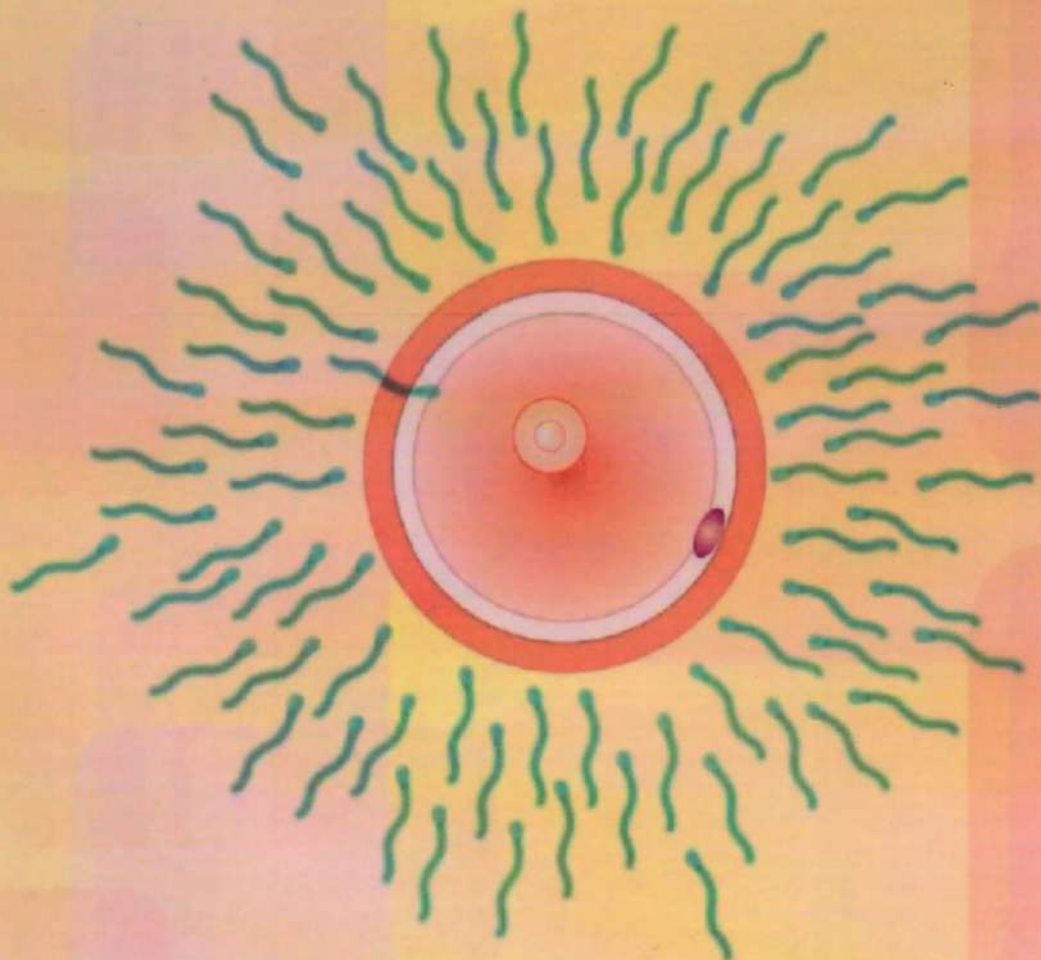


OVOZOA

e-journal

JOURNAL OF ANIMAL REPRODUCTION



OVOZOA (Jurnal Reproduksi Hewan)
Vol. 2, No. 2, Oktober 2013
Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting

Budi Utomo

Sekretaris

Tri Wahyu Suprayogi

Bendahara

Sri Mulyati

Mitra Bestari

Prof. Dr. Laba Maha Putra

Prof. Dr. Ismudiono

Prof. Mas'ud Hariadi, PhD.

