

Komparasi Metode Pemeriksaan Kebuntingan pada Domba menggunakan Metode Ultrasonografi dan Asam Sulfat (H₂SO₄) di BBPKH Cinagara Bogor

Comparison of Pregnancy Examination Methods using Ultrasonography and Sulfuric Acid in Sheep at BBPKH Cinagara, Bogor

S. Aini¹ . E. Sulistiawati² dan F. Aryanti³

¹Paramedik Veteriner, Sekolah Vokasi IPB University

²Staf Pengajar Sekolah Vokasi, IPB University, Bogor, Indonesia, Jl. Kumbang No.14, Babakan, Bogor
Kampus Gunung Gede Babakan Bogor, 16128 – Indonesia

³BBPKH, Cinagara, 16002 – Indonesia

*Corresponding E-mail: e_sulistia12@apps.ipb.ac.id

ABSTRAK

Deteksi kebuntingan dini pada domba merupakan salah satu hal penting dalam meningkatkan produktivitas peternakan domba. Deteksi kebuntingan menggunakan USG di lapangan mempunyai beberapa kendala, maka perlu ditinjau kembali efisiensi metode lain seperti metode asam sulfat (H₂SO₄). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh informasi mengenai efisiensi metode deteksi kebuntingan menggunakan metode ultrasonografi (USG) dan asam sulfat (H₂SO₄) di Balai Pelatihan Kesehatan Hewan Cinagara. Penelitian ini mengevaluasi perubahan warna H₂SO₄ pada urin sampel dan mendapatkan hasil ultrasonografi dari lima ekor domba bunting, prosedur evaluasi dilakukan dua kali waktu pada bulan pertama dan kedua kebuntingan. Deteksi kebuntingan menggunakan dua metode menunjukkan 100% positif pada bulan pertama dan kedua. Deteksi kebuntingan dengan menggunakan H₂SO₄ dapat digunakan sebagai metode alternatif deteksi kebuntingan di lapangan, terkait dengan biaya yang murah dan teknik yang mudah. Deteksi kebuntingan dengan menggunakan H₂SO₄ lebih efisien dibandingkan ultrasonografi dalam hal ekonomi, waktu dan keterampilan.

Kata kunci: *Asam sulfat (H₂SO₄), deteksi kebuntingan, domba, ultrasonografi*

ABSTRACT

Early pregnancy detection in sheep is one of the important things in increasing the productivity of sheep farming. Pregnancy detection using ultrasound in the field has several obstacles so it is necessary to review the efficiency of other methods such as the sulfuric acid (H₂SO₄) method. This research aims to obtain information regarding the efficiency of the pregnancy detection method using the ultrasonography (USG) method with sulfuric acid (H₂SO₄) at the Cinagara Animal Health Training Center. We evaluate the changes of the color of H₂SO₄ in urine samples and ultrasonography results from five pregnant sheep. This procedure is performed twice in the first and second months of pregnancy. Pregnancy detection with two methods shows 100% positive results at the first and second months of pregnancy. Pregnancy detection using H₂SO₄ can be considered as an alternative method of the pregnancy detection in the field, due to its low cost and easy technique. Pregnancy Detection method using H₂SO₄ is more efficient than ultrasonography in economic matters, time and skills.

Keywords: Pregnancy detection, sheep, sulfuric acid, ultrasonography

PENDAHULUAN

Peternakan adalah usaha untuk membiakkan dan membudidayakan ternak untuk mendapatkan keuntungan. Domba memainkan peran penting dalam meningkatkan pasokan daging secara nasional dan meningkatkan pendapatan peternak. Oleh karena itu, populasi dan produksi domba harus diperhatikan dengan meningkatkan angka keberhasilan kebuntingan dan memperpendek jarak kelahiran (Rudiah 2008).

