

## PENGGUNAAN AIR TEBU YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN KUNING TELUR SEBAGAI PENGECER SEMEN SAPI BALI

BARDAN<sup>1)</sup>, FERADIS<sup>2)</sup> DAN TRIANI ADELINA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau  
Kampus Raja Ali Haji Jl. H.R. Soebrantas Km 16 Pekanbaru Telp. (0761) 7077837, Fax (0761) 21129

<sup>2)</sup>Badan Penelitian dan Pengembangan Provinsi Riau  
Jl. Diponegoro No. 24 A Pekanbaru, E-mail : [feradis\\_dr@yahoo.com](mailto:feradis_dr@yahoo.com)

### ABSTRACT

*Research on utilization sugar cane water combined with egg yolk as Bali bull semen extender have been implemented. Research was conducted to determine the level of utilization of sugar cane water as semen extender combined with egg yolk on the quality of Bali bull semen. Variable observed in this study were the percentage of motility, the percentage of live count and intact plasma membrane of sperm. Based on the Complete Random Design (RAL) with six treatments and three replications. Treatment A = skim milk extender (control), B = 10% sugar cane water extender, C = 20% sugar cane water extender, D = 30% sugar cane water extender, E = 40% sugar cane water extender and F = 50% sugar cane water extender. Differences between treatment tested with Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Results of this research indicated that treatment 30% and 40% sugar cane water extender that could maintain the quality of the semen longer than the other treatment (96 hours), with the percentage of sperm motility above 40% and the percentage of live sperm above 50%. It can be concluded that : (1) a combination of sugar cane water with the egg yolk could maintain of sperm motility, sperm viability and sperm intact plasma membrane stored at a temperature of 5°C up to 96 hours, (2) sugar cane water could be used as natural extender with the concentration of 30% to 40%.*

*Keywords: intact plasma membrane, motility, sperm, sugar cane water, viability*

### PENDAHULUAN

Keberhasilan inseminasi buatan sangat tergantung pada kualitas semen yang digunakan. Semen yang berkualitas dapat diperoleh dari pejantan unggul yang sehat, tumbuh dan berkembang secara optimal sehingga mencapai dewasa kelamin pada umur dan bobot badan tertentu sesuai potensi genetiknya. Usaha yang dilakukan untuk menjaga kualitas semen tetap baik dan dapat dimanfaatkan sewaktu-waktu adalah dengan pengenceran dan pengawetan pada suhu tertentu dengan menambahkan bahan-bahan yang dibutuhkan spermatozoa saat disimpan.

Semen yang diencerkan menghasilkan fertilitas konsepsi terbaik selama 24 sampai dengan 48 jam. Semen yang diencerkan sebelum digunakan disimpan pada suhu 5°C untuk mengurangi kecepatan metabolisme dan memperpanjang kesuburan spermatozoa selama disimpan (Toelihere, 1985). Selanjutnya dijelaskan bahwa dalam penyimpanan semen yang lebih lama pada temperatur 5°C spermatozoa yang

terkena kejutan atau cekaman dingin akan mati dengan cepat. Efek kejutan dingin dapat dikurangi dengan memberikan substansi dilingkungan sekitar spermatozoa selama proses pendinginan yang bisa melindungi spermatozoa, yaitu lipoprotein dan lesitin, dan materi yang mengandung komposisi tersebut adalah kuning telur (Salisbury dan VanDemark, 1985). Menurut Toelihere (1993), kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin yang bekerja mempertahankan dan melindungi selubung protein dari spermatozoa. Selanjutnya ditambahkan bahwa kuning telur juga mengandung glukosa yang lebih mudah dipergunakan oleh sel-sel spermatozoa untuk metabolisme daripada fruktosa yang terdapat dalam semen, berbagai protein, vitamin yang larut dalam air maupun larut dalam lemak dan memiliki viskositas yang mungkin menguntungkan spermatozoa.

Jika semen diencerkan, maka perlu ditambahkan glukosa dan fruktosa ke dalam pengencer sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Glukosa dan fruktosa merupakan bahan anorganik yang sulit



### 3. Metoda Penelitian

**Rancangan Penelitian** : rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan tiga ulangan. Komposisi pengencer tiap perlakuan sebagaimana tercantum pada Tabel 1. Pengujian dilakukan dengan analisis sidik ragam. Sedangkan perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) (Steel dan Torrie, 1995).

