

## Deteksi Kebuntingan Ternak Sapi: Aplikasi Test Strip *Dairy Cow Pregnancy Colloidal Gold Test Strip*

### *Pregnancy Detection in Cattle: Application of Dairy Cow Pregnancy Colloidal Gold Test Strip*

Sartika Juwita<sup>1\*</sup>, Mihrani<sup>1</sup>, Agusriady<sup>2</sup>, Aris Handono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Peternakan, Politeknik Pembangunan Pertanian Gowa,

Jl. Malino Km 7 Romanglompoa, Bontomarannu, Gowa, Sulawesi Selatan

<sup>2</sup>Medik Veteriner, Dinas Peternakan Kabupaten Bone, Jl. M.H Thamrin, Manurunge, Tanete Riattang, Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan

\*Email: [tika\\_drh@yahoo.co.id](mailto:tika_drh@yahoo.co.id)

Naskah diterima: 24 Juli 2021, direvisi: 28 Oktober 2021, disetujui: 10 November 2021

#### Abstract

Early pregnancy detection in cattle is very important in terms of the economy because it will affect the income of farmers. Early pregnancy detection is necessary to shorten the calving interval by increasing breeders' knowledge to identify the animal's reproduction condition, hence it can carry out therapy and mate it as soon as possible. The determination of pregnant or non-pregnant cattle is carried out by pregnancy detection methods. This study aims to determine the accuracy of the test strip in the diagnosis of pregnancy in cattle. The test method used a test strip and pregnancy examination by palpation per rectal. Blood sampling through the jugular vein in each animal. Furthermore, the blood serum samples obtained were tested with a test strip. Test strips and examination of pregnancy by palpation per rectally is used to detect the pregnancy of 46 female Bali cattle from a community farm. The result shows that the test strip conducted 1 month after artificial insemination show a sensitivity of 75% and a specificity of 90%. Test strips can be used for early pregnancy detection in cattle.

**Keywords:** cattle; early pregnancy detection; pregnancy diagnosis method, test strip

#### Abstrak

Deteksi kebuntingan dini pada ternak sapi sangat penting ditinjau dari segi ekonomi karena akan mempengaruhi pendapatan peternak. Deteksi kebuntingan dini sangat penting untuk memperpendek *calving interval* melalui peningkatan pengetahuan peternak untuk mengidentifikasi status reproduksi, sehingga dapat melakukan terapi dan mengawinkannya sesegera mungkin. Kegiatan penetapan ternak sapi bunting atau tidak bunting dilaksanakan dengan metode deteksi kebuntingan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui akurasi *test strip* dalam diagnosis kebuntingan pada ternak sapi. Metode pengujian dengan menggunakan *test strip* dan pemeriksaan kebuntingan secara palpasi per rektal. Pengambilan sampel darah melalui vena jugularis pada masing-masing ternak. Selanjutnya sampel serum darah yang didapat di uji dengan *test strip*. *Test strip* dan pemeriksaan kebuntingan secara palpasi per rektal digunakan untuk mendeteksi kebuntingan 46 ekor ternak sapi Bali betina yang berasal dari peternakan rakyat. Hasil menunjukkan bahwa test strip yang dilakukan pada 1 bulan pasca inseminasi buatan menunjukkan sensitivitas 75% dan spesifisitas 90%. *Test strip* dapat digunakan untuk deteksi kebuntingan dini pada ternak sapi.

**Kata kunci :** deteksi kebuntingan dini; metode diagnosis kebuntingan; ternak sapi; *test strip*

## Pendahuluan

Kegiatan penetapan status reproduksi dilakukan untuk mengetahui status ternak bunting atau tidak bunting. Manfaat dilakukan penetapan status reproduksi adalah membantu penentuan ternak yang menjadi steril, memungkinkan seseorang untuk mengambil tindakan kuratif jika terjadi infertilitas ringan pada ternak, penentuan perawatan yang tepat dan pakan yang tepat sesuai kebutuhan kebuntingan, mengatur kelahiran sepanjang tahun, menjaga kawanan sapi dengan efisiensi tinggi (Mondal, 2018). Selain itu untuk mempertimbangkan pengeluaran betina-betina yang tidak produktif sehingga dapat menghemat biaya pemeliharaan baik pakan maupun tenaga, dapat meningkatkan ruangan kandang yang tersedia dan ternak betina yang tidak produktif dapat segera dijual ke RPH untuk mendapatkan dana tunai.

