

## **Keasaman Cairan Tubuh dan Rasio Kelamin Anak Domba Garut (*Ovis aries*) yang Diberi Kation-Anion Ransum yang Berbeda**

### **The Acidity of Body's Liquid and Offspring Sex Ratio of Sheep (*Ovis aries*) Fed Dietary Cation-Anion Difference**

**F. Fathul \*<sup>a</sup>, T. Toharmat<sup>b</sup>, I. G. Permana<sup>b</sup> & A. Boediono<sup>c</sup>**

<sup>a</sup> Jurusan Produksi Ternak, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

<sup>b</sup> Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor

<sup>c</sup> Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

(Diterima 14-02-2008; disetujui 27-03-2008)

#### **ABSTRACT**

The objective of this research was to determine the effects of dietary cation-anion difference (DCAD) on acidity of ration, blood, vaginal mucous, and urine, number of fetus, number of offspring, and offspring sex ratio. The treatments were rations with DCAD -28, -18, 0, +14, and +32 meq which were offered to 15 ewes. This research used randomized complete block design. There were three groups, (I) ewes previously had twin female offsprings; (II) ewes previously had twin male offsprings; and (III) ewes previously had twin male and female offsprings. Results of this study showed that there were no differences observed for blood's pH, vaginal liquid's pH, offspring number, and offspring sex ratio. Increasing DCAD affected ration's pH, urine's pH, and number of fetus for each ewe. Blood's acidity was not affected by DCAD, but DCAD -28 meq reduced acid of blood, metabolic acidosis, and urine; the number of fetus and offspring. DCAD -28 meq might be anions excessive in the ration. DCAD 0 meq was relatively the best of ration because gave the normality of blood, metabolic, and urine, also relatively the highest of fetus and offspring. The offspring sex ratio related to vaginal mucose pH when artificial insemination was applied ( $r=0.75$ ) and ration's pH ( $r=0.47$ ). Ewes previously had twin female lambs gave the number of fetus and offspring sex ratio were  $2.00\pm 0.71$  and  $0\%$ , respectively. Ewes previously had twin male lambs gave the number of fetus and offspring sex ratio were  $2.80\pm 1.30$  and  $15.00\pm 8.50\%$ , respectively. Ewes previously had twin male and female lambs gave the number of fetus and offspring sex ratio were  $1.60\pm 1.14$  and  $61.75\pm 31.50\%$ , respectively.

*Key words: DCAD, pH, offspring sex ratio, lamb, ewe*

#### **PENDAHULUAN**

Populasi domba sangat dipengaruhi oleh keberhasilan betina untuk bunting, berkemampuan untuk beranak dan nilai rasio kelamin

\*Korespondensi:

Jl. Sumantri Brojonegoro 1 Bandar Lampung 35135,  
e-mail: farida\_fathul@yahoo.com

anak yang dilahirkan. Pertambahan populasi ternak akan lebih cepat dicapai apabila produktivitas dan efisiensi reproduksinya ditingkatkan. Salah satu cara untuk meningkatkan efisiensi reproduksi adalah meningkatkan rasio jenis kelamin anak yang dilahirkan. Keberhasilan beranak dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Lingkungan yang memberi pengaruh paling besar terutama adalah kadar nutrisi ransum yang dikonsumsi.

Menurut Stewart (1983), penambahan anion (Cl dan S) ke dalam ransum akan menurunkan pH cairan tubuh. Menurut Pratt *et al.* (1987), keasaman darah mempengaruhi pH mukus, cairan serviks dan vagina. Selain itu, juga akan mempengaruhi rasio kelamin anak yang dilahirkan yang ditunjukkan oleh rasio kelamin anak jantan yang lebih besar daripada betina pada keadaan basa. Jenis kelamin anak dipengaruhi oleh makanan (Rosenfeld & Roberts, 2004); terutama elektrolit dalam ransum (Papa *et al.*, 1983). Sperma Y tidak tahan pada kondisi asam, sehingga kemungkinan sperma X yang akan melakukan fertilisasi terlebih dahulu dengan sel telur dan terbentuk zigot XX (betina). Sebaliknya, spermatozoa Y lebih tahan hidup pada suasana basa, sehingga kemungkinan sperma Y yang akan melakukan fertilisasi terlebih dahulu dengan sel telur dan terbentuk zigot XY (jantan).

Perbedaan kation-anion ransum (PKAR) adalah perbedaan miliekuevalen antara kation dan anion tertentu dalam 100 g bahan kering ransum (Tucker *et al.*, 1992) dan persamaan  $PKAR = (Na+K) - (Cl+S)$  (meq/100 g BK ransum). Nilai PKAR negatif mengakibatkan pH darah dan urin menjadi turun (Moore *et al.*, 2000; Roche *et al.*, 2003; Boruchi-Castro *et al.*, 2004); pH urin merupakan gambaran pH darah (Vagnoni & Oetzel, 1998). Peningkatan pH darah, Ca plasma dan pH urin terjadi apabila PKAR ditingkatkan, tetapi akan menurunkan K dan Cl darah.

Ransum yang dicobakan pada penelitian ini dengan nilai PKAR sebesar -28, -18, 0, +14, dan +32 meq digunakan sebagai perlakuan. Tujuan penelitian ini adalah: (1) mengetahui pengaruh PKAR yang berbeda terhadap ke-

asaman ransum, darah, cairan vagina, dan urin; jumlah fetus dan anak; dan rasio kelamin anak domba (*Ovis aries*). (2) Menentukan besar nilai PKAR yang memberi pengaruh yang optimal terhadap keasaman ransum, darah, cairan vagina, dan urin; jumlah fetus dan anak; dan rasio kelamin anak domba.

Hipotesis pada penelitian ini, yaitu: (1) ada pengaruh PKAR terhadap keasaman ransum, darah, cairan vagina, dan urin; serta jumlah fetus dan anak; dan rasio kelamin anak domba. (2) Nilai PKAR positif (+) adalah ransum yang akan meningkatkan keasaman ransum, darah, cairan vagina, dan urin; serta jumlah fetus dan anak; dan rasio kelamin anak domba.

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Lapangan Kandang A Fakultas Peternakan dan Laboratorium Unit Rehabilitasi Reproduksi (URR), Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor pada 11 Januari-10 November 2007. Komposisi ransum perlakuan yang digunakan pada penelitian ini terdapat pada Tabel 1.

