



KAJIAN PENDETEKSIAN ESTRUS PADA DOMBA MENGGUNAKAN SALIVA TEST
STUDY OF OESTRUS DETECTION IN SHEEP USING SALIVARY TEST

Diar Roesillah, Rangga Setiawan, dan Nena Hilmia

Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran

Jln. Ir. Soekarno km. 21. Jatinangor, Kab. Sumedang 45363, Jawa Barat

Korespondensi : diar18001@mail.unpad.ac.id

Abstract

This study aims to determine the use of salivary tests in detecting oestrus in sheep. The research was conducted on a smallholder farm in Cihaji and Cistitu Villages, Tasikmalaya. Subjects of this research were 18 female sheep that were sexually mature and not pregnant. A study has been conducted to observe oestrus characteristics in experimental sheep and crystals formed in their dry saliva. The collected data were analyzed using descriptive analysis to determine the number of oestrus sheep, and the relationship between oestrus characteristics and saliva was analyzed using the Kendall Tau correlation test and Jaspens's M correlation test. The results showed that nine sheep were in oestrus. Salivary crystals formed in oestrus sheep were crystals none pattern (96.61%), fern pattern (1.69%), branch pattern (1.13%), fir pattern (0.56%), and mix pattern (0%). The salivary crystals that appeared during oestrus were crystals with no pattern, while the fern pattern was only found in 3 sheep 1-2 days before oestrus. The results also showed that there was no correlation between saliva and oestrus characteristics in sheep.

Keywords : *Sheep, Saliva, Crystal, Estrus Characteristics, Correlation*

Pendahuluan

Domba merupakan salah satu komo-ditas ternak dengan prospek yang sangat baik, karena mampu diterima dalam me-menuhi kebutuhan pangan masyarakat. Peningkatan populasi domba dan per-mintaan daging domba yang tinggi sudah mengalami peningkatan sejak beberapa dekade (Rahmat *et al.*, 2020). Peningka-tan populasi domba dapat tercapai kare-na domba betina memiliki tipe siklus estrus poliestrus dan sifat prolifrik, yaitu domba betina memiliki kemampuan dalam melahirkan anakan >1 kali/tahun dengan anakan yang dilahirkan >1 ekor/kelahiran.

Peningkatan populasi domba dapat tercapai apabila sistem dan manajemen reproduksi dapat dijalankan dengan efektif dan efisien. Estrus merupakan fa-se dalam siklus reproduksi yang penting

untuk diketahui dan dipelajari, sehingga dapat dilakukan perkawinan untuk menghasilkan anakan dengan tepat dan cepat. Estrus dapat diketahui dengan melakukan pendeteksian yang umumnya dilakukan dengan pengamatan visual, pengamatan perilaku estrus, dan peng-gunaan alat bantu. Namun, deteksi estrus pada domba memiliki kendala akibat ge-jala estrus yang samar atau tidak nam-pak sehingga mempersulit peternak dan pejantan. Hasan *et al.*, (2017) menyata-kan bahwa sulitnya pendeteksian estrus pada domba betina terjadi karena domba betina sering mengalami *silent heat* dan anestrus.

Metode pendeteksian estrus yang umumnya digunakan memiliki kelema-han dan kendala dalam penerapannya bagi peternak. Pengetahuan peternak yang tidak merata dan penyebaran

infor-masi yang tidak menyeluruh kepada pe-ternak mengenai estrus dan metode pen-deteksian estrus, sehingga pendeteksian estrus tidak optimal. Dawit *et al.*, (2021) menerangkan dalam penelitiannya bah-wa 41,53% peternak hanya mengetahui 2 tanda estrus, meliputi saling menaiki dan gelisah.

Saliva dapat menjadi alternatif dalam pendeteksian estrus dengan beberapa keuntungan dalam penggunaannya, sebagaimana yang dijelaskan mengenai oleh Depamade *et al.*, (2014) bahwa Sali-va dapat diperoleh tanpa harus menyaki-ti ternak dan dapat meminimalisir stress pada ternak, tidak bertentangan dengan kesejahteraan hewan, saliva tidak meng-gumpal dengan penanganan yang lebih mudah dan terhindar dari resiko lisis, dan pengujiannya sebanding dengan menggunakan darah.