Prof. Dr. Imam Mustofa

Prof. Dr. Wurlina

Prof. Dr. Pudji Srianoto

Peyunting Pelaksana

Hardijanto

Suherni Susilowati

Sri Pantja Madyawati

Abdul Samik

Herry Agoes Hermadi

Rimayanti

Suzanita Utama

Penyunting Penyelia

Husni Anwar

Trilas Sardjito

Indah Nourma Triana

Tatik Hernawati

Tjuk Imam Restiadi

Hermin Ratnani

Erma Safitri

Alamat Redaksi: Departemen Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115. Telp. 031-5992785 –
5993016; Fax. 031-5993015. E-mail: ovozoa@yahoo.com

OVOZOA (Jurnal Reproduksi Hewan)

Vol. 2, No. 2, Oktober 2013

Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Uraian Umum

Ovozoa merupakan Jurnal yang memuat kumpulan artikel ilmiah di bidang Reproduksi Hewan, baik itu berupa hasil penelitian, artikel ulas balik, studi kasus, dan lainnya. Jurnal Ovozoa ini diarahkan menjadi e-Jurnal yang mewadahi baik lulusan Sarjana (S1) maupun S2 dan S3. Bidang konsentrasi dari Jurnal Ovozoa yaitu tentang kemajuan teknologi reproduksi (khususnya hewan), temuan-temuan yang berhubungan dengan reproduksi dan pengembangan reproduksi masa kini. Sebagai jurnal yang baru dibentuk, maka diharapkan dapat menampung hasil penelitian, khususnya karya ilmiah dari lulusan S1, maupun S2 dan S3 yang nantinya dapat disebar-luaskan bagi khalayak ilmiah dan umum. Salam dari redaksi.

Ketentuan Umum Penulisan Naskah**1. Ketentuan Umum**

- a. Jurnal Ovozoa memuat tulisan ilmiah bidang Reproduksi Hewan, berupa hasil penelitian, artikel ulas balik dan laporan kasus khususnya bidang Reproduksi Hewan.
- b. Naskah/makalah harus orisinal dan belum pernah diterbitkan. Apabila diterima untuk dimuat dalam jurnal ovozoa, maka tidak boleh diterbitkan dalam jurnal atau media lain.

2. Standar Penulisan

- a. makalah diketik dengan jarak 2 spasi, kecuali Judul, Abstrak, Judul tabel dan tabel, Judul gambar, Daftar Pustaka dan Lampiran diketik menurut ketentuan tersendiri.
- b. Alinea baru dimulai 4 (empat) ketikan ke dalam atau (first line 0,4")
- c. Huruf Standar untuk penulisan adalah Time New Roman 12
- d. Memakai kertas HVS ukuran A4 (8,27 x 11,69")
- e. Menggunakan bahasa Indonesia, bahasa Indonesia dan bahasa Inggris untuk Abstrak
- f. Tabel/Illustrasi/Gambar harus jelas, juga menyertakan *file scanning* (foto) terpisah dengan makalah dengan format JPG. Keterangan Tabel, Gambar atau penjelasan lain dalam lampiran diketik 1 (satu) spasi.

3. Tata cara penulisan naskah/makalah ilmiah

- a. Tebal seluruh makalah sejak awal sampai akhir maksimal 12-14 halaman
- b. Penulisan topik (Judul, Nama Penulis, Abstrak, Pendahuluan, Metode, dst) tidak menggunakan huruf kapital (sentence) tetapi menggunakan Title case dan diletakkan di pinggir (sebelah kiri)
- c. Sistematika penulisan makalah adalah Judul, Nama Penulis dan Identitas, Abstrak dengan Key words, Pendahuluan, Materi dan Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terimakasih (bila ada), Daftar Pustaka dan Lampiran
- d. Judul harus pendek, spesifik, tidak boleh disingkat dan informative, yang ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
- e. Nama penulis di bawah judul, identitas dan instansi penulis harus jelas, disertakan e-mail diletakkan di bawah nama penulis
- f. Abstrak terdiri dari 200-250 kata, diketik 1 (satu) spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris

- g. Kata kunci (key words) maksimum 5 (lima) kata setelah abstrak.
 - h. Materi dan Metode memuat peralatan/bahan yang digunakan terutama yang spesifik.
 - i. Daftar Pustaka disusun secara alfabetik tanpa nomor urut. Singkatan majalah/jurnal berdasarkan tata cara yang dipakai oleh masing-masing jurnal. Diketik 1 (satu) spasi dengan paragraf hanging 0,3" dan before 3.6 pt. Proporsi daftar pustaka Jurnal/Majalah Ilmiah (60%), dan Text book (40%).
 - j. Tabel, Keterangan gambar atau Penjelasan lain dalam Lampiran diketik 1 (satu) spasi, dengan huruf Time New Roman 12
4. Pengiriman makalah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan (print out) sebanyak 1 (satu) eksemplar, dan soft copy dalam bentuk CD. Makalah dikirim ke alamat redaksi Jurnal OVOZOA, Departemen Reproduksi Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo, Surabaya. 60115. Tlp. 031-5992785 ; 031-5993016, Fax. 031-5993015, E-mail: ovozoa@yahoo.com
5. Ketentuan Akhir
Terhadap naskah/makalah yang dikirim, redaksi berhak untuk:
- a. memuat naskah/makalah tanpa perubahan
 - b. memuat naskah/makalah dengan perubahan
 - c. menolak naskah/makalah
6. Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah
7. Semua keputusan redaksi tidak dapat diganggu gugat dan tidak diadakan surat menyurat.

OVOZOA JOURNAL OF ANIMAL REPRODUCTION

Vol. 2, No. 2, Oktober 2013

Terbit tiap 6 bulan, pada Bulan April dan Oktober

Daftar Isi

	Halaman
1. Sari Buah Sirsak Sebagai Substitusi Bahan Pengencer Kuning Telur Sitrat Terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk (Wirda Rachmanda Anandita, Suherni Susilowati, dan Soeharsono)	71
2. Pengaruh Perbedaan Waktu Penyuntikan PMSG (<i>Pregnant Mare Serum Gonadotropin</i>) Terhadap Waktu Timbulnya Birahi Domba Ekor Gemuk Yang Disinkronisasi Dengan Progesteron Secara Intravaginal (Herry Agoes Hermadi, Bambang Wahyudi, dan Suwarno)	77
3. Pengaruh Bahan Pengencer Yang Mengandung Lesitin Terhadap Kualitas Spermatozoa Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) <i>Post Thawing</i> (Dinar Rumondang Siahaan, Pudji Srianto, dan Mas'ud Hariadi).....	82
4. Pengaruh Gliserol Dalam Pengencer Skim Kuning Telur Terhadap Pembekuan Spermatozoa Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) (Dewi Alima Nostalia Suseno, Abdul Samik, dan Lita Rakhma Yustinasari)	87
5. Pengaruh Pemberian Teh Cengkih (<i>Syzygium aromaticum</i>) Terhadap Gambaran Histopatologi Testis Mencit (<i>Mus musculus</i>) yang Dipapar Asap Rokok (Indah Puspitasari, Herry A. Hermadi, dan Setya Budhy).....	93
6. Sari Buah Pisang Sebagai Alternatif Fruktosa Terhadap Kualitas Spermatozoa Domba Ekor Gemuk (Septyana Eka Rahmawati, Suherni Susilowati, Soeharsono, dan Indah Norma Triana)	98
7. Angka Fertilisasi Semen Beku Domba Merino Dalam Pengencer Tris Kuning Telur Dan Skim Kuning Telur Pada Fertilisasi in Vitro (Erin Nuraisa, Pudji Srianto, dan Widjiati)	104
8. Efisiensi Reproduksi Sapi Potong Dari Hasil Inseminasi Buatan Di Kecamatan Wringin, Kabupaten Bondowoso Tahun 2012 (Pandu Tokoh, Suzanita Utama, dan Chairul Anwar Nidom)	109
9. Program Inseminasi Buatan Untuk Sapi Potong di Madura "Sasaran, Realisasi dan Masalah (Mas'ud Hariadi)	114
10. Pengaruh Pemberian Infusum Daun Salam (<i>Eugenia polyantha</i>) Terhadap Jumlah Sel Spermatogenik Testis Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang Diinduksi Alokstan (Gahastanira, Wurlina, Abdul Samik, dan Budiarto)	118
11. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (<i>Momordica charantia L.</i>) Terhadap Angka Kebuntingan dan Jumlah Anak Mencit (<i>Mus musculus</i>) (Rr. Sri Pantja Madyawati, Mia Zakia Romadhoni, dan Sri Mumpuni Sosiawati)	124

