

Analisa Status Birahi Sapi Pedaging Melalui Uji Ferning, Usap Vagina, dan Tampilan Morfologi Vulva

(Analysis of Estrous Status in Beef Cows Through Ferning Tests, Vaginal Swabs, and Vulvar Morphology Appearance)

Andre Rymma Tampubolon¹, Agik Suprayogi², Mokhamad Fakhrol Ulum³

¹Program Sarjana Kedokteran Hewan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

²Divisi Fisiologi Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

³Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor

E-mail: ulum@apps.ipb.ac.id

Diterima : 10 Februari 2024 / Disetujui : 14 Mei 2024

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui status birahi induk sapi potong melalui uji ferning, evaluasi profil sel epitel vagina, dan tampilan fisik vulva pada sapi potong. Penelitian ini menggunakan 11 ekor sapi potong yang dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok pertama 3 ekor untuk uji prosedur standar dan kelompok kedua 8 ekor untuk penilaian lapangan. Parameter yang digunakan dalam uji ferning adalah munculnya kristal mirip pakis dari air liur; metode usap vagina memberikan perbedaan sel yang ada dalam satu siklus estrus, dan tampilan fisik pada vulva berupa pembengkakan, kemerahan, dan lendir pada area vulva. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa sapi potong yang berahi menunjukkan bentuk kristal berupa pola seperti pakis pada uji ferning, pembengkakan dan kemerahan pada vulva, serta sel superfisial mendominasi pada profil sitologi vagina. Metode yang digunakan bersifat saling melengkapi dalam menilai status berahi pada sapi.

Kata Kunci: Berahi, Morfologi Vulva, Uji Ferning, Usap Vagina, Sapi Pedaging.

ABSTRACT

This study aimed to determine the estrous status of beef cows through ferning tests, evaluation of vaginal epithelial cell profiles, and physical appearance of the vulva. Eleven beef cows were used in this study and divided into two groups: the first consisted of three cows for standard procedure testing, and the second group consisted of eight for field assessment. The parameters for the ferning test included the presence of fern-like crystals in saliva; the vaginal swab method identified cellular differences within one estrous cycle; and the physical appearance of the vulva was assessed for swelling, redness, and mucus. The results showed that beef cows in estrus exhibited fern-like crystal patterns in the ferning test, swelling and redness in the vulva, and dominance of superficial cells in the vaginal cytology profile. The methods used were complementary to assess the estrus status of beef cows.

Keywords: Beef Cattle, Estrous, Ferning Test, Vaginal Swab, Vulvar Morphology.

PENDAHULUAN

Peternakan sapi di peternakan rakyat menghadapi berbagai kendala dan kesulitan dalam proses pemeliharaan, baik terkait pakan, penyakit, maupun sistem reproduksi dan kelahiran sapi (Dimas, 2021). Produktivitas dari setiap jenis ternak bergantung secara langsung dan

tidak langsung pada kemampuan reproduksinya. Faktor reproduksi merupakan salah satu faktor yang memiliki nilai ekonomis sangat penting dalam usaha peternakan sapi yang dapat dilihat dari penampilan reproduksinya. Penampilan reproduksi dari suatu kelompok ternak dapat diukur dengan menggunakan beberapa

parameter, diantaranya adalah sistem perkawinan, umur pertama dikawinkan, umur penyapihan pedet, *service/conception* (S/C), umur pertama beranak, jarak antara dua kelahiran dan panen pedet per tahun (McDougall, 2006).

Permasalahan yang dihadapi dalam meningkatkan populasi ternak sapi salah satunya mengenai reproduksi. Salah satu langkah penting dalam pengelolaan reproduksi hewan ternak yang efisien adalah identifikasi dan konfirmasi estrus (Gangu *et al.*, 2021). Lama estrus dan kecepatan timbulnya estrus pada paritas ternak yang berbeda sangat penting diketahui untuk dijadikan pedoman dalam pelaksanaan inseminasi buatan (IB) (Ulvi dkk, 2014). Deteksi estrus merupakan salah satu hal penting dalam pengelolaan reproduksi. Kurangnya pemahaman atau kesalahan dalam mendeteksi estrus menyebabkan kegagalan perkawinan. Intervensi penggunaan hormon untuk sinkronisasi estrus merupakan upaya untuk menyeragamkan terjadinya estrus pada ternak sapi untuk menghemat waktu dan mempermudah pelaksanaan deteksi estrus (Irmaylin dkk, 2014).