Deteksi kebuntingan merupakan bagian dari manajemen kebuntingan dan harus dipertimbangkan untuk meningkatkan produksi yang efisien dan ekonomis (Amam dan Harsita 2019). Deteksi kebuntingan dapat dilakukan dengan palpasi rektal, pemeriksaan ultrasonografi, dan pengukuran hormon kebuntingan menggunakan teknik ELISA dan RIA. Deteksi kebuntingan dengan ultrasonografi memiliki kendala, seperti membutuhkan biaya yang besar dan harus dilakukan oleh orang yang kompeten dan berpengalaman (Al'Araaf *et al.* 2020). Peternak di Indonesia dihadapkan pada permasalahan sulitnya mengenali gejala estrus pada kambing dan domba karena sering terjadi silent heat (estrus tenang). Gejala estrus yang tidak tepat dapat menyebabkan masalah dalam mendeteksi kebuntingan. Oleh karena itu, pilihan lain adalah dengan menggunakan asam sulfat pekat yang dicampur dengan urin untuk mendeteksi kebuntingan pada ternak. Deteksi kebuntingan menggunakan asam sulfat dalam urin telah digunakan untuk mendeteksi kebuntingan pada keledai dengan akurasi sebesar 44,43% (Bucci *et al.* 2016).

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan informasi efisiensi metode deteksi kebuntingan dengan menggunakan metode ultrasonografi (USG) dengan asam sulfat (H_2SO_4) di Balai Besar Pelatihan Kesehatan Hewan Cinagara.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Balai Besar Pelatihan Kesehatan Hewan yang berlokasi di Jl. Snakma Cisalopa KP 281, Pasir Buncir, Kecamatan Caringin, Kabupaten Bogor, Jawa

Barat, Indonesia. Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan terhitung dari tanggal 01 Agustus – 31 Oktober 2023.

Peralatan yang digunakan antara lain spuit 3 ml, tabung reaksi, ember, sarung tangan, gelas ukur, alat tulis, kamera ponsel, dan alat USG ternak jenis “Draminski USG scanner” (Polandia) dengan probe transducer 5 MHz, image mode berupa B-mode yang akan di tampilkan pada LCD 6,4 inci. Bahan yang digunakan antara lain lima ekor domba bunting, aquades, urin domba bunting, dan H_2SO_4

Pelaksanaan penelitian diawali dengan persiapan alat deteksi kebuntingan dengan metode H_2SO_4 dan USG. Metode pemeriksaan kebuntingan dengan H_2SO_4 terdiri dari spuit 3 ml, tabung reaksi, gelas ukur, ember, dan sarung tangan. Bahan yang digunakan adalah aquades, H_2SO_4 , urin domba bunting.

Pengambilan urin menggunakan metode tampung dengan meletakkan ember dibawah kandang domba yang bunting. Urin yang sudah dikoleksi dimasukkan ke dalam tabung menurut kode induknya, urin dimasukkan ke dalam lima tabung reaksi yang masing-masing berisi 1 ml urin, ditambah dengan aquades sebanyak 5 ml. Homogenkan selama 1 menit. Campuran urin dan aquadest yang sudah dihomogenkan diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi baru, H_2SO_4 ditambahkan sebanyak 0,5 ml ke dalam tabung reaksi dan dilakukan pengamatan perubahan warna urin dari proses reaksi yang terjadi.

Persiapan deteksi kebuntingan metode ultrasonografi (USG) diawali dengan pemasangan baterai NiMH 12V, 3.8Ah di bagian belakang layar display, setelah baterai terpasang dipasang kabel yang menghubungkan layar dan baterai. Alat di-setting dengan pengaturan B-mode dan frekuensi 5.0 MHz, terakhir pemasangan kabel probe pada layar. Posisi domba dapat posisi berdiri atau berbaring, selanjutnya dilakukan pencukuran bulu sekitar area rectum. Gel ultrasonic dioleskan pada probe untuk memfasilitasi kontak dengan jaringan, probe yang sudah dioleskan gel dimasukkan ke dalam rektum secara perlahan. Probe diarahkan ke kranial untuk memvisualisasikan organ

reproduksi seperti uterus pada layar. Identifikasi tanda kebuntingan seperti kantung amnion, denyut jantung, dan gambar fetus. Diameter kantung amnion diukur atau Panjang tubuh fetus untuk memperkirakan usia kebuntingan. Setelah pemeriksaan keluarkan probe dari rektum dengan perlahan, sisa gel di area rektum dan probe dibersihkan dan unit scanner dimatikan..

