

# **PROFIL PROTEIN HIPOFISA SAPI PERAH PERANAKAN FRIES HOLLAND (PFH) BETINA FASE FOLIKULER DAN LUTEA**

**Nurul Isnaini dan Moh Nur Ihsan**

**Jurusan Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang**

## **ABSTRAK**

Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui profil protein hipofisa sapi perah PFH betina fase folikuler dan fase luteal dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan untuk melaksanakan pengujian jenis protein tertentu yang terdapat dalam hipofisa sapi perah PFH. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah hipofisa sapi perah PFH betina Fase Folikuler dan Fase Luteal. Sampel hipofisa didapatkan dari Rumah Potong Hewan (RPH) Singosari Malang. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode observasi. Dimana sampel hipofisa sapi perah PFH fase folikuler dan fase luteal dilakukan isolasi protein, dan ditentukan Berat Molekul (BM) proteinnya. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis diskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil protein hipofisa fase folikuler dan fase luteal sapi perah PFH memiliki perbedaan. Pada hipofisa fase folikuler memiliki 12 pita protein, yaitu 163; 112,3; 101,3; 85,8; 80,6; 71,2; 53,3; 45,2; 39,9; 32,4; 29,8; dan 24,8 kDa. Pada hipofisa fase luteal memiliki 12 pita protein, yaitu 163; 112,3; 101,3; 85,8; 71,2; 60,3; 53,3; 45,2; 39,9; 32,4; 29,8; dan 24,8 kDa. Pita protein yang membedakan adalah pita dengan berat molekul 80,6 kDa hanya terdapat pada hipofisa fase folikuler, dan pita dengan berat molekul 60,3 kDa hanya terdapat pada hipofisa fase luteal. Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah terdapat perbedaan profil protein yang dihasilkan pada hipofisa fase folikuler dengan hipofisa fase luteal. Saran yang diberikan adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu uji *immunoblotting* atau *western blotting* (WB) untuk memastikan keberadaan protein-protein tertentu.

Kata kunci: Hipofisa, folikuler, luteal, berat molekul protein.

## **HIPOPHYSIS PROTEIN PROFILE OF CROSSBREED FRIESH HOLLAND DAIRY CATTLE IN FOLLICULAR AND LUTEAL PHASE**

### **ABSTRACT**

The aim of this research was to identification of hipophysis protein profile of crossbreed friesh holland dairy cattle follicular and luteal phase by SDS-PAGE method. The result of this research is expected can be used as reference for the examination of a existing certain protein type in hipophysis of crossbreed friesh holland dairy cattle. The material in this research was hipophysis of crossbreed friesh holland

dairy cattle follicular phase and luteal phase, taken away from House of Animal Slaughtering Singosari Malang. The method used in this research was observation. Hipophysis sample of crossbreed friesh holland dairy cattle follicular phase and luteal phase was conducted protein isolation and determine weight protein molecule. The data were analysed with descriptive analysis. The result of this research indicate that hipophysis protein profile follicular phase and luteal phase of crossbreed friesh holland dairy cattle have difference. In hipophysis follicular phase have 12 protein bands, there were: 163; 112,3; 101,3; 85,8; 80,6; 71,2; 53,3; 45,2; 39,9; 32,4; 29,8 and 24,8 kDa. In hipophysis luteal phase have 12 protein bands, there were: 163; 112,3; 101,3; 85,8; 71,2; 60,3; 53,3; 45,2; 39,9; 32,4; 29,8 and 24,8 kDa. Weight protein molecule 80,6 kDa just in hipophysis follicular phase, and weight protein molecule 60,3 kDa just in hipophysis luteal phase. The conclusion this research a protein profile hipophysis follicular phase difference with a protein profile hipophysis luteal phase of crossbreed friesh holland dairy cattle. In suggestion to do an extended research by *immunoblotting* or *westernblotting* (WB) to make sure a certain protein.

Keywords: Hipophysis, follicular, luteal, weight protein molecule.

