

Penggunaan Cupri Sulfat (CuSO_4) pada Dosis yang Berbeda Terhadap Kemampuan Deteksi Kebuntingan pada Sapi Trimester Pertama

The Use of Cupri Sulfate (CuSO_4) at Different Doses on The Ability to Detect Pregnancy In First Trimester Cows

¹Budi Purwo Widiarso, ²Arifa Farida, ³Suharti

¹²³ Program Studi Teknologi Produksi Ternak Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta-Magelang, Jl. Magelang Kopeng Km.7, Tegalrejo, Magelang, Telp: 0293-364188, Kode Pos: 56101, Indonesia

¹E-mail: arifafarida16@gmail.com

Diterima: 02 Oktober 2023

Disetujui: 30 Oktober 2023

ABSTRAK

Kebuntingan adalah proses bersatunya sel kelamin jantan (spermatozoa) dan sel kelamin betina (ovum) menjadi sel baru yang dikenal dengan zigot. Metode yang dapat diterapkan oleh peternak adalah metode deteksi kebuntingan menggunakan bahan kimia asam sulfat (H_2SO_4). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dan mengetahui dosis cupri sulfat (CuSO_4) yang tepat dalam mendeteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama. Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah urin sapi bunting trimester pertama yang berjumlah 5 ekor sebanyak 2 ml kemudian dicampur dengan aquadest sebanyak 2 ml dan direaksikan dengan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 1 ml, 2 ml, dan 5 ml. Variabel yang diamati adalah perubahan warna urin, waktu perubahan warna urin, dan adanya endapan urin. Data yang diperoleh dianalisis deskriptif dan analisis statistik dengan one way anova, dan diuji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada SPSS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa deteksi kebuntingan sapi trimester pertama menggunakan cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis yang berbeda memiliki presentase kebuntingan 100% dan memberikan pengaruh pada variabel perubahan warna dengan menghasilkan warna biru kehijau-hijauan. Pada variabel waktu perubahan warna tidak berpengaruh terhadap kemampuan cupri sulfat (CuSO_4) dalam mendeteksi kebuntingan, pada setiap perlakuan tidak berbeda nyata dengan taraf signifikan 0,719 ($P > 0,05$) dengan hasil waktu 5 detik pada setiap perlakuan. Pada variabel endapan hasil analisis data berpengaruh sangat nyata dengan taraf signifikan 0,000 ($P < 0,01$). Berdasarkan penelitian dosis cupri sulfat (CuSO_4) yang tepat dalam mendeteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama yaitu dosis 1 ml (P1). Penggunaan cupri sulfat (CuSO_4) dosis 1 ml menghasilkan warna biru kehijau-hijauan dengan waktu perubahan warna 5 detik dan tinggi endapan 3 cm.

Kata kunci: Deteksi kebuntingan, cupri sulfat (CuSO_4), dosis

ABSTRACT

Pregnancy is the process by which male sex cells (spermatozoa) and female

sex cells (ovum) unite into a new cell known as a zygote. The method that can be applied by farmers is the pregnancy detection method using sulfuric acid (H_2SO_4) chemical. This study aims to determine the ability and determine the appropriate dose of cupri sulfate ($CuSO_4$) in detecting pregnancy in first trimester cows. The material used in this study was the urine of 5 cows in the first trimester of pregnancy, totaling 2 ml, then mixed with 2 ml of aquadest and reacted with cupric sulfate ($CuSO_4$) at a dose of 1 ml, 2 ml, and 5 ml. The variables observed were the change in urine color, the time of the change in urine color, and the presence of urine sediment. The data obtained were analyzed descriptively and statistically with one way ANOVA, and further tested by Duncan Multiple Range Test (DMRT) on SPSS. The results showed that the detection of pregnancy in the first trimester of cows using cupri sulfate ($CuSO_4$) with different doses had a 100% pregnancy percentage and had an effect on the color change variable by producing a greenish-blue color. The color change time variable did not affect the ability of cupric sulfate ($CuSO_4$) in detecting pregnancy, each treatment was not significantly different with a significant level of 0.719 ($P > 0.05$) with a time of 5 seconds for each treatment. Then on the sediment variable the results of data analysis have a very significant effect with a significant level of 0.000 ($P < 0.01$). Based on research, the correct dose of cupri sulfate ($CuSO_4$) in detecting pregnancy in first trimester cows is 1 ml (P1). The use of cupric sulfate ($CuSO_4$) at a dose of 1 ml produced a greenish-blue color with a color change time of 5 seconds and deposit height 3 c.