Vulva pada sapi memberikan tampilan yang berbeda antara individu sapi yang sedang dalam kondisi estrus jika dibandingkan dengan sapi yang tidak estrus. Hormon estrogen dengan konsentrasi tinggi saat estrus menyebabkan perubahan morfologi vulva mulai dari keluarnya lendir, ukuran, warna, dan suhu

(Saara *et al.*, 2011). Meskipun kurang tepat, tanda berupa munculnya lendir, vulva bengkak dan hangat masih digunakan oleh peternak untuk menilai sapi sebagai kondisi estrus. Deteksi estrus dapat dilakukan dengan menilai kristalisasi saliva yang dikoleksi dari mulut sapi. Gambaran spesifik seperti daun pakis akan tampak jelas apabila dilihat dibawah mikroskop. Gambaran fering saliva akan terlihat jelas pada saat sapi berada pada puncak berahi (Silaban dkk, 2012). Metode lain yang dapat digunakan untuk mendeteksi estrus adalah dengan menggunakan gambaran sitologi ulas vagina. Prinsipnya metode tersebut memanfaatkan perubahan komposisi sel epitel vagina yang terjadi akibat perubahan hormonal selama siklus estrus (Reddy *et al.*, 2011).

Usap vagina telah digunakan untuk menentukan status estrus pada sapi Bali (Rahayu *et al.*, 2019) dan uji fering pada sapi Brebes (Silaban dkk, 2012). Akan tetapi, kombinasi penggunaan uji fering, usap vagina dan pengamatan morfologi vulva pada sapi sejauh penelusuran penulis hingga saat ini sulit diperoleh. Tujuan dari penelitian ini merupakan untuk menentukan status reproduksi melalui salivary fern, profil sel epitel vagina dan tampilan fisik vulva pada sapi. Manfaat penelitian ini untuk memudahkan penentuan status reproduksi sapi dan menjadi database untuk penelitian lanjutan.

MATERI DAN METODE

Lokasi dan Hewan Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2022 – April 2023. Lokasi penelitian berlangsung di 2 tempat yaitu laboratorium Unit Rehabilitasi dan Reproduksi, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, Institut Pertanian Bogor untuk data laboratorium menggunakan sapi betina induk sebanyak 3 ekor jenis peranakan ongole. Lokasi penelitian selanjutnya untuk pengambilan sampel lapangan berada di Desa Astomulyo, Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah dengan jumlah sapi betina induk sebanyak 8 ekor dari jenis simental dan angus.

Prosedur Penelitian

Sampel saliva, usap vagina dan foto morfologi vulva diambil setiap hari pada siang menuju sore hari. Sampel diambil selama 21 hari sesuai dengan siklus estrus sapi yang dapat terjadi dalam 18-24 hari. Dalam satu siklus estrus terbagi kedalam 4 fase yaitu fase tersebut dimana adanya fase proestrus, fase estrus, fase metestrus dan fase diestrus. Sapi pada masing-masing kandang dikekang menggunakan sekat bambu untuk meminimalisir pergerakan dari sapi selama pengambilan sampel.

Koleksi dan Pengamatan Saliva

Parameter yang diamati adalah gambaran ferning dari saliva. Pengamatan

ferning diamati melalui ciri-ciri dari tampilan ferning. Saliva diambil secara langsung pada mulut sapi dengan menggunakan *cotton bud* (Baby HUKI) kemudian dioleskan pada gelas objek untuk dibuat preparat ulas. Preparat ulas dikeringkan sekitar 10-15 menit hingga kering, setelah kering preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya (Olympus CX23, PT Fajar Mas Murni) dengan perbesaran 10x10 (Gnanamuthu & Rameshkumar, 2015). Pemeriksaan secara natif ini dilakukan tanpa menggunakan pewarnaan sel. Pengamatan meliputi gambaran karakteristik mikroskopik saliva sapi.

Pengambilan Citra Vulva

Pengambilan gambar dengan menggunakan kamera telepon genggam (Poco F4) dengan ketajaman 16 megapixel pada bagian vulva pada masing-masing sapi. Pengambilan gambar dilakukan sebanyak 1 kali pada jarak 50 cm pada bagian belakang sapi secara tegak lurus dari vulva. Gejala estrus terhadap pengamatan vulva dikelompokkan berdasarkan nilai: 5= vulva bengkak dan merah, 4= vulva merah dan bengkak, keluarnya mukus serviks, 3= keluarnya mukus serviks dan bengkak, 2= vulva merah dan bengkak, 1= vulva merah (Sönmez *et al.*, 2005)

Pengambilan Sampel dan Pengamatan Usap Vagina

Cotton bud (Baby HUKI) diarahkan ke vagina dan dilakukan pengusapan. Lendir

vagina yang didapatkan kemudian dioleskan pada gelas objek. Pemeriksaan secara natif ini dilakukan tanpa menggunakan pewarnaan sel. Setelah itu dapat dilakukan pengamatan pada mikroskop cahaya (Olympus CX23, PT Fajar Mas Murni) dengan perbesaran 10x10. Jenis sel epitel vagina ditentukan didasarkan pada bayangan morfologi sel yang terlihat (Patel *et al.*, 2011).