## PENDAHULUAN

Otak merupakan organ yang paling utama dan memiliki peran yang sangat penting dalam suatu kehidupan hewan, otak dilindungi oleh tulang kepala yang sering disebut dengan tengkorak. Otak dapat di bagi menjadi tiga bagian utama yaitu: Otak bagian depan, Otak tengah dan Otak belakang (Purnomo, 2009). Menurut Frandson (1986) pembagian otak hewan dewasa secara garis besar terbagi menjadi tiga bagian yaitu serebrum, serebelum, dan batang otak. Dalam anatomi hewan, otak atau *encephalon*, adalah sentral supervisi dari sistem syaraf. Walaupun otak sering disebut sebagai pusat supervisi dari sistem syaraf sentral vertebrata, istilah yang sama juga dapat digunakan untuk sistem syaraf sentral pada invertebrata. Pada kebanyakan hewan, otak terletak pada kepala (Anonymous, 2009<sup>e</sup>)

Hipofisa serebri (*kelenjar pituitary*) merupakan bagian otak berupa kelenjar buntu yang terletak

pada dasar otak di dalam sela tursika (*Turkish saddle*), yaitu suatu depresi pada tulang sphenoid pada langit-langit rongga kranial (Frandson, 1986)

Hipofisa adalah kelenjar yang menghasilkan bermacam-macam hormon yang bertugas meregulasi sekresi hormon-hormon kelenjar lain. Kelenjar-kelenjar berikut ini bekerja di bawah pengaruh hipofisa: gonad, adrenal, tiroid dan mammae. Sedemikian luasnya peran hipofisa membuat kelenjar ini mendapat julukan "*Master of Gland*" (Anonymous, 2009<sup>b</sup>). Kelenjar hipofisa terletak di dalam legokan atau cekungan pada dasar ruang otak yang dikenal dengan sella turcica. Hipofisa mensekresikan hormon-hormon yang beberapa diantaranya berhubungan secara langsung dengan reproduksi (Anonymous, 2009<sup>c</sup>)

Hormon yang disekresikan oleh kelenjar hipofisa diantaranya adalah Thyroid Stimulating Hormon (TSH), Adrenocorticotropic Hormon (ACTH),

Luteinizing Hormon (LH), Follicle Stimulating Hormon (FSH) dan Prolaktin, Hormon pertumbuhan / Growth Hormon (GH) (Anonymous, 2009<sup>b</sup>).

Penyusun hormon sebagian besar adalah dari protein, yang merupakan salah satu dari biomolekul raksasa, selain polisakarida, lipid, dan polinukleotida, yang merupakan penyusun utama makhluk hidup. Selain itu, protein merupakan salah satu molekul yang paling banyak diteliti dalam biokimia (Anonymous, 2009<sup>d</sup>)

Protein adalah salah satu biomakromolekul yang penting perannya dalam makhluk hidup. Fungsi dari protein itu sendiri secara garis besar dapat dibagi ke dalam dua kelompok besar, yaitu sebagai bahan struktural dan sebagai mesin yang bekerja pada tingkat molekular (Anonymous, 2008<sup>a</sup>)

Melaksanakan ekstraksi protein harus memperhatikan cara dan sifat hasil ekstraksi, hal ini mengingat bahwa protein mudah mengalami denaturasi, maka perlu dipertimbangkan pemilihan metode untuk memperbaiki kualitas isolat yang dihasilkan (Aulanni'am, 2005)

*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) merupakan suatu metode atau teknik yang banyak digunakan dalam ilmu biokimia atau biologi molekular untuk memisahkan protein sesuai dengan mobilitas elektroforesis atau fungsi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekul. Prinsip elektroforesis yang dilakukan yaitu pemisahan fraksi-fraksi campuran berdasarkan atas partikel bermuatan, di bawah pengaruh medan listrik (Anonymous, 2009<sup>f</sup>)

Elektroforesis gel poliakrilamida yang dikombinasikan dengan suatu detergen *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) yang digunakan untuk memisahkan dan meneliti jumlah dan berat molekul rantai protein dan rantai subunit protein. Penentuan berat molekul suatu fraksi dapat dilakukan dengan cara kualitatif dan kuantitatif. Cara kualitatif dapat dilakukan dengan membandingkan pita dengan marker dan cara kuantitatif dapat dilakukan dengan menghitung mobilitas relative (Anonymous, 2008).

Yang menjadi masalah dalam penelitian ini adalah bagaimanakah profil protein hipofisa sapi perah PFH betina fase folikuler dan fase luteal dengan menggunakan metode SDS-PAGE?

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil protein hipofisa sapi perah PFH betina fase folikuler dan fase luteal dengan menggunakan metode SDS-PAGE.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi tentang profil protein hipofisa sapi perah PFH betina fase folikuler dan fase luteal dengan menggunakan metode SDS-PAGE. Dan digunakan sebagai dasar untuk mengetahui keberadaan protein-protein tersebut melalui uji *immunoblotting* atau *westernblotting*.