Keyword: Detection of pregnancy, cupric sulfate ($CuSO_4$), dose.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Tahapan yang tidak kalah penting setelah pelaksanaan perkawinan sapi baik secara inseminasi buatan ataupun kawin alam adalah deteksi kebuntingan sapi, karena erat kaitannya dengan perawatan indukan pasca perkawinan, pakan yang diberikan kepada indukan, serta kualitas pedet yang akan dihasilkan nantinya.

Sejalan dengan pendapat Purboranti dkk (2021), deteksi kebuntingan yang lebih dini akan lebih cepat memberikan informasi tentang keberhasilan perkawinan sehingga dapat segera dilakukan evaluasi kegagalan. Beberapa metode deteksi kebuntingan telah diterapkan dilapangan. Metode deteksi kebuntingan yang paling umum pada sapi adalah dengan palpasi rektal. Metode ini membutuhkan keahlian dan pengalaman yang cukup, serta memiliki resiko jika dilakukan dengan penanganan yang kurang baik. Kondisi

dilapangan menunjukkan bahwa sumber daya manusia yang dibutuhkan untuk menerapkan metode yang ideal yang dapat diaplikasikan pada sapi masyarakat masih sangat terbatas. Salah satu metode yang dapat diterapkan oleh peternak adalah deteksi kebuntingan menggunakan bahan kimia asam sulfat (H_2SO_4). Salah satu bahan kimia yang juga mengandung asam sulfat (H_2SO_4) adalah cupri sulfat ($CuSO_4$). Cupri sulfat ($CuSO_4$) memiliki kandungan tembaga (Cu) dan asam sulfat (H_2SO_4) yang juga memiliki potensi untuk dapat mendeteksi kebuntingan pada sapi. Namun sampai saat ini belum diketahui kemampuan serta dosis cupri sulfat ($CuSO_4$) dalam mendeteksi kebuntingan pada sapi terkhusus pada trimester pertama. Maka dari itu penulis memilih judul "Penggunaan Cupri Sulfat ($CuSO_4$) pada Dosis yang Berbeda Terhadap Kemampuan Deteksi Kebuntingan pada Sapi Trimester Pertama".

Rumusan Masalah

1. Belum diketahuinya penggunaan cupri sulfat (CuSO_4) dalam mendeteksi kebuntingan pada ternak sapi.
2. Belum diketahuinya dosis cupri sulfat (CuSO_4) yang tepat dalam mendeteksi kebuntingan pada ternak sapi trimester pertama.

Tujuan

1. Mengetahui kemampuan cupri sulfat (CuSO_4) untuk mendeteksi kebuntingan pada ternak sapi.
2. Mengetahui dosis cupri sulfat (CuSO_4) yang tepat dalam mendeteksi kebuntingan sapi trimester pertama.

Hipotesis

1. Diduga cupri sulfat (CuSO_4) memiliki kemampuan mendeteksi kebuntingansapi pada trimester pertama.
2. Diduga terdapat pengaruh yang signifikan antara dosis cupri sulfat (CuSO_4) terhadap deteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di CV Capita Farm Jl. Raya Salatiga-kopeng, No.8, Pendingan, Sumogawe, Kecamatan Getasan, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Kegiatan Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Juni tahun 2022.