Penggunaan saliva dalam pendetek-sian estrus dilakukan dengan melihat adanya kemunculan kristal pada saliva. Kristal saliva akan muncul dengan pola khas yang akan muncul selama estrus yang disebut *ferning* atau *arborisation*. Kristal saliva akan muncul pada saat es-trus dengan pola yang pakis akibat ada-nya dominasi hormon estrogen (Skalova *et al.*, 2013). Penelitian menggunakan kristal pada kerbau menunjukan adanya kemunculan pola pakis (*fern pattern*) yang khas selama siklus estrus dengan kadar estradiol yang mengalami pening-katan selama fase estrus jika dibanding-kan dengan fase diestrus (Ravinder *et al.*, 2016). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji penggunaan saliva test dalam mendeteksi estrus pada domba.

Materi dan Metode

Objek Penelitian. Objek penelitian yang digunakan adalah domba lokal de-ngan jenis, yaitu domba Garut sebanyak 18 ekor yang sudah dewasa kelamin dan tidak bunting. Kejadian estrus terjadi se-

cara alami, sehingga penelitian dilaku-kan selama 20 hari (1 siklus estrus).

Metode Penelitian. Metode peneli-tian yang digunakan, yaitu mixed me-thods. Metode penelitian dengan meng-asosiasikan atau menggabungkan bebe-raapa metode penelitian seperti kualitatif dan kuantitatif. Metode yang dilakukan dengan mengambil data pola saliva dan karakteristik estrus pada domba.

Parameter Penelitian. Parameter dalam penelitian terbagi menjadi dua, yaitu parameter utama dan parameter pendukung. Parameter utama meliputi pola kristal saliva, suhu vagina, dan panjang vulva. Sementara itu, parameter pendukung meliputi lebar vulva, warna vulva, pembengkakan vulva, ekskreta lendir vulva, pH lendir vulva, dan peri-laku estrus. Keseluruhan parameter di-amati setiap hari selama waktu pene-litian.

Analisis Data. Analisis yang diguna-kan dalam penelitian ini yaitu analisis deskriptif, analisis korelasi Kendall Tau, dan analisis korelasi Jaspén's M. Analisis deskriptif dalam penelitian ini diguna-kan untuk menentukan jumlah domba yang berada dalam kondisi estrus.

a. Rata-Rata

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

Keterangan:

$\bar{x}$ = Rata-rata

$\sum x_i$ = Jumlah seluruh data

n = Banyak data

b. Nilai Maksimum, digunakan untuk mengetahui nilai tertinggi dari data yang diamati.

c. Nilai Minimum, digunakan untuk mengetahui nilai terendah dari data yang diamati.

d. Ragam

$$S^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Keterangan:

S^2 = Ragam

x_i = Nilai data ke-i

$\bar{x}$ = Rata-rata
 n = Banyak data

e. Simpangan Baku

$$S = \sqrt{S^2}$$

Keterangan:

S = Simpangan Baku
 S^2 = Ragam

Analisis Korelasi Kendall Tau dilakukan untuk memperoleh nilai yang menunjukkan keeratan dan arah hubungan antara data berskala ordinal berdasarkan parameter dalam penelitian.

a. Koefisien Korelasi Kendall Tau (τ)

$$\tau = \frac{S}{\frac{1}{2} \times N \times (N - 1)}$$

Keterangan:

S = Statistik untuk Jumlah Konkordansi dan Diskordansi
 N = Jumlah Pasangan X dan Y

b. Koefisien Korelasi Kendall Tau (τ)

$$\tau = \frac{S}{\frac{1}{2} \times N \times (N - 1)}$$

Keterangan:

S = Statistik untuk Jumlah Konkordansi dan Diskordansi
 N = Jumlah Pasangan X dan Y

c. Uji Signifikansi

$$Z_{hitung} = \frac{\tau}{\sqrt{\frac{2(2N + 5)}{9N(N - 1)}}}$$

Keterangan:

Z = Tingkat Signifikansi
 τ = Koefisien Korelasi Kendall Tau
 N = Jumlah Pasangan X dan Y

Analisis Korelasi Jaspén's M digunakan untuk melihat keeratan dan arah hubungan antara data berskala ordinal dengan interval atau rasio.

