KUALITAS SPERMATOZOA ASAL CAPUT, CORPUS, DAN CAUDA EPIDIDIMIS PADA KERBAU RAWA (*Bubalus bubalis carabensis*)

Muhammad Riyadhi¹, Akbar Budiansa¹, Herliani¹, Muhammad Rizal¹

¹Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat
Jl. Jenderal Ahmad Yani Km.36 Banjarbaru 70714.Telp. 0511-5781551

*Email: muhammadriyadhi54@yahoo.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kualitas spermatozoa yang terdapat pada *caput*, *corpus* dan *cauda* epididimis kerbau rawa (*Bubalus bubalis carabensis*). Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksplorasi pada 13 buah epididimis dari 8 ekor kerbau rawa dari Rumah Potong Hewan (RPH) Pemerintah Kabupaten Banjar dan Rumah Potong Hewan (RPH) dan Rumah Potong Hewan Unggas (RPU) Kota Banjarmasin dengan melihat kualitas spermatozoa pada masing-masing *caput*, *corpus* dan *cauda* epididimis. Peubah yang akan diamati dalam penelitian ini adalah motilitas, konsentrasi, persentase spermatozoa yang hidup, dan persentase abnormalitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas spermatozoa asal *caput* epididimis yang diamati meliputi: persentase motilitas, persentase hidup, konsentrasi dan abnormalitas berturut-turut sebesar 0%, 45,43% (31,87–72%), $189,62 \times 10^6$ ($40-480 \times 10^6$) dan 56,16 % (44,34–66,53%), pada spermatozoa asal *corpus* epididimis sebesar 2,77% (1 – 9%), 58,73 (45,14 – 76%), $152,31 \times 10^6$ ($45 - 345 \times 10^6$) dan 47,61% (23,92 – 60,15%) dan pada *cauda* epididimis sebesar 53,46% (20 – 70%), 74,32% (56.68 – 83%), $1.459,62 \times 10^6$ ($825 - 2.340 \times 10^6$) dan 34,60% (15,89 – 50,04%). Disimpulkan bahwa spermatozoa asal *cauda* epididimis memenuhi syarat dimanfaatkan dalam program inseminasi buatan.

Kata kunci: Spermatozoa, epididimis, kerbau rawa.

Abstract

The purpose of this research was evaluate the quality of spermatozoa concentration in the caput, corpus and cauda of the swamp buffalo epididymis (*Bubalus bubalis carabensis*). Method of this research was to exploration to 13 epididymides of eight swamp buffaloes were obtained from Banjar and Banjarmasin slaughterhouses, evaluated the quality of spermatozoa in caput, corpus and cauda of epididymis. Quality of collected-spermatozoa including spermatozoa motility, percentage of live spermatozoa, spermatozoa concentration and percentage of abnormality. Result of this study showed that mean of each of caput spermatozoa motility, percentage of live spermatozoa, spermatozoa concentration and percentage of abnormality; 0%, 45.43% (31.87–72%), $189,62 \times 10^6$ ($40-480 \times 10^6$) and 56.16 % (44.34–66.53%), corpus ;2.77% (1–9%), 58.73% (45.14 –76%), 152.31×10^6 ($45 - 345 \times 10^6$), and 47.61 % (23.92 – 60.15%), cauda;53.46% (20 – 70%), 74.32 % (56.68 – 83%), $1,459.62 \times 10^6$ ($825 - 2,340 \times 10^6$), and 34.60% (15.89 – 50.04%). In conclusion, spermatozoa of cauda epididymis could be used in artificial insemination program.

Keywords: Spermatozoa, epididymis, swamp buffalo.

