

Evaluasi Status Reproduksi Ovarium Sapi Simental terhadap Kuantitas dan Kualitas Oosit secara *In Vitro*
(*Evaluation of Ovarian Reproductive Status on the Quantity and Quality of In Vitro Oocytes in Simental Cattle*)

Nadia Rahma^{1*}, Fadilla Meidita², Dwi Ananta³
^{1,2,3} Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh

e-mail: ^{1*}nadiarahma@politanipyk.ac.id, ²fadillameidita05@gmail.com
³dwiananta@politanipyk.ac.id

corresponding author : ^{1*}nadiarahma@politanipyk.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi status reproduksi ovarium berdasarkan keberadaan *corpus luteum* terhadap kuantitas dan kualitas sapi Simental secara *in vitro*. Sampel ovarium diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) yang ada di sekitaran Kota Padang dengan waktu transportasi menuju laboratorium selama 6 jam. Pengambilan oosit dilakukan menggunakan metode *slicing*. Total ovarium yang digunakan sebanyak 90, terdiri atas 45 ovarium dengan *corpus luteum* (CL+) dan 45 tanpa *corpus luteum* (CL-). Analisis data dilakukan menggunakan uji-t. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ovarium tanpa *corpus luteum* (CL-) memiliki kuantitas oosit lebih banyak (502 oosit) dibandingkan dengan ovarium yang memiliki *corpus luteum* (CL+) sebanyak 486 oosit. Dari segi kualitas oosit, proporsi oosit grade A pada kelompok CL- adalah 14,87%, sedangkan pada CL+ sebesar 13,05%. Untuk oosit grade B, masing-masing kelompok mencatatkan persentase 58,31% (CL-) dan 58,21% (CL+). Grade C tercatat 14,87% pada CL- dan 15,10% pada CL+, sedangkan grade D sebesar 11,95% (CL-) dan 13,64% (CL+). Berdasarkan analisis statistik, keberadaan *corpus luteum* tidak memberikan pengaruh yang signifikan ($P>0,05$) terhadap kuantitas maupun kualitas oosit yang diperoleh secara *in vitro*.

Kata kunci: *corpus luteum*, oosit, *in vitro*, kuantitas, kualitas

Abstract

This study aimed to evaluate the reproductive status of ovaries based on the presence of corpus luteum (CL) in relation to the quantity and quality of oocytes from Simmental cattle in vitro. A total of 90 ovaries were collected from slaughterhouses around Padang City, consisting of 45 ovaries with CL (CL+) and 45 without CL (CL-), with a transportation time to the laboratory of approximately six hours. Oocytes were retrieved using the slicing method, and data were analyzed using a t-test. The results showed that CL- ovaries produced more oocytes (502) compared to CL+ ovaries (486). The proportion of grade A oocytes was 14.87% (CL-) and 13.05% (CL+); grade B: 58.31% (CL-) and 58.21% (CL+); grade C: 14.87% (CL-) and 15.10% (CL+); and grade D: 11.95% (CL-) and 13.64% (CL+). Statistical analysis indicated that the

presence of corpus luteum had no significant effect ($P>0.05$) on the quantity or quality of oocytes obtained in vitro.

Keywords: *corpus luteum, oocytes, in vitro, quantity, quality*

1. Pendahuluan

Teknologi fertilisasi *in vitro* (IVF) merupakan salah satu inovasi bioteknologi yang berperan penting dalam peningkatan produktivitas dan efisiensi reproduksi karena memungkinkan produksi embrio dalam jumlah besar. Teknologi IVF juga dapat mengoptimalkan potensi genetik ternak betina melalui serangkaian tahapan teknis seperti pengambilan oosit dari ovarium, pematangan oosit secara *in vitro* (*In Vitro Maturation/IVM*), pembuahan secara *in vitro* (*In Vitro Fertilization/IVF*) dan pengembangan embrio (*In Vitro Culture/IVC*) hingga tahap blastosis yang siap ditransfer ke induk resipien [1]. Keberhasilan implementasi teknologi IVF ini sangat bergantung pada kualitas awal dari oosit yang digunakan karena hanya oosit dengan morfologi dan kompetensi perkembangan yang optimal yang memiliki peluang tinggi untuk berkembang menjadi embrio yang sehat, viabel dan memiliki daya hidup tinggi setelah transfer ke induk resipien [2].