Kegiatan penetapan ternak sapi bunting atau tidak bunting dilaksanakan dengan metode deteksi kebuntingan yaitu: (1) Secara palpasi per rektal setelah 35 hari perkawinan. Metode ini dilakukan oleh petugas yang terampil dan berpengalaman dalam pemeriksaan palpasi per rektal; (2) Menggunakan alat ultrasonography (USG) sekitar 28 hari setelah perkawinan; dan (3) Menggunakan uji hormonal sekitar 18-24 hari setelah perkawinan baik dari cairan darah maupun cairan urin (Bekele et al., 2016). Deteksi kebuntingan dini pada sapi sangat penting ditinjau dari segi ekonomi karena akan mempengaruhi pendapatan peternak. Identifikasi hewan yang tidak bunting pada awal pasca pembuahan adalah yang terpenting untuk mempertahankan *calving interval* yang optimal (Abdullah et al., 2014). *Calving interval* merupakan kunci sukses dalam usaha peternakan. Semakin panjang *calving interval*, semakin turun pendapatan petani peternak karena jumlah anak yang dihasilkan akan berkurang selama masa produktif.

Inovasi teknologi reproduksi pendeteksi kebuntingan ternak dalam bentuk *test strip* belum dikembangkan di Indonesia. Inovasi ini merupakan hal baru di bidang teknologi reproduksi. Nova et al. (2014) menyatakan para peternak biasanya menggunakan cara untuk mendeteksi kebuntingan ternak di lapangan dengan melihat tingkah laku

ternak. Jika ternak tidak menunjukkan tanda-tanda berahi kembali setelah perkawinan terakhir, maka peternak menyimpulkan ternak tersebut bunting. Di sisi lain jika setelah perkawinan terakhir, ternak menunjukkan tanda-tanda berahi maka peternak menyimpulkan ternak tersebut tidak bunting. Akan tetapi, cara diatas tidaklah sepenuhnya efektif dan sering terjadi kekeliruan dalam prakteknya di lapangan (*false positive diagnosis*). Selanjutnya Frastantie (2017) menyatakan umumnya petugas mendeteksi kebuntingan dengan cara palpasi per rektal pada 60 hari setelah IB dan memperhatikan perubahan perilaku estrus ternak tersebut, apabila ternak telah dikawinkan tidak memperlihatkan gejala estrus, maka peternak menyimpulkan bahwa ternak bunting. Disisi lain jika ternak telah dikawinkan dan menunjukkan gejala estrus, maka peternak menyimpulkan bahwa ternak tidak bunting sehingga sering terjadi kesalahan dalam mendeteksi kebuntingan.

Permasalahan yang dihadapi di lapangan adalah kurangnya tenaga terampil untuk pemeriksaan kebuntingan dini pada ternak sapi. Oleh karena itu diperlukan pemanfaatan teknologi reproduksi untuk mendeteksi kebuntingan dini ternak yang akurat dan lebih mudah untuk dilaksanakan oleh petugas lapangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui akurasi *test strip* dalam diagnosis kebuntingan pada ternak sapi.

## Materi dan Metode

### Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan 46 ekor ternak sapi Bali betina produktif dari berbagai peternakan rakyat di Kabupaten Bone Provinsi Sulawesi Selatan.

### Pemeriksaan Palpasi per Rektal

Petugas PKB (Pemeriksa Kebuntingan) melaksanakan pemeriksaan kebuntingan secara palpasi per rektal pada sampel penelitian untuk memastikan umur kebuntingan ternak. Semua hewan diperiksa oleh operator yang sama yang memiliki pengalaman dan keterampilan untuk diagnosis kebuntingan dengan palpasi per rektal. Hewan-hewan dimasukkan ke kandang jepit dan operator dengan menggunakan *gloves* memasukkan tangan ke dalam rektum. Setelah mengeluarkan feses dari rektum, operator

memeriksa *cornua uteri* untuk memeriksa tanda-tanda kebuntingan, yaitu, asimetri antara dua *cornua uteri*, fluktuasi, selaput ketuban, dan vesikel amnion. Hewan diklasifikasikan bunting ketika satu atau lebih dari tanda-tanda kebuntingan terdeteksi.

