiology* 170 (11): 1396-1407.
- Senger PL. 2005. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conception Inc. Washington: Washington State University Research and Technology Park.
- Siregar TN, Siregar IK, Armansyah T, Syafruddin, Sayuti A, Hamdani. 2013. Tampilan reproduksi kambing lokal hasil induksi superovulasi dengan ekstrak pituitary sapi. *Jurnal Veteriner* 14 (1): 91-98
- Situmorang P. 2006. Using follicle stimulating hormone (FSH) for superovulation in buffalo. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Veteriner* 11 (4): 310-316.
- Susanto H. 2001. *Teknik Kawin Suntik Ikan Ekonomis*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Sutiyono, Setiatin ET, Kuncara S, Mayasari. 2008. Pengaruh pemberian ekstrak hipofisa terhadap birahi dan fertilitas pada domba yang birahinya diserentakan dengan progesterone. *Journal Indonesian Tropical Animal Agriculture* 33 (1): 20-26.
- Wang XZ, Brown MA, Gao FQ, Wu JP, Lalman DL, Liu WJ. 2009. Relationships of milk production of beef cows to postweaning gain of the calves. *The Professional Animal Scientist* 25: 266-272.
- Wibisono W. 2010. *Analisa Sapi Bali*. <http://ohsapi.blogspot.com/2010/05/analisa-sapi-bali.html>. diakses pada 5 Juni 2012.