a. Koefisien Korelasi Jaspén's M

$$M = \frac{\sum(\bar{Y}_i)(O_b - O_a)}{(S_y) \left[\frac{(O_b - O_a)}{P} \right]}$$

Keterangan:

M = Koefisien Korelasi Jaspén's M

$\bar{Y}_i$ = Hasil Pembagian antar Variabel

S_y = Simpangan Baku

O_b = Ordinat dan Distribusi Normal

O_a = Kebalikan dari O_b

b. Uji Signifikansi Koefisien Korelasi Jaspén's M

$$r = M \sqrt{\sum \left[\frac{(O_b - O_a)^2}{P} \right]}$$

Keterangan:

r = Signifikansi Koefisien Korelasi Jaspén's M

M = Estimasi Korelasi Jaspén's M

O_b = Ordinat dari Distribusi Normal

O_a = Kebalikan dari O_b

P = Proporsi atau Persentase

Hasil dan Pembahasan

Penentuan Estrus. Penentuan estrus dilakukan untuk mengetahui jumlah domba yang berada dalam kondisi estrus yang didasari pada parameter utama gejala estrus, yaitu suhu vagina dan panjang vulva yang secara objektif dapat di-nilai. Berdasarkan parameter yang digunakan dalam penentuan estrus, diketahui tidak semua domba dalam kondisi estrus. Sebanyak 9 dari 18 ekor domba diketahui dalam kondisi estrus. Hal tersebut terjadi karena estrus terjadi secara alami, karena peternakan yang digunakan tidak melakukan sinkronisasi estrus terhadap domba penelitian, sehingga kejadian estrus tidak terjadi bersamaan dan gejala estrus tidak mengalami ke-munculan yang maksimal.

Nilai suhu vagina dan panjang vulva yang lebih tinggi pada domba estrus diduga terjadi karena adanya dominasi hormon estrogen dan pertumbuhan folikel pada domba estrus dan hal tersebut tidak terjadi pada domba yang diduga tidak estrus. Selaras dengan penelitian Tanjung *et al.*, (2015) bahwa sekresi hormon estrogen yang rendah akan menyebabkan estrus terjadi abnormal yang berakibat pada gejala estrus yang akan sulit untuk dilihat dan dideteksi.

Tabel 1. Data reproduksi Domba Garut

Status Domba	Jumlah	Suhu Vagina (°C)	Panjang Vulva (cm)
Estrus	9	38,7 ± 0,47	3,18 ± 0,66
Tidak Estrus	9	38,4 ± 0,56	3,01 ± 0,60

Karakteristik Saliva selama Estrus. Kristalisasi saliva dapat digunakan sebagai alternatif dalam pendeteksian estrus atau kesuburan seperti pada unta Bactrian (Haberoová, 2010; Gnanamuthu dan Rameshkumar *et al.*, 2015), orangutan (Kubátova dan Federova, 2016), dan manusia (Patel dan Prajapati, 2018). Saliva akan mengalami pengkristalan dan memunculkan gambaran kristal dengan pola yang beragam di-klasifikasikan menggunakan skala BFF (*Branch, Fern, dan Fir*) yang secara umum digunakan pada hewan (Kubátova dan Federova, 2016).