Analisis Data Penelitian

Data yang diperoleh dikelompokkan dan dianalisis sesuai dengan status reproduksi. Vulva sapi diukur dengan menggunakan perangkat lunak ImageJ (NIH USA). Data yang didapatkan dianalisa dan diinterpretasikan sesuai dengan masing-masing fase estrus. Hasil standar di Unit Rehabilitasi Reproduksi beserta hasil uji lapangan di Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah disajikan dalam gambar dan dideskripsikan secara naratif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

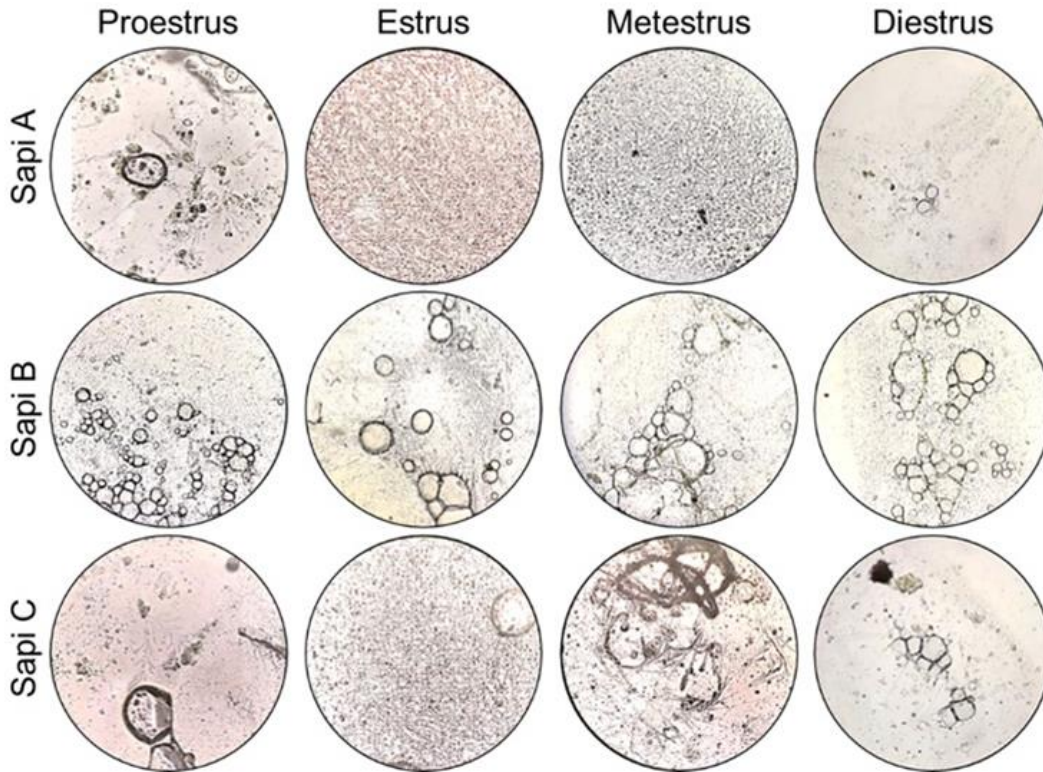
Hasil pengamatan penelitian didapatkan tampilan ferning saliva, morfologi fisik vulva, serta gambaran hasil ulas vagina yang dikoleksi setiap harinya dalam satu siklus estrus sapi (Gambar 1, 2, dan 3). Hasil pengamatan terdapat perubahan profil setiap parameter dari

sampel pengamatan. Perubahan-perubahan yang tampak menunjukkan adanya perbedaan siklus estrus pada sapi dilapangan (Gambar 4).

Hasil pengujian standar

Hasil pengamatan terdapat perubahan tampilan setiap kali pengambilan sampel. Perubahan-perubahan yang tampak menunjukkan adanya perbedaan dalam setiap fasenya. Hasil penelitian yang ditunjukkan pada Gambar 1 dalam fase proestrus menunjukkan ferning saliva tidak ditemukan bentuk kristal-kristal yang menyerupai pakis. Adapun kristal yang terbentuk sangat tipis dan kecil serta hanya terdapat pada beberapa titik dalam lapang pandang mikroskop. Kristal yang muncul hanya berupa garis kecil, sebagian besar terpisah dan tidak menyatu.

