

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK HIPOFISA SAPI TERHADAP RESPONS SUPEROVULASI SAPI ACEH

The Effect of Bovine Pituitary Extract on Superovulatory Response of Aceh Cattle

Wida Puspita Arum¹, Tongku Nizwan Siregar², dan Juli Melia²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: tongku_ns@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui efek pemberian ekstrak hipofisa sapi terhadap peningkatan jumlah korpus luteum dan embrio sapi. Tiga ekor sapi aceh betina digunakan dalam penelitian ini dengan status tidak bunting, minimal 2 bulan pascapartus, umur 3-5 tahun, sudah pernah beranak, dan sehat secara klinis. Seluruh sapi diinjeksi dengan ekstrak hipofisa pada hari ke-9, 10, dan 11 siklus estrus dengan dosis menurun yaitu 10, 8, dan 6 ml secara intramuskular pada beberapa titik lokasi penyuntikan dan diikuti dengan penyuntikan 0,5 ml prostaglandin F₂-alfa (PGF₂α, Prostavet[®], Virbac S.A) 24 jam kemudian. Sapi diinseminasi pada saat puncak berahi (diam dinaiki pejantan) dan diulang 24 jam kemudian. Koleksi embrio dilakukan pada hari ke-7 setelah inseminasi secara *non-surgical* menggunakan kateter Foley. Parameter yang diamati adalah jumlah korpus luteum dan embrio. Data hasil penelitian dilaporkan secara deskriptif. Rata-rata tiap ekor sapi menghasilkan 4 korpus luteum sedangkan persentase perolehan embrio adalah 25% dengan jumlah embrio layak transfer sebanyak 1. Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak hipofisa dapat meningkatkan respons superovulasi sapi aceh.

Kata kunci: ekstrak hipofisa, respons superovulasi, sapi aceh

ABSTRACT

The aim of this study was to know the effect of bovine pituitary extract on corpora lutea and embryos number of aceh cattle. A total of three female cattle (3-5 years of age), unpregnant, have at least 2 regular cycles and clinically healthy. Superovulation was induced by pituitary extract on days 9, 10, and 11 of the estrus cycle administered intra muscularly in some sites of injection once a day over 3 days in a tapering doses (10, 8, and 6 ml) that followed by injection of 0.5 ml prostaglandin F₂-alfa (PGF₂α, Prostavet[®], Virbac S.A) 24 hours later injection of pituitary extract. Cattle are inseminated when they are having estrous cycles and repeated after 24 hours. Seven days after insemination, the uterine horns were flushed nonsurgically using Foley catheter. Parameters measured were number (CL) and embryo. Each treated cow produced 4 CL following superovulation treatment while the embryo rate was 25% with only one transferable embryos recovered. It is concluded that pituitary extract increase superovulatory response in aceh cattle.

Key words: pituitary extract, superovulatory response, aceh cattle

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Sapi aceh merupakan salah satu jenis ternak yang banyak dipelihara dan tersebar di Provinsi Aceh. Sapi ini merupakan hasil persilangan antara sapi lokal (*Bos sondaicus*) dengan sapi turunan zebu dari India (*Bos indicus*) (Basri, 2006). Sapi aceh merupakan salah satu plasma nutfah sapi potong lokal yang ada di Indonesia selain sapi bali dan sapi madura. Keunggulan sapi potong lokal adalah mampu menunjukkan produktivitas dan efisiensi ekonomi yang maksimal pada berbagai kondisi yang terbatas. Oleh karena itu, sapi potong lokal lebih tepat dan ekonomis dikembangkan pada pola dan kondisi peternakan rakyat (Romjali *et al.*, 2007).

Menurut laporan FAO (1996) penyebaran sapi aceh terdapat di Aceh dan Sumatera Utara dengan jumlah yang tidak diketahui sampai saat ini. Namun, dari survei yang sudah dilakukan diketahui bahwa populasi sapi aceh berada pada posisi yang mengkhawatirkan dan mengalami kecenderungan penurunan. Salah satu teknologi yang dapat meningkatkan populasi sapi aceh adalah dengan transfer embrio (TE). Langkah-langkah utama dalam aplikasi TE meliputi seleksi hewan donor, superovulasi dan pegawetan embrio, sinkronisasi, seleksi resipien, dan transfer embrio pada resipien.