12. Pengaruh Penambahan Protein Fertility Associated Antigen (FAA) Terhadap Kapasitas dan Reaksi Akrosom Spermatozoa pada Semen Beku Sapi Simental Pasca Sentrifugasi (Tri Wahyu Suprayogi, Beta Purnama Sari, Wurlina, dan Lucia Tri Suwanti) 129

13. Peran Plasma Seminalis Sapi Terhadap Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Kambing Dalam Bahan Pengencer Susu (Suherni Susilowati, Trilas Sardjito dan Indah Norma Triana) 134

14. Pengaruh Kafein pada Media Pencucian dan Kapasitas Spermatozoa Kambing Terhadap Kejadian Kebuntingan Kambing Lokal (Budi Utomo) 140

The Effect of Caffeine in Washing and Capacitation Media of the Goat Spermatozoa on Pregnancy Rates of Local Goat

Pengaruh Kafein pada Media Pencucian dan Kapasitas Spermatozoa Kambing Terhadap Kejadian Kebuntingan Kambing Lokal

Budi Utomo

Departemen Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
budi_reprovet@yahoo.com

Abstract

This experiment used 8 local goats and were divided into two groups (4 goats each). Goats in group 1 received intra servical artificial insemination of frozen semen of ettawa goat in diluter Early Balanced Salt Solution (EBSS) media without Caffeine, and goats in group 2 received intra servical artificial insemination of frozen semen of ettawa goat in diluter Early Balanced Salt Solution (EBSS) media with Caffeine

The result showed that the percentage of life and motil spermatozoa of semen diluted in media with caffeine were better than without caffeine. However, there was no significant difference in the results of pregnancy rates for semen diluted in EBSS with caffeine or without caffeine.

Key words : caffeine, EBSS, frozen semen

PENDAHULUAN

Semen beku yang diproduksi oleh Balai Inseminasi Buatan (BIB) Singosari-Malang mempunyai spesifikasi pengencer kuning telur sitrat. Keuntungan pemakaian kuning telur sitrat adalah terdapatnya lipoprotein lesitin sebagai bahan anti *cold shock*. Tetapi pada kambing ada suatu perbedaan bahwa semennya mengandung enzim fosfolipase sebagai katalisator yang dalam proses hidrolisis lesitin akan membentuk asam lemak dan lipolesitin yang meracuni sel spermatozoa (Hafez, 1995). Untuk itulah diperlukan media yang bersifat sebagai *buffer* dalam menetralisasi lipolesitin yang meracuni spermatozoa kambing tersebut yang dalam hal ini digunakan EBSS (*Early Balanced Salt Solution*).

Menurut Yanagimachi (1998) penambahan kafein pada media EBSS dapat meningkatkan motilitas spermatozoa kambing menjadi 70-90% dalam waktu 2-4 jam, sehingga berpengaruh positif terhadap proses inseminasi buatan pada kambing.

Sedangkan Chang dkk. (1990) menyatakan bahwa penambahan susu dan kuning telur pada spermatozoa kambing menyebabkan peningkatan motilitas spermatozoa kambing sampai 65%. Pada keadaan beku (-79°C), daya hidup dan motilitas spermatozoa dengan penambahan susu dan kuning telur dapat dipertahankan sampai 6 bulan (Kato, 1991).

Pada proses kapasitas dengan menggunakan media EBSS sering ditambahkan kafein. Hasil penelitian Niwa et al (1996), membuktikan bahwa penambahan kafein ke dalam media EBSS pada waktu prainkubasi akan meningkatkan daya penetrasi spermatozoa terhadap oosit sapi. Peneliti ini juga menyatakan bahwa pemberian kombinasi heparin dan kafein ke dalam media biakan akan meningkatkan kemampuan masuknya spermatozoa ke dalam sel telur jika dibandingkan dengan hanya penambahan heparin atau kafein saja. Dewasa ini telah banyak metoda kapasitas spermatozoa