Dalam praktiknya, sumber oosit yang digunakan untuk teknologi IVF umumnya berasal dari ovarium ternak betina yang disembelih di rumah potong hewan (RPH). Dibeberapa RPH, jumlah pemotongan ternak betina produktif masih cukup tinggi, alasannya adalah harga sapi betina relatif lebih murah dibandingkan sapi jantan [16], keterbatasan sapi jantan, penegakan hukum terkait larangan pemotongan sapi betina belum konsisten di semua daerah bahkan beberapa peternak belum menyadari adanya peraturan tersebut [17]. Hal ini menyebabkan terbuangnya potensi genetik yang sebenarnya masih memiliki nilai guna yang cukup baik. Limbah organ reproduksi seperti ovarium sering kali hanya dianggap sebagai produk sampingan dan dibuang begitu saja. Padahal limbah ini dapat dimanfaatkan dalam program reproduksi berbasis bioteknologi. Dengan pendekatan yang tepat, ovarium dari betina produktif yang dipotong dapat menjadi sumber genetik yang potensial untuk mendukung pelestarian dan pengembangan ternak unggul. Namun demikian, kualitas oosit yang diperoleh sangat beragam dan dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk umur ternak, status fisiologis dan reproduksi, status nutrisi, serta kondisi lingkungan ovarium itu sendiri [3]. Salah satu aspek fisiologis yang penting untuk dikaji lebih lanjut adalah keberadaan *corpus luteum* (CL) pada ovarium. *Corpus luteum* merupakan struktur endokrin sementara yang terbentuk dari sisa folikel *de Graaf* setelah ovulasi dan berperan dalam sekresi hormon progesteron. Hormon progesteron berfungsi menjaga kondisi uterus yang kondusif untuk implantasi dan mempertahankan kebuntingan awal ternak. Keberadaan CL menandai bahwa ovarium sedang berada pada fase luteal dari siklus estrus yang ditandai dengan konsentrasi progesteron yang tinggi dan penurunan aktivitas gonadotropin melalui mekanisme umpan balik negatif terhadap hipofisis [4].

Kondisi fisiologis ovarium, termasuk status keberadaan CL dapat memengaruhi lingkungan mikrofolikuler yang mendukung perkembangan oosit. Perubahan hormonal dan molekular yang terjadi pada fase luteal berpotensi memodulasi ketersediaan faktor pertumbuhan, aliran darah folikuler, serta ekspresi gen-gen yang penting dalam pematangan oosit [5]. Beberapa penelitian menyatakan bahwa oosit yang diambil dari ovarium dengan *corpus luteum* cenderung mengalami hambatan dalam proses pematangan dan memiliki kompetensi perkembangan yang lebih rendah dibandingkan dengan oosit dari ovarium tanpa CL [6]. Namun, studi lainnya menunjukkan bahwa keberadaan CL tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kualitas atau kuantitas

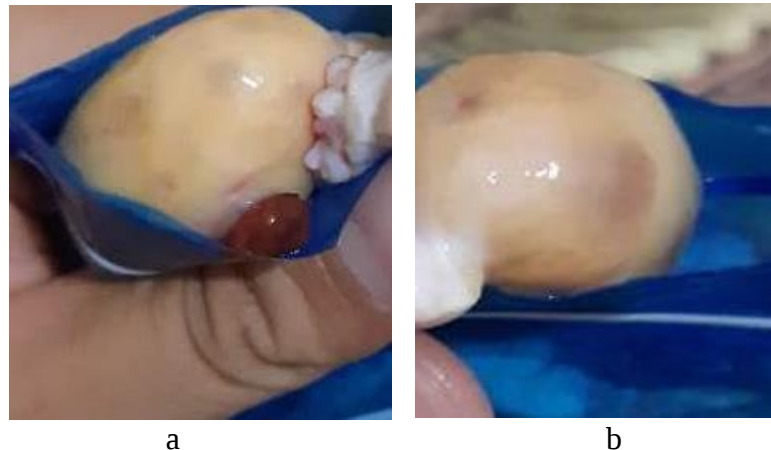
oosit yang diperoleh, baik dari segi morfologi, stadium maturasi, maupun kemampuan fertilisasinya [7].