Penelitian ini menggunakan metode observasi untuk mengumpulkan data melalui survei lapangan secara langsung. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel, dan dilakukan perbandingan persentase kedua metode deteksi kebuntingan di Balai Pelatihan Kesehatan Hewan Cinagara.

Rumus perhitungan persentase:

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan urin dalam penelitian ini dilakukan pada pagi hari, karena urin pagi hari baik untuk pemeriksaan sedimen dan pemeriksaan rutin, serta untuk pemeriksaan kebuntingan berdasarkan adanya estriol dalam urin (Riswanto dan Rizki 2015). Pengumpulan urin pagi hari disebabkan karena urin yang terkumpul dikandung kemih pada malam hari lebih pekat dibanding pada sore atau malam hari (Pappas dan Karabinis 2020). Alasan penggunaan metode tampung untuk pengambilan urin pada domba adalah kemudahan pengambilan, praktis dalam lingkungan peternakan, dan volume yang diperlukan untuk sampel urin dalam jumlah yang cukup. Wadah yang digunakan harus disteril agar risiko kontaminasi urin dapat diminimalkan (Smith dan Johnson 2021).

Jumlah domba yang dilakukan pemeriksaan kebuntingan terdiri dari lima ekor domba dan sebelumnya telah dilakukan inseminasi buatan (IB) pada bulan Juli 2023. Hasil deteksi kebuntingan menggunakan dua metode dapat dilihat pada Tabel 3.1. Berdasarkan tabel tersebut diperoleh persentase deteksi kebuntingan dengan metode asam sulfat (H₂SO₄) dan ultrasonografi menunjukkan hasil 100% bunting, setelah dilakukan pemeriksaan kedua yang berjarak sebulan menunjukkan hasil yang sama, yaitu positif 100% bunting.

Tabel 3.1 Hasil Pemeriksaan kebuntingan domba menggunakan dua metode

No	Kode Domba	Pengujian 1 04/09/2023		Pengujian 2 04/10/2023	
		Asam Sulfat	USG	Asam Sulfat	USG
1	001	+	+	+	+
2	002	+	+	+	+
3	003	+	+	+	+
4	004	+	+	+	+
5	005	+	+	+	+

Keterangan: (+) = hasil positif deteksi kebuntingan

Pemeriksaan kebuntingan dilakukan dua kali bertujuan untuk menegaskan hasil pemeriksaan sebelumnya dan dari kedua metode diperoleh hasil positif bunting. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan dua kali bertujuan untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh tidak disebabkan oleh kesalahan atau faktor lain yang tidak terduga. Pemeriksaan kebuntingan dua kali bertujuan untuk pemantauan perkembangan secara berkala dan untuk memastikan kesehatan reproduksi serta keberhasilan kebuntingan (Ganaie *et al.* 2010).

Reaksi cubboni adalah reaksi yang menghasilkan warna dari estriol yang ada di dalam kandungan urin domba bunting di campur dengan H₂SO₄. Kadar estriol diproduksi oleh plasenta dan dieskresikan melalui urin sehingga menjadi indikator dalam deteksi kebuntingan (Kubatova *et al.* 2016). Organ plasenta dan selaput ekstra embrionik terbentuk dari zigot pada setiap awal kebuntingan sehingga hormon estriol yang dikeluarkan oleh plasenta dapat menjadi indikator kebuntingan (Graham dan Abigail 2015).



Gambar 3.1 Hasil urin yang sudah di campur asam sulfat

Deteksi kebuntingan menggunakan H_2SO_4 menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda keunguan dan menimbulkan gelembung udara yang menempel di dinding tabung reaksi, seperti pada Gambar 3.1 diatas.

Perubahan warna dari kuning tua menjadi merah muda merupakan reaksi dari urin domba bunting dicampur dengan H_2SO_4 Menurut Gupta *et al.* (2015), hal ini terjadi karena adanya kadar estriol di dalam urin yang teroksidasi H_2SO_4 yang menimbulkan perubahan warna menjadi merah muda keunguan. Senyawa yang menyebabkan perubahan warna tersebut adalah estriol yang merupakan salah satu jenis estrogen yang diproduksi dalam jumlah besar oleh plasenta selama kebuntingan. Kadar estriol akan terus meningkat seiring dengan perkembangan kebuntingan dan mencapai puncak menjelang kelahiran. Peningkatan kadar estriol selama kebuntingan akan berperan untuk mempersiapkan sistem reproduksi induk untuk melahirkan dan memproduksi susu. Estriol didalam urin bunting berbentuk estriol berikatan dengan asam glukoronat atau sulfat. Bentuk utamanya adalah estriol-16 α -glukuronida dan estron-3-glukuronida estriol-16 α -glukuronida dan estron-3-glukuronida (Spencer dan Bazer 2004).