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes kaca, sarung tangan latex medis, ember, kertas HVS, bolfoin, gunting, stopwatch, kamera/handphone. Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya, urin dari 5 sapi pada kebuntingan 1 sampai 3 bulan (trimester pertama) sebanyak 2 ml, aquadest sebanyak 2 ml, cupri sulfat (CuSO_4)

dengan dosis 1 ml, 3 ml, dan 5 ml.

Metode penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) 1 faktorial, dengan 4 perlakuan (1 perlakuan sebagai kontrol) dan dengan 5 ulangan. Sampel urin yang digunakan pada penelitian ini bersifat homogen karena berasal dari ternak sapi yang umur kebuntingannya sama. Hal ini sejalan dengan pendapat Susilawati (2015) penerapan Rancangan Acak Lengkap (RAL) umumnya digunakan apabila unit percobaan relatif homogen. Menurut Sunandi (2009), Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah rancangan lapangan dimana seluruh satuan percobaan homogen. Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-rancangan lainnya. Dalam rancangan ini sumber keragaman yang diamati hanya perlakuan dan galat (pengulangan).

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis yang berbeda yaitu 1 ml, 3 ml, dan 5 ml. Setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali, dengan percobaan perlakuan sebagai berikut:

P0 : Urin sapi 2 ml + aquadest 2 ml (kontrol)

P1 : Urin sapi 2 ml + aquadest 2 ml + CuSO_4 1 ml

P2 : Urin sapi 2 ml + aquadest 2 ml + CuSO_4 3 ml

P3 : Urin sapi 2 ml + aquadest 2 ml + CuSO_4 5 ml

Ternak sapi yang akan digunakan pada penelitian ini adalah ternak sapi bunting trimester pertama (kebuntingan umur 1 sampai 3 bulan), yang berjumlah 5 ekor sapi. Pengambilan urin sapi dilakukan pada pagi hari, setiap sampel urin yang diambil dari masing-masing ternak sapi dibagi menjadi 4 bagian untuk mendapatkan perlakuan dosis yang berbeda. Sehingga dalam penelitian ini diperlukan 20 sampel urin dari 5 ternak sapi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kebuntingan merupakan suatu keadaan dimana anak sedang berkembang didalam uterus seekor betina, suatu retan waktu yang disebut dengan periode kebuntingan yang terentang dari saat pembuahan (fertilisasi) sampai lahirnya anak (Fathan, 2018).

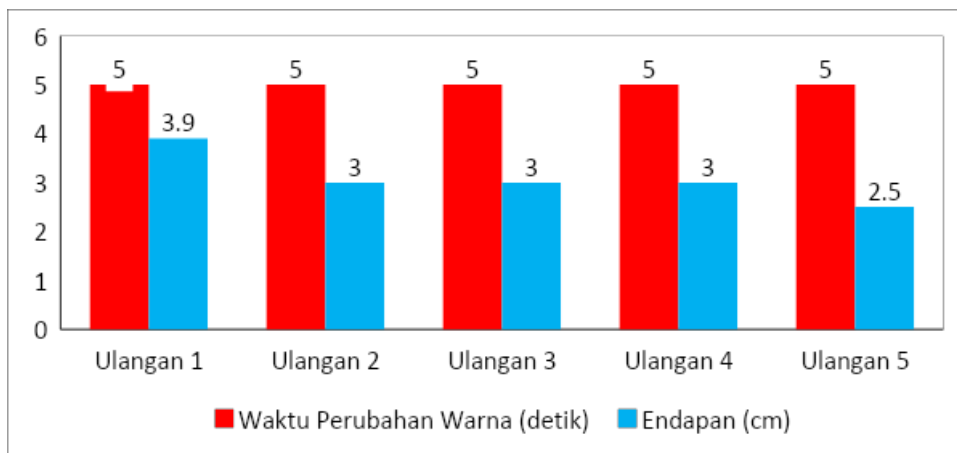
Hasil penelitian deteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama yang diuji menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) pada seluruh perlakuan dengan dosis yang berbeda diantaranya 1 ml, 3 ml, dan 5 ml memberikan respon positif. Deteksi kebuntingan menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) diperkuat setelah seluruh ternak sapi yang digunakan pada penelitian diperiksa dengan teknik palpasi rektal oleh petugas inseminator yang menyatakan bahwa seluruh ternak sapi positif. Ternak sapi juga dinyatakan

bunting pada kebuntingan trimester pertama hal ini dikarenakan pada bulan Maret 2022 telah dilakukan inseminasi buatan pada ternak sapi.