Penyusunan ransum basal dengan kandungan protein kasar sebesar 15,00% berdasarkan Wodzicka-Tomaszewska *et al.* (1991), mineral Na sebesar 0,09%–0,18%, K sebesar 0,50%–0,80% (maksimum 3,00%), dan S sebesar 0,14%–0,26% (maksimum 0,40%), Cl tidak ada ketentuan (berdasarkan NRC, 1985). Ransum perlakuan, yaitu nilai PKAR -28, -18, 0, +14, dan +32 meq. Nilai PKAR ransum basal sebesar +14 meq dan untuk menurunkan PKAR menjadi 0 meq dengan cara menambahkan garam  $CaSO_4$ , sedangkan untuk menurunkan PKAR menjadi -28 dan -18 meq dengan cara menambahkan garam  $CaCl_2$ , dan  $CaSO_4$ . Nilai PKAR menjadi +32 meq dengan cara menambahkan garam  $Na_2CO_3$  dan  $K_2CO_3$ .

Ransum perlakuan telah dicobakan selama tiga minggu sebelum dilakukan inseminasi buatan (IB) dan dua minggu sesudah IB pada 15 ekor induk domba. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok

Tabel 1. Komposisi pakan, garam-garam dan kandungan zat makanan ransum penelitian

Kriteria	PKAR ransum perlakuan (meq/100 g BK ransum)				
	-28	-18	0	14	32
Komposisi pakan (% BK ransum basal)					
Hijauan jagung	35,00	35,00	35,00	35,00	35,00
Dedak	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Onggok	9,50	9,50	9,50	9,50	9,50
Jagung kuning	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50
Bungkil kelapa	7,00	7,00	7,00	7,00	7,00
Bungkil kedelai	22,00	22,00	22,00	22,00	22,00
Minyak ikan	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Garam-garam (g/kg BK ransum basal)					
Zn SO <sub>4</sub>	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
CaSO <sub>4</sub>	9,88	9,88	9,70	-	-
CaCl <sub>2</sub>	6,97	4,97	-	-	-
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	-	-	-	-	4,02
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	-	-	-	-	5,20
Kandungan nutrisi (% BK)					
Bahan kering*/**	89,30	89,30	89,30	89,30	89,30
Abu**	8,12	8,12	8,12	8,12	8,12
Protein kasar**	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Lemak kasar**	5,12	5,12	5,12	5,12	5,12
Serat kasar**	14,73	14,73	14,73	14,73	14,73
BETN **	57,03	57,03	57,03	57,03	57,03
Natrium***	0,04	0,04	0,04	0,04	0,27
Kalium***	1,08	1,08	1,08	1,08	1,37
Klorida#	1,18	0,82	0,19	0,19	0,19
Sulfur#	0,39	0,39	0,18	0,16	0,16
Kalsium***	0,84	0,64	0,49	0,20	0,20
Fosfor***	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Magnesium***	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Seng***	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Keterangan: BK=bahan kering, BETN=bahan ekstrak tanpa nitrogen, \* =berdasarkan kering udara, \*\* =hasil analisis di Laboratorium PAU IPB 2007, \*\*\* =hasil analisis di Laboratorium Ilmu Nutrisi Ternak Perah Fapet IPB 2007, # =hasil analisis di Laboratorium Puslitan Bogor 2007.

(RAK). Pengelompokan dilakukan berdasarkan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan oleh induk domba, yaitu (I) induk domba yang pernah beranak kembar betina semua, (II) jantan semua dan (III) jantan dan betina.

Sebanyak 15 ekor induk dilakukan pemeriksaan kebuntingan dengan menggunakan ultrasonografi (USG) Aloka SSD 500 Japan untuk memastikan betina tersebut bunting atau tidak. Berdasarkan hasil USG, apabila terdapat

yang bunting, domba tersebut ditukar dengan domba yang tidak bunting. Setelah diketahui semua betina tidak bunting, dilakukan pemberian ransum perlakuan secara acak pada setiap ekor pada masing-masing kelompok. Ransum perlakuan diberikan 2 kali sehari pada pk 07.00 dan 14.00. Air minum disediakan *ad libitum*.

Sinkronisasi estrus dilakukan pada hari ke-7 dari awal pemberian ransum perlakuan dengan menggunakan EAZI-BREED™ *control internal drugs release* (CIDR®) yang mengandung 0,3 g progesteron buatan Pharmacia & Upjohn Pty Limited (diimplantasi ke dalam vagina selama 13 hari) agar diperoleh waktu estrus yang bersamaan. Hari ke-13 setelah pemasangan CIDR, CIDR dikeluarkan dari vaginanya. IB dilakukan pada hari ke-2 (di waktu sore) dan hari ke-3 (di waktu pagi) setelah pelepasan CIDR dengan menggunakan semen cair sebanyak 0,2 ml pada masing-masing domba betina. Sebelum melakukan IB, semen terlebih dahulu ditampung dari 1 ekor pejantan, kemudian dilakukan pemeriksaan dan dilanjutkan dengan pengenceran (Tabel 2). Semen diencerkan dengan bahan pengencer yang terdiri atas 1 bagian kuning telur dan 4 bagian buffer tris.

Peubah yang diamati meliputi: (1) pH ransum, dengan cara mengukur pH larutan ransum perlakuan dengan menggunakan pH-

meter HANNA. Larutan ransum diperoleh dengan cara mencampur 10 g tepung ransum perlakuan dan 100 ml akuades secara homogen dan didiamkan selama 15 menit, kemudian disaring untuk diambil larutannya. (2) Nilai pH darah, dengan cara mengukur pH darah dengan menggunakan radiometer ABL 700 Series. Darah diambil dari *vena jugularis* di bagian leher induk domba dengan menggunakan tabung berheparin *venolject* pada waktu pelaksanaan IB. (3) Nilai pH-CV, dengan cara mengukur pH cairan vagina dengan menggunakan pH-meter HANNA. Cairan vagina diambil dari vagina dengan menggunakan *speculum* pada waktu pelaksanaan IB. Pengukuran pH-IB sama dengan pH-CV. (4) Nilai pH urin, dengan cara mengukur pH urin dengan menggunakan pH-meter HANNA. Urin ditampung setiap pk 07.00 pada hari ke-14 sampai dengan ke-21 sesudah ransum perlakuan dicobakan. (5) Jumlah fetus, dengan cara menghitung jumlah fetus yang terdapat di dalam uterus dengan menggunakan USG Aloka SSD 500 Japan pada hari ke 16 dan 23 sesudah pelaksanaan IB. (6) Jumlah anak, dengan cara menghitung jumlah anak sekelahiran per induk pada waktu dilahirkan. (7) Rasio kelamin anak, dengan cara menghitung perbandingan antara jumlah anak jantan dan total anak sekelahiran per induk.

Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan *The SAS System for Windows 6.12*. dengan menggunakan ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test*, kontras polinomial dan regresi (Mattjik & Sumertajaya, 2006).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai rata-rata keasaman ransum dan cairan tubuh, jumlah fetus, jumlah anak, serta rasio kelamin anak terdapat pada Tabel 3. Nilai PKAR sangat berpengaruh ( $P < 0,01$ ) terhadap pH ransum. Rataan pH tertinggi ( $P < 0,05$ ) pada PKAR +32 meq sebesar  $6,48 \pm 0,36$ . Ransum dengan nilai PKAR +32 meq mendapat tambahan garam-garam kation ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) pada waktu penyusunan ransum.

Tabel 2. Hasil evaluasi semen domba Garut jantan yang digunakan sebagai semen cair

Peubah	
Makroskopis	
Volume (ml)	0,5
Konsistensi	Kental
pH	7,5
Warna	Krem
Mikroskopis	
Gerakan massa	+++
Sperma motil (%)	80
Konsentrasi: Neubauer (juta/ml)	2,86

Keterangan: Hasil analisis di Laboratorium URR FKH IPB 2007

Tabel 3. Rataan pH ransum, darah, cairan vagina, cairan vagina pada waktu IB, urin, jumlah fetus, jumlah anak, dan rasio kelamin anak domba (*Ovis aries*) Garut yang diberi ransum dengan PKAR yang berbeda

Peubah	PKAR (meq)				
	-28	-18	0	14	32
pH-R	4,98±0,35 <sup>c</sup>	5,19±0,32 <sup>b</sup>	4,97±0,26 <sup>c</sup>	5,20±0,51 <sup>b</sup>	6,48±0,36 <sup>a</sup>
pH-D	7,06±0,53	7,37±0,03	7,40±0,02	7,36±0,04	7,40±0,00
pH-CV	7,04±0,45	7,20±0,39	7,30±0,08	7,39±0,25	7,47±0,42
pH-IB	6,86±0,41	7,34±0,30	7,27±0,08	7,25±0,47	6,97±0,43
pH urin	5,73±0,20 <sup>b</sup>	5,84±0,27 <sup>b</sup>	7,60±0,51 <sup>a</sup>	7,51±0,78 <sup>a</sup>	8,28±0,33 <sup>a</sup>
Fetus (ekor)	0,67±0,58 <sup>b</sup>	2,67±1,15 <sup>a</sup>	3,00±0,00 <sup>a</sup>	2,00±0,00 <sup>ab</sup>	2,33±1,53 <sup>a</sup>
Anak (ekor)	0,33±0,58	2,00±2,00	2,67±0,58	0,67±1,15	1,00±0,00
Rasio (%)	0,00±0,00	41,75±38,00	27,75±0,50	16,75±47,25	33,25±32,75

Keterangan: superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

pH-R = pH ransum

pH-D = pH darah

pH-CV = pH cairan vagina pada waktu estrus

pH-IB = pH cairan vagina pada waktu dilakukan IB

Unsur Na dan K merupakan kation yang bersifat basa sehingga dapat meningkatkan pH. Nilai pH pada ransum dengan nilai PKAR -28, -18, dan 0 meq (masing-masing sebesar 4,98±0,35; 5,19±0,32 dan 4,97±0,26) lebih rendah ( $P < 0,05$ ) daripada ransum dengan nilai PKAR +14 meq (5,20±0,51). Ransum dengan nilai PKAR -28, -18, dan 0 meq pada waktu penyusunan ransum, mendapat penambahan garam anion ( $\text{CaCl}_2$  dan  $\text{CaSO}_4$ ). Unsur  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{S}^{2-}$  merupakan anion yang bersifat asam sehingga dapat menurunkan pH.

Nilai PKAR dan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan tidak berpengaruh terhadap pH darah. Perbedaan tingkat PKAR ransum yang dikonsumsi tidak menghasilkan perbedaan pH darah. Hal ini menunjukkan bahwa domba-domba tersebut berusaha dan berhasil melakukan homeostatis. pH darah domba percobaan yang diberi ransum dengan berbagai nilai PKAR berkisar dari 7,06±0,53 sampai 7,40±0,00 (Tabel 3). Data ini menunjukkan adanya dua macam keadaan darah, yaitu darah sangat asam dan normal. Darah sangat asam pada domba yang mendapat ransum dengan nilai PKAR -28 meq karena pH-nya sebesar 7,06±0,53 sama dengan kriteria pH darah

sangat asam (7,06). Sebaliknya, domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -18, 0, +14 dan +32 meq mempunyai darah normal karena pH-nya masing-masing sebesar 7,37±0,03; 7,40±0,02; 7,36±0,04 dan 7,40±0,00 yang termasuk darah normal (7,35–7,40). Menurut Anstey (2005), nilai pH darah sebesar 7,06 termasuk ke dalam kategori darah sangat asam, 7,25–7,31 termasuk asam, 7,35–7,40 termasuk normal dan 7,47–7,52 termasuk basa. Penambahan anion  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{S}^{2-}$  ke dalam cairan tubuh melalui penambahan suplemen dalam ransum menurunkan pH cairan tubuh (Stewart, 1983). Namun demikian, penyerapan  $\text{S}^{2-}$  lebih kecil daripada  $\text{Cl}^-$  atau  $\text{K}^+$  (Underwood & Suttle, 1999). Domba yang pernah beranak kembar dengan jenis kelamin anak betina, jantan, serta jantan dan betina mempunyai pH darah masing-masing sebesar 7,38±0,02; 7,37±0,04 dan 7,20±0,42.

Nilai PKAR dan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan tidak berpengaruh terhadap pH cairan vagina. Nilai rataan pH cairan vagina domba percobaan berkisar mulai 7,04±0,45 sampai 7,47±0,42 (Tabel 3). Nilai pH cairan vagina cenderung meningkat dengan meningkatnya nilai PKAR dalam ransum,

walaupun tidak berbeda (Tabel 3). Nilai pH cairan vagina menunjukkan bahwa domba tidak melakukan homeostasis karena pH cairan vagina cenderung berubah dengan berubahnya pengaruh dari luar (dalam hal ini oleh PKAR). Nutrien yang dikonsumsi selama siklus estrus akan mempengaruhi dan mengubah lingkungan oviduk (Almeida *et al.* 2000; Novak *et al.* 2003). Domba yang pernah beranak kembar dengan jenis kelamin anak betina, jantan, serta jantan dan betina mempunyai pH cairan vagina masing-masing sebesar  $7,34 \pm 0,24$ ;  $7,25 \pm 0,33$  dan  $7,25 \pm 0,46$ .