Estriol adalah jenis estrogen spesifik yang diproduksi selama kebuntingan yang memiliki peran dalam proses kebuntingan dan kelahiran. Estriol merupakan estrogen yang paling lemah aktivitasnya dibandingkan dengan estradiol dan estron, namun kadar estriol akan meningkat selama kebuntingan. Pasqualini (2005), menyebutkan H_2SO_4 apabila ditambahkan dengan urin domba bunting yang mengandung estriol akan bereaksi menghasilkan produk berwarna merah muda atau merah. Reaksi ini terjadi karena estriol merupakan senyawa steroid yang memiliki tiga gugus hidroksil (-OH) pada posisi C3, C16, dan C17 yang dapat bereaksi dengan asam sulfat, secara spesifik reaksi ini disebut sebagai reaksi Adamkiewicz atau reaksi Burchardt. Reaksi tersebut melibatkan kondensasi dari gugus hidroksil (-OH) pada estriol dengan asam sulfat, membentuk suatu

senyawa berwarna merah muda atau merah (Kuhl 2005)

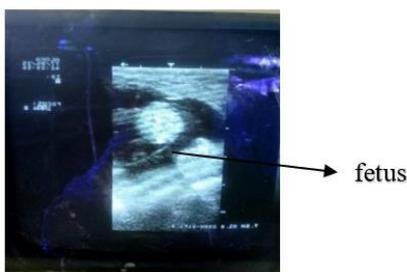
Reaksi antara estriol dengan penambahan H_2SO_4 menghasilkan reaksi berwarna merah muda, walaupun reaksi tersebut menggambarkan reaksi secara umum, namun reaksi yang terjadi lumayan kompleks dan melibatkan beberapa tahap, diantaranya pembentukan keton terkonjugasi antara estriol dan H_2SO_4 membentuk keton terkonjugasi dan H_2O . Reaksi kondensasi antara keton terkonjugasi dan estriol menghasilkan produk berwarna merah muda dan H_2O (Loughlin 2000). Reaksi antara estriol dengan H_2SO_4 melibatkan dua tahap utama yaitu pembentukan keton terkonjugasi dari estriol melalui reaksi hidrolisis oleh H_2SO_4 dan reaksi kondensasi antara keton terkonjugasi dengan molekul estriol lain menghasilkan produk berwarna merah muda (Loughlin 2000). Warna merah muda ini dihasilkan oleh adanya sistem terkonjugasi dalam struktur produk tersebut. Penulisan reaksinya sederhana, tetapi mekanisme reaksinya cukup rumit dan melibatkan beberapa tahapan reaksi yang dikatalisis oleh asam sulfat pekat sebagai agen dehidrasi dan agen kondensasi (Sakdiah dan Ardiani 2020).

Konsentrasi estriol yang cukup tinggi didalam urin akan menimbulkan perubahan warna merah muda keunguan yang menandakan hasil positif adanya kebuntingan. Perubahan warna yang terjadi karena adanya reaksi oksidasi antara kadar estriol dengan cairan H_2SO_4 yang dapat disimpulkan bahwa domba tersebut positif bunting (Purohit *et al.* 2010). H_2SO_4 dapat mengoksidasi kadar estriol di dalam urin bunting sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi merah muda keunguan. H_2SO_4 yang bersifat oksidator kuat apabila dicampurkan dengan urin bunting dapat mengoksidasi beberapa senyawa organik yang terdapat dalam urin seperti urea, asam urat, kreatinin, dan kadar estriol. Reaksi oksidasi ini dapat menghasilkan senyawa yang berbeda dari warna awal urin (Burtis *et al.* 2012).