Tabel 1. Metode kapasitasi sperma pada berbagai hewan ternak

Metode	Hewan	Penemu
1. High Ionic Strength Medium	Sapi	Brackett <i>et al</i> , 1992
2. Bovine Follicular Fluid	Sapi	Fukui <i>et al</i> , 1993
3. Ca ² Ionophore A23187	Sapi, kambing, kuda	Hanada, 1995
4. Heparin	Sapi	Parrish <i>et al</i> , 1995
5. Dilauryl Phosphatidylcholine	Sapi	Graham <i>et al</i> , 1996
6. Percoll Gradients	Sapi, babi	Utsumi <i>et al</i> , 1992
7. Caffein	Sapi, kambing	Niwa <i>et al</i> , 1998
8. Test-Yolk	Sapi, domba, kambing	Ijas and Hunter, 1996

dikembangkan untuk hewan domestik seperti terlihat pada tabel 1

Banyak abnormalitas terdapat pada spermatozoa selama perkembangannya secara morfologik dan pada waktu penanganan pada sebelum dan sesudah pengambilan air mani. Bentuk-bentuk abnormalitas primer spermatozoa terdapat di dalam testis karena kesalahan spermatogenesis, faktor keturunan, penyakit, defisiensi makanan dan pengaruh-pengaruh lingkungan yang jelek. Kejutan yang disebabkan oleh suhu yang dingin (*cold shock*) dan tekanan osmosa (*osmotic shock*) terhadap spermatozoa yang diejakulasikan dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada waktu pembentukan spermatozoa, sehingga mengakibatkan abnormalitas primer. Untuk mengatasi keadaan demikian dapat dilakukan penambahan bahan (media) pada spermatozoa tersebut (Mercier, 1994). Spermatozoa yang memiliki abnormalitas morfologik, kemungkinannya tidak subur. Kesuburan kambing jantan tergantung pada proporsi spermatozoa yang abnormal terhadap spermatozoa normal di dalam air mani. Meski demikian beberapa spermatozoa yang memiliki morfologi normal dapat mengalami kekurangan kandungan ADN (Asam Deoksiribo Nukleat) yang menyebabkan berkurangnya kesuburan.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan kambing kacang sebanyak 8 ekor betina dewasa (produktif) dan semen beku kambing etawa

yang diperoleh dari BIB Singosari – Malang. Hewan coba tersebut dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan (*secara acak*) yang terdiri dari :

Kelompok 1: terdiri dari 4 ekor kambing kacang betina yang dilakukan inseminasi buatan *intra servical* dengan semen beku kambing etawa dengan pengenceran media EBSS tanpa kafein

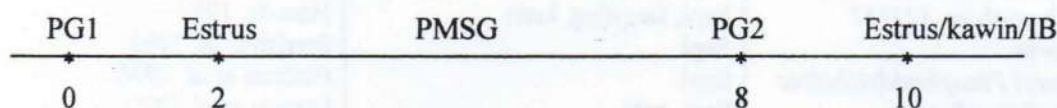
Kelompok 2: terdiri dari 4 ekor kambing kacang betina yang dilakukan inseminasi buatan *intra servical* dengan sperma beku kambing etawa dengan pengenceran media EBSS ditambah kafein.

Perbandingan pengenceran antara sperma dan bahan pengencer adalah 1:10. Sebelum dilakukan *inseminasi buatan*, terlebih dahulu dihitung persentase hidup/matinya dan motilitas spermatozoa pada masing-masing pengencer tersebut.

Penyerentakan birahi dilakukan untuk mempermudah pengamatan birahi, yaitu dengan menggunakan hormon PGF 2 α 1mg intra uterin. Penyuntikan PGF 2 α diulang 10 hari kemudian setelah penyuntikan pertama. Sebelum itu pada hari ke-8 diberikan suntikan hormon PMSG 200 IU pada masing-masing hewan kontrol dan perlakuan (lihat skema program *inseminasi buatan*).

