

## **Efektivitas Berbagai Waktu Injeksi PGF<sub>2α</sub> Sebelum Penampungan Sperma Domba Lokal terhadap Kualitas Sperma dalam Pengencer Tris yang Disimpan Pada Suhu 5<sup>0</sup>C**

*(Effectivity of Various Time Injection of PGF<sub>2α</sub> Before Collected Sperm of Local Sheeps on Sperm Quality Using Tris Dilution Saved in Temperature of 5<sup>0</sup>C )*

**Purwaningsih<sup>1)</sup> dan Sunardi<sup>2)</sup>**

*<sup>1)</sup> Staf Pengajar Program Studi Diploma III Kesehatan Hewan Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Negeri Papua*

*Email: ningsih\_oks@yahoo.com*

*<sup>2)</sup> Staf Pengajar Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada*

### **ABSTRACT**

This experiment aimed to evaluate the effect of PGF<sub>2α</sub> and time of injection on the quality and viability of Local ram sperm in Tris dilution at 5<sup>0</sup>C storage temperature. The sperm was collected from four Local rams with artificial vagina, once a week for one month. At the first week, sperm were collected without PGF<sub>2α</sub> injection; 10 minute after PGF<sub>2α</sub> injection in second week; 20 minute after PGF<sub>2α</sub> injection in third week; and 30 minute after PGF<sub>2α</sub> injection in fourth week. PGF<sub>2α</sub> with dose of 1,0 ml/head (7,5 mg Luprostiol/ml) were given by intramuscular injection in thigh area. The data were analyzed by Completed Randomized Design. When there were significant differences continued with Duncan's New Multiple Range Test. The result showed that PGF<sub>2α</sub> injection significantly (p<0.05) increased the motility sperm and life sperm percentage especially on collected sperm 10 minute after PGF<sub>2α</sub> injection. Ejaculate volume, pH, sperm concentration, abnormal sperm percentation and sperm viability, showed no significant difference (p>0.05). Based on the result of this study, it was concluded that PGF<sub>2α</sub> injection 10 minute before sperm collection could improve sperm quantity and quality specifically sperm motility and sperm life percentation.

**Key words:** *local ram, prostaglandin F<sub>2α</sub>, quality sperm, dilution*

### **PENDAHULUAN**

Usaha untuk meningkatkan mutu genetik dan populasi ternak domba lokal membutuhkan adanya manajemen reproduksi yang baik. Penerapan teknologi inseminasi buatan (IB) adalah salah satu cara yang dapat ditempuh. Keberhasilan IB sangat tergantung pada kuantitas dan kualitas sperma yang dihasilkan oleh seekor ternak jantan selain kesanggupan ternak betinanya.

Dalam usaha perbaikan mutu dan daya produksi ternak domba, faktor penghambat utama yang sering ditemui adalah sulitnya mendapatkan bibit unggul dengan cara perkawinan secara alamiah (Partodiharjdo, 1992). Teknologi IB pada kambing dan domba di Indonesia belum begi-

tu berhasil dibanding dengan sapi, karena sperma sapi jantan dapat diencerkan dan mudah dibekukan dengan kerusakan yang sedikit pada tingkat hidupnya sperma (Wodzicka-Tomszewska *et al.*, 1993). Untuk menunjang keberhasilan suatu program IB maka daya fertilitas optimum spermatozoa harus dipertahankan untuk beberapa lama sesudah penampungan, karena spermatozoa tidak dapat bertahan hidup untuk waktu yang lama kecuali ditambah berbagai unsur ke dalam sperma. Unsur-unsur ini membentuk suatu bahan pengencer (Salisbury dan Van Demark, 1985).

Salah satu pengencer yang umum digunakan adalah Tris. Alasan penggunaan Tris sebagai buffer adalah adanya keuntungan tidak perlu menunggu sampai setelah pra-pendinginan untuk

menambah gliserol (Petter and Ball, 1995). Namanya penyangga Tris memperpanjang kehidupan spermatozoa pada ambien temperatur  $5^{\circ}\text{C}$  dan  $-196^{\circ}\text{C}$  (Bearden and Fuquay, 1997). Selain itu penyangga Tris lebih baik dibanding penyangga fosfat maupun sitrat karena mempunyai pH yang sama dengan plasma sperma yaitu antara 6,5 dan 6,75.