H_2SO_4 digunakan untuk deteksi kebuntingan pada domba dengan dosis 0,5 ml. Setiawati (2011), menjelaskan bahwa H_2SO_4 dengan dosis 0,5 ml dapat digunakan untuk

mendeteksi kebuntingan secara sederhana, mudah, cepat, akurat dan jelas pada hari ke 22, 32, 42, dan 60 setelah di kawinkan. Deteksi kebuntingan dengan H₂SO₄ dosis 0,5 ml menciptakan gelembung udara yang menempel pada tabung reaksi dalam waktu 10 detik. Fathan *et al.* (2018), menyatakan bahwa hasil deteksi kebuntingan dengan menggunakan asam sulfat dengan dosis berbeda akan memberikan waktu yang berbeda, semakin sedikit cairan H₂SO₄ yang teroksidasi dengan urin akan memberikan hasil deteksi kebuntingan lebih lambat, sebaliknya semakin banyak cairan H₂SO₄ yang teroksidasi dengan urin akan memberikan proses deteksi kebuntingan yang lebih cepat hanya hitungan detik (Setiawati 2011).

Ultrasonografi (USG) digunakan untuk mendeteksi kebuntingan pada ternak dengan memvisualisasikan fetus didalam rahim (Kasturi *et al.* 2022). Berdasarkan pemeriksaan kebuntingan menggunakan USG pada lima ekor domba bunting diperoleh hasil persentase 100%. Amer (2008), menyatakan bahwa deteksi kebuntingan pada domba menggunakan USG memiliki akurasi sebesar 95,5 % dan 100%. Hasil deteksi kebuntingan menggunakan USG pada domba dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Hasil pemeriksaan ultrasonografi (USG)

Gambar 3.2 merupakan hasil pemeriksaan domba betina yang sedang bunting 30 hari. Pencitraan fetus menunjukkan gambar isoechoic hingga hyperechoic yang dikelilingi oleh gambar hypoechoic dari cairan embrionik. Kantung amnion terlihat seperti lapisan tipis homogen yang mengelilingi fetus. Menurut Khan (2004), fetus kambing dan domba mulai diamati dengan USG pada usia 25 sampai 30 hari. Ciri-ciri fetus pada usia kebuntingan 30 hari adalah ukurannya sekitar 1,5–2 cm atau sebesar kacang polong, terlihat

tonjolan yang akan menjadi kepala dan badan fetus, irama jantung yang bergerak teramati, dan sebagiannya detak jantung teratur. Kantung amnion yang mengelilingi fetus berbentuk lingkaran tali pusat penghubung dengan plasenta terlihat, terbentuk ruas-ruas tulang belakang (ruas tubuh) yang akan menjadi tulang belakang yang dapat diamati seperti mutiara, dan pada tahap ini lengan dan kaki belum terlihat jelas (Bazer *et al.* 2012).

USG dalam bidang reproduksi peternakan sangat berperan penting, khususnya untuk mendeteksi kebuntingan dini pada hewan ternak sapi, domba, kambing, dan babi. USG dapat juga digunakan untuk memantau perkembangan fetus selama kebuntingan termasuk detak jantung, ukuran, dan posisi fetus di dalam rahim, selain itu untuk mendeteksi jumlah fetus di dalam rahim. USG dapat mendeteksi gangguan reproduksi seperti ovarium, tumor, dan kelaian uterus (Purohit 2010). Penggunaan USG dibidang reproduksi dapat membantu menghindari kesalahan diagnosa kebuntingan seperti kebuntingan semu (phantom pregnancy). USG dapat mendeteksi kematian fetus yang tidak terdeteksi dan membantu menghindari komplikasi lebih lanjut. Kelainan pada organ reproduksis seperti kista ovarium, tumor, dan kelainan pada uterus yang menyebabkan kegagalan kebuntingan dapat dideteksi menggunakan USG (Khan 2004).

USG adalah alat yang sangat berguna untuk mendeteksi kebuntingan, namun memiliki beberapa kekurangan diantaranya peralatan yang mahal, operator USG harus terlatih dan berpengalaman agar dapat menginterpretasikan gambar dengan benar dan menghindari kesalahan diagnosa (Khasatiya *et al.* 2005). Ternak yang memiliki lemak tubuh yang berlebihan dapat mengganggu interpretasi gelombang suara dan mengurangi kualitas gambar USG. Sebaliknya penggunaan USG pada awal kebuntingan akan mengalami kesulitan untuk mendeteksi fetus dan untuk mendapatkan gambar USG yang baik pada ternak karena prosedur memerlukan teknik handling dan restrain yang harus dilakukan secara tepat untuk memperoleh hasil deteksi kebuntingan (Romano dan Fahning 2013).