Perbedaan hasil antar penelitian ini menunjukkan adanya inkonsistensi temuan yang mungkin dipengaruhi oleh perbedaan ras, teknik pengambilan dan penanganan oosit, serta kondisi lingkungan transportasi ovarium. Oleh karena itu, kajian ilmiah yang lebih komprehensif dan spesifik terhadap jenis ternak tertentu sangat diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi status reproduksi ovarium yang dilihat dari keberadaan *corpus luteum* terhadap kuantitas dan kualitas oosit sapi Simental secara *in vitro*. Dengan mempertimbangkan pentingnya kriteria seleksi ovarium yang optimal, hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah dalam pengambilan ovarium dan seleksi oosit untuk mendukung keberhasilan program fertilisasi *in vitro*, khususnya materi gentetik dari ovarium yang berasal dari RPH.

2. Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan 90 ovarium sapi Simental yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) yang ada di sekitar Kota Padang. Ovarium yang digunakan dibersihkan dan dipisahkan bagian lemak dan jaringan yang menempel, selanjutnya dicuci dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan ke dalam termos dengan suhu yang dijaga yaitu 37°C. Ovarium tersebut kemudian dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan status reproduksi, yaitu keberadaan *corpus luteum* (CL). Kelompok pertama adalah 45 ovarium dengan *corpus luteum* (CL+) dan kelompok kedua adalah 45 ovarium yang tidak ada *corpus luteum* (CL-). Identifikasi keberadaan CL dilakukan secara visual melalui inspeksi morfologi makroskopis permukaan ovarium.



Gambar 1. Ovarium dengan a) *corpus luteum* dan b) tanpa *corpus luteum*

Ovarium sapi Simental yang dikumpulkan setelah penyembelihan, disimpan dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% hangat selama transportasi. Bahan lain yang diperlukan untuk media koleksi adalah FBS (*Fetal Bovine Serum*), antibiotik (*Penicillin-Streptomycin*), dan BSA (*Bovine Serum Albumin*). Sedangkan, alat yang digunakan adalah mikroskop stereo (Nikon SMZ660), *Laminar Air Flow* (LAF), timbangan analitik, pipet pasteur, scalpel steril, cawan petri, plastik ziplock, termos steril, thermometer digital, *syringe* disposable 5 ml dan tali infus (*tourniquet*). Prosedur kerja dilakukan sesuai dengan Standar Operasional Prosedur (SOP) laboratorium Bioteknologi Ternak Universitas Andalas.

2.2 Peubah yang diamati

Peubah yang diamati pada penelitian ini adalah :

1. Persentase kuantitas oosit : kuantitas oosit ditentukan dengan cara menghitung jumlah oosit per ovarium yang didapatkan setelah proses koleksi.
$$\% \text{ Kuantitas Oosit} = \text{jumlah oosit/ovarium} \times 100$$
2. Persentase kualitas oosit: kualitas oosit ditentukan dengan melihat grade oosit yang diperoleh dari hasil koleksi oosit (Grade A, B, C dan D).

Keterangan :

Grade A : oosit dengan kategori yang paling baik

Grade B : oosit dengan kategori baik

Grade C : oosit dengan kategori kurang baik

Grade D : oosit dengan kategori paling buruk

Data kuantitas oosit dianalisa dengan uji t independent menggunakan SPSS 16.0 dan data kualitas oosit di analisa dengan menggunakan uji t proporsi. Uji t independent digunakan untuk membandingkan rata-rata dua kelompok yang tidak saling berhubungan dan uji t proporsi digunakan untuk membandingkan persentase dari dua kelompok.