Prostaglandin merupakan kelompok lipida alami yang telah dapat diisolasi dari jaringan kebanyakan spesies mulai dari mamalia sampai karang (Nalbandov, 1990). Biosintesis prostaglandin berlangsung secara enzimatis dengan menggunakan asam lemak yang tidak jenuh (hypotetis asam prostanoat) yang mempunyai atom karbon sebanyak 20 buah yaitu asam arakhidonat yang mempunyai empat ikatan ganda 5, 8, 11 dan 14 untuk  $\text{PGE}_2$  dan  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (Djojosoebagio, 1990).  $\text{PGF}_{2\alpha}$  bersifat luteolitik dan mempunyai efek stimulasi terhadap otot polos. Karena aksinya ini, maka fungsi natural dari  $\text{PGF}_{2\alpha}$  adalah mengontrol siklus estrus, transpor ovum, transpor sperma dan kelahiran. Pada sapi pejantan yang diinjeksi dengan  $\text{PGF}_{2\alpha}$  menyebabkan sentakan produksi hormon LH dan testosteron (Bearden and Fuquay, 1997). Sedangkan LH dan testosteron telah diketahui penting dalam proses spermatogenesis (Toelihere, 1985). Selain itu prostaglandin pada ternak jantan mempunyai efek pengaruh pada pelepasan gonadotrophin, dan motilitas sperma (Ensminger, 1974).

Di dalam keadaan fisiologis, prostaglandin yang didapati pada sperma memegang peranan di dalam proses mengeluarkan isi kantung sperma (vesikula seminalis) bila prostaglandin ini telah terkumpul dalam jumlah yang cukup banyak. Gerakan peristaltik yang ditimbulkan oleh otot halus dari alat-alat kelamin pada saat terjadinya ejakulasi disebabkan oleh rangsangan dari prostaglandin (Djojosoebagio, 1990). Secara eksogen prostaglandin berpengaruh terhadap ereksi, ejakulasi dan transpor spermatozoa pada saluran reproduksi pejantan (Hafez, 1993). Hasil penelitian Hess (2002) menunjukkan bahwa konsentrasi sperma yang ditampung 15 menit setelah anjing diberi 0,1 ml/kg  $\text{PGF}_{2\alpha}$  meningkatkan karena redistribusi spermatozoa dari cauda epidid-

dimis ke ductus deferens selama kontraksi otot polos yang dirangsang oleh  $\text{PGF}_{2\alpha}$  juga tinggi. Selain itu pemberian  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sebelum penampungan sperma akan meningkatkan libido pada waktu penampungan sperma yang berpengaruh pada waktu false mount dan ejakulasi pada sapi pejantan dan penampungan sperma pada domba.

Melihat respon yang diberikan pada beberapa penelitian tersebut, maka penelitian ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh pemberian  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pada ternak domba jantan lokal pada beberapa tingkat waktu terhadap kualitas sperma dan daya hidup sperma setelah diencerkan dan disimpan pada suhu  $5^{\circ}\text{C}$ .

## MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 ekor domba lokal jantan dewasa berumur 1,5 sampai 2 tahun dan 2 ekor domba lokal betina dewasa sebagai pemancing (*teaser*). Bahan yang digunakan adalah prostaglandin  $\text{F}_{2\alpha}$  merk dagang Prosolvin yang diproduksi oleh Intervet Internasional B.V. volume tiap vial berisi 2 ml, prosolvin ini mengandung Luprostiol 7,5 mg/ml untuk injeksi. Bahan yang digunakan untuk pengenceran sperma adalah Tris (*hydroxymethyl aminomethane*, *citric acid*, glukosa, aquabidestilata, kuning telur, penisilin dan streptomisin).

Hijauan yang diberikan berupa rumput Gajah (*Pennisetum purpureum*) dan pakan penguat diberikan konsentrat Nutrifeed 400 gram per ekor per hari. Air minum diberikan secara *ad libitum*.

Alat yang digunakan adalah kandang kelompok ukuran  $3 \times 3 \text{ m}^2$  sebanyak 2 buah, spluit injeksi skala 3 ml, vagina buatan, tabung penampung sperma berskala, termos panas dan dingin, termometer, kain pelindung tabung sperma, mikroskop, slide warmer, haemocytometer, pipet, gelas objek, gelas penutup, lampu spiritus, pH meter, larutan Hayem, counter, eosin, erlenmeyer, beaker glass, timbangan Sartorius, gelas ukur, stick glass, kompor listrik, tabung reaksi kecil, mikrotiter, oven, water bath, dan almari es.