**Uji Test Strip**

Setelah dilaksanakan pemeriksaan kebuntingan secara palpasi per rektal, dilakukan pengambilan sampel darah melalui vena jugularis pada masing-masing ternak. Selanjutnya sampel serum darah yang didapat di uji dengan *test strip (Dairy Cow Pregnancy Colloidal Gold Test Strip)*, produk dari Hebei Serun Import and Export Trade Co., Ltd, China. Dua tetes serum darah ditetaskan pada *test strip* selanjutnya ditunggu hasilnya selama 7 – 8 menit. Jika terlihat dua garis pada *test strip* menunjukkan hasil positif dan jika hanya terlihat satu garis menunjukkan hasil negatif. Selanjutnya hasil pemeriksaan palpasi per rektal dibandingkan dengan hasil pemeriksaan menggunakan *test strip*.

**Perhitungan Sensitifitas dan Spesifisitas**

Dalam penelitian uji diagnostik dan skrining dimana uji berskala data nominal 2 kategori maka hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabulasi silang. Dalam menampilkan tabulasi silang, hasil uji yang dinilai berada pada baris (*row*) sedangkan baku emas berada di kolom (*column*). Tabulasi silang disajikan sebagai berikut:

Berdasarkan tabulasi silang tersebut maka dapat didefinisikan terlebih dahulu arti dari tiap sel yaitu TP (*True Positive*) = jumlah yang dinyatakan positif oleh uji dan baku emas menyatakan positif; FP (*False Positive*) = jumlah yang dinyatakan positif oleh uji tetapi baku emas menyatakan negatif; FN (*False Negative*) = jumlah yang dinyatakan negatif oleh uji tetapi baku emas menyatakan positif; TN (*True Negative*) = jumlah yang dinyatakan negatif oleh uji dan baku emas juga menyatakan

negatif; TP+FN adalah keseluruhan jumlah baku emas positif; FP+TN adalah keseluruhan jumlah baku emas negatif; TP+FP adalah keseluruhan jumlah yang hasil ujinya positif; FN+TN adalah keseluruhan jumlah yang hasil ujinya negatif; Total adalah jumlah total sampel yang diteliti.

Sensitifitas, adalah proporsi hasil uji positif diantara ternak yang bunting atau dapat diterjemahkan dengan rumus sebagai berikut

$$\text{Sensitifitas} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} \times 100\%$$

Sensitifitas menunjukkan kemampuan suatu uji untuk menyatakan positif ternak sapi yang bunting. Semakin tinggi sensitifitas suatu uji maka semakin banyak mendapatkan hasil uji positif pada ternak sapi yang bunting atau semakin sedikit jumlah negatif palsu.

Spesifisitas, adalah proporsi hasil uji negatif diantara ternak sapi yang tidak bunting atau dapat diterjemahkan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Spesifisitas} = \frac{\text{TN}}{\text{FP} + \text{TN}} \times 100\%$$

Spesifisitas menunjukkan kemampuan suatu uji untuk menyatakan negatif ternak sapi yang tidak bunting. Semakin tinggi spesifisitas suatu uji maka semakin banyak mendapatkan hasil uji negatif pada ternak sapi yang tidak bunting atau semakin sedikit jumlah positif palsu.

**Hasil dan Pembahasan**

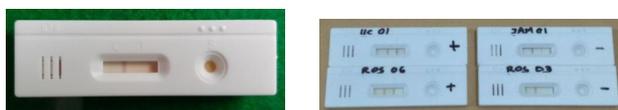
*Test strip* dapat digunakan untuk mendeteksi kebuntingan dini pada ternak sapi melalui deteksi tingkat hormon progesteron. Empat puluh enam sampel serum darah yang diambil dari ternak sapi Bali betina produktif di Kabupaten Bone dilakukan pengujian dengan menggunakan *test strip* dan pemeriksaan kebuntingan secara palpasi per rektal. Hasil pengujian empat puluh enam sampel tersebut ditampilkan pada Tabel 1.

Uji yang dinilai	Baku Emas ( <i>gold standard</i> )		
	Bunting	Tidak Bunting	
+	TP	FP	TP+FP
-	FN	TN	FP + TN
	TP+FN	FP+TN	Total

Tabel 1. Perbandingan antara jumlah positif dan negatif hasil pengujian *test strip* dengan pemeriksaan kebuntingan secara palpasi per rektal.