**Peubah yang Diamati** : peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah :

1. Kuantitas dan kualitas semen segar : volume, warna, kekentalan, pH, gerakan massa, konsentrasi, persentase motilitas, persentase hidup dan persentase membran plasma utuh (MPU).
2. Kualitas spermatozoa pasca pengenceran, diamati mulai dari 0 jam sampai dengan persentase motilitas spermatozoa minimal 40% dengan selang waktu pengamatan 12 jam, meliputi : persentase motilitas, persentase hidup dan persentase membran plasma utuh (MPU).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Karakteristik Semen Segar Sapi Bali

Karakteristik semen segar Sapi Bali secara makroskopik dan mikroskopik dapat dilihat pada Tabel 2. Pemeriksaan semen segar perlu dilakukan untuk menentukan kualitas semen yang selanjutnya dijadikan sebagai indikator dapat atau tidaknya semen tersebut diproses lebih lanjut.

Tabel 2. Karakteristik Semen Segar Sapi Bali

Karakteristik Semen	Rataan
Volume Ejakulat (ml)	3,7 ± 0,79
Warna	Krem
Konsistensi	Kental
Konsentrasi (juta/ml)	1.560,08 ± 241,07
Derajat Keasaman (pH)	6,95 ± 0,03
Gerakan Massa	+++
Persentase Motilitas (%)	72,40 ± 1,99
Persentase Hidup (%)	86,28 ± 2,41
Persentase MPU (%)	77,58 ± 1,91

Hasil pemeriksaan semen segar sebagaimana terdapat pada Tabel 2 menunjukkan bahwa semen segar Sapi Bali tersebut memenuhi syarat untuk diproses lebih lanjut, dimana dalam penelitian ini diproses menjadi semen cair. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gerakan massa spermatozoa (+++) dengan motilitas 72,40%. Toelihere *et al.* (1980) menyatakan bahwa gerakan massa spermatozoa yang normal berkisar antara (++) dan (+++). Nilai yang lebih rendah yaitu (+) dianggap tidak memenuhi syarat untuk dipakai dalam inseminasi buatan.

### 2. Pengaruh Perlakuan Terhadap Kualitas Semen Cair

Motilitas merupakan salah satu acuan dalam penilaian kualitas semen, karena mudah dan cepat dilakukan. Daya gerak progresif (motilitas) mempunyai peranan penting untuk keberhasilan fertilisasi. Motilitas berfungsi sebagai faktor penembus kepala spermatozoa masuk ke dalam ovum (Salisbury dan VanDemark, 1985). Menurut Toelihere (1993), motilitas dipengaruhi oleh spesies ternak, kondisi medium dan suhu lingkungan. Selanjutnya dijelaskan bahwa motilitas spermatozoa sapi di bawah 40% merupakan nilai semen yang kurang baik dan sering dihubungkan dengan infertilitas. Kebanyakan pejantan fertil mempunyai 50 - 80% spermatozoa motil progresif.

Pada tahap pengamatan 0 jam seluruh perlakuan menghasilkan motilitas

spermatozoa di atas 40%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur memenuhi syarat sebagai bahan pengencer semen sapi. Rataan persentase motilitas pada pengamatan 0 jam pada

perlakuan penggunaan air tebu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan kontrol (susu skim) yaitu 66,52%, 67,78%, 69,69%, 68,91%, 64,30% dan 70,89% secara berturut-turut (Tabel 3).