Nilai PKAR dan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan tidak berpengaruh terhadap pH cairan vagina pada saat IB. Nilai pH cairan vagina pada dasarnya sama dengan pH pada saat IB, hanya berbeda pada waktu pengambilan. Nilai rata-rata pH pada saat IB domba percobaan berkisar mulai  $6,97 \pm 0,43$  sampai  $7,34 \pm 0,30$  (Tabel 3). Domba yang pernah beranak kembar dengan jenis kelamin anak betina, jantan, serta jantan dan betina mempunyai pH cairan vagina pada saat IB masing-masing sebesar  $6,92 \pm 0,30$ ;  $7,18 \pm 0,16$  dan  $7,32 \pm 0,50$ .

Nilai PKAR sangat berpengaruh ( $P < 0,01$ ) pada pH urin, sedangkan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan tidak berpengaruh. Telah diketahui bahwa tubuh ternak melakukan homeostasis sehingga kelebihan anion  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{S}^-$  diekskresikan dari tubuh. Nilai pH urin akibat pemberian ransum dengan nilai PKAR -28 dan -18 meq masing-masing sebesar  $5,73 \pm 0,20$  dan  $5,84 \pm 0,27$ ; pH urin tersebut termasuk asam karena pH urinnya  $< 6,0$ . Domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR 0, +14 dan +32 meq mempunyai pH urin masing-masing sebesar  $7,60 \pm 0,51$ ;  $7,51 \pm 0,78$  dan  $8,28 \pm 0,33$ ; pH urin tersebut termasuk normal karena masih dalam kisaran 7,50–8,50. Pratas (1992) menyatakan bahwa pH urin asam sebesar  $< 7,50$ ; pH urin normal sebesar 7,50–8,50; pH urin basa sebesar  $> 8,50$ . Ransum dengan nilai PKAR -28 dan -18 meq banyak ditambahkan garam-garam anion yang bersifat asam, sedangkan pada ransum dengan nilai PKAR +32 meq banyak ditambahkan garam-garam kation yang bersifat basa sehingga domba yang diberi

ransum dengan nilai pKAR -28 dan -18 meq mempunyai pH urin yang lebih rendah daripada domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR yang lain, tetapi domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR +32 meq mempunyai pH urin yang tertinggi. Ekskresi kelebihan  $\text{S}^-$  dan  $\text{Cl}^-$  melalui urin, sehingga urin tersebut semakin asam karena  $\text{Cl}^-$  dan  $\text{S}^-$  bersifat asam.

Nilai pH urin merupakan gambaran kation-anion dalam ransum yang dikonsumsinya. Ternak yang mengkonsumsi anion berlebih, urinnya akan menjadi asam. Sebaliknya, apabila  $\text{Na}^+$  dikonsumsi berlebih, pH urin menjadi basa. Hal ini dijelaskan oleh Chan *et al.* (2005) bahwa turunnya pH urin merupakan cerminan pengaruh dari anion yang terkandung di dalam ransum. Moore *et al.* (2000) melaporkan bahwa apabila pH urin lebih rendah dari 6,0, berarti ransum yang diberikan mengandung garam-garam anion yang berlebihan pada waktu melakukan penurunan nilai PKAR. Berdasarkan hal tersebut di atas, penambahan garam-garam anion ke dalam ransum dengan nilai PKAR -28 dan -18 meq terlalu banyak. Kelebihan anion atau kation yang dibawa ransum akan diatur oleh ginjal untuk dikeluarkan melalui urin. Sel-sel renal tubular merespon secara langsung perubahan pH darah dan pH di intraseluler. Ion kalium bergerak pindah dari sel ke dalam darah dengan melepaskan  $\text{H}^+$ , sel tubuh memompa kelebihan ion  $\text{H}^+$  ke dalam urin yang mengakibatkan pH menjadi turun. Domba yang pernah beranak kembar dengan jenis kelamin anak betina, jantan, serta jantan dan betina mempunyai pH urin masing-masing sebesar  $7,00 \pm 1,34$ ;  $7,04 \pm 1,18$  dan  $6,93 \pm 1,13$ .

Nilai PKAR dan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan berpengaruh terhadap jumlah fetus per induk, masing-masing pada  $P < 0,03$  dan  $P < 0,08$ . Sudah dijelaskan di atas bahwa pada domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -28 meq mempunyai darah yang sangat asam, asidosis metabolik dan pH urin yang sangat asam. Domba yang diberi ransum dengan PKAR 0 meq mempunyai darah, metabolik, dan pH urin yang normal. Domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -28 meq mempunyai fetus terendah sedangkan

pada domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR 0 meq tertinggi, kemungkinan disebabkan oleh jenis darah domba. Darah merupakan media yang membawa zat-zat nutrien yang diperlukan folikel untuk berkembang dan tumbuh agar menghasilkan sel telur yang matang dan siap untuk dibuahi. Novak *et al.* (2003) menjelaskan bahwa nutrien mempengaruhi lingkungan oviduk yang merupakan tempat pada waktu sel telur melakukan fertilisasi dan perkembangan awal embrio. Oleh karena itu, lingkungan oviduk merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju fertilisasi. Almeida *et al.* (2000) menyatakan bahwa makanan yang dikonsumsi sebelum koitus akan mempengaruhi kehidupan embrio. Hal ini karena nutrien yang dikonsumsi selama siklus estrus akan mempengaruhi kualitas sel telur dan mengubah lingkungan oviduk sehingga mempengaruhi juga kehidupan embrio.

Campbell *et al.* (2004) menyatakan bahwa fertilisasi yaitu mengaktifkan sel telur untuk memulai serangkaian reaksi metabolik yang memicu permulaan perkembangan embrio, menyatukan nukleus sperma dan nukleus sel telur, serta mengembalikan sifat diploid. Reaksi akrosomal yang terjadi ketika sperma bertemu dengan sel telur, membebaskan enzim hidrolitik yang mencerna semua zat yang mengelilingi sel telur tersebut. Selanjutnya, dijelaskan oleh McNatty (1978), cairan folikel merupakan suatu hasil transfer konstituen plasma darah dan metabolisme sel granulosa. Menurut Green & Fishel (1999), faktor-faktor pada cairan oviduk seperti  $\text{Ca}^{2+}$  bebas,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  dan substrat energi dapat menyebabkan kemampuan sperma menjadi hiperaktif dalam menyediakan gaya yang dibutuhkan dalam penetrasi penanaman sel telur. Domba yang pernah beranak kembar betina, jantan, serta jantan dan betina mempunyai jumlah fetus masing-masing sebanyak  $2,00 \pm 0,71$ ;  $2,80 \pm 1,30$  dan  $1,60 \pm 1,14$  buah.