	Hasil pengujian	
	Alat test strip	Palpasi rektal
Positif	23 (50 %)	33 (71,7%)
Negatif	23 (50 %)	13 (28,3%)
Jumlah	46	46

Berdasarkan Tabel 1, dari 46 sampel yang diuji dengan menggunakan alat *test strip* menunjukkan sebanyak 23 (50%) sampel positif bunting sedangkan sebanyak 23 (50%) sampel negatif, sedangkan dengan pengujian secara palpasi rektal menunjukkan 33 (71,7%) sampel positif bunting dan sebanyak 13 (28,3%) sampel negatif bunting.

Gambar 1. Alat test strip dan hasil pengujian dengan menggunakan alat *test strip* (dokumen pribadi).

Sebanyak dua puluh tiga sampel positif bunting dengan menggunakan pemeriksaan *test strip* dan sebanyak tiga puluh tiga sampel positif bunting dengan menggunakan pemeriksaan palpasi per rektal tersebar pada umur kebuntingan yang berbeda (Tabel 2). Tabel 2 menunjukkan bahwa *test strip* mendominasi hasil pemeriksaan positif pada umur kebuntingan 1 – 5 bulan, sedangkan pemeriksaan dengan palpasi per rektal hasil mendekati 100% dari umur kebuntingan 1 – 8 bulan.

Tabel 2. Sebaran hasil pemeriksaan (positif) berdasarkan umur kebuntingan ternak.

Umur Kebuntingan (Bulan)	Jumlah Hasil Pemeriksaan (positif)	
	Test strip	PKB
1	4	4
2	4	3
3	4	7
4	5	6
5	4	6
6	1	4
7	0	2
8	1	1
Jumlah Sampel	23	33

Sensitivitas merupakan ukuran yang mengukur seberapa baik sebuah uji skrining/penapisan mengklasifikasikan ternak sapi yang bunting benar-benar bunting. Sedangkan spesifitas merupakan ukuran dari kemungkinan benar mengidentifikasi ternak sapi tidak bunting

dengan uji skrining/penapisan. Sensitifitas dan spesifisitas pengujian *test strip* dibandingkan dengan palpasi per rektal pada umur kebuntingan 1 bulan dengan menggunakan sebanyak 14 ekor sapi ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Sensitifitas dan spesifisitas pengujian *test strip* pada umur kebuntingan 1 bulan.

Alat Test Strip	Hasil Uji Palpasi		Jumlah
	Rektal		
	Positif	Negatif	
Positif	3	1	4
Negatif	1	9	10
Jumlah	4	10	14

Sensitifitas 75%, spesifisitas 90%.

Identifikasi awal kebuntingan setelah inseminasi buatan (AI) atau transfer embrio (ET) pada ternak adalah strategi penting untuk mengurangi *calving interval* dan meningkatkan efisiensi reproduksi ternak. Diagnosis kebuntingan dini sangat penting untuk memperpendek jarak kelahiran melalui peningkatan pengetahuan peternak untuk mengidentifikasi status reproduksi ternak, sehingga dapat melakukan terapi dan mengawinkannya sesegera mungkin. Idealnya masa kosong lamanya 60 hari pasca beranak, dan dianjurkan hewan perah untuk berkembang biak lagi. Peternak perlu mengetahui sesegera mungkin jika tidak terjadi kebuntingan pada ternak setelah dikawinkan, sehingga dapat mengawinkannya kembali pada periode estrus selanjutnya (Balhara et al., 2013; Palhao et al., 2019).

Pemeriksaan kebuntingan melalui palpasi per rektal, merupakan cara pemeriksaan yang sederhana, murah dan akurat, namun membutuhkan ketrampilan dan latihan yang intensif. Teknik ini mampu mendiagnosis kebuntingan dengan sensitivitas dan spesifisitas melebihi 95% (Gargiulo et al., 2012). Karen et al. (2010) melaporkan bahwa sensitivitas teknik ini pada ternak sapi mencapai 37,5% pada umur kebuntingan 31-35 hari, meningkat menjadi 93,8% pada umur kebuntingan 46-50 hari, dan mencapai 100% pada umur kebuntingan 51-55 hari.