Tabel 3. Persentase Motilitas Spermatozoa pada Perlakuan dan Waktu Pengamatan yang Berbeda (%)

Perlakuan	Waktu Pengamatan (Jam)									
	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108
A	70,89	69,31	67,77	66,04	63,92	60,55	57,37	53,27	49,53	44,55
B	66,52	62,28	58,66	54,43	49,88	44,58	40,10	35,35	30,18	23,89
C	67,78	65,35	63,15	60,35	55,45	52,38	47,90	43,90	38,80	34,15
D	69,69	68,24	66,17	64,01	61,06	57,56	53,90	50,02	45,16	39,99
E	68,91	66,79	64,60	61,64	57,93	54,79	50,24	44,95	40,94	35,46
F	64,30	59,80	56,06	51,86	46,46	42,72	38,29	33,83	26,90	21,18

Ket: A = susu skim, B = 10% air tebu, C = 20% air tebu, D = 30% air tebu, E = 40% air tebu, F = 50% air tebu

Pada tahap pengamatan 12 jam sampai dengan 60 jam, seluruh perlakuan masih menunjukkan motilitas di atas 40%. Sedangkan pada pengamatan 72 jam, terdapat satu perlakuan yang menghasilkan motilitas di bawah 40% yaitu perlakuan F (50% air tebu) dengan nilai persentase motilitas 38,29%. Hal ini menunjukkan bahwa pada jam ke 72, perlakuan F sudah tidak mampu mempertahankan kualitas spermatozoa seperti perlakuan yang lainnya. Pada waktu pengamatan yang sama, perlakuan penggunaan air tebu yang terbaik adalah pada perlakuan D (30% air tebu) dengan nilai persentase motilitas sebesar 53,90%. Pada pengamatan 84 jam, terdapat dua perlakuan yang menghasilkan nilai persentase motilitas di bawah 40 persen, yaitu perlakuan B (10% air tebu) dan F (50% air tebu) dengan persentase motilitas sebesar 35,35% dan 33,83%. Pada waktu pengamatan yang sama, nilai persentase motilitas tertinggi pada perlakuan penggunaan air tebu adalah pada perlakuan D (30% air tebu) dengan nilai 50,02%. Pada pengamatan 96 jam, persentase motilitas yang masih di atas 40% hanya pada perlakuan D (30% air tebu) dan E (40% air tebu), yaitu 50,02% dan 44,94%, dan tidak berbeda nyata ( $P>0,01$ ) di antara kedua perlakuan. Apabila kedua hasil tersebut

dibandingkan dengan persentase motilitas yang diperoleh pada pengencer susu skim dengan nilai 49,53% juga tidak berbeda nyata ( $P>0,01$ ). Sedangkan pada pengamatan 108 jam semua perlakuan penggunaan air tebu menghasilkan persentase motilitas di bawah 40%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan air tebu 30% sampai dengan 40% dapat mempertahankan kualitas semen cair Sapi Bali hingga penyimpanan 96 jam pada suhu 5°C dengan hasil yang tidak berbeda nyata.

Tingginya motilitas pada awal penyimpanan dalam penelitian ini karena nutrien yang dibutuhkan spermatozoa masih cukup tersedia, di samping itu spermatozoa dapat memanfaatkan energi berupa ATP yang dihasilkan oleh serabut ekor. Pada pengamatan 96 jam persentase motilitas pada perlakuan air tebu sudah mengalami penurunan kualitas semen yang cukup tinggi. Hal ini disebabkan berkurangnya energi yang dapat dimanfaatkan untuk metabolisme bagi spermatozoa, sedangkan spermatozoa tidak dapat mensintesa energi dan tidak dapat memperbaiki kerusakan yang terjadi selama penyimpanan pada suhu 5°C. Jones dan Mann (1977) menyatakan bahwa semakin lama waktu penyimpanan pada suhu dingin akan menyebabkan terjadinya kerusakan spermatozoa oleh

peroksidasi lipid. Proses peroksidasi merubah struktur spermatozoa, terutama pada bagian membran akrosom, kehilangan motilitas, perubahan metabolisme yang cepat dan pelepasan komponen intraseluler.