PENDAHULUAN

Kerbau rawa merupakan salah satu plasma nutfah daerah Kalimantan Selatan dan sebagai salah satu penyuplai daging di Kalimantan Selatan. Populasi kerbau rawa pada tahun 2012 tercatat 21.686 ekor, namun sejak lima tahun terakhir populasinya menurun (Biro Pusat Statistik, 2013). Penurunan populasi diduga berkaitan dengan sistem pemeliharaan yang masih dilakukan secara tradisional, tingginya tingkat pemotongan, terbatasnya pakan dan padang penggembalaan alami, serta penampilan produksi dan reproduksi yang belum maksimal. Untuk meningkatkan populasi, produktivitas, dan reproduksi kerbau rawa perlu dilakukan perbaikan kualitas genetik ternak salah satunya dengan inseminasi buatan (Suryana, 2007).

Salah satu faktor penentu keberhasilan dalam inseminasi buatan bergantung dari spermatozoa yang digunakan. Selama ini koleksi spermatozoa (semen) yang digunakan dalam IB dilakukan melalui penampungan menggunakan vagina buatan, akan tetapi ada alternatif sumber spermatozoa lain, yaitu spermatozoa asal epididimis. Secara anatomis epididimis memang berfungsi sebagai tempat pematangan dan penyimpanan spermatozoa sebelum diejakulasikan. Spermatozoa epididimis ini diketahui telah dapat digunakan untuk melakukan proses fertilisasi seperti halnya spermatozoa hasil ejakulasi (Hafez dan Hafez, 2000).

Menurut Toelihere (1985) epididimis adalah suatu struktur memanjang yang bertaut rapat dengan testes. Didalam epididimis mengandung *ductus epididimis* yang sangat berliku-liku, dan mencapai panjang lebih 60 meter pada babi dan 80 meter pada kuda. Epididimis dapat dibagi atas: *caput* (kepala), *corpus* (badan) dan *cauda* (ekor). *Cauda*

epididimis merupakan tempat penyimpanan spermatozoa sebelum diejakulasikan (Toelihere, 1985). Spermatozoa yang terdapat pada *cauda* epididimis merupakan spermatozoa yang sudah matang karena telah mengalami proses pematangan pada bagian *caput* dan *corpus* (Hafez dan Hafez, 2000).

Hasil penelitian Herdis *et al.* (2008), menyatakan bahwa rata-rata konsentrasi spermatozoa yang terdapat pada *cauda* epididimis kerbau belang sebesar $1.044,50 \times 10^6$ spermatozoa/ml. Sementara itu, konsentrasi spermatozoa yang terdapat pada ejakulat kerbau berkisar antara $500 - 1,500 \times 10^6$ spermatozoa/ml (Hafez dan Hafez, 2000). Konsentrasi spermatozoa dalam *cauda* epididimis sangat padat karena belum mendapat penambahan plasma semen yang dihasilkan oleh kelenjar aksesoris di sepanjang jalur pengeluaran spermatozoa sebelum ejakulasi. Untuk konsentrasi epididimis pada bagian lain seperti *caput* dan *corpus* belum banyak yang meneliti, sehingga perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bagaimana konsentrasi spermatozoa pada bagian *caput* dan *corpus* epididimis kerbau rawa.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi dan Pemuliaan Ternak, Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru selama dua bulan.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksplorasi terhadap 13 buah epididimis dengan mengamati kualitas spermatozoa pada *caput*, *corpus*, dan *cauda* epididimis.

Perubahan kualitas spermatozoa yang diamati dalam penelitian ini adalah:

motilitas, konsentrasi, persentase spermatozoa yang hidup, dan abnormalitas pada bagian *caput*, *corpus*, dan *cauda* epididimis.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan nilai rata-rata dan simpangan baku antara kualitas spermatozoa pada bagian *caput*, *corpus*, dan *cauda* epididimis kerbau rawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Motilitas Spermatozoa

Hasil pengamatan rata-rata motilitas spermatozoa segar yang diperoleh adalah 0, 2,77, dan 53,46% masing-masing untuk *caput*, *corpus*, dan *cauda* epididimis (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase Motilitas Spermatozoa Epididimis Kerbau Rawa

Bagian epididimis	Rataan $\pm$ SD (%)	Kisaran (%)
Caput	0,00 $\pm$ 0,00	0
Corpus	2,77 $\pm$ 2,13	1 – 9
Cauda	53,46 $\pm$ 19,73	20 – 70