2.3 Prosedur Penelitian

1. Transportasi ovarium dari RPH ke Laboratorium

Ovarium sapi dikoleksi segera setelah pemotongan dari Rumah Potong Hewan (RPH) yang ada di Kota Padang. Pengambilan dilakukan secara aseptik dan hati-hati untuk menjaga integritas jaringan ovarium. Setiap ovarium yang diambil harus dibersihkan terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik ziplock steril yang telah diisi dengan media transportasi sesuai komposisi pada Tabel 1. Ovarium yang telah dikemas kemudian dimasukkan ke dalam termos berisi air hangat bersuhu 37°C. Suhu selama transportasi dijaga dengan menggunakan thermometer digital untuk memastikan kondisi optimal. Lama transportasi dari RPH ke laboratorium adalah 6 jam.

Tabel 1. Komposisi medium transportasi ovarium sapi dari RPH

Bahan	Jumlah
NaCl fisiologis 0,9%	1000 ml
Penicilin (100 IU/ml) dan Streptomycin (100 µg /ml)	1000 µl
Total	1000 ml

2. Koleksi oosit dan evaluasi kuantitas dan kualitas oosit

Setibanya di laboratorium, ovarium disimpan dalam *water bath* dengan suhu terkontrol 37°C hingga waktu perlakuan. Tujuannya adalah untuk mempertahankan kondisi fisiologis ovarium dan menjaga viabilitas oosit yang dikandungnya sebelum proses koleksi dilakukan. Setelah masa penyimpanan, ovarium dikoleksi menggunakan metode *slicing*, yaitu pemotongan korteks ovarium secara berulang menggunakan pisau bedah steril di dalam cawan petri yang telah berisi media koleksi oosit (Tabel 2).

Tabel 2. Komposisi medium koleksi oosit

Bahan	Jumlah
Larutan PBS (<i>Phospat Buffer Saline</i>)	100 ml
BSA (<i>Bovine Serum Albumin</i>) 0,3 %	0,3 g
Penicilin (100 IU/ml) dan Streptomycin (100 µg /ml)	100 µL
Total	100 ml

Setelah proses *slicing*, media yang mengandung oosit diamati dan dipisahkan menggunakan pipet pasteur. Oosit dikumpulkan ke dalam cawan petri baru untuk dilakukan identifikasi dan seleksi berdasarkan morfologi seperti jumlah lapisan sel kumulus dan integritas sitoplasma. Penilaian morfologi oosit dilakukan di bawah mikroskop stereo dan diklasifikasikan menjadi empat grade: Grade A, B, C, dan D.

3. Evaluasi kuantitas dan kualitas oosit

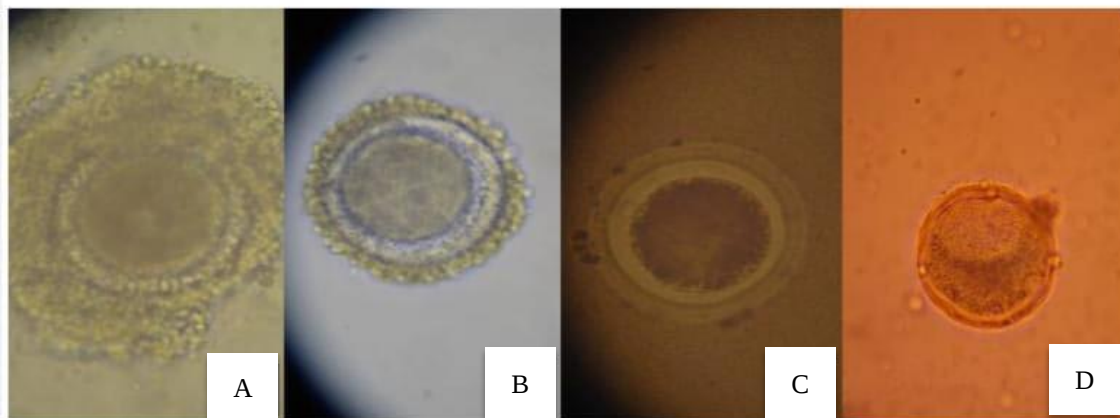
Evaluasi kuantitas oosit dilakukan dengan menghitung jumlah total oosit yang berhasil dikoleksi dari masing-masing ovarium. Sementara itu, evaluasi kualitas oosit dilakukan dengan klasifikasi morfologi sebagai berikut:

Grade A: oosit dengan sitoplasma homogen dan tiga atau lebih lapisan kumulus yang kompak

Grade B: oosit dengan sitoplasma homogen dan satu hingga dua lapisan kumulus

Grade C: oosit dengan sedikit kumulus dan sitoplasma agak granuler

Grade D: oosit degeneratif dengan sitoplasma tidak homogen dan tanpa lapisan sel kumulus



Gambar 2. Grade Oosit (A= oosit dengan grade A; B= oosit dengan grade B; C= oosit dengan grade C; D= oosit dengan grade D (Sumber : [13]))

3. Hasil dan Pembahasan

Pengaruh keberadaan *corpus luteum* terhadap kuantitas oosit dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Status reproduksi ovarium terhadap kuantitas oosit

Status ovarium	Kuantitas oosit
CL-	502
CL+	486

Keterangan: CL- = ovarium tanpa *corpus luteum*; CL+ = ovarium dengan *corpus luteum*

Berdasarkan data tersebut, ovarium tanpa *corpus luteum* (CL-) menghasilkan oosit dalam jumlah lebih banyak dibandingkan ovarium dengan *corpus luteum* (CL+), yakni masing-masing 502 dan 486 oosit. Namun, analisis statistik menggunakan uji-t menunjukkan bahwa perbedaan ini tidak signifikan secara statistik ($P > 0,05$). Perbedaan kuantitas oosit yang dikoleksi dari status ovarium yang berbeda disebabkan karena perbedaan tingkat perkembangan folikel pada ovarium [6]. Perkembangan folikel

selama siklus estrus akan dipengaruhi oleh berbagai hormon seperti hormon progesterone, estrogen dan inhibin [8]. Proses pertumbuhan folikel dalam ovarium berlangsung melalui tahapan rekrutmen, seleksi, dan atresia [9]. Dalam siklus estrus hanya satu folikel yang berkembang menjadi folikel dominan yang akan mengalami ovulasi setelah terjadi luteolisis. Pembentukan folikel dominan dapat mengurangi potensi perkembangan oosit karena produksi estrogen dan inhibin yang memberikan umpan balik negatif terhadap sekresi hormon FSH, dimana penurunan konsentrasi hormon FSH ini akan menghambat perkembangan folikel subordinat dan akhirnya menyebabkan atresia [10]. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya dimana persentase jumlah oosit yang diperoleh dari kelompok ovarium dengan status reproduksi memiliki folikel dominan tanpa *corpus luteum* lebih rendah dari kelompok ovarium yang memiliki *corpus luteum* dan berada pada fase folikuler [11]. Hasil penelitian lainnya juga melaporkan bahwa, ovarium CL- menghasilkan lebih banyak oosit (143 oosit) dibandingkan dengan ovarium CL+ (136 oosit) [5]

Selain kuantitas, kualitas oosit juga menjadi faktor penting dalam keberhasilan teknologi fertilisasi *in vitro*. Pengaruh keberadaan *corpus luteum* terhadap kualitas oosit dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Status reproduksi ovarium terhadap kualitas oosit

Status Ovarium	Kualitas oosit (%)				
	A	B	C	D	A dan B
CL -	14.87	58.31	14.87	11.95	73.18
CL+	13.05	58.21	15.10	13.64	71.26

Keterangan: CL- = ovarium tanpa *corpus luteum*; CL+ = ovarium dengan *corpus luteum*

Dari segi kualitas oosit, ovarium CL- menunjukkan persentase lebih tinggi pada oosit dengan morfologi grade A dan B jika dibandingkan dengan ovarium CL+, sementara ovarium CL+ menunjukkan persentase lebih tinggi pada oosit grade C dan D. Akan tetapi, hasil uji-t juga menunjukkan bahwa perbedaan kualitas morfologi oosit antar kedua kelompok tidak signifikan ($P>0,05$). Hasil ini selaras dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa keberadaan *corpus luteum* tidak berpengaruh nyata terhadap mutu oosit berdasarkan grade morfologi, dimana CL+ menghasilkan persentase grade A lebih tinggi (37,42%) dibandingkan ovarium CL- (34,21%) [5]. Demikian pula untuk grade B, dimana jumlah oosit pada ovarium CL- (33,50%) dan ovarium CL+ (32,99%). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh variasi ukuran folikel karena kualitas oosit sangat dipengaruhi oleh ukuran folikel tempat oosit berkembang [12].