Deteksi kebuntingan dengan menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) memiliki presentase kebuntingan 100% hal ini dilihat dari terjadinya perubahan warna menjadi biru kehijau-hijauan pada urin dan terdapatnya endapan berwarna berwarna putih. Akan tetapi setiap perlakuan memberikan respon waktu perubahan warna yang sama, sehingga waktu perubahan warna tidak berpengaruh terhadap deteksi kebuntingan menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4).

Deteksi Kebuntingan Sapi Trimester Pertama Dosis 1 ml

Deteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 1 ml dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 1. Deteksi Kebuntingan Sapi dengan dosis Cupri sulfat (CuSO_4) 1 ml

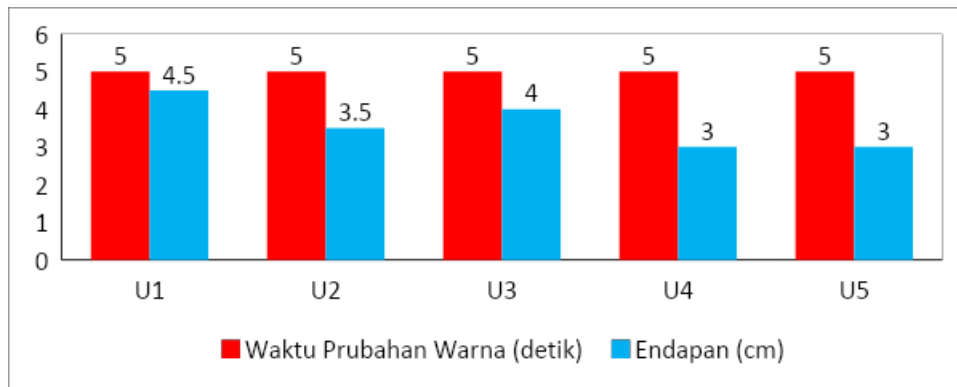
Berdasarkan Gambar 1, dapat dijelaskan bahwa hasil deteksi kebuntingan menggunakan cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 1 ml memiliki respon waktu yang sama yaitu dengan waktu perubahan warna 5 detik pada setiap ulangan. Variabel endapan menghasilkan data yang berbeda yaitu U1 dengan tinggi endapan 3,9 cm, U2 3

cm, U3 3 cm, U4 3 cm, U5 2,5 cm. Respon urin sapi setelah dicampurkan dengan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 1 ml menghasilkan lama waktu perubahan warna 5 detik dan tinggi endapan yang berbeda-beda.

Deteksi Kebuntingan Sapi Trimester Pertama Dosis 3 ml

Deteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama menggunakan bahan

kimia cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 3 ml dapat dilihat pada gambar berikut.