Sperma beku kambing etawa unggul diperoleh dari BIB Singosari. Inseminasi dengan semen beku pada hewan kontrol dan perlakuan dilakukan secara *intra servical* dengan teknik kaki belakang diangkat ke atas. Sebelumnya semen beku tersebut

Skema Program Inseminasi Buatan



dilakukan *thowing* pada suhu kamar selama kurang lebih setengah jam

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase Hidup dan Motilitas Spermatozoa

Setelah dilakukan *thawing* dan dilanjutkan dengan pengenceran pada media NaCl dan Kafein, maka persentase hidup dan motilitas spermatozoa kambing etawa dapat dilihat pada tabel 1.

Rata-rata persentase hidup spermatozoa setelah dilakukan pengenceran pada media EBSS tanpa kafein dan dengan kafein adalah : $72.60 \pm 1.14\%$ dan $77.20 \pm 1.48\%$ sedangkan persentase motilitasnya yaitu : 62.00 ± 2.74 dan $68.00 \pm 2.16\%$.

Hasil penelitian Niwa *et al* (1996), menunjukkan bahwa penambahan kafein ke dalam media EBSS pada waktu pra-inkubasi akan meningkatkan daya penetrasi spermatozoa terhadap oosit sapi dan kambing. Peneliti ini juga mengatakan bahwa pemberian kombinasi heparin dan kafein ke dalam media EBSS akan meningkatkan

kemampuan masuknya spermatozoa ke dalam sel telur jika dibandingkan hanya penambahan heparin atau kafein saja. Sedangkan Choon-Keun (1995) mengemukakan bahwa kapasitas dan reaksi akrosom dapat terjadi dalam waktu yang singkat yaitu satu jam pada media EBSS dengan penambahan kafein.

Kafein dapat membantu kapasitas spermatozoa dengan cara memindahkan faktor dekapasitasi yang melekat pada membran plasma yakni *calmodulin binding protein*, dengan demikian kalsium masuk ke dalam sel yang diperlukan untuk kapasitas (Parrish, 1985 dikutip oleh Cox *et al.* 1994). Secara *in-vivo* kafein dapat memelihara dan menstimulasi motilitas, kapasitas dan reaksi akrosom. Penambahan kafein dalam media EBSS *Golden hamster* dapat meningkatkan persentase motilitas dan kualitas motilitas spermatozoanya (Boatman, 1990). Hal ini menunjukkan bahwa kafein mempunyai peranan dalam meningkatkan motilitas spermatozoa.

Tabel 1. Rata-rata persentase hidup dan motilitas spermatozoa kambing etawa tanpa penambahan kafein dan dengan penambahan kafein

Media Parameter	Persentase hidup		Persentase motilitas	
	tanpa kafein	dengan kafein	tanpa kafein	dengan kafein
Rata-rata	72.60a	77.20b	62.00a	68.00b
Simpangan baku	1.14	1.48	2.74	2.16
Ulangan	5	5	5	5
Rentangan	71 - 74	83 - 87	65 - 70	75 - 85

- *Superskrip dengan huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$)*

2. Jumlah Kebuntingan

Dilakukan *inseminasi buatan* pada masing-masing perlakuan kambing lokal. Waktu yang baik untuk melakukan inseminasi buatan pada kambing adalah 10-15 jam setelah tampak gejala birahi dan semen dideposisikan pada daerah serviks (Evans dan Maxwell, 1997). Pada penelitian ini *inseminasi buatan* dengan menggunakan dosis 1 ml semen yang telah diencerkan. Persentase kebuntingan pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

Setelah dilakukan uji statistik dengan chi-square, diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0.05$) antara pengenceran media EBSS tanpa kafein dan dengan kafein dalam jumlah kebuntingan kambing lokal. Hal ini membuktikan bahwa untuk kebuntingan kambing lokal yang dilakukan *inseminasi buatan* dengan spermatozoa kambing etawa pada media EBSS tanpa kafein dan dengan kafein mempunyai hasil yang sama baiknya. Walaupun bila dilihat dari persentase kebuntingan pada media EBSS antara tanpa kafein dan dengan kafein adalah 50% dan 75%.