## **MATERI DAN METODE**

### **Materi Penelitian**

Materi penelitian yang digunakan adalah hipofisa sapi perah PFH betina Fase Folikuler dan Luteal yang didapatkan dari RPH Singosari.

## Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode observasi. Dimana sampel hipofisa sapi perah PFH fase folikuler dan luteal dilakukan isolasi protein, dan ditentukan BM proteinnya.

### Tahapan penelitian:

#### a. Koleksi Sampel Hipofisa

Koleksi sampel hipofisa dilakukan di RPH Singosari, Hipofisa yang didapatkan segera dibersihkan dan dimasukkan ke dalam steroform yang berisi es batu untuk menghindari kerusakan sampel saat diperjalanan, kemudian disimpan di dalam freezer pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk diproses di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

#### b. Isolasi Protein Hipofisa:

1. Ditimbang masing masing 1 gr hipofisa fase folikuler dan fase luteal
2. Digerus sampel dengan mortar dingin
3. Ditambahkan 5 ml larutan buffer *Glutamic Acid Decarboxylase* (GAD)
4. Diaduk dengan pestle (batang penggerus mortar)
5. Dimasukan sampel ke dalam tabung propilen
6. Dihomogenkan dengan vortek selama 10 menit
7. Disonikasi dengan sonikator selama 10 menit
8. Disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang ( $25^{\circ}\text{C}$ )
9. Diambil supernatan dan dibuang endapannya

10. Ditambahkan supernatan dengan larutan etanol (et-OH) perbandingan 1:1

11. Diendapkan dan disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit

12. Diendapkan sambil dikering anginkan kemudian penambahan larutan tris-HCl pH 6,8 sebanyak 20 mm dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### c. Absorbansi Sampel (Penentuan Kadar Protein):

1. Diambil sampel sebanyak 10 mikroliter
2. Ditambahkan dengan larutan tris Cl sebanyak 190 mikroliter dan larutan Biuret sebanyak 800 mikroliter
3. Diukur absorbansi dengan panjang gelombang 541 nm menggunakan spektrofotometer

#### d. Penentuan Profil Protein Menggunakan Metode SDS-PAGE:

1. Persiapan Gel dengan larutan separating Gel dan stacking Gel.

Plat gel dibuat dengan merangkai dua plat kaca dengan jarak antara plat  $\pm 1$  mm. Gel dibuat dua lapis yaitu gel sebagai tempat pengumpulan sampel (*stacking gel*) dan gel sebagai media untuk pemisahan protein (*separating gel*). Campuran *separating gel* dimasukkan hati-hati ke dalam plate menggunakan mikropipet. Dibiarkan 10-30 menit hingga terbentuk gel. Berikutnya *stacking gel* dituang di atas *separating gel* sambil dipasang sisir hingga terbentuk gel berikut sumurannya. Didiamkan selama 30 menit, setelah terbentuk gel, sisir diangkat dengan hati-hati. Selanjutnya

plate dipasang pada alat elektroforesis, berikutnya buffer dituangkan pada bejana elektroforesis.

## 2. Pemasukan sampel dan proses running

Lima belas (15) mikroliter sampel ditambah lima belas (15) mikroliter larutan *Reducing Sampel Buffer* (RSB), dan dimasukkan ke dalam ependorf, kemudian dipanaskan dalam penangas air 100 °C selama 3 menit. Setelah didinginkan sampel dimasukkan dalam sumur-sumur gel dengan volume 15-20 mikroliter untuk tiap sumur. Kemudian anoda dihubungkan pada resevoir bawah, dan katoda dihubungkan pada resevoir atas. Power supply dihidupkan dengan arus listrik 30 mA. Proses pemisahan (*Running*) dihentikan setelah warna biru dari penanda mencapai ketinggian  $\pm 0,5$  cm dari batas bawah plate gel.

## Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah BM protein hipofisa sapi perah PFH betina fase folikuler dan luteal.

## Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis diskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam pelaksanaan penelitian identifikasi profil protein ini menggunakan sampel hipofisa pada sapi perah Peranakan Fries Holland (PFH) betina fase folikuler dan fase luteal. Sampel hipofisa ini dikoleksi atau didapatkan dari Rumah Potong Hewan (RPH) Singosari dengan dilakukan recording atau pencatatan mulai dari awal koleksi sampel hingga proses penentuan Berat Molekul (BM)

protein selesai dilakukan dan didapatkan perbandingan antara Berat Molekul (BM) protein hipofisa fase folikuler dengan Berat Molekul (BM) protein hipofisa fase luteal. Menurut Adnan (2006) kelenjar hipofisa merupakan kelenjar buntu (endokrin) yang mensekresikan atau menghasilkan hormon yang dapat mempengaruhi kelenjar endokrin lainnya. kelenjar hipofisa ini memiliki bobot 0,5-1 gram, kelenjar hipofisa terbagi menjadi dua lobus atau bagian yaitu lobus anterior dan lobus posterior.

Kelenjar hipofisa terletak disebelah bawah bagian depan otak besar (*diencephala*) yang terlindung dalam sella tursica di dasar tengkorak. Kelenjar hipofisa berperan sangat penting dalam mengatur aktivitas ovarium dalam suatu siklus birahi yang terbagi menjadi 4 fase (proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus) (Partodihardjo, 1987).

Menurut Hunter (1981) siklus birahi pada sapi perah ditinjau dari pembentukan folikel terbagi menjadi 2 fase yaitu fase folikuler dan fase luteal. Fase folikuler merupakan suatu keadaan dimana terjadi pertumbuhan folikel yang dimulai dari primordial folikel hingga terbentuk menjadi folikel de Graaf yang siap ovulasi. Fase luteal merupakan suatu keadaan terjadinya perubahan folikel de Graaf setelah ovulasi menjadi corpus albican. Siklus reproduksi atau lebih dikenal dengan siklus birahi pada sapi tidak lepas dari peran penting sistem hormonal yang disekresikan dari kelenjar hipofisa yaitu hormon FSH dan LH.

Hasil penelitian identifikasi profil protein hipofisa ini digunakan metode observasi yaitu dengan mengamati profil protein berupa pita-

pita protein yang tampak pada gel elektroforesis. Kemudian dibandingkan antara pita-pita protein yang tampak pada sampel hipofisa fase folikuler dengan pita-pita protein yang tampak pada sampel hipofisa fase luteal, yang kemudian dilihat dan diamati pita-pita protein tersebut sama atau berbeda. Selanjutnya memberikan penjelasan kedua pita protein tersebut dengan didukung oleh penelitian-penelitian terdahulu dan sumber informasi lain, berupa literatur bidang ilmu tentang sistem hormonal maupun yang berhubungan dengan fase folikuler dan fase luteal pada ternak sapi

Profil protein dari hasil isolasi sampel hipofisa sapi perah PFH telah dikonfirmasi menggunakan metode SDS-PAGE dengan konsentrasi gel 12%. Penggunaan konsentrasi gel 12% menggunakan acuan penelitian terdahulu (Lussier, 1993).

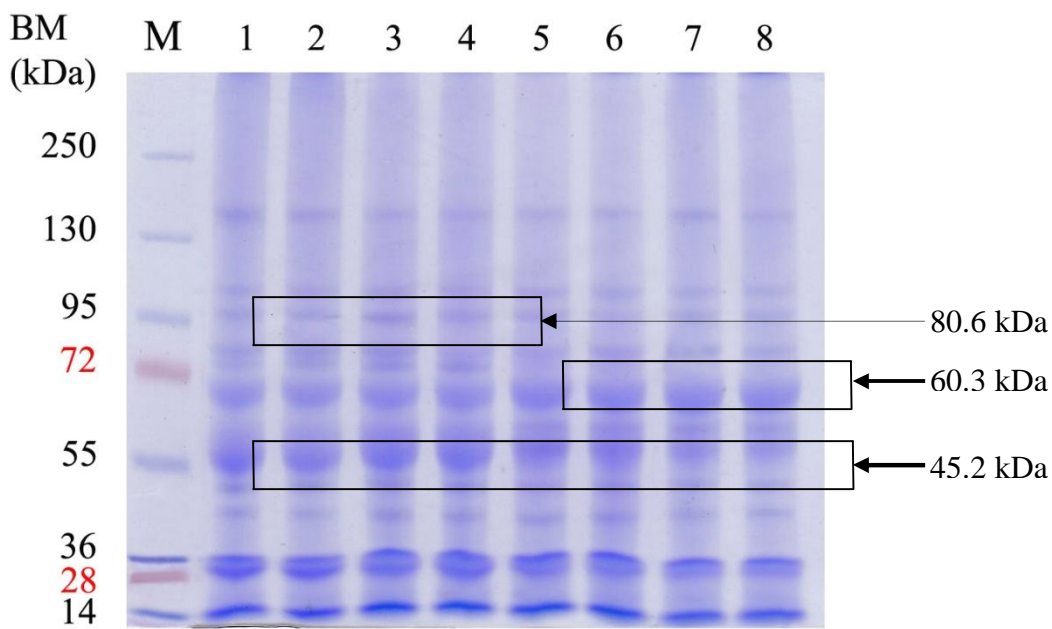
Hasil identifikasi profil protein hipofisa sapi perah PFH betina fase folikuler dan fase luteal dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari hasil identifikasi profil protein dengan metode SDS-PAGE menunjukkan bahwa profil protein hipofisa fase folikuler dengan hipofisa fase luteal memiliki persamaan jumlah pita protein yaitu keduanya terdapat 12 pita protein, tetapi terdapat 2 pita protein yang membedakan kedua isolat tersebut. Pita protein pada hipofisa fase folikuler adalah 163; 112,3; 101,3; 85,8; 80,6; 71,2; 53,3; 45,2; 39,9; 32,4;