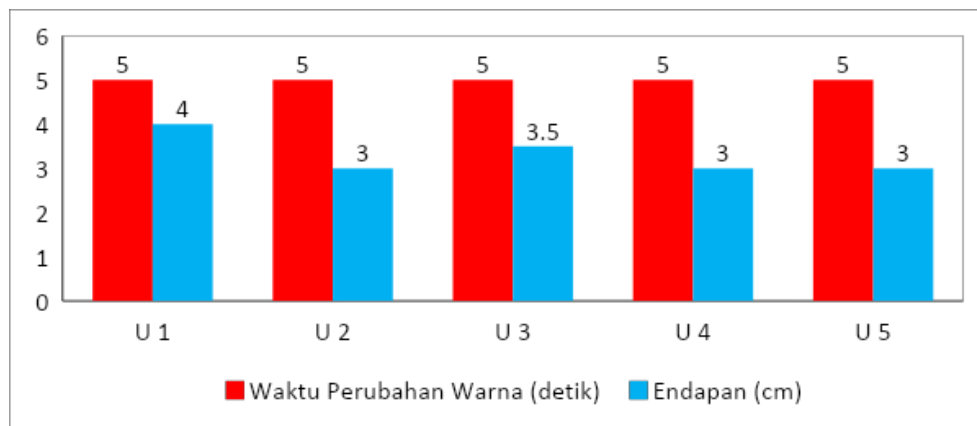
Gambar 2. Deteksi Kebuntingan Sapi dengan dosis cupri sulfat (CuSO_4) 3 ml

Berdasarkan Gambar 2, dapat dijelaskan bahwa hasil deteksi kebuntingan menggunakan cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 3 ml memiliki respon waktu yang sama yaitu dengan waktu perubahan warna 5 detik pada setiap ulangan. Variabel endapan menghasilkan data yang berbeda yaitu U1 dengan tinggi endapan 4,5 cm, U2 3,5 cm, U3 4 cm, U4 3 cm, U5 3 cm. Respon urin sapi setelah dicampurkan

dengan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 3 ml menghasilkan lama waktu perubahan warna 5 detik dan tinggi endapan yang berbeda-beda.

Deteksi Kebuntingan Sapi Trimester Pertama Dosis 5 ml

Deteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 5 ml dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 3. Deteksi Kebuntingan Sapi dengan dosis curpi sulfat (CuSO_4) 5 ml

Berdasarkan Gambar 3, dapat dijelaskan bahwa hasil deteksi kebuntingan menggunakan cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 5 ml memiliki respon waktu yang sama yaitu dengan waktu perubahan warna 5 detik pada setiap ulangan. Variabel endapan menghasilkan data yang berbeda yaitu U1 dengan tinggi endapan 4 cm, U2 3

cm, U3 3.5 cm, U4 3 cm, U5 3 cm. Respon urin sapi setelah dicampurkan dengan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) dengan dosis 5 ml menghasilkan lama waktu perubahan warna 5 detik dan tinggi endapan yang berbeda.

Perubahan Warna

Variabel kebuntingan pertama

dilihat dari reaksi perubahan warna yang terjadi ketika urin direaksikan dengan cupri sulfat (CuSO_4) pada semua dosis. Terlihat adanya reaksi perubahan dimana warna biru yang menjadi warna dasar cupri sulfat (CuSO_4) berubah ketika direaksikan dengan urin sapi bunting menjadi warna biru kehijau-hijuan. Berbeda dengan reaksi pencampuran urin sapi tidak bunting dengan cupri sulfat (CuSO_4). Reaksi yang terjadi adalah cupri sulfat (CuSO_4) berubah menjadi warna biru cerah.

Perubahan warna biru menjadi biru kehijau-hijauan merupakan reaksi dari pembakaran estrogen dalam urin sapi bunting oleh asam sulfat (H_2SO_4) yang terdapat dalam cupri sulfat (CuSO_4). Hal ini sejalan dengan pendapat Sayuti dkk., (2011) yakni ketika hormon estrogen dicampur dengan asam sulfat (H_2SO_4), maka hormon estrogen tersebut terbakar sehingga terbentuk fluoresensi warna. Hal yang sama juga diutarakan oleh Mage dkk., (2018) yang menyatakan bahwa asam sulfat (H_2SO_4) mengandung elektrolit yang dapat menyimpan dan menghantarkan arus listrik, sehingga asam sulfat (H_2SO_4) yang bercampur dengan urin sapi bunting berfungsi membakar hormon estrogen disaat kondisi ternak bunting.