Hasil gambaran pola kristal pada fase estrus uji ferning saliva terbentuk kristal-kristal yang membentuk pola dan menyatu. Kristal yang menyatu sangat rapat dan memiliki percabangan yang banyak, terlihat jelas dan tidak samar. Lapangan pandang hampir dipenuhi oleh pola kristal yang menyerupai pakis. Pola yang ditunjukkan tidak bergerombol, namun sekaligus berderet satu sama lain dengan jarak yang rapat pada semua bagian.



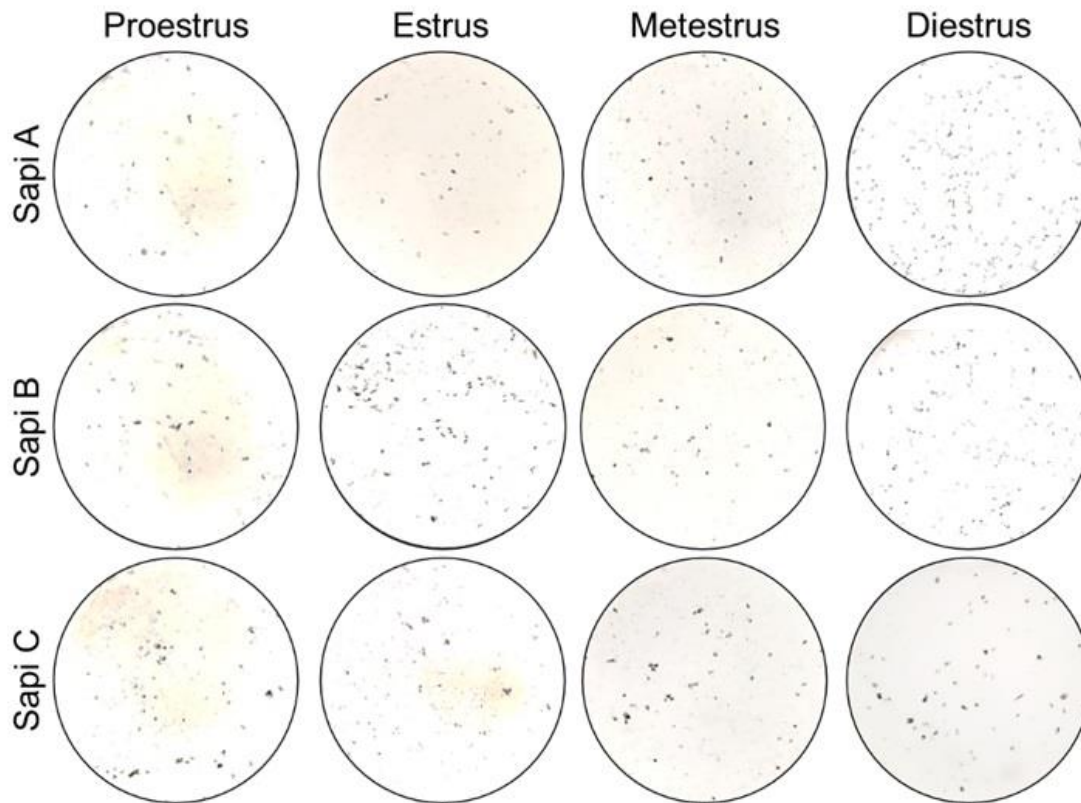
Gambar 1. Profil saliva pada uji ferning dari 3 ekor sapi peranakan ongole berdasarkan siklus estrus di Unit Rehabilitasi Reproduksi, Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University.

Hasil ferning saliva pada fase metestrus pada Gambar 1 menunjukkan kristal yang terbentuk cukup panjang dan memiliki beberapa cabang kecil pada sisi kristal yang terbentuk. Kristal yang terbentuk tidak bergerombol, kristal berbentuk tunggal. Ruang kosong dan adanya gelembung udara terbentuk sehingga kristal yang terbentuk tidak sempurna dalam satu lapangan pandang.

Hasil penelitian ferning saliva pada fase diestrus didapatkan kristal yang sangat tipis. Kristal yang muncul menunjukkan bentuk seperti jarum dengan jarak yang jauh dan terdapat pada satu bagian kecil lapangan pandang saja. Kristal yang terbentuk terlihat tunggal

dan ada beberapa dalam satu lapangan pandang. Fase ini juga terlihat kristal ferning tidak ada sama sekali.