Nilai PKAR dan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan tidak berpengaruh terhadap jumlah anak yang dilahirkan per induk. Rataan jumlah anak domba percobaan berkisar mulai  $0,33 \pm 0,58$  sampai  $2,67 \pm 0,58$  ekor (Tabel 3).

Domba yang diberi ransum -28 meq mempunyai anak terendah atau hampir tidak diperoleh anak. Sudah dijelaskan di atas bahwa pada domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -28 meq mempunyai jumlah fetus terendah sehingga jumlah anak yang dilahirkan juga terendah. Darah merupakan media yang membawa zat-zat nutrien yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan fetus menjadi anak. Domba yang pernah beranak kembar dengan jenis kelamin anak betina, jantan, serta jantan dan betina mempunyai anak masing-masing sebanyak  $0,80 \pm 1,30$ ;  $1,60 \pm 1,52$  dan  $1,60 \pm 1,14$  ekor.

Nilai PKAR tidak berpengaruh, sedangkan jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan berpengaruh ( $P < 0,04$ ) terhadap rasio kelamin anak. Beberapa faktor lain yang mempengaruhi rasio kelamin anak adalah hormon, pH vagina (Pratt *et al.* 1987), waktu inseminasi, laju koitus, dan bagian tempat terjadinya ovulasi (James 2004), lemak (Rosenfeld & Roberts 2004). Anak laki-laki berpeluang lebih besar untuk dilahirkan daripada anak perempuan, apabila induk mempunyai fenotip maskulin (James 1990; Singh & Zambarano 1997), hormon testosteron dan estrogen yang tinggi (James 2004), dan level testosteron yang tinggi (Grant & France, 2001). Domba yang pernah beranak kembar betina, jantan, serta jantan dan betina masing-masing mempunyai rasio kelamin anak terendah ( $P < 0,05$ ) sebesar  $0$ ;  $15,00 \pm 8,50$  dan  $61,75 \pm 31,50\%$ .

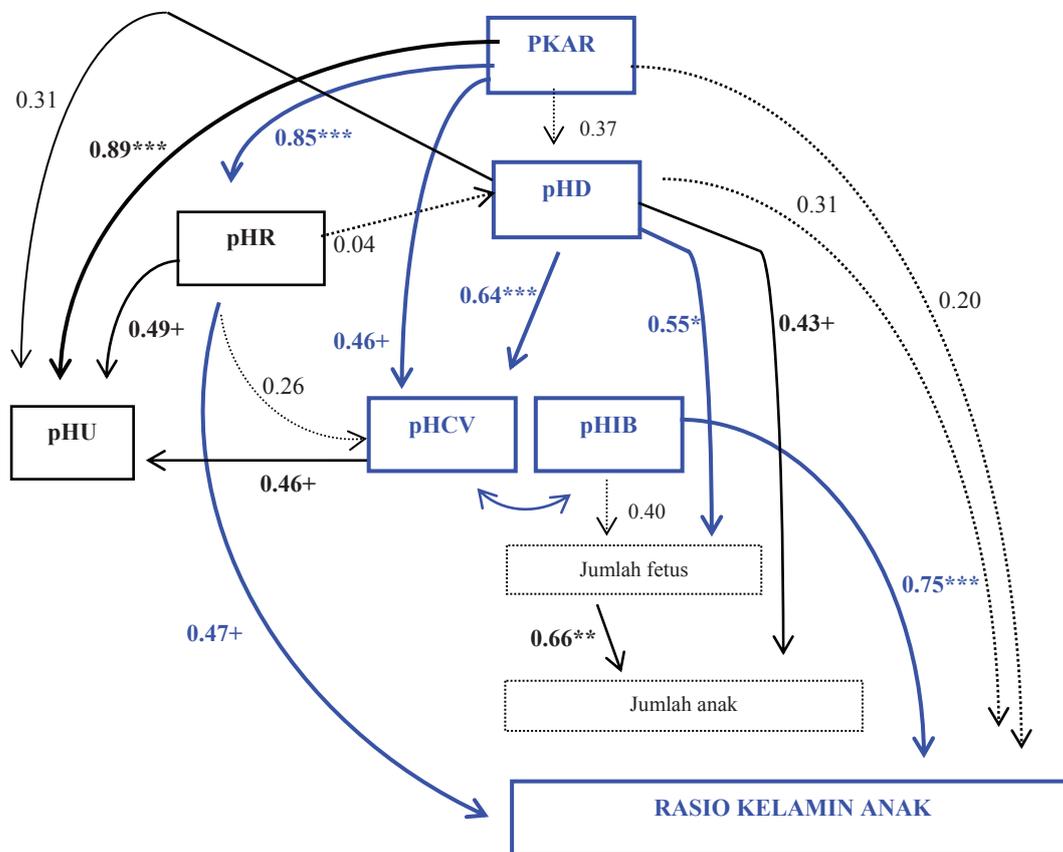
### **Hubungan antara Nilai PKAR, Keasaman Cairan Tubuh dan Rasio Anak**

Berdasarkan pembahasan di atas, secara garis besar hubungan antara PKAR sampai ke rasio kelamin anak terdapat pada Gambar 1. Rasio kelamin anak berhubungan dengan pH cairan vagina pada saat IB dan pH ransum, tetapi tidak ada hubungannya dengan nilai PKAR ( $r=0,20$ ). Nilai pH ransum berhubungan sangat erat dengan nilai PKAR ( $r=0,85$ ). Penurunan nilai PKAR dengan cara menambahkan garam-garam anion ke dalam ransum dan meningkatkan nilai PKAR dengan cara menambahkan

garam-garam kation. Garam anion bersifat asam sehingga apabila ditambahkan ke dalam ransum akan menurunkan pH ransum tersebut. Sebaliknya, garam kation bersifat basa sehingga penambahannya ke dalam ransum akan menaikkan pH ransum tersebut. Berdasarkan hal tersebut, peningkatan nilai PKAR akan meningkatkan pH ransumnya sehingga terdapat hubungan yang sangat erat ( $r=0,85$ ) antara nilai pH ransum dengan nilai PKAR dengan persamaan  $\hat{Y}=4,971+0,017X+0,001X^2$  (-28; +32meq;  $R^2=0,71$ ;  $P<0,01$ ). Peningkatan nilai PKAR sebesar satu satuan akan menurunkan kemudian menaikkan pH ransum. Nilai pH

ransum terendah akan diperoleh pada nilai PKAR sebesar -0,12 meq. Nilai pH ransum dipengaruhi oleh nilai PKAR sebesar 71%, sedangkan sebesar 29% oleh faktor lain.