Pada hasil penelitian ini, persentase gabungan oosit berkualitas baik (grade A dan B) juga lebih tinggi pada ovarium CL- yaitu 73,18%, dibandingkan dengan ovarium CL+ sebesar 71,26%. Temuan ini diperkuat oleh laporan [6, 14] yang menyatakan bahwa kualitas oosit cenderung lebih baik pada ovarium yang tidak memiliki *corpus luteum*, walaupun secara statistik perbedaannya tetap tidak signifikan. Perbedaan kualitas dan kuantitas oosit ini kemungkinan besar berkaitan dengan kondisi endokrin ovarium. Pada ovarium yang mengandung *corpus luteum*, peningkatan kadar hormon progesteron dapat memberikan umpan balik negatif terhadap hipofisis anterior sehingga menghambat sekresi hormon gonadotropin. Hal ini mengakibatkan degenerasi folikel dan terhambatnya perkembangan folikel dominan. Sebaliknya, pada ovarium tanpa *corpus luteum*, tidak terdapat efek penghambatan dari hormon progesteron, sehingga kadar hormon estrogen tetap seimbang dan memungkinkan folikel untuk tumbuh dan

berkembang secara optimal [6]. Selain itu, kondisi lingkungan ovarium juga dapat mempengaruhi kualitas oosit, namun keberadaan *corpus luteum* bukan satu-satunya menjadi faktor penentu utama [5].

Pendapat lain mengatakan bahwa penurunan hormon progesteron pada fase folikuler akan merangsang peningkatan hormon GnRH, yang pada gilirannya meningkatkan sekresi hormon FSH. Hormon FSH sangat berperan dalam mendukung perkembangan folikel di ovarium. Oosit yang diperoleh dari ovarium yang berada pada fase luteal cenderung memiliki kualitas oosit lebih rendah dibandingkan dengan ovarium yang berada pada fase folikuler, karena keberadaan sel lutein dalam ovarium dapat menghambat pertumbuhan folikel secara keseluruhan [11].

4. Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa status reproduksi ovarium yang dilihat dari keberadaan *corpus luteum* tidak mempengaruhi secara nyata terhadap kuantitas dan kualitas oosit sapi Simental. Disarankan untuk peneliti melakukan penelitian lanjutan ke tahap berikutnya, yaitu proses pematangan (*in vitro maturation*), pembuahan (*in vitro fertilization*), dan kultur embrio (*in vitro culture*) untuk mengevaluasi secara lebih menyeluruh potensi perkembangan oosit yang diperoleh dari ovarium dengan dan tanpa *corpus luteum*.