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap pra-penelitian dan tahap penelitian.

Tahap Pra-penelitian; Tahap ini berlangsung selama 7 hari dengan membiasakan ternak pada pakan dan lingkungan yang baru. Sebelum dilakukan penyuntikan prostaglandin dilakukan penampungan sperma dengan pemeriksaan sperma. Tujuan dari pra-penelitian ini adalah untuk mengetahui kuantitas dan kualitas sperma sebelum dilakukan perlakuan.

Tahap Penelitian; Hormon PGF<sub>2α</sub> disuntikkan secara intramuskular di daerah paha dengan dosis 1 ml per ekor sebelum penampungan sperma. PGF<sub>2α</sub> ini disuntikkan setiap satu minggu sekali selama 3 minggu. Penampungan sperma dilakukan 4 kali dengan jarak 1 minggu yaitu (1) minggu pertama tanpa perlakuan penyuntikan PGF<sub>2α</sub>, (2) 10 menit setelah penyuntikan PGF<sub>2α</sub> pada minggu kedua, (3) 20 menit setelah penyuntikan PGF<sub>2α</sub> pada minggu ketiga, dan (4) 30 menit setelah penyuntikan PGF<sub>2α</sub> pada minggu keempat.

Semen yang telah memenuhi persyaratan selanjutnya diencerkan dalam pengencer Tris (Tabel 1) hingga mencapai 100 ml. Jumlah larutan pengencer yang digunakan (dalam ml) adalah :

Jumlah larutan pengencer (ml) =

$$\frac{\text{volume sperma} \times \text{konsentrasi sperma} \times \% \text{ motilitas sperma}}{50.10^6 / 0,2 \text{ ml}} - \text{volume sperma}$$

Evaluasi kualitas sperma segar dilakukan segera setelah penampungan. Pengamatan dilakukan secara deskriptif terhadap volume sperma, warna sperma, bau sperma, pH sperma, konsistensi sperma, konsentrasi spermatozoa, gerakan massa, gerakan individu (motilitas sperma) dan persentase sperma hidup.

Setelah selesai diperiksa sperma diencerkan dengan pengencer penyangga Tris dan dikemas dalam tabung reaksi dan ditutup lalu tabung berisi sperma tersebut dimasukkan dalam *beaker glass* berisi air kemudian *beaker glass* tersebut dimasukkan dalam almari es bersuhu 5°C.

Pengamatan untuk melihat daya hidup spermatozoa dilakukan setiap hari sampai tidak ada

sel sperma yang hidup dengan menggunakan preparat apus dan melihat pergerakan sel sperma menggunakan mikroskop. Pengamatan yang dilakukan ini adalah pengamatan persentase sel sperma yang masih hidup.

Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis variasi menggunakan Rancangan Acak Lengkap Pola Searah (Completed Randomized Design = CRD). Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Volume Sperma

Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa dengan injeksi PGF<sub>2α</sub> menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $p > 0.05$ ) terhadap volume sperma, dengan rata-rata 0,80 ml untuk sperma domba yang ditampung 10 menit setelah injeksi PGF<sub>2α</sub>, 0,87 ml untuk sperma domba yang ditampung 20 menit setelah injeksi PGF<sub>2α</sub>, 0,90 ml untuk sperma domba yang ditampung 30 menit setelah injeksi PGF<sub>2α</sub> dan 0,90 ml untuk sperma domba tanpa perlakuan. Hal ini didukung oleh pendapat Capitan *et al.* (1996) bahwa perlakuan injeksi PGF<sub>2α</sub> secara intramuskuler sebelum koleksi sperma pada sapi tidak memberikan efek yang nyata pada reaksi waktu, volume sperma, konsentrasi spermatozoa dan total jumlah spermatozoa per ejakulat. Volume sperma dipengaruhi oleh aktivitas sekresi dari ketiga kelenjar asesoris yaitu kelenjar vesikularis, kelenjar prostate dan kelenjar cowper sementara PGF<sub>2α</sub> tidak berpengaruh terhadap aktivitas ketiga kelenjar asesoris tersebut, namun injeksi PGF<sub>2α</sub> dapat menyebabkan sentakan produksi hormon LH dan testosteron (Bearden and Fuquay, 1997). Sedangkan LH dan testosteron telah diketahui penting dalam proses spermatogenesis (Toelihere, 1985).