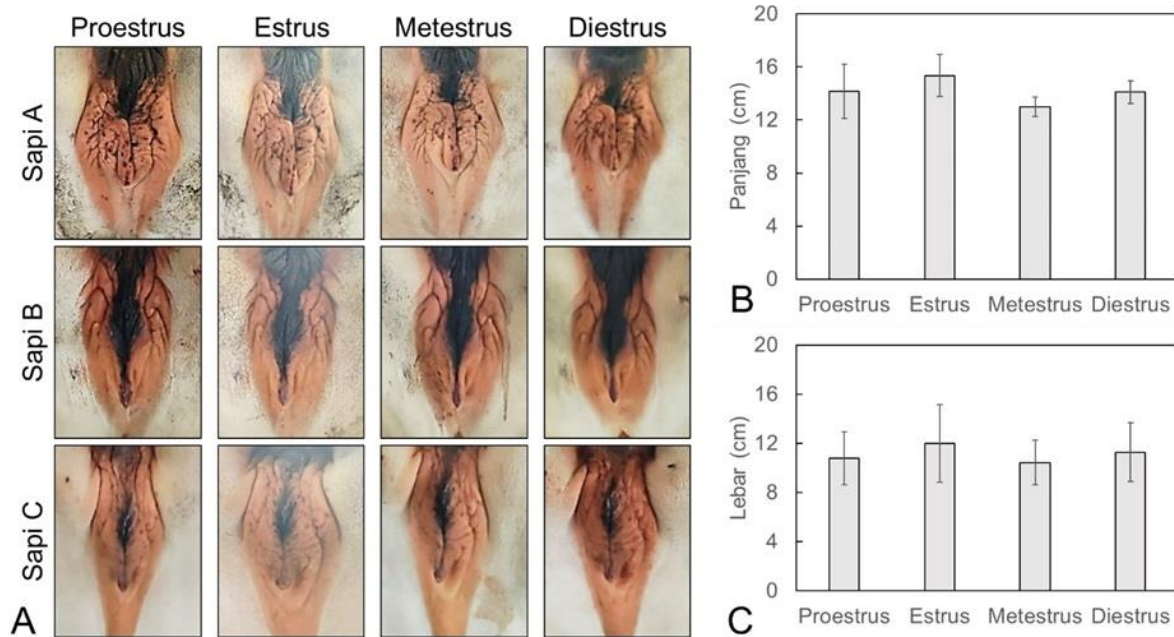
Gambaran sitologi vagina satu siklus estrus didapatkan 4 jenis sel yaitu parabasal, intermediet, superfisial dan kornifikasi (Gambar 2). Hasil yang didapat menunjukkan, bahwa sel superfisial mendominasi saat sapi estrus. Sel intermediet dan parabasal mendominasi pada fase diestrus, kemudian sel intermediet ditemukan pada saat kondisi sapi tidak dalam keadaan estrus. Jumlah sel yang muncul saat pengamatan pada fase estrus tergolong sedikit dibandingkan dengan sel-sel yang muncul pada fase diestrus yang hampir memenuhi satu lapangan pandang mikroskop.



Gambar 2. Profil usap vagina tanpa pewarnaan pada 3 ekor sapi peranakan ongole berdasarkan siklus estrus di Unit Rehabilitasi Reproduksi, Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University.

Hasil yang didapatkan morfologi vulva sapi menunjukkan perubahan yang berbeda. Gambar 3 menampilkan vulva tampak mengalami kemerahan dan kebangkakan pada area bagian luar vulva. Cairan mukus serviks tidak ada dalam keadaan tersebut pada sekitar area luar vulva. Kemerahan dan kebangkakan hampir sama ditunjukkan pada saat kondisi sapi estrus dan pada saat tidak estrus. Kebengkakan yang terjadi pada area vulva saat kondisi estrus ditunjukkan dengan perubahan panjang dan lebar vulva. Gambar 3B dan 3C

menunjukkan pada fase estrus memiliki ukuran yang lebih panjang dan lebih lebar dibandingkan fase lainnya. Gejala kemerahan pada permukaan vulva tidak menunjukkan perubahan yang signifikan dari awal pengamatan dan akhir pengamatan. Morfologi vulva saat estrus yang didapatkan pada hasil penelitian dapat digolongkan pada skoring 2 dengan menunjukkan adanya kebangkakan dan kemerahan serta tidak ditemukannya cairan mukus serviks.