Superovulasi yang merupakan salah satu langkah kunci dalam pelaksanaan TE. Superovulasi bertujuan menambah jumlah ovulasi dalam suatu periode berahi dari seekor hewan betina melalui stimulasi hormon gonadotropin (Hardjopranjoto, 1983). Hormon yang sering digunakan untuk menginduksi superovulasi adalah *follicle stimulating hormone* (FSH), *luteinizing hormone* (LH), *human chorionic gonadotropin* (HCG), *pregnant mare gonadotropin* (PMSG) atau gabungan dari hormon tersebut dengan dosis yang bervariasi (Mahaputra *et al.*, 1987).

Isnaini *et al.* (1999) melaporkan bahwa sumber utama hormon FSH adalah hipofisa (pituitari) anterior. Hipofisa sapi sedikitnya mengandung 10 macam hormon diantaranya adalah FSH, LH, *growth hormone* (GH), *luteotropic hormone* (LH), *adrenal corticotrophic hormone* (ACTH), *thyroid somatotrophic hormone* (TSH), dan *lipogenic hormone* yang dihasilkan oleh lobus hipofisa anterior. Beberapa penelitian terakhir menunjukkan bahwa ekstrak hipofisa mampu menginduksi berahi pada sapi perah (Isnaini dan Suyadi, 2004) dan meningkatkan efisiensi reproduksi kambing (Sariubang, 1988). Hasil penelitian Hafizuddin *et al.* (2010) membuktikan bahwa ekstrak hipofisa dan PMSG mempunyai efektivitas yang sama dalam menginduksi superovulasi pada tikus.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala dan UPTD Balai Diklat Pertanian-Saree, Aceh Besar pada bulan Oktober-November 2012. Dalam penelitian ini digunakan 3 ekor sapi aceh betina dengan status tidak bunting, minimal 2 bulan pascapartus, umur 3-5 tahun, sudah pernah beranak dan sehat secara klinis. Sapi aceh betina yang digunakan mempunyai kriteria sesuai dengan petunjuk Peraturan Menteri Pertanian Nomor 54/permentan/ot.140/10/2006 tentang Pedoman Pembibitan Sapi Potong yang Baik (*Good Breeding Practice*) dengan ciri-ciri fenotipe: 1) warna bulu coklat muda, coklat merah (merah bata), coklat hitam, hitam dan putih, abu-abu, kulit hitam memutih ke arah sentral tubuh, 2) betina berpunuk kecil, 3) punuk jantan terlihat jelas, dan 4) tinggi gumba sapi betina berumur 18-24 bulan minimal 100 cm sedang tinggi gumba sapi jantan berumur 24-36 bulan minimal 105 cm.

Pembuatan Ekstrak Pituitari Sapi

Ekstrak pituitari sapi dibuat berdasarkan metode yang diterapkan Isnaini *et al.* (1999). Pituitari sapi yang merupakan limbah Rumah Potong Hewan (RPH) dikoleksi dari RPH kota Banda Aceh. Pituitari hasil koleksi dimasukkan dalam termos dan segera dibawa ke laboratorium untuk disimpan dalam *freezer* sampai jumlahnya mencukupi. Jika sudah terkumpul, pituitari dibersihkan dari jaringan ikat dan dipisahkan dari selaput luar. Setelah itu, pituitari diiris kecil-kecil (± 1 mm) dan ditumbuk sampai halus, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 ml untuk setiap gram pituitari dan selanjutnya disaring dengan kertas saring. Larutan yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit, kemudian supernatan diambil. Supernatan hasil sentrifugasi merupakan ekstrak pituitari dan disimpan dalam *freezer* sebelum digunakan.