Nilai pH darah kurang erat hubungannya dengan nilai PKAR ( $r=0,37$ ) dan tidak ada hubungan dengan pH ransum ( $r=0,04$ ). Hal ini karena sistem tubuh ternak melakukan homeostasis. Penambahan garam anion menyebabkan penurunan pH darah yang berarti. Penambahan anion  $Cl^-$  dan  $S^{2-}$  ke dalam cairan tubuh melalui penambahan suplemen dalam ransum menurunkan pH cairan tubuh (Stewart,1983). Namun demikian, penyerapan



Keterangan:

- PKAR = perbedaan kation-anion ransum
- pHR = nilai keasaman ransum
- pHU = nilai keasaman urin
- pHD = nilai keasaman darah
- pHCV = nilai keasaman cairan vagina
- pHIB = nilai keasaman cairan vagina pada saat IB

- + =  $P<0,10$
- \* =  $P<0,03$
- \*\* =  $P<0,01$
- \*\*\* =  $P<0,001$

Gambar 1. Skema hubungan antara PKAR, pH ransum, pH darah, pH cairan vagina, jumlah fetus, jumlah anak dan rasio kelamin anak domba Garut

$S^{2-}$  lebih kecil daripada  $Cl^-$  atau  $K^+$  (Underwood & Suttle, 1999). Absorpsi  $Cl^-$  relatif lebih lebih besar daripada absorpsi  $S^{2-}$  pada semua ransum dengan berbagai nilai PKAR, sehingga diperoleh juga hubungan pH darah dengan absorpsi  $Cl^-$  lebih besar daripada absorpsi  $S^{2-}$  ( $r=-58$  VS  $r=-42$ ). Oleh karena itu, pH darah terendah diperoleh pada domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -28 meq karena mempunyai absorpsi  $Cl^-$  tertinggi (data tidak dipublikasikan). Penyerapan  $Cl^-$  oleh domba yang diberi ransum berbagai nilai PKAR lebih banyak daripada  $S^{2-}$  sehingga  $Cl^-$  merupakan ion yang lebih kuat untuk mengasamkan darah.

Nilai pH urin berhubungan sangat erat dengan nilai PKAR ( $r=0,89$ ) serta kurang erat baik dengan pH ransum, cairan vagina, mau pun darah masing sebesar dengan nilai korelasi sebesar  $r=0,49$ ;  $r=0,46$  dan  $r=0,31$ . Kelebihan  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ , dan  $S^{2-}$  dalam ransum akan dikeluarkan melalui ginjal. Penambahan garam anion ke dalam ransum agar PKAR menjadi turun mengakibatkan penurunan pH urin. Sebaliknya, penambahan garam kation agar nilai PKAR menjadi naik, akan menaikkan pH urin. Kelebihan beberapa mineral yang dikonsumsi akan dikeluarkan salah satunya melalui ginjal berupa urin. Sel-sel renal tubular merespon secara langsung perubahan pH darah dan pH di intraseluler. Ion kalium bergerak pindah dari sel ke dalam darah dengan melepaskan  $H^+$ , sel tubuh memompa kelebihan ion  $H^+$  ke dalam urin yang mengakibatkan pH menjadi turun. Perubahan pH urin pada penelitian ini sesuai dengan keseimbangan kation-anion ransumnya. Jika domba mengkonsumsi  $Na^+$  berlebih, pH urinnya menjadi basa. Ekskresi kelebihan  $S^-$  dan  $Cl^-$  melalui urin sehingga urin tersebut semakin asam karena  $Cl^-$  dan  $S^-$  bersifat asam. Nilai pH urin merupakan gambaran kation-anion dalam ransum yang dikonsumsi. Apabila pH urin lebih rendah dari 6,0; berarti ransum yang diberikan mengandung garam-garam anion yang berlebihan pada waktu melakukan penurunan nilai PKAR.

Persamaan hubungan antara pH urin dan PKAR adalah persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=6,974+0,046X$  (-28; +32meq;  $R^2=0,79$ ;

$P<0,01$ ). Peningkatan nilai PKAR sebesar satu satuan akan meningkatkan pH urin sebesar 0,046. Sebesar 79% pH urin dipengaruhi oleh PKAR, sedangkan 21% dipengaruhi oleh faktor yang lain. Persamaan antara pH urin dan pH ransum adalah persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=2,503+0,837X$  (4,74; 6,89;  $R^2=0,24$ ;  $P<0,06$ ). Peningkatan pH ransum sebesar satu satuan, akan meningkatkan pH urin sebesar 0,837. Sebesar 24% pH urin dipengaruhi oleh pH ransum, sedangkan sebesar 76% dipengaruhi oleh faktor lain. Persamaan antara pH urin dan pH cairan vagina adalah persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=-4,507+1,580X$  (6,52; 7,75;  $R^2=0,21$ ;  $P<0,08$ ). Peningkatan pH cairan vagina sebesar satu satuan akan menaikkan pH urin sebesar 1,580. Sebesar 21% pH urin dipengaruhi oleh absorpsi  $Cl^-$ , sedangkan sebesar 79% dipengaruhi oleh faktor lain. Rendahnya pH urin menggambarkan pH darah juga rendah (Vagnoni & Oetzel, 1998). Hal ini sesuai pada penelitian ini, domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -28 meq mempunyai pH darah yang sangat asam dan pH urin juga sangat asam.

Nilai pH cairan vagina berhubungan kurang erat dengan nilai PKAR ( $r=0,46$ ), dan erat dengan pH darah (0,64), tetapi tidak ada hubungan dengan pH ransum (0,26). Persamaan hubungan antara pH cairan vagina dan PKAR adalah persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=7,277+0,007X$  (-28; +32meq;  $R^2=0,21$ ;  $P<0,09$ ). Peningkatan nilai PKAR sebesar satu satuan akan meningkatkan pH cairan vagina sebesar 0,007. Sebesar 21% pH cairan vagina dipengaruhi oleh PKAR, sedangkan 79% oleh faktor lain. Nutrien yang dikonsumsi selama siklus estrus akan mempengaruhi dan mengubah lingkungan oviduk (Almeida *et al.*, 2000; Novak *et al.*, 2003). Leese *et al.* (2001) menyatakan bahwa ion  $K^+$  lebih banyak di cairan oviduk daripada plasma dan perpindahan ion-ion di sel epitel oviduk akan mengatur laju sekresi cairan. Nilai pH cairan vagina menunjukkan bahwa domba tidak melakukan homeostasis karena pH cairan vagina cenderung berubah dengan berubahnya pengaruh dari luar (dalam hal ini oleh PKAR).