29,8; dan 24,8 kDa. Sedangkan pita protein pada hipofisa fase luteal adalah 163; 112,3; 101,3; 85,8; 71,2; 60,3; 53,3; 45,2; 39,9; 32,4; 29,8; dan 24,8 kDa. Terdapat 2 pita protein yang berbeda antara kedua isolat tersebut pada Tabel 1.

Berat molekul protein yang terlihat pada Tabel 1, merupakan hasil penelitian yang menunjukkan, bahwa banyak terdapat kesamaan antara berat molekul protein hipofisa fase folikuler dengan berat molekul hipofisa fase luteal, akan tetapi dari berbagai kesamaan berat molekul protein tersebut terdapat dua berat molekul protein yang membedakan, yaitu protein dengan berat molekul 80,6 kDa yang hanya terdapat pada hipofisa fase folikuler, dan protein dengan berat molekul 60,3 kDa hanya terdapat pada hipofisa fase luteal.

Berdasarkan penelitian terdahulu didapatkan hasil identifikasi profil protein pada hipofisa sapi yaitu berat molekul yang berkisar antara 11-170 kDa (Lussier, 1993). Hubungan antara jaringan hipofisa dengan fase folikuler dan fase luteal adalah terletak pada sistem hormonal yang bekerja pada organ reproduksi. Hormon reproduksi dari hipofisa yang mempengaruhi fase folikuler dan fase luteal adalah FSH, dan LH. Keduanya merupakan *glycoprotein* yang mempunyai berat molekul antara 30 sampai 67 kDa (Partodihardjo, 1987).



Gambar 1. Profil pita protein hipofisa

Keterangan:

- 1-2 : Hipofisa Folikuler Sampel I
- 3-4 : Hipofisa Folikuler Sampel II
- 5-6 : Hipofisa Luteal Sampel I
- 7-8 : Hipofisa Luteal Sampel II
- M : Marker Protein
- BM : Berat Molekul
- kDa : Kilodalton

Tabel 1. Konfirmasi pita protein hipofisa

| Sampel ke- | BM (kDa) |       |       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|------------|----------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|            | 163      | 112.3 | 101.3 | 85.8 | 80.6 | 71.2 | 60.3 | 53.3 | 45.2 | 39.9 | 32.4 | 29.8 | 24.8 |
| 1          | v        | v     | v     | v    | v    | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    |
| 2          | v        | v     | v     | v    | v    | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    |
| 3          | v        | v     | v     | v    | v    | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    |
| 4          | v        | v     | v     | v    | v    | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    |
| 5          | v        | v     | v     | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    |
| 6          | v        | v     | v     | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    |
| 7          | v        | v     | v     | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    |
| 8          | v        | v     | v     | v    |      | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    | v    |

Keterangan: Sampel ke 1 – 4 hipofisa fase folikuler  
 Sampel ke 5 – 8 hipofisa fase luteal

Perbedaan profil protein hipofisa fase folikuler dengan fase luteal terjadi karena adanya hormon reproduksi yang bekerja secara bergantian pada fase folikuler dan fase luteal. Fase folikuler merupakan proses pertumbuhan folikel, pada fase ini hormon yang berperan dominan adalah FSH, sedangkan fase luteal merupakan proses perubahan folikel de Graaf setelah ovulasi hingga menjadi corpus albican yang didominasi oleh LH.