Meskipun terdapat perbedaan persentase hidup dan motilitas spermatozoa pada media pengenceran EBSS antara tanpa kafein dan dengan kafein, namun angka tersebut masih di atas 50%. Menurut hasil penelitian Shimohira (1991) angka keberhasilan kebuntingan dengan menggunakan media EBSS pada sapi

mencapai 80%. Dalam penelitian ini dengan menggunakan media yang sama ditambah kafein diperoleh angka kebuntingan pada kambing sebesar 75%. Perbedaan tersebut diduga karena hewan yang dipakai berbeda. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Mahaputra (1996) menyebutkan bahwa angka keberhasilan kebuntingan hasil embrio transfer pada sapi dengan menggunakan media EBSS adalah 75%. Angka keberhasilan tersebut menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian ini, walaupun teknik inseminasi maupun hewannya berbeda. Media EBSS mengandung glukosa yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kematian pada sel spermatozoa (Cox dkk. 1994). Di samping itu glukosa juga menyebabkan terhambatnya proses awal pembelahan embrio (cleavage) pada proses fertilisasi in-vitro, sehingga akan berpengaruh terhadap jumlah kebuntingan, untuk itulah diperlukan penambahan kafein dalam fertilisasi tersebut (Seshogiri dan Bavister, 1998).

KESIMPULAN

1. Persentase hidup dan motilitas spermatozoa kambing etawa pada media EBSS dengan penambahan kafein lebih baik dibandingkan tanpa kafein.
2. Jumlah kebuntingan kambing lokal setelah dilakukan *inseminasi buatan* dengan spermatozoa kambing etawa memberikan hasil yang sama antara penambahan kafein dan tanpa kafein.

Tabel 2. Persentase Kebuntingan pada Masing-masing Perlakuan

Media	Bunting	Tidak Bunting	Total
Tanpa kafein	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)
Dengan kafein	3 (75%)	1 (25%)	4 (100%)

DAFTAR PUSTAKA

- Boatman, DE; BD. Bavister and E. Cruz. 1990. Addition of Caffeine can Reactivate immotile Golden Hamster Spermatozoa. *J. An-drol.* 11:66-72.
- Chang, MC. 1992. A determinial effect of seminal plasma on the fertilizing capacity of sperm. *Natu-re.* London. 258-260
- Choon-Keun, P. 1995. Studies on Fertilization and Development in-vitro of Bovine Oocytes Matu-rated in Culture. Okoyama University.
- Cox, JF; J.Avila; F.Saravia and A. Maria. 1994. Assessment of Fertilizing Ability of Goat Sperma-tozoa by in-vitro Fertilization of Cattle and Sheep intact Oocytes. Dept. of Anim. Prod. Faculty of Vet Med. Univ. of Conception. Casilla. Chile.
- Evans, G. and MC. Maxwell. 1997. Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths Pty Limited. Sidney.
- Hafez, ESE. 1995. Reproduction in Farm Animals. 6 th. Edition. Lea and Febiger. Philadelphia. P.188.
- Kato, H. 1991. In vitro Fertilization in Cattle. International Symposium on Animal Biotechnology. Kyoto. October 15-17. 1991. Kyoto International Community House.
- Mahaputra, L. 1996. Pengaruh Teknik Pengumpulan Oosit Terhadap Kualitas Embrio in-vitro dan Transfer Embrio pada Sapi. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Mercier, D. 1994. The Distribution of diploid Rabbit Spermatozoain the Female tract after Artificial Insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 21, 245-250.
- Niwa, K; O. Ohgoda; M. Yuhara. 1996. Effects of Caffeine in Media for Pretreatment of frozen-thawed Sperm on in-vitro Penetration of Cattle oocytes. *J. Reprod. Fert.* 24 : 346.
- Seshogiri, TA dan BD. Bavister. 1998. Effect of Oocytes Maturation Medium on in-vitro Development of in-vitro fertilized Bovine Embryos. *Moleculer Reproduction and Development.* 31: 72-77
- Shimohira, I. 1991. Manual of Embryos Transfer and in-vitro Fertilization Technology for Cattle. Japan International Cooperation Agency.
- Yanagimachi, R. 1998. The Movement of Goat Spermatozoa Before and After Capacitation. *J.Reprod. Fert.* 23: 193-196.