Prosedur Penelitian

Sapi-sapi disuperovulasi menggunakan protokol standar penggunaan ekstrak pituitari untuk induksi berahi sapi pascapartus. Pada hari ke-1 seluruh sapi yang telah diketahui mempunyai korpus luteum melalui pemeriksaan palpasi rektal diinjeksi dengan 2 ml prostaglandin. Dua hari setelah penyuntikan seluruh sapi memperlihatkan gejala berahi. Hari ke-9 setelah berahi sapi diinjeksi dengan ekstrak pituitari dengan dosis menurun yakni 10, 8, dan 6 ml.

Dua puluh empat jam setelah penyuntikan ekstrak pituitari terakhir, sapi diinjeksi kembali dengan 2 ml prostaglandin. Observasi berahi secara visual dan dengan bantuan pejantan dilakukan satu hari setelah injeksi prostaglandin. Sapi diinseminasi pada saat puncak berahi (diam dinaiki pejantan) dan diulang 24 jam kemudian. Tujuh hari setelah inseminasi dilakukan koleksi embrio dengan metode *non surgical*. Sebelum koleksi dilakukan penghitungan jumlah korpus luteum pada ovarium masing-masing sapi menggunakan teknik eksplorasi rektal.

Koleksi Embrio

Koleksi embrio dilakukan dengan cara tanpa operasi (*non surgical*) pada hari ke-7 setelah inseminasi buatan. Sapi ditempatkan dalam nistal. Pangkal ekor dijepit, dibersihkan dengan sabun dan dibilas dengan alkohol 70%. Selanjutnya, sapi dianestesi epidural yang diberikan pada vertebrae antara sacrum terakhir dan coccygea pertama dengan 2 ml *lidocain chloride* 2%. Feses dikeluarkan dari rektum.

Pembuka serviks (*servical expander*) dimasukkan ke dalam vagina dan menempatkan pada bagian lumen serviks untuk memanipulasi serviks sehingga lintasan balon kateter terbuka. Kateter *Foley* 2 jalur dengan batang penguat anti karat dimasukkan dengan hati-hati ke dalam vagina dan ke dalam lumen serviks bagian depan, terus ke badan uterus yang dituntun dengan palpasi rektal seperti pada pelaksanaan inseminasi buatan. Kateter tersebut dimasukkan ke kornua uterus secara bergantian. Kemudian balon dikembangkan dengan udara sampai lengket sehingga medium tidak dapat keluar di antara balon dan dinding uterus.

Medium *flushing* (NaCl fisiologis) ditempatkan ke dalam botol yang dihubungkan dengan pipa penyalur (untuk saluran medium). Pipa dari botol dihubungkan dengan pipa *inflow* (saluran menuju uterus) pada kateter *Foley* dengan penghubung Y. Setelah kornua uterus menggelembung terisi 50 ml medium *flushing*, pipa aliran dibuka dan ditampung pada botol 1000 ml. Proses ini diulang sampai 250 ml untuk satu kornua uterus. Selanjutnya, medium diperiksa di bawah mikroskop untuk evaluasi embrio yang diperoleh.

Evaluasi Embrio

Embrio dievaluasi menggunakan mikroskop dengan pembesaran 70x. Evaluasi embrio dilakukan menurut cara Shimohira (1991) yang mengklasifikasikan embrio menjadi 4 kelas, yakni A, B, C, dan D. Kelas A, embrio bagus sekali, bentuk blastomer jelas, seragam, dan tidak dijumpai adanya penonjolan-penonjolan blastomer. Embrio kategori ini dapat ditransfer dan dibekukan. Kelas B, embrio bagus, bentuk blastomer jelas, ada penonjolan-penonjolan blastomer dan bentuk irreguler sampai dengan 25%. Embrio kategori ini dapat ditransfer dan dibekukan. Kelas C, embrio kualitas sedang, bentuk blastomer banyak yang irreguler, dan banyak penonjolan-penonjolan sampai 50%. Embrio kategori ini dapat ditransfer, tetapi tidak dapat dibekukan. Kelas D, embrio kualitas jelek, bentuknya irreguler, abnormalitas sel-sel blastomer melebihi 60%, termasuk embrio yang mengalami degenerasi, dan ova yang tidak mengalami fertilisasi. Embrio kategori ini tidak dapat ditransfer dan tidak dapat dibekukan.