### 3. Persentase Hidup Spermatozoa

Perbedaan afinitas zat warna antara sel-sel spermatozoa yang mati dan yang hidup digunakan untuk menghitung jumlah spermatozoa yang hidup secara objektif. Pada saat semen dicampur dengan zat warna yang terbuat dari 1 bagian eosin, 5 bagian negrosin dan 3 bagian natrium yang dilarutkan di dalam 100 ml akuades, sel-sel spermatozoa yang hidup tidak atau sedikit sekali menyerap zat warna, sedangkan sel-sel yang mati akan menyerap zat warna karena permeabilitas dinding sel meninggi sewaktu mati. Kejadian ini dapat dijelaskan melalui mekanisme pompa natrium. Mekanisme pompa natrium adalah suatu usaha untuk menjaga keseimbangan kadar  $\text{Na}^+$  dan  $\text{K}^+$  di luar dan di dalam sel, dengan mengeluarkan ion-ion  $\text{Na}^+$  ke luar sel dan

sebaliknya ion-ion  $\text{K}^+$  masuk ke dalam sel. Sudah diketahui bahwa konsentrasi ion  $\text{Na}^+$  lebih tinggi di luar sel daripada di dalam sel, sedangkan konsentrasi  $\text{K}^+$  lebih tinggi di dalam sel dibandingkan dengan di luar sel. Eosin yang berikatan dengan natrium akan masuk ke dalam sel spermatozoa. Pada spermatozoa yang hidup zat warna eosin yang berikatan dengan natrium dipompakan kembali ke luar sel, karena konsentrasi natrium di dalam sel yang normal lebih rendah daripada di luar sel, sehingga spermatozoa tetap tidak berwarna. Pada sel spermatozoa yang mati zat warna eosin diserap oleh spermatozoa, karena aktivitas pompa natrium sudah terhenti, sehingga menyebabkan kepala spermatozoa berwarna merah (Toelihere, 1993).

Rataan persentase hidup spermatozoa pada pengamatan 0 jam pada perlakuan penggunaan air tebu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan kontrol (susu skim) yaitu 76,95%, 77,75%, 82,01%, 80,49%, 76,44% dan 83,24% secara berturut-turut (Tabel 4).

Tabel 4. Persentase Hidup Spermatozoa pada Perlakuan dan Waktu pengamatan yang Berbeda (%)

Perlakuan	Waktu Pengamatan (Jam)									
	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108
A	83,24	82,17	79,85	77,39	75,92	72,91	69,99	66,93	63,38	58,32
B	76,95	75,08	71,89	69,00	66,00	63,31	60,15	57,52	52,64	47,60
C	77,75	76,48	74,15	72,26	69,73	66,82	64,18	61,55	58,51	54,32
D	82,01	80,66	78,92	77,12	74,26	71,88	69,26	66,81	62,04	56,62
E	80,49	78,82	76,13	73,74	71,52	69,03	66,43	63,75	58,66	52,98
F	76,44	73,33	70,62	68,41	65,78	62,27	58,66	55,28	50,53	44,45

Ket : A = susu skim, B = 10% air tebu, C = 20% air tebu, D = 30% air tebu, E = 40% air tebu, F = 50% air tebu

Pada tahap pengamatan 12 jam sampai dengan 96 jam, seluruh perlakuan masih menunjukkan persentase hidup spermatozoa yang cukup tinggi, yaitu masih di atas 50%. Perlakuan penggunaan air tebu yang paling baik mempertahankan daya hidup spermatozoa pada pengamatan 96 jam adalah perlakuan D (30% air tebu) dengan nilai 62,04%. Namun masih di bawah pengencer susu skim, yaitu 63,38%.

Sedangkan pada pengamatan 108 jam, terdapat dua perlakuan yang menghasilkan persentase hidup spermatozoa di bawah 50%, yaitu perlakuan B (10% air tebu) dengan nilai 47,60% dan perlakuan F (50% air tebu) dengan nilai 44,45%. Pada waktu pengamatan yang sama, perlakuan penggunaan air tebu yang terbaik adalah pada perlakuan D (30% air tebu) dengan nilai persentase hidup spermatozoa

sebesar 56,62%, dan tidak berbeda nyata ( $P>0.01$ ) dengan pengencer susu skim, yaitu 58,32%.