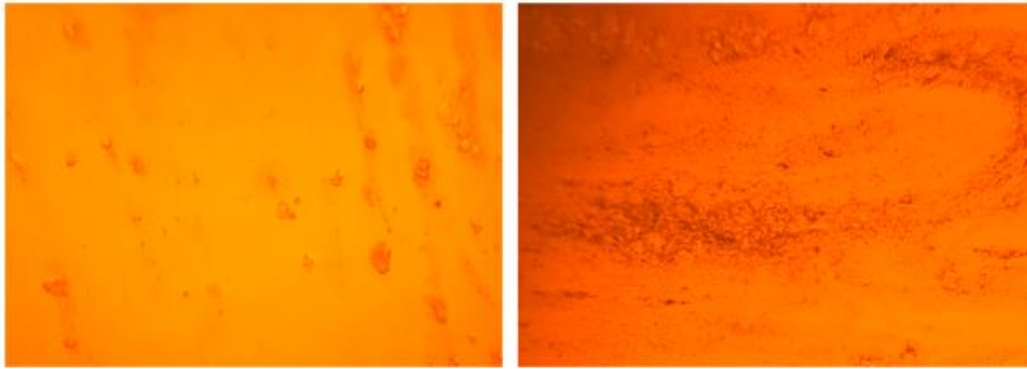
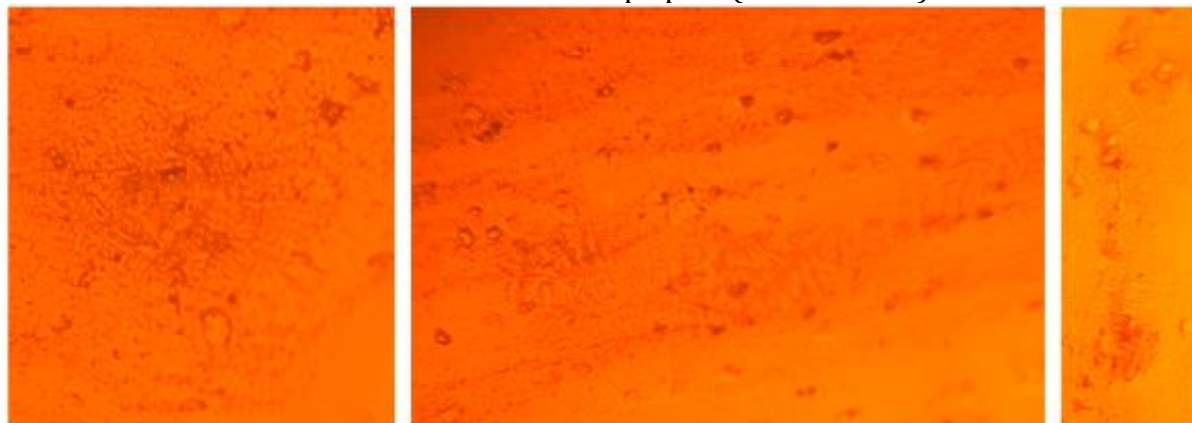
Tabel 2. Data pola kristal saliva domba estrus selama siklus estrus

Tipe Kristal Saliva	Jumlah (n)	%
Pola Cabang (<i>Branch Pattern</i>)	2	1,1 3
Pola Pakis (<i>Fern Pattern</i>)	3	1,6 9
Pola Cemara (<i>Fir Pattern</i>)	1	0,5 6
Pola Campuran (<i>Mix Pattern</i>)	0	0,0 0

Kristal saliva pada penelitian ini yang memiliki kaitan dengan estrus adalah kristal saliva tanpa pola dan kristal

saliva pola pakis seperti terlihat pada Tabel 2. Gambaran pola kristal pada saliva domba yang teridentifikasi estrus didominasi oleh kemunculan kristal Sali-va tanpa pola dengan jumlah sebanyak 171 (96,61%). Kristal saliva tanpa pola tidak hanya ditemukan pada hampir ke-seluruhan sampel saliva domba estrus, tetapi pola tersebut nampak pada saat mendekati estrus atau pada saat estrus. Kristal saliva tanpa pola memiliki ciri-ciri, yaitu kristal saliva tidak membentuk pola apapun dengan kristal saliva yang menunjukkan adanya kemunculan titik-titik, garis tajam, keping bulir, atau buih yang mengering.

Kemunculan kristal saliva tanpa pola pada saat terjadinya estrus pada domba, tidak sesuai dengan beberapa penelitian, dimana pada saat estrus maka kristal saliva akan memunculkan kristal saliva dengan pola pakis, sebagaimana pada penelitian menggunakan sapi Umblachery (Gnanamuthu dan Rameshkumar, 2015) dan kerbau air (Surla *et al.*, 2021). Perbedaan dan ketidaksesuaian kristal saliva yang ditemukan, nyatanya memiliki ke-samaan dengan beberapa penelitian lainnya, dimana kristal saliva tanpa pola nampak pada saat estrus. Surla *et al.*, (2022) menyatakan pada kerbau air dan sapi Jersey Persilangan tidak ditemukan adanya kemunculan pola pakis pada saliva selama estrus mencapai 65% pada saat musim panas dan ternak yang ditempatkan di ladang penggembalaan bahkan tidak memunculkan pola pakis selama estrus mencapai 62,5%.