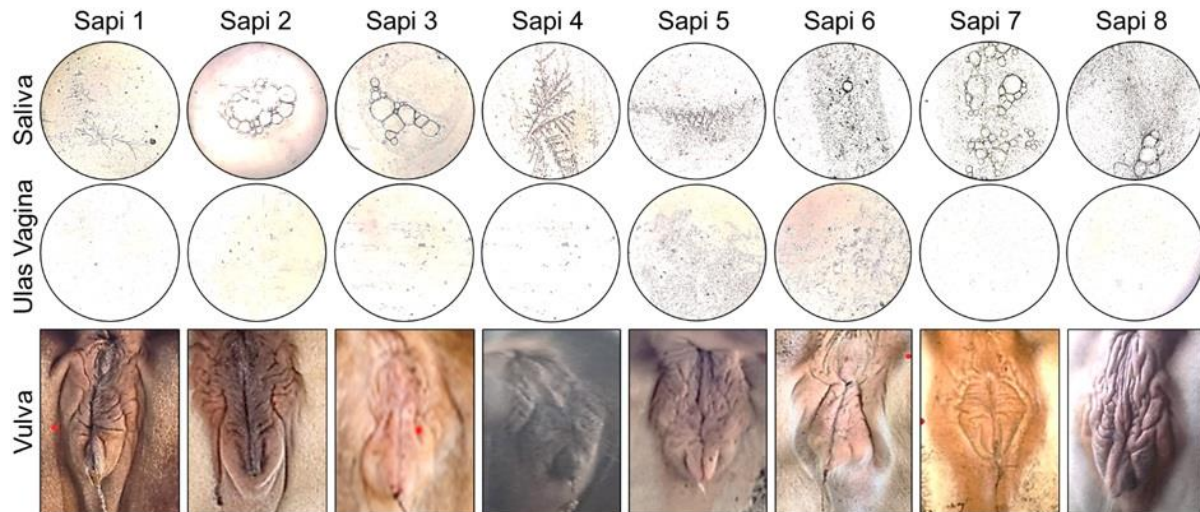


Gambar 3. Profil morfologi vulva pada 3 ekor sapi peranakan ongole berdasarkan siklus estrus di Unit Rehabilitasi Reproduksi, Divisi Reproduksi dan Kebidanan, Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University. (A) Tampilan vulva sapi, (B) Panjang vulva, dan (C) Lebar vulva.

Hasil uji lapangan

Hasil yang didapatkan pada pengujian terhadap 8 ekor sapi dapat dilihat dalam Gambar 4. Hasil pengujian fernaling test, ulas vagina, dan morfologi vulva menunjukkan bahwa sapi 2, 3, 6, 7 tidak sedang dalam keadaan estrus. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak terbentuknya kristal menyerupai pola pakis yang diamati pada mikroskop. Morfologi vulva tidak menunjukkan adanya kebengkakan dan perubahan

warna kemerahan pada permukaannya. Hasil ulas vagina pada pengamatan mikroskop tidak menunjukkan sel-sel superfisial. Pengamatan pada sapi 1, 4, 5, 8 menunjukkan adanya kristal yang berbentuk tunggal dan hanya satu bagian dalam satu lapangan pandang. Hasil tersebut menunjukkan tidak termasuk dalam kategori estrus, dapat digolongkan dalam fase proestrus dan metestrus.



Gambar 4. Profil uji ferning pada saliva, pemeriksaan ulas vagina dan tampilan morfologi vulva pada 8 ekor sapi di Desa Astomulyo, Kecamatan Punggur, Kabupaten Lampung Tengah.

Pembahasan

Estrus merupakan tahap siklus saat sapi betina menerima sapi jantan untuk kawin. Estrus berlangsung selama 12-18 jam akibat dari efek hormon pada pusat perilaku otak. Selama estrus, folikel preovulasi tumbuh dan mengeluarkan estradiol dengan konsentrasi tinggi, yang menginduksi umpan balik positif pada hipotalamus dan hipofisis anterior sehingga meningkatkan konsentrasi hormon luteinizing (LH). Perilaku estrus bertepatan dengan tingkat progesteron rendah, konsentrasi estradiol tinggi, dan lonjakan hormon gonadotropin (GnRH) dan LH yang menghasilkan ovulasi 24-32 jam setelah awal tanda estrus terlihat (Islam, 2011).

Profil endokrin juga menginduksi perubahan pada saluran reproduksi yang mengarah ke tanda-tanda estrus

sekunder, termasuk adanya edema vulva, hiperemia vagina, dan peningkatan tonus vulva saat estrus. Selama waktu estrus, lendir serviks menjadi lebih banyak, jernih, dan kurang kental, yang memfasilitasi transportasi sperma melalui serviks (Robertano dan Palomares, 2021). Tampilan estrus yang tidak nyata merupakan bentuk gejala adanya gangguan reproduksi berupa estrus samar (*silent heat*) sehingga sulit dikenali dengan pasti estrus pada sapi (Nasution *et al.*, 2021)

Pembentukan kristal ditunjukkan pada Gambar 1 saat keadaan estrus terbentuk secara jelas kristal yang memiliki pola. Kristal dengan pola seperti pakis didapatkan pada fase estrus. Kristal tunggal juga ditemukan pada sapi 1 dan 4 pada hasil uji lapang. Pola ferning sangat bergantung pada fenomena dan pola percabangan yang ditimbulkan dari kristal yang berbentuk seperti pakis. Ferning

yang terbentuk bergantung pada konsentrasi elektrolit, khususnya rasio ion natrium dan kalium terhadap ion kalsium dan magnesium, dan rasio ion terhadap protein. Bahan protein mengontrol kristalisasi yang secara tidak langsung dengan melapisi permukaan kristal dan memblokir ekstensi pakis. Peristiwa tersebut menjadikan rasio garam terhadap spesies makromolekul tampak menjadi penting dalam penentuan pakis (Ali, 2014).