Analisis Data

Respons ovarium sapi aceh meliputi jumlah korpus luteum, kualitas dan kuantitas embrio dilaporkan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh sapi memperlihatkan gejala berahi 24 jam setelah penyuntikan PGF2 α . Timbulnya berahi adalah akibat injeksi prostaglandin dan kemungkinan tidak dipengaruhi oleh pemberian ekstrak hipofisa seperti yang dilaporkan oleh Siregar *et al.* (2013). Siregar *et al.* (2013) melaporkan semua kelompok perlakuan kambing yang diinjeksi dengan PMSG atau ekstrak hipofisa memperlihatkan respons berahi sebesar 100%. Pernyataan ini sesuai dengan laporan Siregar dan Armansyah (2010), bahwa respons berahi kambing lokal tidak dipengaruhi oleh anti-inhibin yang diberikan untuk induksi superovulasi tetapi oleh pemberian prostaglandin yang mengiringi pemberian anti-inhibin. Timbulnya berahi akibat pemberian PGF2 α disebabkan lisisnya korpus luteum oleh kerja vasokonstriksi PGF2 α sehingga aliran darah menuju korpus luteum menurun secara drastis (Toelihere, 1981). Regresi korpus luteum akan diikuti dengan penurunan konsentrasi progesteron. Penurunan kadar progesteron ini akan merangsang hipofisa anterior melepaskan FSH dan LH. Kedua hormon ini bertanggung jawab dalam proses folikulogenesis dan ovulasi sehingga terjadi pertumbuhan dan pematangan folikel. Folikel-folikel tersebut akhirnya menghasilkan hormon estrogen yang mampu memanifestasikan gejala berahi.

Respons superovulasi sapi aceh setelah induksi dengan ekstrak hipofisa disajikan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 terlihat bahwa rata-rata jumlah korpus luteum adalah 4. Hasil yang lebih tinggi diperoleh Siregar *et al.* (2012) yang memperoleh rata-rata jumlah korpus luteum sebanyak 5,4 pada sapi aceh yang diinduksi dengan FSH. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan perbedaan dosis dan metode pemberian yang digunakan. Dosis FSH yang digunakan oleh Siregar *et al.* (2012) adalah dosis yang umum digunakan untuk superovulasi pada sapi sedangkan dosis ekstrak hipofisa pada penelitian ini merupakan dosis yang digunakan untuk induksi estrus pascapartus. Di samping itu, metode pemberian pada penelitian ini adalah dosis menurun dengan satu kali pemberian selama tiga hari sedangkan Siregar *et al.* (2012) menggunakan dosis menurun selama empat hari dengan dua kali pemberian per hari.

Bila dibandingkan dengan jumlah korpus luteum pada sapi yang diinduksi dengan hormon PMSG, hasil penelitian ini juga relatif lebih sedikit. Holy (1987) memperoleh rata-rata jumlah korpus luteum pada sapi yang diinduksi dengan 2000-3000 IU PMSG atau kombinasi PMSG dengan antigonadotropin masing-masing adalah 8,8 dan 8,0. Selanjutnya Slimane dan Ouali (1991) memperoleh rata-rata jumlah korpus luteum sebanyak 11,6. Zeitoun *et al.* (1991) menambahkan bahwa jumlah korpus luteum cenderung lebih banyak pada dosis PMSG yang lebih tinggi. Jumlah korpus luteum pada sapi Hereford yang diinduksi dengan 3000 dan 1500 IU HCG masing-masing adalah 23,0 dan 14,1. Perbedaan yang diperoleh

dengan penelitian ini kemungkinan berhubungan dengan perbedaan *breed* dan jenis gonadotropin yang digunakan.