Jenis hormon estrogen yang disekresi pada saat ternak mengalami berahi dan awal kebuntingan berbeda. Pada ternak berahi hormon estrogen disekresikan oleh folikel, sedangkan pada awal masa kebuntingan ternak, hormon estrogen disekresikan oleh

plasenta. Pada saat pembentukan fetus dan implantasi, organ pertama yang terbentuk adalah plasenta. Terbentuknya plasenta dapat digunakan sebagai deteksi kebuntingan dini karena salah satu hasil metabolismenya yaitu hormon estrogen yang dikeluarkan melalui urin (A'raaf, 2020).

Waktu Perubahan Warna

Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan, variabel waktu perubahan warna urin tidak memenuhi kaidah uji normalitas data, sehingga analisis waktu perubahan warna pada setiap perlakuan tidak berbeda nyata atau data tidak signifikan dengan taraf signifikan 0,719 ($P > 0,05$). Sesuai dengan pendapat Tyastirin dan Hidayati (2017) pada uji ANOVA terdapat beberapa prasyarat yang harus dipenuhi melalui uji asumsi, yaitu uji normalitas (data terdistribusi normal) dan variasi sama (uji homogenitas). Berdasarkan Tabel 1, hasil variabel waktu perubahan warna urin tidak berpengaruh terhadap kemampuan cupri sulfat (CuSO_4) dalam mendeteksi kebuntingan pada sapi trimester pertama. Hal ini diindikasikan karena tidak terdapat adanya perbedaan waktu perubahan warna dari setiap dosis perlakuan. Waktu yang dibutuhkan urin sampai terjadinya perubahan dari warna biru menjadi warna biru kehijauan-hijauan pada setiap perlakuan membutuhkan waktu selama 5 detik.

Endapan

Hasil analisis uji anova variabel endapan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Anova Endapan

Sum of Squares		Endapan			
		Df	Mean Square	F	Sig.
<i>Between Groups</i>	42.182	3	14.061	63.766	.000
<i>Within Groups</i>	3.528	16	.221		
Total	45.710	19			

Keterangan : $P < 0,01$ (P kurang dari 0,01) Sumber: Data Terolah, 2022

Berdasarkan Tabel 1, variabel endapan menghasilkan perbedaan yang sangat nyata antara perlakuan, dengan taraf signifikansi ($P < 0,01$). Sesuai dengan pendapat Ghozali (2012) yang menyatakan bahwa hasil analisis data signifikan apabila nilai ($P < 0,05$), tidak signifikan apabila nilai ($P > 0,05$) dan apabila nilai signifikansi ($P < 0,01$) maka data sangat signifikan. Berdasarkan hasil anova pada variabel endapan terdapat perbedaan yang sangat nyata antara dosis cupri sulfat (CuSO_4), maka dilakukan uji lanjut post Hoc untuk melihat pengaruh antar perlakuan

Berdasarkan uji lanjut post Hoc diketahui bahwa dosis cupri sulfat (CuSO_4) 1 ml memiliki tinggi endapan 3.08 cm yang mana hasil ini tidak berbeda nyata dengan dosis 2 ml yang menghasilkan tinggi endapan 3.60 cm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa hanya dengan menggunakan cupri sulfat (CuSO_4) dosis 1 ml peneliti sudah dapat mendeteksi kebuntingan sapi pada kebuntingan trimester pertama. Sedangkan P2 dengan nilai endapan tertinggi hanya memiliki selisih tinggi endapan 5,2 mm dengan P1, yang mana selisih ini tidak berbeda nyata dalam menghasilkan kesimpulan deteksi kebuntingan.

Dosis terbaik yang direkomendasikan untuk mendeteksi kebuntingan pada sapi menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4) adalah dengan dosis 1 ml (perlakuan 1). Hasil penelitian ini sejalan dengan pernyataan Setiawati (2016) yang menjelaskan bahwa asam sulfat (H_2SO_4) pekat dengan perlakuan dosis 0,5 ml dan 1,0 ml dapat digunakan dalam diagnosis kebuntingan secara sederhana, praktis, cepat, dan akurat.