Hasil motilitas pada bagian *caput* epididimis menunjukkan 0%, hal ini sesuai dengan pernyataan Senger (1999), bahwa motilitas spermatozoa pada *caput* epididimis hewan mamalia bersifat tidak motil. Kemudian Senger (1999), lebih lanjut menyatakan bahwa motilitas pada bagian *corpus* yaitu hanya ditemukan beberapa yang motil. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Hafez dan Hafez (2000), yang melaporkan bahwa peningkatan motilitas terjadi saat spermatozoa memasuki *corpus* epididimis sehingga sesuai dengan hasil penelitian yakni terjadi peningkatan motilitas dari *caput* (0%) menjadi 2,77% pada *corpus*. Sedangkan motilitas spermatozoa dapat ditemukan secara lebih besar lagi pada bagian *cauda* epididimis.

Motilitas pada bagian *cauda* rata-rata 53,45% (berkisar antara 20 dan 70%). Nilai ini merupakan motilitas layak digunakan untuk inseminasi buatan (IB) berdasarkan standar yang ditetapkan Direktorat Jenderal Peternakan (2007), yakni motilitas spermatozoa semen segarkerbau minimum 50%. Motilitas spermatozoa dari *cauda* epididimis ini juga sesuai dengan pernyataan Senger (1999), bahwa motilitas spermatozoa pada bagian *cauda* epididimis memiliki kemampuan motilitas dan fertilitas normal setara dengan spermatozoa hasil ejakulasi.

Persentase motilitas spermatozoa *cauda* epididimis yang diperoleh sebesar rata-rata 53,46 %, lebih rendah dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan Herdis *et al.* (2008) dan Surachman *et al.* (2009) bahwa motilitas progresif spermatozoa asal *cauda* epididimis kerbau belang sebesar rata-rata 65,00%. Perbedaan ini diduga disebabkan beberapa faktor diantaranya adalah umur ternak sesuai pernyataan Mathevon *et al.* (1998), jumlah spermatozoa motil per ejakulat cenderung meningkat seiring dengan bertambahnya umur pejantan mencapai 5 tahun, kesehatan ternak, asal ternak penelitian, serta lama waktu antara pemotongan dengan evaluasi spermatozoa.

Spermatozoa yang dikoleksi dari bagian *cauda* epididimis memenuhi syarat untuk dimanfaatkan dalam program IB, sedangkan spermatozoa yang dikoleksi dari bagian *caput* dan *corpus* tidak memenuhi syarat. Hal ini karena spermatozoa dari *cauda* epididymis memiliki persentase motilitas lebih dari 30%, sedangkan spermatozoa dari *caput* dan *corpus* motilitasnya kurang dari 30%. Berdasarkan standar nasional Indonesia (SNI 4869.2:2008) dinyatakan bahwa semen kerbau yang memenuhi syarat digunakan dalam program IB harus memiliki persentase motilitas spermatozoa minimum 30%.

Persentase Hidup Spermatozoa

Hasil pengamatan rata-rata persentase hidup spermatozoa segar asal *caput*, *corpus* dan *cauda* epididimis kerbau rawa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase Hidup Spermatozoa Epididimis Kerbau Rawa

Bagian epididimis	Rataan $\pm$ SD (%)	Kisaran (%)
<i>Caput</i>	45,43 $\pm$ 12,70	31,87 – 72
<i>Corpus</i>	58,73 $\pm$ 9,58	45,14 – 76
<i>Cauda</i>	74,32 $\pm$ 7,66	56,68 – 83

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, ditemukan rata-rata persentase hidup spermatozoa pada *caput* rata-rata 45,43% (31,87–72%), rata-rata 58,3% (45,14 – 76%) pada *corpus*, dan rata-rata 74,32% (56,68 – 83%) pada *cauda* epididimis.