Menurut laporan dari Karim *et al.*, dalam Djojosoebagio (1990) setelah memberikan infusum PGF<sub>2α</sub> pada manusia dengan kecepatan 2.0 ug/kg/menit selama satu jam dengan jumlah keseluruhan sebanyak 18 mg PGF<sub>2α</sub> tidak ditemu-

**Tabel 1. Persentase motilitas spermatozoa domba tanpa perlakuan injeksi PGF<sub>2α</sub> dan setelah injeksi PGF<sub>2α</sub>**

Variabel	Tanpa perlakuan	Setelah injeksi PGF <sub>2α</sub>		
		10 menit	20 menit	30 menit
Motilitas spermatozoa (%)	73,7 ± 1,23 <sup>a</sup>	81,2 ± 1,25 <sup>b</sup>	82,5 ± 1,44 <sup>b</sup>	83,7 ± 1,25 <sup>b</sup>
Konsentrasi spermatozoa (10 <sup>6</sup> /ml)	3727,5 ± 383,0	4055,0 ± 746,0	4497,5 ± 596,6	5127,5 ± 254,8

<sup>ab</sup>Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

kan PGF<sub>2α</sub> pada akhir percobaannya, sehingga ini membuktikan betapa pendeknya umur paro dari PGF<sub>2α</sub>.

### Warna, Bau, pH dan Konsistensi Sperma

Dari hasil pengamatan warna sperma dari keempat ekor domba yang ditampung selama penelitian rata-rata berwarna krem seperti susu, bau sperma dari empat ekor domba yang ditampung rata-rata agak amis dan ini merupakan bau khas untuk sperma. Berdasarkan hasil pengamatan injeksi PGF<sub>2α</sub> sebelum penampungan sperma tidak memberikan efek yang nyata terhadap pH sperma. Hasil ini menunjukkan bahwa sperma domba tersebut normal sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilaporkan oleh Toelihere (1993).

Konsistensi atau kekentalan sperma domba rata-rata adalah kental, hal yang sama dilaporkan oleh Partodihardjo (1992) bahwa sperma yang baik derajat kekentalannya hampir sama atau sedikit lebih kental dari susu.

### Motilitas dan Konsentrasi Spermatozoa

Persentase motilitas dan konsentrasi spermatozoa antara domba tanpa perlakuan injeksi PGF<sub>2α</sub> dan setelah injeksi PGF<sub>2α</sub> dari hasil pengamatan tertera pada Tabel 1. Motilitas spermatozoa ternak domba yang diberi PGF<sub>2α</sub> nyata berbeda ( $P < 0,05$ ) dibanding motilitas sperma dari ternak yang tidak diberi PGF<sub>2α</sub>. Hasil penelitian ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Hess (2002) pada ternak kelinci yang dianestesi untuk menunjukkan bahwa PGF<sub>2α</sub> secara eksogen akan meningkatkan pergerakan spermatozoa dari epididimis ke duktus deferens dimana sperma siap untuk diejakulasikan. Sementara itu hasil antara

perlakuan 10 menit, 20 menit dan 30 menit tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ).

Perbedaan motilitas spermatozoa pada domba yang diinjeksi PGF<sub>2α</sub> diduga karena pengaruh injeksi PGF<sub>2α</sub> dimana menurut Bearden dan Fuquay (1997) PGF<sub>2α</sub> bersifat luteolitik dan mempunyai efek stimulasi terhadap otot polos. Karena aksinya ini, maka fungsi natural dari PGF<sub>2α</sub> adalah berperan dalam transpor sperma. Menurut Toelihere (1993) hormon gonadotropin yang salah satunya FSH fungsinya pada ternak jantan adalah pada proses spermatogenesis di dalam tubulus seminiferus testes. Hormon yang berasal dari adenohypophysis yaitu FSH dan Interstitial Cell Stimulating Hormone (ICSH) mengatur testes dalam memproduksi hormon testosteron. Beberapa fungsinya antara pertumbuhan dan kelangsungan fungsi kelenjar ejakulasi dan mempertahankan perkembangan dan pematangan spermatid dan spermatozoa di dalam saluran testikuler dan memperpanjang umur spermatozoa di dalam epididimis dimana motilitas diperoleh.