Deteksi kebuntingan menggunakan H₂SO₄ merupakan alternatif metode pemeriksaan kebuntingan yang sederhana, murah, dan tidak memerlukan keahlian khusus. Metode pemeriksaan kebuntingan menggunakan H₂SO₄ sering digunakan pada daerah terpencil dikarenakan tidak memerlukan fasilitas dan peralatan khusus (Purnomo 2020). Deteksi kebuntingan menggunakan H₂SO₄ lebih efisien dikarenakan metode deteksi kebuntingan menggunakan H₂SO₄, aquades, dan urin bunting, dan tidak invasif yang membuat ternak lebih nyaman. Hasil untuk deteksi kebuntingan diperoleh dalam waktu yang relatif singkat sekitar 5 – 10 detik (Bangash *et al.* 2011).

Penggunaan H₂SO₄ untuk deteksi kebuntingan pada domba memiliki beberapa kekurangan diantaranya yaitu metode H₂SO₄ memiliki akurasi yang relatif rendah sekitar 60–70% dalam mendeteksi kebuntingan pada domba, hal ini dapat menyebabkan hasil positif palsu atau negatif palsu yang cukup tinggi (Ganie *et al.* 2015). Asam sulfat dapat bereaksi dengan protein selain hormon kebuntingan pada domba sehingga dapat menyebabkan hasil positif palsu. Penggunaan asam sulfat yang tidak hati-hati dapat menyebabkan iritasi dan keracunan pada domba (Ganie *et al.* 2015). Bahaya penggunaan H₂SO₄ bagi operator yaitu dapat menyebabkan luka bakar pada bagian kulit dan mata, dapat merusak saluran pernafasan apabila terhirup, asam sulfat memiliki sifat yang korosif, dan dapat merusak pakaian dan peralatan. H₂SO₄ merupakan oksidator kuat yang apabila tidak digunakan dengan hati-hati akan dapat berpotensi menyebabkan kebakaran dan ledakan (Luttreel *et al.* 2011). Deteksi kebuntingan menggunakan H₂SO₄ hanya dapat mendeteksi keberadaan hormon estrogen berupa estriol tetapi tidak dapat memberikan informasi mengenai usia kebuntingan atau kondisi fetus didalam kandungan.

SIMPULAN

Pemeriksaan kebuntingan dengan metode USG dan metode H₂SO₄ telah dilakukan dua kali pada usia kebuntingan

pertama dan kedua dari 5 domba bunting berlokasi di kandang BBPKH Cinagara menunjukkan hasil positif bunting 100%. Deteksi kebuntingan pada ternak dengan menggunakan H₂SO₄ dapat menjadi salah satu alternatif metode deteksi kebuntingan di lapangan, terkait dengan biaya yang murah dan teknik yang mudah. Metode deteksi kebuntingan dengan menggunakan metode H₂SO₄ lebih efisien dibandingkan metode ultrasonografi dari segi ekonomi, waktu dan keterampilan.

DAFTAR PUSTAKA

- Al'Araaf, Sumaryadi, M.Y., Nugroho, A.P. 2020. Deteksi kebuntingan dini pada kambing peranakan etawah (*capra aegagrus hircus*) berdasarkan metode non return rate dan reaksi cubboni. *J Anim Sci Technol.* 2(2):147–155.
- Amam, A., Harsita, P.A. 2019. Pengembangan usaha ternak sapi perah evaluasi konteks kerentanan dan dinamika kelompok. *J Ilmu Ilmu Peternak.* 22(1):23–34.
- Bangash, F.K., Baig, M.A., Idrees, M., Ansari, Z. 2011. Sulfuric acid screening test for detection of chorionic gonadotropin in urine. *JPMA.* 61(4):375–378.
- Bazer, F.W., Spencer, T.E., Wolfey, G.L. 2012. Uterine biology in pigs and sheep. *J Animal Science and Biotechnology.* 3(1):1–13.
- Bucci, R.B.A., Giangaspero, M., D, Angelo., Robbe, P., Ponzio, A.C., Manetta, L.D., Giuseppe, I.D., Amicis. 2020. Cubboni reaction non – invasive late pregnancy test in Martina Franca Jennies. *J Animal review.* 26:87–91
- Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. 2012. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics.* Edisi 5th. St. Louis, MO: Elsevier Saunders.
- Fathan, S., Ilham, F., Isnwaty, I. 2018. Deteksi dini kebuntingan pada sapi bali. *J Animal Science.* 1(1):6–12.
- Ganaie, B.A., Khan, M.Z., Islam, R., Makhdoomi, D.M., Qureshi, S., Wani,