Tabel 1. Respons superovulasi sapi aceh setelah induksi dengan ekstrak hipofisa

Respons superovulasi	Jumlah (%)
Jumlah sapi perlakuan (n)	3
Respons berahi (%)	100
Sapi yang menghasilkan korpus luteum (n)	3
Persentase sapi yang menghasilkan korpus luteum (%)	100
Sapi yang menghasilkan embrio (n)	3
Persentase sapi yang menghasilkan embrio (%)	66,6
Total korpus luteum	12
Rata-rata jumlah korpus luteum	4
Total embrio	3
<i>Recovery rate</i> (%)	25
Jumlah embrio yang layak ditransfer (klas A dan B)	1

Rata-rata jumlah embrio yang diperoleh pada penelitian ini adalah 1; *recovery rate* sebesar 25%; dan jumlah embrio yang layak ditransfer adalah 1. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian pada sapi yang sama, rata-rata jumlah embrio yang diperoleh pada penelitian ini relatif rendah. Siregar *et al.* (2012) memperoleh rata-rata jumlah embrio total yang diperoleh pada kedua kelompok perlakuan (kehadiran atau ketiadaan folikel dominan pada saat inisiasi superovulasi) adalah 2,0; *recovery rate* sebesar 36,8%; dan rata-rata jumlah embrio yang layak ditransfer adalah 1,1. Alasan perbedaan kemungkinan sama dengan alasan perbedaan jumlah korpus luteum seperti yang telah dikemukakan di atas,

Pada penelitian lain, sapi yang disuperovulasi dengan dosis PMSG bertingkat, jumlah rata-rata *recovery* embrio adalah 6,0; *recovery rate* sebesar 51,8%; dan rata-rata jumlah embrio yang layak ditransfer adalah 1,0 (Silmane dan Ouali, 1991). Misra *et al.* (1994) mendapatkan jumlah rata-rata embrio adalah 1,6 dan jumlah embrio yang berkualitas baik adalah 0,56 embrio. Hasil yang lebih tinggi diperoleh oleh Mohammed dan Ismail (1999) yang memperoleh embrio sebanyak 8,6 embrio dan embrio kualitas baik sebanyak 6,0. Perbedaan hasil yang ditunjukkan pada penelitian ini kemungkinan berhubungan dengan perbedaan jenis gonadotropin yang digunakan.

Jika dibandingkan dengan hasil yang diperoleh oleh Adriani *et al.* (2009) terlihat bahwa jumlah embrio yang diperoleh relatif lebih sedikit. Adriani *et al.* (2009) memperoleh embrio total sebanyak 82 dengan rata-rata 4,30 $\pm$ 5,67 dan kisaran embrio yang diperoleh 3-26. Menurut Screenan (1983) yang disitasi Adriani *et al.* (2009) bahwa ovulasi dapat berkisar antara 0-53. Perbedaan hasil yang diperoleh kemungkinan berhubungan dengan perbedaan *breed* sapi yang digunakan. *Breed* sapi aceh relatif mempunyai saluran reproduksi yang kecil sehingga menyulitkan dalam proses *flushing* (Siregar *et al.*, 2012).

Rendahnya jumlah embrio laik transfer dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh banyaknya ovum yang tidak dibuahi akibat kegagalan fertilisasi. Pada penelitian ini, ternak sapi selalu berada dikandang sehingga memperbesar peluang terjadinya berahi tenang (*silent heat*). Berahi tenang dapat menyebabkan penentuan waktu inseminasi yang kurang optimal sehingga jumlah ovum yang tidak dibuahi tinggi dan rendahnya tingkat fertilisasi yang dihasilkan.