*Dairy Cow Pregnancy Colloidal Gold Test Strip* merupakan salah satu produk yang didesain untuk mendeteksi kebuntingan ternak secara dini dengan menggunakan sampel darah, susu, saliva, dan urin. Produk *test strip* menggunakan prinsip kerja hormon progesteron dimana tingkat konsentrasi hormon ini akan bervariasi tergantung umur kebuntingan ternak

sapi. Konsentrasi progesteron yang rendah dalam darah pada 18 hingga 24 hari pasca perkawinan dapat mengindikasikan bahwa ternak tersebut tidak bunting dan progesteron yang tinggi mengindikasikan bahwa mungkin ternak tersebut sedang bunting (Marcus dan Hackett, 1986; Purohit, 2010). Sebanyak 46 ekor ternak sapi dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan *test strip*. Hasil menunjukkan dengan menggunakan alat ini mampu mendeteksi kebuntingan umur 1 bulan dan pada umur kebuntingan 7 bulan alat *test strip* tidak menunjukkan hasil positif. Kemungkinan pada umur kebuntingan 7 bulan kadar hormon progesteron dalam tubuh ternak menurun sehingga tidak terdeteksi dengan akurat oleh alat *test strip*. *Test strip* baik digunakan untuk diagnosis kebuntingan dini (Xu *et al.*, 2016).

Progesteron merupakan hormon steroid yang memegang peranan penting dalam menjaga dan merawat kebuntingan yang dihasilkan oleh *corpus luteum* (CL) (Reese *et al.*, 2016). Progesteron dapat digunakan sebagai test kebuntingan karena CL hadir selama awal kebuntingan pada semua spesies ternak. Level progesteron dapat diukur dalam cairan biologis seperti darah kadarnya menurun pada hewan yang tidak bunting. Progesteron rendah pada saat tidak bunting dan tinggi pada hewan yang bunting. Konsentrasi progesterone bervariasi sesuai dengan tahap siklus estrus. Siklus estrus sapi menunjukkan bahwa konsentrasi progesteron pada susu atau serum mencapai nilai maksimum 13-14 hari setelah estrus, dan jika hewan tersebut bunting, progesteron terus meningkat hingga hari 21 setelah pembuahan (Balhara *et al.*, 2013). Diagnosa kebuntingan berdasarkan hormon progesteron pada sapi mempunyai kecermatan hanya 80-85%, tetapi untuk mendiagnosa sapi tidak bunting hormon ini mempunyai kecermatan hingga 100% (Mahaputra, 2002).

Sensitivitas dan spesifisitas merupakan istilah yang digunakan untuk mengevaluasi uji klinis. Secara umum semakin tinggi sensitivitas maka semakin rendah spesifitas dan sebaliknya (Lalkhen dan McCluskey, 2008). Semakin tinggi sensitifitas suatu uji maka semakin banyak mendapatkan hasil uji positif atau semakin sedikit jumlah negatif palsu. Semakin tinggi spesifisitas

suatu uji maka semakin banyak mendapatkan hasil uji negatif atau semakin sedikit jumlah positif palsu (Putra *et al.*, 2016). Sensitivitas dan spesifisitas digunakan dalam konteks penggambaran uji skrining terhadap uji standard referensi. Sensitivitas adalah kemampuan uji secara benar menunjukkan hasil positif sedangkan spesifitas adalah kemampuan uji secara benar menunjukkan hasil negatif (Trevethan, 2017). Uji standard referensi yang digunakan adalah pemeriksaan palpasi per rektal. Pemeriksaan palpasi per rektal telah lama digunakan untuk mendiagnosis kebuntingan pada sapi (Palhao *et al.*, 2019). Nilai sensitivitas *test strip* sebesar 75 %, yang berarti kemampuan mendeteksi kebuntingan dini pada ternak memberikan hasil positif bagi ternak yang bunting sebesar 75 %. Nilai spesifisitas *test strip* sebesar 90%, yang berarti kemampuan mendeteksi kebuntingan dini pada ternak memberikan hasil negatif pada ternak yang tidak bunting sebesar 90 %.

### Kesimpulan

*Test strip* dapat digunakan untuk pemeriksaan kebuntingan dini pada ternak sapi. *Test strip* yang dilakukan pada 1 bulan pasca inseminasi buatan menunjukkan sensitivitas 75% dan spesifisitas 90%.

### Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Politeknik Pembangunan Pertanian Gowa yang telah mendanai penelitian ini.