- G.M. 2010. Biochemical markers of pregnancy in sheep. *J Ruminansia Kecil*, 89(1):51–56.
- Ganie, A.A., Malik, A.A., Buchoo, B.A., Mudasir, Q., Beigh, S.A., Gazali, Z.B. 2015. Serobiochemical and ultrasonographic monitoring of pregnancy in Corriedale sheep. *J Veterinary World*. 8(10):1194–1199.
- Gupta, S.K., Sharma, A., Meena, K., Patel, S. 2015. *Veterinary Obstetrics and Gynecology*. India: CBS Publishers & Distributors Pvt. Ltd.
- Graham, J.B., Abigail, L.F. 2015. The Placenta: a multifaceted, transient organ. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 370(1663)
- Harahap, N.I. 2021. *Analisa Kelayakan Usaha Ternak Domba (Ovis Aries) Studi Kasus di Desa Pijorkoling [Skripsi]*. Medan: Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
- Kubátová, A., Fedorova, T., Skálová, I., Hyniová, L. 2016. Non-invasive pregnancy diagnosis from urine by the cuboni reaction and the barium chloride test in donkeys (*Equus asinus*) and alpacas (*Vicugna pacos*). *J Vet Sci*. 19(3):477–484. doi:10.1515/pjvs-2016-0060.
- Kuhl, H. 2005. Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. *IMS*. 8(1):3–63.
- Khasatiya, C.T., Dhariya, V.M., Kharadi, V.B., Andhariya, J.V., Bhavsar, S.J. 2005. Diagnosis of pregnancy in dairy animals with the aid of ultrasonography. *Intas Polivet*. 6(2):279–281.
- Loughlin, W.A. 2000. Formaldehyde Condensation Reactions as Models for the Intramolecular Phase of Enzyme Catalysis. *JIUBMB*. 28(3). 142–146.
- Pappas, P.G., Karabinis, A. 2020. Routine Urinalysis. Di dalam: *Foroutan R Edisi*. Stat Pearls. StatPearls Publishing.
- Pasqualini, J.R. 2005. Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *J Endocrine society*. 26(3):401–422.
- Purnomo, A. (2020). Reaksi Oksidasi pada Urin untuk Deteksi Kebuntingan. *J Veteriner Indonesia*. 12(2):125–134.
- Purohit, G.N., Kumar, P., Solanki, K., Shekher, C., Yadav, S.P. 2010. Perspectives of fetal dystocia in cattle and buffalo. *Veterinary Science Development*, 2(1).e8.
- Riswanto., Rizki, M. 2015. *Urinalisis Menerjemahkan Pesan Klinis Urine*. Yogyakarta :Pustaka Rasmedia.
- Rudiah. 2008. Pengaruh Metode Perkawinan terhadap Keberhasilan Kebuntingan Domba Lokal Palu. *J Agroland*. 15(3):236–240.
- Romano, J.E., Fahning, M.L. 201. Effects of Obesity on Reproduction: Impact on Reproductive Hormones and Assisted Reproductive Outcomes. *J Clinics in Endocrinology and Metabolism*. 2(2):143–163.
- Sakdiah, H., Ardiani, F. 2020. *Buku Ajar Biokimia Reproduksi*. Universitas Syiah Kuala: Aceh
- Setiawati, E.N. 2011. *Diagnosa Kebuntingan Dengan Menggunakan Metode Asam Sulfat*. [Tesis]. BPKH Cinagara. Bogor.