Salah satu syarat penting bagi pengencer semen adalah dapat menyediakan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa. Glukosa adalah sumber energi yang utama dimanfaatkan oleh spermatozoa dibandingkan dengan jenis gula lainnya seperti fruktosa atau sukrosa (Toelihere, 1985). Pada penelitian ini dibuktikan bahwa penggunaan air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur mampu mempertahankan hidup spermatozoa hingga penyimpanan 108 jam. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur dengan konsentrasi 30% dan 40% layak digunakan untuk inseminasi buatan, sebagaimana yang dinyatakan oleh Toelihere (1993) bahwa semen yang memenuhi syarat untuk inseminasi buatan memiliki persentase hidup spermatozoa berkisar lebih kurang 50%.

#### 4. Membran Plasma Utuh

Spermatozoa merupakan suatu sel kecil kompak dan sangat khas. Pada bagian permukaan spermatozoa dibungkus oleh suatu membran lipoprotein yang apabila rusak dapat mempengaruhi proses metabolisme spermatozoa. Membran plasma yang utuh harus dimiliki oleh spermatozoa agar kelangsungan hidupnya terjamin. Hal ini disebabkan karena membran plasma berfungsi melindungi organel-organel sel dari kerusakan mekanik dan mengatur lalu lintas masuknya zat-zat makanan serta ion-ion yang diperlukan dalam proses metabolisme.

Dari hasil penelitian ini diperoleh rata-rata membran plasma utuh (MPU) pada pengamatan 0 jam pada pengencer yang menggunakan air tebu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan pengencer susu skim sebagai kontrol adalah 69,28%, 71,62%, 74,31%, 72,77%, 66,96% dan 75,28% secara berturut-turut (Tabel 5). Dari hasil uji statistik menunjukkan bahwa perlakuan D (30% air tebu) dan E (40% air tebu) tidak berbeda nyata ( $P>0,01$ ) dengan perlakuan susu skim.

Tabel 5. Persentase Membran Plasma Utuh Spermatozoa pada Perlakuan dan Waktu Pengamatan yang Berbeda (%)

Perlakuan	Waktu Pengamatan (Jam)									
	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108
A	75,28	72,52	70,78	68,79	67,32	63,68	60,72	58,25	55,08	51,76
B	69,41	65,87	62,01	59,55	55,19	51,38	46,61	41,74	36,16	30,73
C	71,62	68,40	65,98	63,43	59,75	57,13	52,88	48,95	44,43	39,30
D	74,31	71,29	69,29	67,49	65,35	61,48	57,21	54,46	50,44	45,05
E	72,77	69,61	66,98	66,31	62,43	58,41	55,06	51,14	46,81	41,25
F	66,96	64,35	59,60	57,08	53,18	47,95	44,27	39,00	32,52	27,75

Ket : A = susu skim, B = 10% air tebu, C = 20% air tebu, D = 30% air tebu, E = 40% air tebu, F = 50% air tebu

Pada pengamatan 12 jam hingga 48 jam seluruh perlakuan masih memberikan nilai MPU di atas 50%, sedangkan pada pengamatan 60 jam terdapat satu perlakuan yang memberikan nilai MPU di bawah 50% yaitu perlakuan F (50% air tebu) dengan nilai 47,95%. Pada pengamatan 72 jam, nilai MPU di atas 50% diperoleh pada

perlakuan C (20% air tebu) sebesar 52,88%, D (30% air tebu) sebesar 57,21% dan E (40% air tebu) sebesar 55,06%. Pada pengamatan 84 jam, nilai MPU di atas 50% diperoleh pada perlakuan D (30% air tebu) sebesar 54,46% dan E (40% air tebu) sebesar 51,14%. Sedangkan pada pengamatan 96 jam, hanya perlakuan D (30% air tebu) yang menghasilkan nilai

MPU di atas 50% yaitu sebesar 50,44%, dan apabila dibandingkan dengan nilai MPU yang diperoleh pada susu skim (kontrol) dengan nilai sebesar 55,08% tidak berbeda nyata ( $P>0,01$ ) di antara kedua perlakuan. Pada pengamatan 108 jam, semua perlakuan penggunaan air tebu menghasilkan nilai MPU di bawah 50%, namun hasil yang diperoleh pada perlakuan D (30% air tebu) sebesar 45,05% tidak berbeda nyata ( $P>0,01$ ) dengan hasil yang diperoleh pada perlakuan susu skim (kontrol) sebesar 51,76%.