Gambar 1. Kristal saliva tanpa pola (*None Pattern*)Gambar 2. Kristal saliva pola pakis (*Fern Pattern*)

Domba estrus pada penelitian ini, memang tidak memunculkan adanya kehadiran pola pakis saat berlangsungnya estrus dan justru memunculkan kristal saliva tanpa pola. Kendati demikian, pola pakis nyatanya tetap ditemukan pada domba penelitian yang terindikasi estrus. Sebanyak 3 pola pakis ditemukan pada 3 ekor domba yang berbeda dengan waktu kemunculan, yaitu 1-2 hari sebelum terjadinya estrus.

Pola pakis yang ditemukan memiliki ciri-ciri yaitu membentuk pola seperti pakis dengan salah satu sisi cabang yang pendek dan sisi lain yang lebih panjang, tipis, tajam, dan terbentuk sepanjang jalur yang memanjang. Penemuan pola pakis yang tidak menyeluruh pada domba estrus dengan jumlah sampel penemuan yang rendah memiliki kesamaan dengan kristal saliva yang ditemukan pada sampel kristal saliva Orangutan yang hanya menemukan 8 pola pakis dari total 217

sampel saliva (Kubátova dan Federova, 2016). Selain itu, dari 275 ekor kerbau air bahkan hanya 22 ekor yang menunjukkan kemunculan pola pakis pada akhir fase proestrus atau awal fase estrus (Surla *et al.*, 2021).

Pola pakis yang ditemukan 1-2 hari sebelum waktu estrus memiliki kesesuaian berdasarkan Gnanamuthu dan Rameshkumar (2015) yang melaporkan bahwa pola pakis dapat ditemukan sekitar aktivitas folikel dan diantara waktu ovulasi dan pola pakis hanya ditemukan 1-2 hari dan akan menghilang kemudian. Pernyataan Wilcox *et al.*, (1995) yang dikutip oleh Braat *et al.*, (1998) menjelaskan bahwa masa subur terjadi 5 hari sampai 1 hari setelah ovulasi. Pola pakis yang ditemukan tidak pada seluruh domba estrus dan ditemukan sebelum waktu estrus, terjadi karena kejadian estrus pada domba penelitian terjadi secara alami. Kemunculan pola pakis selama estrus

bergantung pada kadar hormon estrogen dalam tubuh dan kandungan elektrolit dalam saliva.

Hubungan Kondisi Saliva dengan Estrus. Hubungan antara saliva dengan estrus dapat dilihat melalui data pada Tabel 3 dan 4. Hasil uji korelasi menunjuk-kan bahwa antara saliva dengan estrus domba yang diamati melalui kristal Sali-va dan karakteristik estrus pada domba penelitian tidak menunjukkan adanya hubungan yang signifikan ($P > 0,05$) atau tidak berkorelasi (r hitung $< r$ tabel). Hasil yang didapat tersebut menunjukkan adanya keselarasan dengan hasil yang ditunjukkan dalam penelitian Pardo-Cormona *et al.*, (2010) bahwa tidak ada hubungan antara kristal saliva dengan si-tologi vagina dalam penentuan masa su-bur pada anjing Beagle, meskipun terda-pat perubahan kristal pada saliva. Lebih dahulu, Pattasuttinont *et al.*, (2007) menjelaskan bahwa antara puncak ke-munculan pola pakis dengan hari ovulasi tidak memiliki korelasi.