Berdasarkan hasil tersebut, rata-rata persentase hidup spermatozoa pada *caput* 45,43% dan *corpus* 58,73 %, tergolong rendah. Hal ini disebabkan karena spermatozoa yang ada di bagian *caput* dan *corpus* epididimis masih dalam proses pematangan baik dalam hal morfologi maupun fisiologi (Hunter, 1995). Sementara spermatozoa yang di dalam *cauda* epididimis, memiliki persentase hidup lebih tinggi, yakni rata-rata 74,32%. Hal ini karena spermatozoa yang ada di dalam *cauda* epididimis merupakan spermatozoa yang sudah matang dan disimpan sementara sebelum diejakulasikan, dan telah memiliki motilitas dan kemampuan membuahi oosit yang sama baiknya dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Axneret *al.*, 1998; Hafez dan Hafez (2000).

Persentase hidup pada penelitian ini menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan persentase motilitas. Hal ini disebabkan karena pada perhitungan motilitas spermatozoa yang dihitung hanya spermatozoa yang bergerak kedepan sedangkan yang bergerak memutar, maju-mundur, dan

bergerak di tempat tidak dihitung. Spermatozoa yang bergerak memutar, maju-mundur, dan bergerak di tempat masih hidup, tetapi tidak motil.

Persentase hidup spermatozoa epididimis kerbau rawa setiap individu dapat berbeda. Perbedaan ini kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti: umur ternak, kondisi kesehatan, lama antara waktu pemotongan dengan proses evaluasi spermatozoa.

Konsentrasi Spermatozoa

Hasil pengamatan konsentrasi spermatozoa segar asal *caput*, *corpus*, dan *cauda* epididimis kerbau rawa dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi Spermatozoa Epididimis Kerbau Rawa

Bagian epididimis	Rataan $\pm$ SD (10^6)	Kisaran (10^6)
<i>Caput</i>	189,62 $\pm$ 141,49	40 – 480
<i>Corpus</i>	152,31 $\pm$ 88,36	45 – 345
<i>Cauda</i>	1.459,62 $\pm$ 417,97	825 – 2.340

Keterangan: Konsentrasi spermatozoa setelah ditambahkan NaCl fisiologis hingga mencapai volume 4 ml.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat nilai rata-rata konsentrasi spermatozoa dari epididimis kerbau rawa dari *caput*, *corpus* dan *cauda* secara berturut-turut sebagai berikut: rata-rata 189.62 $\times 10^6$ spermatozoa/ml (40–480 $\times 10^6$ spermatozoa/ml), 152,31 $\times 10^6$ spermatozoa/ml (45–345 $\times 10^6$ sel/ml), dan 1.459,62 $\times 10^6$ spermatozoa/ml (825–2.340 $\times 10^6$ sel/ml).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Senger (1999), perhitungan konsentrasi spermatozoa didasarkan pada perhitungan konsentrasi yang sebenarnya dimana hasil pada *caput*, *corpus*, dan *cauda* berturut-turut 8 – 25 $\times 10^9$ spermatozoa/ml, 8 – 25 $\times 10^9$ spermatozoa/ml dan 10 – 50 $\times 10^9$ spermatozoa/ml. Perhitungan konsentrasi

yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan setelah pembilasan menggunakan NaCl fisiologis sebanyak 4 ml serta pengenceran sebesar 200 kali sehingga perbedaan nilai konsentrasi penelitian ini dengan hasil penelitian Senger (1999) sangat jauh berbeda karena menggunakan metode yang berbeda.

Hasil penelitian terdahulu pada ternak kerbau belang dilaporkan bahwa konsentrasi spermatozoa semen kerbau lumpur berkisar antara 200 dan 2.500×10^6 spermatozoa/ml (Batosamma, 1985), dan rata-rata sebesar $1.709,8 \times 10^6$ spermatozoa/ml ($600 - 3.105 \times 10^6$ spermatozoa/ml) (Tappa, 2007).