Hasil pada tabel 1. menunjukkan bahwa konsentrasi spermatozoa domba yang diberi perlakuan PGF<sub>2α</sub> lebih tinggi bila dibandingkan dengan konsentrasi spermatozoa domba tanpa perlakuan. Namun berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa konsentrasi spermatozoa ternak domba jantan yang diberi PGF<sub>2α</sub> berbeda tidak nyata ( $p > 0,05$ ) dibanding konsentrasi spermatozoa ternak yang tidak diberi PGF<sub>2α</sub>. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hess (2002) bahwa konsentrasi spermatozoa lebih tinggi pada sampel sperma anjing yang ditampung 15 menit setelah anjing diberi

**Tabel 2. Persentase spermatozoa hidup dan viabilitas spermatozoa domba tanpa perlakuan injeksi PGF<sub>2α</sub> dan setelah injeksi PGF<sub>2α</sub>**

Variabel	Tanpa perlakuan	Setelah injeksi PGF <sub>2α</sub>		
		10 menit	20 menit	30 menit
Persentase spermatozoa hidup (%)	91,2 ± 0,43 <sup>a</sup>	96,2 ± 0,52 <sup>b</sup>	94,1 ± 0,62 <sup>c</sup>	95,2 ± 0,32 <sup>bc</sup>
Viabilitas spermatozoa (%)	8,75 ± 0,85	10,25 ± 0,85	10,25 ± 0,75	11,25 ± 0,62

<sup>abc</sup> Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

0,1 ml/kg PGF<sub>2α</sub> meskipun peningkatan tersebut secara statistik tidak berbeda nyata antar perlakuan. Mekanisme peningkatan konsentrasi spermatozoa ini terjadi karena redistribusi spermatozoa dari cauda epididimis ke ductus deferens selama kontraksi otot polos yang dirangsang oleh PGF<sub>2α</sub>.

### Persentase Spermatozoa Hidup dan Viabilitas Spermatozoa

Persentase spermatozoa hidup dan viabilitas spermatozoa antara domba tanpa perlakuan injeksi PGF<sub>2α</sub> dan setelah injeksi PGF<sub>2α</sub> dari hasil pengamatan tertera pada Tabel 2. Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa persentase spermatozoa hidup dengan penyuntikan PGF<sub>2α</sub> menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ). Hasil pada tabel di atas menunjukkan bahwa persentase spermatozoa hidup paling tinggi adalah sperma domba yang diberi perlakuan penyuntikan PGF<sub>2α</sub> kemudian spermanya ditampung 10 menit setelah injeksi dengan rata-rata persentase spermatozoa hidup 96,2%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase spermatozoa hidup sangat baik. Kematian spermatozoa erat hubungannya dengan waktu transportasi setelah penampungan dan evaluasi (Priyono *et al.*, 1984).

Penyuntikan 1 ml PGF<sub>2α</sub> secara intramuskuler 10 menit sebelum penampungan sperma ternyata dapat meningkatkan persentase hidup spermatozoa. Dalam hal ini prostaglandin mempunyai efek pengaruh pada pelepasan hormone gonadotrophin (Ensminger, 1974). Sedangkan menurut Wodzicka-Tomazewska *et al.* (1991) hormone dari hipotalamus yang langsung berhubungan dengan reproduksi adalah *Gonadotro-*

*phin Releasing Hormone/Factor* (GnRH/GnRF) yang menyebabkan dilepaskannya *Follice Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH).

Menurut Toelihere (1985) fungsi utama dari FSH adalah mengawali terjadinya spermogenesis di dalam tubulus seminiferus testes. FSH bereaksi terhadap sel-sel Sertoli untuk mengimbas sintesis protein pengikat androgen yang kemudian disekresikan ke dalam lumen tubulus seminiferus (Nalbandov, 1990). Sel-sel Sertoli diperkirakan yang merawat spermatozoa yang belum dewasa sebelum spermatozoa dapat dilepas dan meninggalkan tubulus seminiferus (Salisbury dan Van Demark, 1985). Pendapat lain yang dikemukakan oleh Hess (2002) bahwa PGF<sub>2α</sub> secara endogen lebih memberikan pengaruh pada cauda epididimis yaitu bagian dari epididimis yang berfungsi untuk penyimpanan spermatozoa *mature* (matang). Apabila cauda epididimis berkontraksi akibat respon terhadap PGF<sub>2α</sub> maka spermatozoa matang tersebut akan bergerak menuju duktus deferens untuk diejakulasikan, jika spermatozoa yang diejakulasikan sudah matang dan sempurna maka resiko spermatozoa yang mati akan berkurang.

Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa dengan penyuntikan PGF<sub>2α</sub> menunjukkan perbedaan yang tidak nyata terhadap daya hidup sel sperma ( $p > 0,05$ ). Sel sperma yang diencerkan dengan pengencer penyangga Tris memiliki daya hidup yang tinggi, sebab menurut pendapat dari Lasley (1981) penyimpanan sperma pada temperature 5<sup>0</sup>C akan menurunkan laju metabolisme dan mampu mempertahankan fertilitas hingga 4 hari. Daya hidup sperma yang telah diencerkan dipengaruhi juga oleh bahan pengencer yang di-

gunakan yaitu penyangga Tris, hal ini sesuai dengan pendapat Bearden dan Fuquay (1997) bahwa penyangga Tris dapat memperpanjang kehidupan spermatozoa pada ambient temperature  $5^{\circ}\text{C}$  dan  $-196^{\circ}\text{C}$ . Selain itu dinyatakan pula oleh Kustono (1980) bahwa penyangga Tris lebih baik dibanding penyangga fosfat maupun sitrat karena mempunyai pH yang sama dengan plasma sperma, yaitu antara 6,5 – 6,75.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan penampungan sperma yang dilakukan setelah penyuntikan  $\text{PGF}_{2\alpha}$  dapat meningkatkan kualitas sperma yaitu motilitas spermatozoa dan persentase spermatozoa hidup pada penampungan sperma 10 menit setelah domba diinjeksi  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

### DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, M. 1980. *Rancangan Percobaan dan Analisa Statistik*. Bagian Ilmu Pemuliaan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Bearden, H. J. dan J. Fuquay. 1997. *Applied Animal Reproduction*. 4<sup>th</sup> ed. Reston Publishing Company, Inc. A. Prentice Hall Company. Reston. Virginia.
- Capitan, S. S., G. S. Antiporda, dan V.G. Momingan. 1996. Reaction Time, Semen Out-put and Semen Quality of Buffalo Bulls After Pre-collection Injeksi of  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . PCC. At UPLB. College, Laguna. (Abstr).
- Djojosoebagio, S. 1990. *Fisiologi Kelenjar Endokrin Volume II*. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat. Institut Pertanian Bogor.
- Ensminger, M. E. 1974. *Beef Cattle Science*. 4<sup>th</sup> ed. The Interstate Printers and Publisher. Denville, Illinois.
- Hafez, E. S. E. 1993. *Reproduction in Farm Animals*. 6<sup>th</sup> ed. Lea and Fabiger. Philadelphia.
- Hess, M. 2002. The Effect of Prostaglandin  $\text{F}_{2\alpha}$ , Oxytocin and Gonadotropin Releasing Hormone Hormone On Ejakulate Characteristics in The Dog. Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia.
- Kustono. 1985. Freezability of Bull Semen in Different Extenders. Thesis. University of The Philippines at Los Banos. Los Banos.
- Lasley, J. F. 1981. *Beef cattle Production*. Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs. New Jersey.
- Nalbandov, A. V. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas*. Vol. 3. Terjemahan Soenarjo Keman. UI Press. Jakarta.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Peters, A. R. and P. J. H. Ball. 1995. *Reproduction in Cattle*. Butterworths. London.
- Priyono, A., Rachmawati, W. S., Budiman, I dan Adisuwiryono. 1984. Pengaruh Lama Waktu Transportasi dan Periode Penyadapan terhadap Motilitas dan Differensial Spermatozoa Domba Lokal. Dalam Domba dan Kambing di Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Departemen Pertanian.
- Salisbury, G. W. dan N. L. Van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Terjemahan R. Djanuar. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Toelihere, M. R. 1985. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.

Toelihere, M. R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Cetakan ke-3. Penerbit Angkasa. Bandung.

Wodzicka-Tomaszewska, M. I. Mastika, A. Djanegara, S. Gardiner dan T. R. Wiradarya.

1991. *Reproduksi Tingkah Laku dan Produksi Ternak di Indonesia*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.