Simpulan

Simpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Deteksi kebuntingan menggunakan bahan kimia cupri sulfat (CuSO_4)

dengan dosis yang berbeda mampu mendeteksi kebuntingan.

2. Dosis cupri sulfat (CuSO_4) yang tepat dalam mendeteksi kebuntingan pada ternak sapi trimester pertama adalah dosis 1 ml (P1) dengan reaksi:
 - a. Adanya perubahan warna biru menjadi biru kehijau-hijauan.
 - b. Adanya endapan dengan tinggi endapan 3 cm yang berpengaruh sangat nyata dengan signifikansi 0,000 ($P < 0,01$).

Saran

Pengembangan penelitian kearah yang lebih kompleks akan menambah wawasan dan penemuan baru dalam hal deteksi kebuntingan sapi. Untuk itu perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang penggunaan cupri sulfat (CuSO_4) pada sapi bunting dengan variasi penelitian yang berbeda, yaitu pada sapi potong umur kebuntingan yang lebih dini, dosis yang lebih rendah, dan variabel yang lain dapat dijadikan parameter keberhasilan deteksi kebuntingan sapi.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih disampaikan kepada semua pihak yang telah terlibat dalam penelitian dan penyusunan jurnal penelitian "Penggunaan Cupri Sulfat (CuSO_4) pada Dosis yang Berbeda Terhadap Kemampuan Deteksi Kebuntingan pada Sapi Trimester Pertama".

DAFTAR PUSTAKA

- A'raaf, Q. S., Sumaryadi, M. Y., dan Nugroho, A. P. 2020. Deteksi Kebuntingan Dini Pada Kambing Peranakan Etawa (*Capra Aegagrus hircus*) Berdasarkan Metode Non ReturnRate dan Reaksi Cubboni. *Jurnal of Animal Science and Technology*.147-155.
- Direktur Jenderal Peternakan dan

- Kesehatan Hewan. 2019. Pedoman Pelaksanaan Upaya Khusus Percepatan Peningkatan Populasi Sapi Dan Kerbau Bunting Tahun Anggaran 2019. Diakses Maret 20, 2022, dari Direktur Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan: <https://tinyurl.com/aznkp89v>
- Fathan, S., Ilham, F., dan Isnawaty, I. 2018. Deteksi Dini Kebuntingan Pada Sapi Bali Menggunakan Asam sulfat (H_2SO_4). *Jambura Journal of Animal Science*. 6-12.
- Ghozali, Imam. 2012. Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS. Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.
- Mage, A. R., Nuryanto, N., & Sucipto, S. 2018. Diagnosa Kebuntingan Sapi Dengan Menggunakan Accu Zuur. *Prosiding Ilmu Ilmu Peternakan*.
- Permata, Y. M., Pardede, T. R., Masrifa dan Muchlisyam. 2019. Penuntun Praktikum Kimia Analitik I. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Purboranti, W, T., Widiarso, B, P., & Ardi, Y. W. Y. 2021. Akurasi Tingkat Keberhasilan Metode Deteksi Kebuntingan Punyakoti pada Ternak Sapi. In *Prosiding Seminar Nasional Polbangtan Yogyakarta-Magelang 2021 (Vol. 1, No. 1)*
- Sayuti A, Armansyah T, Siregar N. 2011. Penentuan Waktu Terbaik Pada Pemeriksaan Kimia Urin Untuk Diagnosis Kebuntingan Dini Pada Sapi Lokal. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 23-26
- Sunandi, E., Sigit, N., dan Jose, R. 2009. Rancangan Acak Lengkap Dengan Subsampel (Doctoral dissertation, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam UNIB).
- Susilawati, M. 2015. Perancangan Percobaan. Fakultas MIPA Universitas Udayana: Denpasar.
- Tyastirin, E dan Hidayat, I. 2017. *Statistik Parametrik Untuk Penelitian Kesehatan*. Surabaya. Universitas Islam Negeri Sunan Ampel.