Persamaan hubungan antara pH cairan vagina dan pH darah berupa persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=0,878+0,875X$  (6,45; 7,40;  $R^2=0,41$ ;  $P<0,01$ ). Peningkatan pH darah sebesar satu satuan akan meningkatkan pH cairan vagina sebesar 0,875. Sebesar 41% pH cairan vagina dipengaruhi oleh pH darah, sedangkan sebesar 59% oleh faktor lain. Walaupun demikian, keeratan hubungan pH cairan vagina lebih erat dengan pH darah daripada nilai PKAR ( $r=0,64$ ;  $P<0,01$  VS  $r=0,46$ ;  $P<0,09$ ).

Jumlah fetus per induk berhubungan cukup erat dengan pH darah ( $r=0,55$ ). Darah merupakan media untuk memasok zat-zat nutrisi ke semua sel-sel tubuh termasuk ke folikel-folikel untuk perkembangan dan pertumbuhan sel telurnya. Domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -28 meq mempunyai jumlah fetus yang lebih sedikit daripada domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR yang lain. Domba yang diberi ransum dengan nilai PKAR -28 meq mempunyai darah yang sangat asam, asidosis metabolik, dan  $Ca^{2+}$  plasmanya tinggi. Keadaan darah mungkin akan mempengaruhi kualitas dan kuantitas sel-sel telur yang dihasilkan sehingga mempengaruhi juga pada waktu fertilisasi.

Persamaan hubungan antara jumlah fetus dan pH darah adalah persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=-16,7300+2,577X$  (6,45; 7,40;  $R^2=0,31$ ;  $P<0,03$ ). Peningkatan pH darah sebesar satu satuan akan meningkatkan jumlah fetus sebesar 2,577 buah. Sebesar 31% jumlah fetus dipengaruhi oleh pH darah, sedangkan 69% oleh faktor lain. Faktor lain yang mempengaruhi jumlah fetus, kemungkinan pH cairan vagina pada saat IB. Hal ini berdasarkan Woo *et al.* (2000), media yang asam menghambat aktivitas motor dinein sehingga motilitas sperma menurun. Oleh karena itu, jumlah sperma yang melakukan fertilisasi dengan sel telur menjadi lebih sedikit sehingga jumlah fetus yang terbentuk berkurang. Ingermann *et al.* (2002) menyatakan bahwa gerakan sperma terhambat oleh pH yang rendah. Novak *et al.* (2003) menjelaskan bahwa nutrisi mempengaruhi lingkungan oviduk dan oviduk merupakan tempat pada waktu sel telur melakukan fertilisasi

dan perkembangan awal embrio. Oleh karena itu, lingkungan oviduk yang dipengaruhi oleh nutrisi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju fertilisasi.

Terdapat hubungan kurang erat antara jumlah anak dengan pH cairan vagina pada saat IB ( $r=0,43$ ) dengan persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=-9,641+1,537X$  (6,54; 7,68;  $R^2=0,19$ ;  $P<0,10$ ). Peningkatan pH cairan vagina pada saat IB sebesar satu satuan akan meningkatkan jumlah anak yang dilahirkan sebanyak 1,537 ekor. Sebesar 19% jumlah anak yang dilahirkan dipengaruhi oleh pH cairan vagina pada saat IB, sedangkan sebesar 81% dipengaruhi oleh faktor lain. Pratt *et al.* (1987) menyatakan bahwa pH vagina mempengaruhi jumlah anak yang dilahirkan.

Rasio kelamin anak berhubungan erat dengan pH cairan vagina pada saat IB ( $r=0,75$ ) dan kurang erat dengan pH ransum ( $r=0,47$ ). Nilai pH cairan vagina pada saat IB yang rendah akan mempunyai rasio kelamin anak yang lebih rendah daripada pH cairan vagina pada saat IB yang lebih tinggi. Persamaan hubungan antara rasio kelamin anak dan pH cairan vagina pada saat IB berupa persamaan linear, yaitu  $\hat{Y}=-639,525+94,044X$  (6,54; 7,68;  $R^2=0,56$ ;  $P<0,01$ ). Peningkatan pH cairan vagina pada saat IB sebesar satu satuan akan meningkatkan rasio kelamin anak sebesar 94,044%. Sebesar 56% rasio kelamin anak dipengaruhi oleh pH cairan vagina pada saat IB, sedangkan sebesar 44% dipengaruhi oleh faktor lain. Adanya peningkatan pH cairan vagina pada saat IB berarti cairan vagina tersebut semakin bersuasana basa. Nilai pH cairan vagina pada saat IB yang rendah akan mempunyai rasio kelamin anak yang lebih rendah daripada pH cairan vagina pada saat IB yang lebih tinggi. Menurut Pratt *et al.* (1987), pH vagina mempengaruhi rasio kelamin anak sehingga pH vagina berhubungan dalam pengaturan rasio seks prefertilisasi.

Keasaman cairan vagina mempengaruhi jenis kelamin anak karena adanya perbedaan daya gerak dan ketahanan hidup antara sperma X dan Y untuk mencapai ke sel telur untuk melakukan fertilisasi di ampulla tuba falopii. Pratt *et al.* (1987) dan Budinurdjaja (2007) menyata-

kan sperma Y tidak tahan pada kondisi asam, sedangkan sperma X lebih tahan. Selanjutnya, dijelaskan bahwa gerakan sperma Y menjadi lebih lambat dan daya tahan hidupnya lebih pendek daripada sperma X pada cairan vagina yang asam; sehingga sperma X melakukan fertilisasi di ampulla tuba falopii dengan sel telur (X) dan akan menghasilkan anak betina (XX). Sebaliknya, gerakan sperma Y lebih cepat dan daya tahan hidupnya lebih kuat daripada sperma X pada cairan vagina basa; sehingga sperma Y melakukan fertilisasi dengan sel telur (X) dan akan menghasilkan anak jantan (XY). Persamaan hubungan antara rasio kelamin anak dan pH ransum berupa persamaan linear, yaitu  $\hat{Y} = -112,75 + 9,25X$  (4,74; 6,89;  $R^2 = 0,22$ ;  $P < 0,08$ ).

### KESIMPULAN

Nilai PKAR mempengaruhi pH ransum, darah dan urin, serta jumlah fetus per induk. Ransum dengan nilai PKAR 0 meq merupakan ransum relatif terbaik karena menghasilkan pH darah dan urin yang normal, serta jumlah fetus dan anak relatif terbanyak. Sebaliknya, ransum dengan nilai PKAR -28 meq mengakibatkan darah sangat asam dan pH urin asam sehingga menurunkan jumlah fetus dan anak. Rasio kelamin anak berhubungan sangat erat dengan pH-IB dan kurang erat dengan pH ransum. Jenis kelamin anak yang pernah dilahirkan mempengaruhi jumlah fetus dan rasio kelamin anak.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Ditjen Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional RI serta Yayasan Dana Sejahtera Mandiri Jakarta atas dana penelitian yang diberikan masing-masing melalui Program Hibah Penelitian Tim Pascasarjana dengan surat perjanjian No:012/SP2H/PP/ DP2M/III/2007 dan SK Pengurus Yayasan Damandiri dengan No:133/KPTS-PTDS/YDSM/XI/2007.

### DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, F.R.C.L., R.N. Kickwood, F.X. Aherne & G.R. Foxcroft.** 2000. Consequences of differences of different patterns of feed intake during the estrous cycle in gilts on subsequent fertility. *J. Anim. Sci.* 78:1556–1563.
- Anstey, C.M.** 2005. Comparison of three strong ion models used for quantifying the acid-base status of human plasma with special emphasis on the plasma weak acids. *J. Appl. Physiol.* 98:2119–2125.
- Budinurdjaja, P.** 2007. Kiat Mendapatkan Bayi Normal: Menjawab Masalah Seputar Kehamilan. Edisi pertama. Penerbit Pustaka Banua, Banjarmasin Kalimantan Selatan.
- Boruchi-Castro, S.I., L.E Phillip, V.Girard & A.Tremblay.** 2004. Altering dietary cation-anion difference in lactating dairy cows to reduce phosphorus excretion to the environment. *J. Dairy Sci.* 87:1751–1757.
- Campbell, N.A., J.B. Reece & L.G. Mitchell.** 2004. *Biology*. Edisi kelima-jilid 3. Terjemahan: W. Manalu. Editor Safitri A. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Chan, P.S., J.W. West, J.K. Bernard & J.M. Fernandez.** 2005. Effects of dietary cation-anion difference on intake, milk yield, and blood components of the early lactation cow. *J. Dairy Sci.* 88:4384–4392.
- Grant, V. & J. France.** 2001. Dominance and testosterone in women. *Biol. Psychol.* 58:41–47.
- Green, S. & S.Fishel.** 1999. Morphology comparison of individually selected hyperactivated and non-hyperactivated human spermatozoa. *Human Reprod.* 14:123–130.
- Ingermann, R.L., M. Holcomb, M.L. Robinson & J.G. Cloud.** 2002. Carbon dioxide and pH affect sperm motility of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *J. Exp. Biol.* 205:2885–2890.
- James, W.** 1990. The hypothesized hormonal control of human sex ratio at birth: an update. *J. Theo. Biol.* 69:545–564.
- James, W.H.** 2004. Further evidence that mammalian sex ratios at birth are partially controlled by parental hormone levels around the time of conception. *Human Reprod.* 19:1250–1256.
- Leese, H.J., J.I Tay, J. Reisch & S.J. Downing.** 2001. Formation of fallopian tubal fluid: role of a neglected epithelium. *Reproduction* 121:339–346.

- Mattjik, A.A. & I.M. Sumertajaya.** 2006. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab. Jilid I. Edisi ke-2. Institut Pertanian (IPB)- Press, Bogor.
- McNatty, K.P.** 1978. Follicular fluid. In: R.E. Jones (Ed). The Vertebrate Ovary. Plenum Press, New York.
- Moore, S.J., M.J. VanderHaar, B.K. Sharma, T.E. Pilbeam, D.K. Beede, H.F. Bucholtz, J.S. Liesman, R.L. Horst & J.P. Goff.** 2000. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cow. *J. Dairy Sci.* 83 : 2095-2104.
- Novak, S., F.R.C.L Almeida, J.R. Cosgrove, W.T. Dixon & G.R. Foxcroft.** 2003. Effect of pre- and postmating nutritional manipulation on plasma progesterone, blastocyst development, and the oviductal environment during early pregnancy in gilts. *J. Anim. Sci.* 81:772–783.
- [NRC] National Research Council.** 1985. Nutrient Requirements of Sheep. 6<sup>th</sup> Ed. National Academy Press, Washington DC.
- Papa, F., R. Henrion & G. Breart.** 1983. Selection preconceptionnelle du sexe par la methode ionique. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)* 12:415–422.
- Pratt, N.C., U.W. Huck & R.D. Lisk.** 1987. Offspring sex ratio in hamsters is correlated with vaginal pH at certain times of mating. *Behav. Neural Biol.* 48:310–316.
- Pratas, R.G.** 1992. Influence of sodium, potassium, and chloride on the mineral metabolism, acid-base status and salivation in ruminants. Dissertation. Graduate School at Department of Animal Science and Animal Health Division of Animal Nutrition, The Royal Veterinary and Agricultural University Copenhagen, Denmark.
- Roche, J.R., D. Dalley, P. Moate, C. Grainger, M. Rath & F.O. Mara.** 2003. Dietary cation-anion difference and the health and production of pasture-fed dairy cows. 2. Dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:979–987.
- Rosenfeld, C.S. & R.M. Robert.** 2004. Maternal diet and other factors affecting offspring sex ratio: A Review. *Biol. Reprod.* 71:1063–1070.
- Singh D. & R. Zambarano.** 1997. Offspring sex ratio in women with android body fat distribution. *Hum. Biol.* 69:545–556.
- Stewart, P.A.** 1983. Modern quantitative acid-base chemistry. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 61:1444–1461.
- Tucker, W.B., J.F. Hogue, D.F. Waterman, T.S. Swenson, Z. Xin, R.W. Hemken, J.A. Jackson, G.D. Adams & L.J. Spicer.** 1992. Sulfur should be included when calculating the dietary cation-anion balance of diets for lactating dairy cows. *Anim. Sci. Res. Rep.:* 141–150.
- Underwood, E.J. & N.F. Suttle.** 1999. The Mineral Nutrition of Livestock. 3<sup>rd</sup> Ed. CAB Int., Oson/New York.
- Vagnoni, D.B. & G.R. Oetzel.** 1998. Effects of dietary cation-anion difference on the acid-base status of dry cows. *J. Dairy Sci.* 81:1643–1652.
- Wodzicka-Tomaszewska, M., I.K. Utama, I.G. Putu & T.D. Chaniago.** 1991. Reproduksi, Tingkah laku, dan Produksi Ternak di Indonesia. Diterbitkan atas kerjasama Direktorat Jenderal pendidikan Tinggi dan International Development Program of Australian Universities and Colleges. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Woo, A.L., P.F. James & J.B. Lingrei.** 2000. Sperm motility is dependent on a unique isoform of Na,K-ATPase. *J. Biol. Chem.* 275:20693–20699.