Tabel 3. Hasil uji korelasi hubungan saliva dengan karakteristik estrus menggunakan uji korelasi Jaspens's M

Parameter	R	$r_{(0,05)}$
Saliva-Suhu Vagina	-0,1353	0,1950
Saliva-Lebar Vulva	-0,0403	0,1950
Saliva-Panjang Vulva	0,1158	0,1950
Saliva-pH Lendir Vulva	-0,1547	0,1950

* $P < 0,05$ (Berbeda Nyata)

Tabel 4. Hasil uji korelasi hubungan saliva dengan karakteristik estrus menggunakan uji korelasi Kendall Tau

Parameter	Kendall Tau	P
Saliva-Warna Vulva	-0,094	0,198
Saliva-Ekskreta Lendir Vulva	-0,138	0,055
Saliva-Pembengkakan Vulva	0,065	0,389
Saliva-Perilaku Estrus	-0,036	0,607

* $P < 0,05$ (Berbeda Nyata)

Tidak adanya hubungan korelasi antara saliva dengan estrus pada domba penelitian, dapat terjadi karena karena secara umum domba sering mengalami *silent heat* dan anestrus. Selain itu, estrus pada domba sulit dideteksi karena ovu-lasi yang tidak disertai dengan adanya kemunculan estrus (Rama *et al.*, 2022). Hal tersebut, tentu dipengaruhi oleh hor-mon reproduksi pada tubuh domba. Hor-mon yang bertanggungjawab dan memi-lki peran dalam memunculkan *ferning* (pola pakis) dan estrus adalah hormon estrogen. Diduga, selama penelitian, domba dalam kondisi estrus memiliki ka-dar hormon estrogen yang rendah akibat tidak dilakukan sinkronisasi hormon da-lam estrus. Hormon estrogen yang ren-dah pada ternak yang tidak disinkroni-sasi estrus dibuktikan dalam penelitian Kumala *et al.*, (2021) bahwa konsentrasi hormon estrogen domba kontrol menca-pai $42,63 \pm 8,17$ pg/mL sementara untuk domba yang diberikan treatment CIDR memiliki hormon estrogen mencapai $49,00 \pm 9,32$ pg/mL.

Kondisi hormon estrogen yang ren-dah selama estrus memicu gejala estrus yang tidak muncul secara maksimal se-hingga tidak semua gejala estrus nampak secara maksimal dan pola pakis tidak muncul secara serentak, bahkan menga-lami absen pada saat mendekati estrus atau saat berlangsungnya waktu estrus pada beberapa domba penelitian. Gejala estrus akan muncul secara maksimal sa-at hormon estrogen mengalami pening-katan kadar dan pola pakis akan muncul saat estrus pada saliva bergantung pada hormon estrogen dalam tubuh dan elek-trolit dalam saliva. Elektrolit dalam saliva akan mengalami peningkatan kadar pada fase estrus dibandingkan dengan fase la-in dalam siklus estrus (Devi *et al.*, 2016). Elektrolit pada saliva akan

mengalami peningkatan konsentrasi apabila serum estrogen mengalami peningkatan pada fase folikuler (Nivethapriya, 2018).

Kesimpulan

Saliva pada domba estrus tidak menunjukkan adanya kemunculan pola kristal yang spesifik dan tidak ada hubungan antara saliva dengan karakteristik estrus pada domba penelitian.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa artikel ini tidak memiliki benturan kepentingan dengan pihak manapun terkait materi yang dibahas dalam makalah, pendanaan, dan perbedaan pendapat antar para penulis.