Permukaan mukosa vagina selama fase estrus terdapat beberapa jenis sel. Sel-sel tersebut merupakan sel parabasal, intermediet, dan superfisial. Siklus estrus ini dipengaruhi oleh hormon dan secara tidak langsung memengaruhi profil sitologi vagina (Rahayu *et al.*, 2019). Adanya sel pada vagina terdiri dari sel parabasal, sel superfisial dan intermediet yang dapat ditemukan pada suatu siklus estrus. Hasil pada penelitian ini seperti ditunjukkan pada Gambar 2 didapatkan bahwa pada saat estrus didominasi oleh sel superfisial dan ketika tidak estrus terdapat sel parabasal dan perantara. Sel parabasal merupakan sel epitel kecil yang terdapat pada vagina, berbentuk bulat, dan nukleus lebih besar dari sitoplasma. Sel superfisial adalah sel-sel yang berukuran besar dan berbentuk poligonal dan rata tetapi tidak selalu memiliki nukleus piknotik. Sel perantara

memiliki bentuk yang bervariasi dan memiliki ukuran 2-3 kali dibandingkan dengan sel parabasal (Siregar *et al.*, 2016).

Lendir pada saat estrus tidak ditemukan pada penelitian ini seperti ditunjukkan pada Gambar 3. Lendir yang muncul kadang tidak bersamaan dengan munculnya warna kemerahan dan pembengkakan pada vulva. Kuantitas lendir pada individu yang berbeda juga dapat terjadi. Kondisi ini disebabkan oleh status nutrisi, kuantitas lendir sebagai sifat fisik mempunyai kandungan berupa air, protein, lemak, karbohidrat dan mineral (Zaituni dkk, 2016). Gambar 3 menunjukkan adanya kebengkakan dan kemerahan pada saat estrus. Fase estrus menunjukkan adanya perubahan warna, keberadaan lendir dan kebengkakan akan cenderung terlihat perbedaannya pada rentang masa estrus. Sapi dalam kondisi estrus juga ditandai dari vulva dengan peningkatan sirkulasi sehingga tampak merah (Rosyid dkk, 2018). Gejala estrus yang terjadi diamati setiap 1 kali dalam 3 hari. Estrus pada sapi di sore hari hingga pagi hari mencapai 60%, sedangkan pada pagi hari sampai sore hari mencapai 40%. Beberapa kondisi sapi tidak menunjukkan tanda-tanda estrus yang signifikan tetapi mengalami silent ovulations (Zaituni dkk, 2016).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Analisa status estrus sapi melalui ferning test, ulas vagina, dan morfologi vulva dalam keadaan estrus didapatkan terbentuknya kristal menyerupai pola pakis, adanya kemerahan dan kebengkakan pada vulva, dan sel superfisial mendominasi saat sapi estrus. Keadaan sapi yang tidak mengalami estrus tidak terbentuk kristal dengan pola pakis, vulva tidak mengalami kebengkakan dan kemerahan, serta sel-sel pada vagina didominasi oleh sel parabasal dan sel intermediet. Hasil yang didapatkan dapat dijadikan sebagai standar dalam deteksi estrus.