Variasi hasil yang diperoleh dapat dimungkinkan karena faktor metode yang digunakan saat menghitung konsentrasi spermatozoa. Faktor umur, kondisi kesehatan, dan pakan yang dikonsumsi oleh ternak juga berpengaruh terhadap konsentrasi spermatozoa (Susilawati *et al.*, 1993). Pada ternak dewasa, kekurangan makanan dapat mengakibatkan gangguan fungsi fisiologis testis dan kelenjar-kelenjar aksesoris sehingga berpengaruh negatif terhadap libido dan produksi spermatozoa.

Abnormalitas Spermatozoa

Hasil pengamatan abnormalitas spermatozoa segar asal *caput*, *corpus*, dan *cauda* epididimis kerbau dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa Epididimis Kerbau Rawa

Bagian epididimis	Rataan $\pm$ SD (%)	Kisaran(%)
<i>Caput</i>	$56,16 \pm 5,31$	44,34–66,53
<i>Corpus</i>	$47,61 \pm 9,18$	23,92–60,15
<i>Cauda</i>	$34,60 \pm 10,13$	15,89 –50,04

Hasil pengamatan diperoleh rata-rata abnormalitas spermatozoa epididimis kerbau rawa memiliki perbedaan antara ketiga bagian epididimis, yakni rata-rata

56,16% (44,34 –66,53%) pada *caput*, rata-rata 47,61% (23,92 – 60,15%) pada *corpus*, dan rata-rata 34,60% (15,89 – 50,04%) pada *cauda* epididimis.

Tingginya abnormalitas spermatozoa yang terdapat pada *caput* dan *corpus* apabila dibandingkan dengan *cauda* disebabkan karena *caput* dan *corpus* adalah merupakan tempat pematangan spermatozoa, sedangkan spermatozoa yang di dalam *cauda* epididimis merupakan spermatozoa yang sudah matang. Salah satu proses pematangan spermatozoa yang terjadi di dalam *caput* dan *corpus* epididimis adalah penghilangan butiran sitoplasma yang ada pada bagian proksimal ekor spermatozoa (Axner *et al.*, 1998; Hafez dan Hafez, 2000). Spermatozoa yang memiliki butiran sitoplasma di bagian proksimal ekor digolongkan sebagai spermatozoa yang abnormal. Umumnya spermatozoa yang ada di dalam *cauda* epididimis tidak lagi memiliki butiran sitoplasma, dan sebagian kecil masih memiliki butiran sitoplasma di daerah distal ekor, dan tergolong spermatozoa normal (Senger, 1999).

Abnormalitas spermatozoa pada bagian *cauda* hasil penelitian ini relatif sama dengan persentase abnormalitas hasil ejakulasi kerbau rawa sebesar rata-rata 31,86% (Arifiantini dan Ferdian, 2006). Beberapa hasil penelitian dilaporkan bahwa persentase abnormalitas spermatozoa kerbau belang rata-rata 15,06% (Batosamma, 1985), rata-rata 11,31% (Tappa, 2007), rata-rata 15,00% (Herdis *et al.*, 2008), dan rata-rata 15,33% (Surachman *et al.*, 2009).

Abnormalitas merupakan salah satu faktor penting dalam evaluasi kualitas spermatozoa, karena hal ini berhubungan erat dengan tingkat fertilitas seekor pejantan. Menurut Toelihere (1993) persentase abnormalitas primer pada spermatozoa sebesar 18–20% akan

berpengaruh negatif terhadap tingkat fertilitas.