### Daftar Pustaka

- Abdullah, M., Mohanty, T.K., Kumaresan, A., Mohanty, A.K., Madkar, A.R., Baithalu, R.K., and Bhakat, M. (2014). Early Pregnancy Diagnosis in Dairy Cattle: Economic Importance and Accuracy of Ultrasonography. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2(8): 464-467.
- Balhara, A.K., Gupta, M., Singh, S., Mohanty, A.K., and Singh, I. (2013). Early pregnancy diagnosis in bovines: current status and future directions. *The Scientific World Journal*. 958540: 1-10.

- Bekele, N., Addis, M., Abdela, N., and Ahmed, W.M. (2016). Pregnancy diagnosis in cattle for fertility management: A review. *Glob Vet.* 16:355-364.
- Frastantie, D. (2017). Deteksi Kebuntingan Dini Pada Sapi Perah Dengan Pemeriksaan USG dan Analisis Hormon Steroid [Tesis]. Sekolah PascaSarjana IPB. Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/87855/1/2017dfr.pdf>.
- Gargiulo, G.D., Shephard, R.W., Tapson, J., McEwan, A.L., Bifulco, P., Cesarelli, M., Jin, C., Al-Ani, A., Wang, N., and Schaik, A.V. (2012). Pregnancy detection and monitoring in cattle via combined foetus electrocardiogram and phonocardiogram signal processing. *BMC Veterinary Research.* 8(1640): 1-10.
- Karen, A. M., Darwish, S., Ramoun, A., Tawfeek, K., Nguyen, V. H., de Sousa, N. M., Sulon J., Szenci O., and Beckers, J.F. (2011). Accuracy of transrectal palpation for early pregnancy diagnosis in Egyptian buffaloes. *Trop. Anim. Health Prod.* 43: 5-7.
- Lalkhen, A.G., and McCluskey, A. (2008). Clinical tests: sensitivity and specificity. Continuing Education in Anaesthesia. *Critical and pain.* Vol 8(6): 221-223.
- Mahaputra, L. (2002). Teknik Diagnosis Reproduksi Edisi I cetakan ke 3. Laboratorium Kebidanan FKH Univesritas Airlangga. Surabaya.
- Marcus, G. J., and Hackett, A. J. (1986). Use of enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of bovine serum and milk progesterone without extraction. *J. Dairy Sci.* 69: 818-824.
- Mondal, P. (2018). Pregnancy diagnosis of animals: importance, methods, and procedures. Retrieved maret 5, 2019, from <http://www.yourarticlelibrary.com/dairy-farm-management/pregnancy-diagnosis-of-animals-importance-methods-and-procedures/35867>.
- Nova, M.E, Riady G, dan Melia J. (2014). Diagnosis Kebuntingan Dini Menggunakan Kit Progesteron Air Susu Pada kambing Peranakan Ettawa (*Capra hircus*). *Jurnal Medika Veterinaria.* 8(2).
- Palhao, M.P., Guimaraes, C.R.B., Lima, J.F.J.F.M., Mendonca, M.R., Fernandes, C.A.C., Naves, J.P., Garcia, J.A.D., Gioso, M.M., Miglino, M.A., and Viana, J.H.M. (2019). Efficacy and limitations of different approaches to anticipate the diagnosis of pregnancy in cattle. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 71(6):1909-1916.
- Purohit, G. (2010). Methods of Pregnancy Diagnosis in Domestic Animals: The Current Status. WebmedCentral reproduction, WMC001305: 1-26.
- Putra, W.G.A.E, Sutarga, I.M, Kardiwinata, M.P, Suariyani, Ni L.P, Septarini, Ni.W, dan Subrata, I.M. (2016). Modul Penelitian Uji Diagnostik dan Skrining. Program Studi Kesehatan Masyarakat. Fakultas Kedokteran. Universitas Udayana. Denpasar.
- Reese, S.T., Pereira, M.C., Vasconcelos, J.L.M., Smith, M.F., Green, J.A., Geary, T.W., Peres, R.F.G., Perry, G.A., and Pohler, K.G. (2016). Markers of pregnancy: how early can we detect pregnancies in cattle using pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) and microRNAs?. *Anim Reprod.* 13(3): 200-208.
- Trevethan R. (2017). Sensitivity, specificity, and Predictive values: Foundation, Pliaibilities, and Pitfalls in Research and Practice. *Frontiers in Publick Health.* 5(307): 1-7.
- Xu, C., Yang, W., Xia, C., Wu, L., and Zhang, H. (2016). Development of a competitive Lateral Flow Immunoassay for progesterone in Dairy Cows' Milk. *Med Weter.* 72(8): 494-497.