Hal ini sesuai dengan pendapat Adnan (2006) yang menyatakan bahwa pada fase folikuler, produksi FSH dari hipofisa tinggi, akan merangsang terbentuknya folikel de Graaf. Folikel de Graaf yang menghasilkan estrogen hingga mencapai puncak, akan meningkatkan produksi LH, dan menghambat produksi FSH.

Untuk memastikan berat molekul protein yang berbeda tersebut adalah jenis protein tertentu, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu dengan uji *immunoblotting* atau *westernblotting* (WB).

## KESIMPULAN

### Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari hasil penelitian ini adalah terdapat perbedaan profil protein Hipofisa sapi perah PFH betina fase folikuler dengan fase luteal. Yaitu berat molekul 80,6 kDa hanya ada pada fase folikuler, berat molekul 60,3 hanya ada pada fase luteal.

### Saran

Berdasarkan kesimpulan yang didapat, maka perlu adanya penelitian lanjutan yaitu uji *immunoblotting* atau

*westernblotting* (WB) untuk memastikan bahwa protein-protein tersebut adalah protein FSH dan LH.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, A. 2006. Fisio-patologi Anatomi Ovarium Sapi Dan Aktifitas Hormonal. [http://elisa.ugm.ac.id/files/fitonlin\\_e2006/K0z546V0/Kelenjar%20Endokrin.pdf](http://elisa.ugm.ac.id/files/fitonlin_e2006/K0z546V0/Kelenjar%20Endokrin.pdf)
- Anonymous. 2008. Isolasi Organel. <http://en.wikipedia.org/wiki/Isolasi-Organel>.
- Anonymous. 2009<sup>a</sup>. Fisiologi Hipofisis. <http://doktercantik.blogspot.com/2009/01/hipofisis-fisiologi.html>.
- Anonymous. 2009<sup>b</sup>. Kelenjar Hipofisis. <http://adul2008.wordpress.com/2009/04/27/hipofisis/pdf>.
- Anonymous. 2009<sup>c</sup>. Kelenjar Hipofisis. [http://74.125.153.132/search?q=cache:oi\\_CYNPRTJwJ:www.pustaka-deptan.go.id/abstrak/ahpi\\_24207.pdf+berat+molekul+protein+hipofise+sapi+perah&cd=1&hl=id&ct=clnk&gl=id&client=firefox-a](http://74.125.153.132/search?q=cache:oi_CYNPRTJwJ:www.pustaka-deptan.go.id/abstrak/ahpi_24207.pdf+berat+molekul+protein+hipofise+sapi+perah&cd=1&hl=id&ct=clnk&gl=id&client=firefox-a).
- Anonymous. 2009<sup>d</sup>. Protein. <http://en.wikipedia.org/wiki/Protein/>.
- Anonymous. 2009<sup>e</sup>. Otak. <http://id.wikipedia.org/wiki/Otak>.
- Anonymous. 2009<sup>f</sup>. SDS-PAGE. <http://en.wikipedia.org/wiki/SDS-PAGE>.
- Aulanni'am. 2005. Protein dan Analisisnya. Penerbit Citra Mentari Group. Malang.
- Frandsen, R.D. 1986, terjemahan B Srigandono, dan K Praseno. 1992. Anatomi dan Fisiologi Ternak Edisi Keempat. Penerbit Gajah Mada University Press. Yogyakarta.



- Hunter, R.H.F. 1981, terjemahan D.K.H Putra. 1995. Fisiologi Dan Teknologi Reproduksi Hewan Betina Domestik. Penerbit ITB. Bandung.
- Lussier. 1993. Effects of Bovine Follicular Fluid and Partially Purified Bovine Inhibin on FSH and LH Release by Bovine Pituitary Cells in Culture. <http://www.healthsystem.virginia.edu/internet/neuroscience/Seminarseries/seminars/1993/lussier.pdf>.
- Partodihardjo, S. 1987. Ilmu Reproduksi Hewan. Penerbit Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Purnomo, J. 2009. Pengertian Otak. <http://ssokoj.blogspot.com/2009/09/pengertian-otak.html>.