Secara keseluruhan perbandingan antara perlakuan penggunaan air tebu yang dikombinasikan dengan kuning telur menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P>0,01$ ) untuk nilai MPU, kecuali pada perlakuan F (50% air tebu). Hal ini terjadi karena pengaruh sukrosa yang terlalu tinggi pada perlakuan tersebut sehingga dapat menyebabkan kerusakan membran plasma. Sedangkan pada perlakuan susu skim, kerusakan membran plasma masih rendah karena spermatozoa masih toleran dengan kondisi tersebut. Hal ini sesuai dengan pendapat (Maxwell dan Salamon, 1993) yang menyatakan bahwa susu skim merupakan medium isotonik yang mengandung beberapa komponen yang menguntungkan untuk memelihara kelangsungan hidup spermatozoa. Selanjutnya ditambahkan bahwa pengencer susu skim telah digunakan secara ekstensif oleh peneliti-peneliti terdahulu untuk pengenceran semen sapi baik untuk semen segar maupun semen cair. Penggunaan susu skim sebagai pengencer karena mempunyai beberapa keunggulan, di antaranya susu mengandung substansi pelindung lesitin yang berfungsi melindungi spermatozoa terhadap cekaman dingin (Toelihere *et al.*, 1980). Di samping itu, kombinasi susu skim dengan kuning telur dapat mencegah kerusakan membran plasma. Hal ini sesuai dengan pendapat Jones dan Marn (1977) yang menyatakan bahwa kuning telur dan susu melindungi spermatozoa

dari kerusakan yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Diduga kuning telur dan susu membentuk lapisan pelindung terhadap sel spermatozoa, mencegah peroksidasi lipid dari interaksinya dengan sel spermatozoa atau berkombinasi langsung dengan peroksida dan kemudian menetralsir pengaruhnya.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil beberapa kesimpulan, yaitu :

1. Kombinasi air tebu dengan kuning telur dapat mempertahankan motilitas, daya tahan hidup dan membran plasma utuh spermatozoa yang disimpan pada suhu 5°C hingga 96 jam.
2. Air tebu dapat dijadikan sebagai bahan pengencer alami dengan konsentrasi sebesar 30% hingga 40%.

### Saran

Kombinasi air tebu 30% hingga 40% dengan kuning telur 20%, dapat dipergunakan sebagai bahan pengencer semen pada pelaksanaan inseminasi buatan pada Sapi Bali. Disarankan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui keberhasilan inseminasi buatan dengan menggunakan pengencer yang mengandung air tebu dengan konsentrasi 30% hingga 40%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Balai Bibit Peternakan Dinas Peternakan Provinsi Riau yang telah memberikan bantuan selama penelitian berlangsung.

## DAFTAR PUSTAKA

- Duke, J. A. And Atchley. 1984. Proximate Analysis. In : Cristie, B. R (Ed). The Handbook of Plant Science in Agriculture. [http://www.CRCPrescom/Handbook of Energy Crops/1998/Januari/Friday/Inc.](http://www.CRCPrescom/Handbook_of_Energy_Crops/1998/Januari/Friday/Inc.), Boca Raton, FL.htm.
- Jones, R. and T. Mann. 1977. Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 50:255-260.
- Maxwell, W. M. C. and S. Salamon. 1993. Liquid storage of ram semen. *Reprod. Fertil. Dev.*, 5:613-638.
- Salisbury, G. W. dan N. L. VanDemark. 1985. Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Steel, R. G. D, dan J. H. Torrie, 1995. Prinsip dan Prosedur Statistik, Suatu Pendekatan Geometrik. Edisi Ke-2. Gramedia. Jakarta.
- Toelihere, M. R. 1985. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Cetakan ke dua. Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M. R. 1993. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Cetakan ke tiga. Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M. R., T. L. Yusuf dan M. B. Taurin. 1980. Pengantar Praktikum Inseminasi Buatan. Departemen Reproduksi, Institut Pertanian Bogor.
- Yovita dan Sumiarsih. 2000. Pembudidayaan Tebu di Lahan Sawah dan Tegalan. Penebar Swadaya. Surabaya.