Daftar Pustaka

- [1] Rahma, N., Z. Udin dan Masrizal. 2020. Pengaruh Waktu Penyimpanan Ovarium terhadap Kuantitas dan Kualitas Oosit serta Tingkat Maturasi Oosit secara *In Vitro* pada Sapi Simental. Jurnal Peternakan Indonesia. 22(3): 346 – 352
- [2] Ladufi, W. P dan N. Nurqamara. 2024. Faktor Penentu Keberhasilan Produksi Embrio Sapi secara *In Vitro*: Studi Literatur. Prosiding SEMNASBIO 8. ISSN: 2809-8447
- [3] Febretrisiana, A dan F. A Pamungkas. 2017. Pemanfaatan Ovarium yang Berasal dari Rumah Potong Hewan sebagai Sumber Materi Genetik. Wartazoa. 27(4): 159 – 166
- [4] Oliver, R and L. S. Pilarsetty. 2023. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Ovary Corpus Luteum. StatPearls. Midland Memorial/Texas Tech University
- [5] Widyastuti, R., M.R.A.A. Syamsunarno., A. Yusuf., M.R. Ridlo dan S. Prastowo. 2018. Pengaruh Keberadaan Corpus Luteum terhadap Kualitas Dan Tingkat Maturasi Oosit Domba Lokal Umur Pubertas Awal Secara *In Vitro*. Agripet. 18 (2) : 83-89
- [6] Raharjo, T. R., Z. Udin dan Hendri. 2020. Pengaruh Keberadaan Corpus Luteum terhadap Kualitas Oosit dan Tingkat Maturasi Oosit Kerbau secara *In Vitro*. Jurnal Peternakan Indonesia. 22(3): 353 – 359
- [7] Rosa, P. M. S., A. Bridi., G. d. A. Ferronato., C. M. Prado., N. M. Bastos., J. R. Sangalli., F. V. Meirelles., F. Perecin and J. C. D. Silveira. 2024. Corpus Luteum Presence In The Bovine Ovary Increase Intrafollicular Progesterone Concentration: Consequences In Follicular Cells Gene Expression And Follicular Fluid Small Extracellular Vesicles Mirna Contents. Journal of Ovarian Research. 17 (65)
- [8] Tiro, B. M. W., S. Tirajoh., P. A. Beding., E. Baliarti. 2020. Siklus Estrus dan Profil Hormon Reproduksi Sapi Peranakan Ongole dan Silangan Simmental-Peranakan Ongole. Jurnal Peternakan Agros. 22(2): 105 – 112

- [9] Marca, A. L., M .Longo., G. Sighinolfi., V. Grisendi., M. G. Imbrogno., S. Giulini, 2023. New Insights into the Role of LH in Early Ovarian Follicular Grwoth: A Possible Tool to Optimiz Follicular Recruitment. *Reproductive BioMedicine Online*. 47(6): 1 – 11
 - [10] Erickson, G. F. 2018. Follicle Growth and Development. Head of Department of Women's and Children's Health, Karolinska Institutet (ISSN: 1756-2228)
 - [11] Parera, H., V. Lenda., R. M. Lusi., O. A. Manoh dan Sirajuddin. 2019. Kualitas Oosit Kambing Kacang dari Status Reproduksi yang Berbeda. *Partner*. 24(1) : 860 – 866
 - [12] Shapiro, B. S., M. A. Rasouli., K. Verma., A. Raman., F. C. Garner., M. Aguirre., L. Kaye and C. Bedient. 2022. The Effect of Ovarian Follicle Size on Oocyte and Embryology Outcomes. *Fertility and Sterility*. 17(6) : 1170 – 1176
 - [13] Saleh, W. M. 2017. Assessment of Different Methods of Bovine Oocytes Collection, Maturation, and In Vitro Fertilization of Abattoir Specimens. *Iraqi Journal of Veterinary Science*. 31(1): 55 – 65
 - [14] Agung, N. P., M. Adam., Gholib., J. Melia., U. Balqis dan T. M. Lubis. 2022. Analisis Konsentrasi Hormon IGF-1 Cairan Folikel Ovarium Sapi Aceh dari Limbah Rumah Potong Hewan (RPH) Banda Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 6(2) : 38 – 45
 - [15] Mutmainnas, M. A. Jamili., S. Ananda., R. Mappanganro dan A. Lestari. 2024. Pengaruh Ukuran Ovarium Sapi Bali terhadap Kualitas Oosit. *Tarjih Tropical Livestock Journal*. 4(2) : 107 – 114
 - [16] Mubin, A. 2021. Alasan Sapi Betina Produktif Dilarang Dipotong. *Cakrawala. Universitas Airlangga: Excellence with Moraly*
 - [17] Octaviandra, T dan E. Rusdiana. 2016.. E-journal UNESA. 1(Penegrakan Hukum Atas Larangan Penyembelihan Sapi Betina Produktif di Perusahaan Daerah Rumah Potong Hewan Pegirian Surabaya. *E-Journal Unesa*. 3(2) : 1 – 8
-