Saran

Perubahan pada morfologi vulva (perubahan warna, ukuran, suhu dan lendir) secara sendirinya tidak dapat digunakan sebagai penanda utama puncak estrus. Pengamatan estrus pada morfologi vulva dapat dikombinasikan dengan uji lain seperti uji ferning saliva dan usap vaginal dapat meningkatkan ketepatan deteksi waktu puncak birahi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali M. 2014. Tes Ferning Air Mata: Teknik Klinis Sederhana Untuk Mengevaluasi Film Air Mata Ocular. *Clinical and Experimental Optometri*, 97(5):399-406.
<https://doi.org/10.1111/cxo.12160>
- Dimas HP. 2021. Penanganan Kasus Prolapsus Uteri Pada Sapi Induk di PT. Indo Prima Beef II Lempuyang Bandar, Lampung Tengah [skripsi]. Bandar Lampung. Politeknik Negeri Lampung
- Gangu NS, Apama H, Varun K, Varij N, Veerappa GV, Dheer S, Suneel KO. 2021. Validation of Salivary Ferning Based Estrus Identification Method in a Large Population of Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*) Using Foldscope. *Reproductive Biology*, 21(3):1-8. <http://doi:10.1016/j.repbio.2021.100528>.
- Gnanamuthu G, Rameshkumar K. 2015. Determination of Estrus in Umblachery Cattle (*Bos indicus*) by Salivary Fern Pattern. *History*. 13(41):68-78
- Irmaylin SM, Madi H, Purnama ES. 2014. Respon Kecepatan Timbulnya Estrus dan Lama Estrus Pada Berbagai Paritas Sapi Peranakan Ongole (PO) Setelah Dua Kali Penyuntikan Prostaglandin F2 α (PGF2 α). *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 1(2):41-49.
- Islam R. 2011. Synchronization of estrus in cattle: a review. *Veterinary World*, 4(3):136-141.
- McDougall S. 2006. Reproduction Performance and Management of Dairy Cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 52(1):185-94.
- Nasution M, Siregar TN, Sayuti A, Hafizuddin H, Rosmaidar R, Adam M. 2021. Identification of Factors Causing Reproductive Disorders of The Cow Found in North Labuhanbatu Regency, North Sumatera Province. *Livestock and Animal Research*, 19(1):80-86.

- Patel PV, Kumar S, Kumar V, Vidya GD. 2011. Quantitative Cytomorphometric Analysis of Exfoliated Normal Gingival Cells. *Journal of Cytology*, 28(2):66-72. doi: 10.4103/0970-9371.80745
- Rahayu J, Salmah S, Yusuf M, Ramadhan B, Sari DK. 2019. The Profile and Percentage of Vaginal Epithelial Cell Numbers During The Estrous Cycle in Bali Cattle. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 247(1):1-10. doi: 10.1088/1755-1315/247/1/012006
- Reddy KCS, Raju KGS, Rao KS, Rao KBR. 2011. Vaginal Cytology, Vaginoscopy and Progesterone Profil: Breeding Tools in Bitches. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 25(2):51-54. doi: 10.33899/IJVS.2011.5656
- Robertano A, Palomares. 2021. Estrus detection. *Bovine Reproduction*, 35(2):431-446. doi:10.1002/9781119602482.ch 3.
- Rosyid R, Risa U, Naela WYD, Dhasia R, Nur IP, Morrisid A, Tri STW. 2018. Profil Vulva dan Suhu Tubuh Kambing Peranakan Etawa Pada Sinkronisasi Estrus Menggunakan Medroxy Progesterone Acetate dan Suplementasi Zinc (Zn). *Jurnal Nasional Teknologi Terapan*, 2(2):198-211. <https://doi.org/10.221416/jntt.42755>.
- Saara S, Clark S, Knox R, Tamassia M. 2011. Vulva Skin Temperature Changes Significantly During Estrus in Swine As Determined by Digital Infrared Thermograph. *Journal of Swine Health and Production*, 19(3):152. <http://dx.doi.org/10.23960/jipt.v2i1.p%25p>
- Silaban NL, Setiatin ET, Sutopo. 2012. Tipologi Ferning Sapi Jawa Brebes Betina Berdasarkan Periode Berahi. *Animal Agriculture Journal*, 1(1):777-778.
- Siregar NT, Melia J, Rohaya, Thasmi CN, Masyitha D, Wahyuni S, Rosa J, Nurhafni, Panjaitan B, Herrialfian. 2016. Determinating Proportion of Exfoliative Vaginal Cell During Various Stages of Estrus Cycle Using Vaginal Cytology Techniques in Aceh Cattle. *Veterinary Medicine International*, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2016/3976125>
- Sönmez M, Demirci E, Türk G, Gür S. 2005. Effect of Season on Some Fertility Parameters of Dairy and Beef Cows in Elazığ Province. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 29(3):821-828.
- Ulvi FH, Madi H, Siswanto. 2014. Respon Kecepatan Timbulnya Estrus dan Lama Estrus Pada Berbagai Paritas Sapi Bali Setelah Dua Kali Pemberian Prostaglandin F2 α (PGF2 α). *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 1(2):33-40. <http://dx.doi.org/10.23960/jipt.v2i1.p%25p>
- Zaituni U, Ferdinal R, Hendri, Yulia Y. 2016. Waktu Kemerahan Vulva Saat Inseminasi Buatan Merupakan Faktor Penentu Angka Kebuntingan Sapi di Sumatera Barat. *Jurnal Veteriner*, 17(4):501-509. doi: 10.19087/jveteriner.2016.17.