Pada pengamatan yang dilakukan memiliki hasil yang lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya, hal ini dapat dimungkinkan karena pada penelitian ini ternak yang digunakan bukan dari hasil seleksi. Begitu juga dengan manajemen pemeliharaan ternak dari tempat asal yang kebanyakan masih menggunakan sistem pemeliharaan semi ekstensif dan ekstensif, sehingga nutrisi pakan tidak tercukupi dan berdampak secara umum pada kualitas spermatozoa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan kualitas spermatozoa asal *caput*, *corpus* dan *cauda* epididimis kerbau rawa. Spermatozoa asal *cauda* epididimis memiliki kuantitas dan kualitas yang lebih baik dibandingkan dengan yang asal *caput* dan *corpus*, dan memenuhi syarat dimanfaatkan dalam program IB.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiantini, R.I. 2012. Teknik Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan. IPB Press. Bogor.
- Arifiantini, R.I. dan F. Ferdian. 2006. Tinjauan aspek morfologi dan morfometri spermatozoa kerbau rawa (*Bubalus bubalis*) yang dikoleksi dengan teknik masase. *Jurnal Veteriner* 7: 83-91.
- Axner, E., B. Sornholst, dan C. Linde-Forsberg. 1998. Morphology of spermatozoa in the cauda epididymis before and after electroejaculation and comparison with ejaculated spermatozoa in the domestic cat. *Theriogenology* 50: 973-979.
- Batosamma, J.T. 1985. Penerapan Teknologi Inseminasi Buatan untuk Pelestarian Sumber Daya Ternak Kerbau Belang. Disertasi. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Badan Pusat Statistik. 2013. Jumlah Sapi dan Kerbau menurut Kabupaten/Kota dan Jenis Kelamin Pada Tanggal 1 Mei 2001. <http://st2013.bps.go.id/dev/st2013/index.php/site/table?tid=26&wid=6300000000>. Diakses pada 16 Nov 2014.
- Direktorat Jendral Peternakan. 2007. Juknis Produksi & Distribusi Semen Beku, Peraturan Direktur Jenderal Peternakan Nomor : 12207/Hk.060/F/12/2007.
- Graham, J.K. 1994. Effect of seminal plasma on the motility of epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during cryopreservation process. *Theriogenology* 46:1151-1162.
- Hafez, E.S.E. dan B. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm Animals* 7th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
- Herdis, M. Surachman, Yulnawati, M. Rizal, dan H. Maheshwari. 2008. Viabilitas dan keutuhan membran plasma spermatozoa epididimis kerbau belang pada penambahan maltosa dalam pengencer Andromed. *Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis* 33:101-106.
- Hansen, M.B. 2003. The enteric nervous system III: A target for pharmacological treatment. *Pharmacology & Toxicology*. In press.

- Mathevon, M., M. Buhr, dan J.C.M. Dekkers. 1998. Environmental, management and genetic factors affecting semen production in holsteinbulls. *Journal of Dairy Science* 81:3321-3330.
- Salisbury, G.W., dan N.L. Van Denmark. 1985. *Fisiologi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Diterjemahkan oleh Djanuar, R. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sartika, T. 1994. Inseminasi buatan pada kelinci ditinjau dari beberapa tingkat kelahiran (parity). Di dalam: *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi II*. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Cibinong, 6-7 September 1994.
- Senger, P.L. 1999. The organization and function of the male reproduction system. In: *Pathways To Pregnancy and Parturition*. Current Conceptions, Inc., Pullman.
- Standar Nasional Indonesia. 4869.2:2008 tentang Semen Beku Kerbau. http://sisni.bsn.go.id/index.php?/sni_main/sni/detail_sni/5312. (Diakses pada 01 Desember 2014).
- Surachman, M., Herdis, Yulnawati, M. Rizal, dan H. Maheshwari. 2009. Kualitas semen cair asal epididimis kerbau belang dalam bahan pengencer Andromed yang mendapat penambahan sukrosa. *Media Peternakan* 32:88-94.
- Suryana. 2007. *Usaha Pengembangan kerbau rawa di Kalimantan Selatan*. Laporan Hasil Penelitian. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kalimantan Selatan, Banjarbaru.
- Susilawati, T., P. Sianto, Hermanto, dan E. Yuliani. 1993. *Inseminasi Buatan Dengan Spermatozoa Beku Hasil Sexing pada Sapi Untuk Mendapatkan Anak dengan Jenis Kelamin Sesuai Harapan*. Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.
- Tappa, B. 2007. *Bioteknologi Reproduksi Untuk Pengembangan Kerbau Belang ("Tedong Bonga")*. Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong.
- Toelihere, M.R. 1985. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.