Ucapan Terima Kasih

Penulis dengan rasa hormat mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing utama Rangga Setiawan, S.Pt., M.Sc., Ph.D. dan dosen pembimbing anggota Dr. Nena Hilmia, S.Pt., M.Si. dan kepada bapak Cuwandi, bapak Alo, dan bapak Diman selaku peternak yang sudah memperbolehkan dan memberikan izin kepada penulis untuk menggunakan dombanya dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Braat, D. D. M., Smeenk, J. M. J., Manger, A. P., Thomas, C. M. G., Veersema, S., & Merkus, J. M. W. M. (1998). Saliva test as ovulation predictor. *The Lancet*, 352(9136), 1283-1284.
- Dawit, G., Paputungan, U., & Podung, A. J. (2021). Pengetahuan peternak tentang pemahaman keterkaitan gejala birahi dengan keberhasilan inseminasi buatan pada sapi di Kecamatan Pinoolosian. *Zootec*, 41(2), 515-524.
- Depamade, S. N., Rosyidi, A., Sriasih, M., Dahlanuddin, Yulianti, E., & Suparman. (2014). Potensi air liur sebagai perantara dalam pemeriksaan an noninvasive pada hewan piaraan. *Jurnal Veteriner*, 15(4), 564-569.
- Devi, I., Singh, P., Lathwal, S. S., Kumaresan, A., & Dudi, K. (2016). Evaluation of salivary electrolytes during estrous cycle in Murrah buffaloes with reference to estrus detection. *Veterinary World*, 9(10), 1157-1161.
- Gnanamuthu, G., & Rameshkumar, K. (2015). Determination of estrus in Umblachery cattle (*Bos indicus*) by salivary fern pattern. *International Journal for Species*, 13(41), 68-78.
- Haberová, T. (2010). A preliminary study of saliva crystallization in Bactrian camels (*Camelus bactrianus*). In G. Gnanamuthu & K. Rameshkumar, Determination of estrus in Umblachery cattle (*Bos indicus*) by salivary fern pattern. *International Journal for Species*, 13(41), 68-78.
- Hasan, F., Sitepu, S. A. P., & Alwiyah. (2017). Pengaruh paritas terhadap persentase estrus domba ekor tipis yang disinkronisasi estrus menggunakan prostaglandin F2 α (PGF2 α). *Jurnal Ilmu Reproduksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 5(1), 46-48.
- Kubátová, A., & Federova, T. (2016). Saliva crystallization occurs in female Bornean orangutans (*Pongo pygmaeus*): Could it be a new option for monitoring of menstrual cycle in captive great apes? *PLoS ONE*, 11(7), 1-11.
- Kumala, S., Asmarawati, W., Ismaya, Bintara, S., Aji, W. N., & Widayati, D. T. (2021). Estrogen hormone profile and estrus response of thin-tailed ewes synchronized controlled interval drug release. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 15(3), 71-75.
- Nivethapriya, P. (2018). Salivary ferning as an indicator of ovulation (Disertasi). Coimbatore Medical College, India.
- Pardo-Carmona, B., Moyana, M. R., & Fernández-Palacios, R. (2010).

- Saliva crystallisation as a means of deter-mining optimal mating time in bitches. *Journal of Small Animal Practice*, 51, 437-444.
- Patel, D. K., & Prajapati, D. G. (2018). Study the accuracy of salivary ferning test as a predictor of ovulation. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, 7(7), 2699-2705.
- Pattasuttinont, S., Sereepapong, W., & Suwajanakorn, S. (2007). The Salivary ferning test and ovulation in Clo-miphen citrate-stimulated cycles. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 90(5), 876-883.
- Rahmat, D., Hilmia, N., & Bandiati, S. K. (2020). Single nucleotide polymorphisms on exon 3 of leptin gene and their association with growth in Padjadjaran sheep. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 45(3), 181-188.
- Rama, K. A., Tumbelaka, L. I., Achmadi, B., & Amrozi. (2022). Karakteristik siklus estrus domba Garut dara. *Acta Veterinaria Indonesia*, 10(2), 124-132.
- Ravinder, R., Kaipa, O., Baddela, V. S., Sinha, E. S., Singh, P., Nayan, V., Velagala, C. S. N., Baithalu, R. K., Onteru, S. K., & Singh, D. (2016). Saliva ferning, an unorthodox oestrus detection method in water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, 86(5), 1147-1155.
- Skalova, I., Fedorova, T., & Brandlova, K. (2013). Saliva crystallization in cattle: New possibility for early pregnancy diagnosis? *Agricultural Tropica et Subtropica*, 46(3), 102-104.
- Surla, G. N., Hebbar, A., Kumar, V., Nayan, V., Vedomurthy, V. G., Singh, D., & Onteru, S. K. (2021). Validation of salivary ferning based estrus identification method in a large population of water buffaloes (*Bubalus bubalis*) using foldscope. *Journal of Reproductive Biology*, 21, 1-8.
- Surla, G. N., Ramesh, P., Sirresha, K., Krishna, M. M., & Rao, K. P. (2022). Differential responses in estrus induced salivary ferning pattern vis-a-vis ambient temperature: A comparative study in water buffaloes and crossbred cattle. *Acta Scientific Veterinary Science*, 4(5), 102-107.
- Tanjung, A. D., Setiatin, E. T., & Samsudewa, D. (2015). Level of estrogen hormone and estrus performance of different postpartum estrus of Jawa Randu goat. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 40(2), 87-92.