PENUTUP

Pemberian ekstrak hipofisa sapi dapat meningkatkan respons superovulasi sapi aceh yang ditandai dengan peningkatan jumlah korpus luteum dan embrio.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, B. Rosadi, dan Depison. 2009. Jumlah dan kualitas embrio sapi Brahman Cross setelah pemberian hormon FSH dan PMSG. **Anim. Reprod.** 11(2):96-102.
- Armansyah, T., Al-Azhar, T. N. Siregar. 2011. Analisis Isozim untuk Mengetahui Variasi Genetik Sebagai Upaya Pemurnian Ras Sapi Aceh. **Jurnal Veteriner** 12 (4):254-262
- Basri, H. 2006. **Penelusuran Arah Pembibitan Sapi Aceh**. Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala Darussalam, Banda Aceh.
- FAO. 1996. The Management of Global Animal Genetic Resources. **FAO. Proceeding a Food and Agriculture Organization Expert Consultation, Rome.**
- Hafizuddin, Suryani, Yusmadi, T.N. Siregar, dan T. Armansyah. 2010. Respons Superovulasi Mencit dengan Ekstrak Hipofisa: Suatu upaya Menemukan Agen Superovulasi dengan Biaya Murah. **Prosiding Seminar Nasional Peternakan Berkelanjutan**. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran 4 November 2010.
- Hardjopranjoto, S. 1983. **Fisiologi Reproduksi**. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Holy, L. 1987. Results of the use of non-surgical embryo transfer in the breeding of heifers. **Vet. Med.** 32(11):634-653.
- Isnaini, N., dan Suyadi. 2004. Pengaruh sistem pemberian ekstrak hipofisa terhadap respon berahi dan respon ovarium sapi perah anestrus postpartum. **Jurnal Ilmu-ilmu Hayati** 16(1):33-40.
- Isnaini, N., S. Wahjuningsih, dan G. Ciptadi 1999. In vitro maturasi oosit sapi dalam tcm-199 yang disuplementasi dengan ekstrak hipofisa sapi. **J. Saintek** 7(1):75-85.
- Mahaputra, L., Wurlina, dan W. Sharifudin. 1987. Penggunaan FSH, HCG dan Dynoprost untuk Superovulasi pada Sapi. **Simposium Peranan Transfer Embrio dan Rekayasa Genetik Dalam Peningkatan Mutu dan Produksi Ternak**. Inter University Center for Lives Science. Bogor Agricultural University.
- Misra, A.K., R. Kasiraj, M. Mutha Rao, N.S Ranga, and B.V. Joshi. 1994. Embryo transfer in buffalo in India. **Proceedings 4th World Buffalo Congress, Sao Paulo, Brazil**. 3:501-504.
- Mohammed, K.M.E. and S.T. Ismail. 1999. Application of embryo transfer in Friesian cows under Egyptian conditions. **Egyptian J. Agri. Res.** 77(3):1415-1431.
- Romjali, E. Mariyono, D.B. Wijono, dan Hartati. 2007. Rakitan Teknologi Pembibitan Sapi Potong. Loka Penelitian Sapi Potong, Grati-Pasuruan. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Timur. <http://jatim.litbang.deptan.go.id>
- Sariubang, M. 1988. Studi Pengaruh Pemberian Ekstrak Hipofisa Sapi dan Aras Dedak terhadap Parameter Produksi, Reproduksi dan Komposisi Karkas Kambing Kacang Betina Lepas Sapih. **Tesis**. Fakultas Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada. Yogyakarta
- Shimohira, I. 1991. **Manual of Embryo Transfer and In Vitro Fertilization Technology for Cattle**. Japan International Cooperation Agency.
- Siregar, T.N., dan T. Armansyah. 2010. Kinerja berahi kambing yang mengalami induksi superovulasi dengan anti-inhibin. **Animal Production** 11(1):34-39.
- Siregar, T.N., I.K. Siregar, T. Armansyah, Syafruddin, Arman Sayuti, dan Hamdani. 2013. Tampilan reproduksi kambing lokal hasil induksi superovulasi dengan ekstrak *pituitary*. **Jurnal Veteriner** 14(1):75-79.
- Siregar, T.N., M. G. Eldora, J. Melia, B. Panjaitan, Yusmadi, dan R. A. Barus. 2012. Kehadiran folikel dominan pada saat inisiasi superovulasi menurunkan respons superovulasi sapi aceh. **Jurnal Kedokteran Hewan** 6(2):67-71.
- Slimane, N. and F. Ouali. 1991. Embryo transfer in cattle in Tunisia. Ovarian response to superovulation treatments and the number of embryos recovered. **Maghreb-Vet.** 5(24):5-7.
- Toelihere, M.R. 1981. **Fisiologi Reproduksi pada Ternak**. Angkasa Bandung.
- Zeitoun, M.M., A.M. Yassen, A.A. Hassan, A.Z. Fathelbab, S.E. Echternkamp, T.H. Wise, and R.R. Mourera. 1991. Superovulation and embryo quality in beef cows using PMSG and monoclonal anti-PMSG. **Theriogenology** 35(3):653-658.