



© 2004 Bayu Rosadi  
Makalah Falsafah Sains (PPS-702)  
Sekolah Pascasarjana IPB

Posted 28 Desember 2004

Dosen:  
Prof. Dr. Ir. Rudy C. Tarumingkeng  
Prof. Dr. Ir. Sahrial Cotto  
Dr. Ir. Hardjanto, MS

## **REPRODUKSI HEWAN: KEMAJUAN TEKNOLOGI DAN KOMERSIALISASI**

---

Oleh:

**Bayu Rosadi**

B061040041

e-mail: [bayurosadi@bima.ipb.ac.id](mailto:bayurosadi@bima.ipb.ac.id)

### **ABSTRACT**

Presently, commercialization of animal reproductive technology in the fields of food production and biomedical applications represent significant opportunities. Very few companies have developed all of the core competencies and intellectual properties to compete the bridge from lab bench to product. Commercial application of animal reproductive technology is dependent on three factor: economics, social value, and regulatory agencies. The primary driver in all this technology is economics factor i.e. return versus cost.

Artificial insemination, pre-selection and post-selection sexing, in vitro embryo production, cloning, transgenics, and genomics all are the component of the toolbox for present and future application. Individually, these are powerful tools capable of providing significant improvements in productivity. Combination of these technologies coupled with careful review of regulatory and social concerns, will provide even more significant change in the next period of time.

### **PENDAHULUAN**

Penelitian-penelitian reproduksi hewan di berbagai institusi riset telah menghasilkan teknologi yang diaplikasikan pada berbagai spesies hewan. Teknologi reproduksi yang terdedia saat ini ada dalam berbagai bentuk, mulai bantuan perkawinan alami yang sederhana sampai kloning hewan dewasa dengan prosedur yang kompleks. Teknologi yang paling banyak dipakai sampai saat ini adalah inseminasi buatan (IB) dan embrio transfer (ET) yang intensif digunakan pada usaha ternak sapi. Walaupun teknik yang sama tersedia untuk berbagai spesies lain, pemakaian secara komersial masih terbatas.

Seiring berkembangnya teknologi reproduksi baru, terbentuk berbagai perusahaan yang mengkomersilkan produk dan pelayanan sebagai upaya memenuhi permintaan publik (Faber *et al*, 2003; Long *et al*, 2003; Smeaton *et al*, 2003). Beberapa kekuatan pendorong umumnya terlibat dalam membawa teknologi-teknologi ini ke pasar yaitu: nilai dari hewan target, seleksi sifat-sifat yang diinginkan, efisiensi teknik, biaya, dan penerimaan publik (Long *et al*, 2003).

Dari sisi ekonomi, pendorong primer aplikasi teknologi reproduksi adalah pendapatan yang diperoleh dibandingkan biaya yang dikeluarkan. Dalam konteks ini efisiensi menjadi kata kunci. Secara umum, karena inefisiensi prosedur teknis, teknologi yang sudah tersedia pun kadangkala terbentur kekuatan pasar sehingga sulit diaplikasikan. Komersialisasi teknologi embrio transfer yang signifikan didahului tersedianya sejumlah teknologi reproduksi pendukung yang efisien dan dapat diulang. Kunci keberhasilan implementasi ET terletak pada prosedur sinkronisasi estrus, inseminasi buatan non-bedah dan kriopreservasi embrio (Gordon, 1996) serta pemanfaatan seleksi seks semen dan embrio. Teknologi kloning (dan modifikasi genetik) masih terus diteliti untuk meningkatkan efisiensinya agar dapat diaplikasikan secara komersial. Pasar yang menjanjikan untuk produk kloning terbuka lebar khususnya pada ternak sapi dan kuda.

Makalah ini mencoba mengupas status berbagai teknologi reproduksi hewan saat ini berikut upaya komersialisasinya. Dalam makalah ini dipaparkan konvergensi teknologi reproduksi hewan dan industri peternakan komersial (produksi pangan, biomedis, dan tujuan komersial lainnya).

### **PRODUKSI EMBRIO *IN VITRO* (PEIV)**

Pertengahan tahun 1980-an, beberapa laboratorium yang memproduksi embrio *in vitro* komersial berkembang di Amerika Serikat, Canada dan Eropa (terutama Jerman, Italia, Perancis, dan Belanda). Beberapa tahun kemudian berdiri laboratorium-laboratorium lain di Amerika Latin (Brasil dan Argentina) dan Oceania (Australia dan Selandia Baru) (Faber *et al*, 2003). Di Asia beberapa negara juga mengembangkan laboratorium serupa tetapi belum mengarah sepenuhnya pada kepentingan komersial seperti di Jepang, Cina, Korea, India, Thailand dan Indonesia.

Adopsi *transvaginal ovum pick-up* (OPU) dengan bantuan ultrasonography memungkinkan PEIV memanfaatkan hewan hidup sebagai sumber oosit (Callensen *et al*, 1987). Manfaat PEIV komersial adalah mendapatkan embrio dari betina yang tidak bisa menghasilkan keturunan melalui teknik konvensional. Dengan menggunakan OPU, PEIV menghasilkan satu kebuntingan per donor per minggu. Sekarang, PEIV menjadi komplemen dari program embrio transfer (ET). PEIV sebagai bagian program ET dapat diaplikasikan pada betina yang tidak respon terhadap perlakuan superovulasi atau betina yang tidak dapat menghasilkan embrio layak transfer karena abnormalitas saluran reproduksinya. PEIV dengan OPU juga dimungkinkan pada betina yang berhenti produksi embrio (karena sudah tua, kecelakaan, penyakit, dan lain-lain), dara dan induk bunting trimester pertama, dara dan induk dengan atau tanpa anak 1-3 bulan post partum. Selain itu dapat pula dilakukan pada dara dan induk dengan siklus normal dan betina yang belum dewasa kelamin.

OPU-PEIV dilaksanakan oleh laboratorium komersial maupun riset dalam berbagai kategori yang berbeda dalam hal hewan yang digunakan, umur, bangsa, status reproduksi, frekuensi aspirasi, penggunaan hormon, dan protokol fertilisasi dan kultur *in vitro*. Hasil-hasil yang diperolehpun bervariasi (Blondin *et al*, 2002; Bousquet *et al*, 1999; Eikermann *et al*, 2000; Ferre *et al*, 2002; Reis *et al*, 2002). Perkembangan embrio dan persentase kebuntingan berbeda-beda antar perlakuan. Aplikasi FSH sebelum OPU meningkatkan jumlah oosit, embrio layak transfer, dan kualitas oosit. Hasil penelitian menunjukkan perlunya perbaikan skema perlakuan superovulasi, meliputi kontrol perkembangan folikel dan menyempurnakan kompetensi tumbuh dari oosit (Blondin *et al*, 2002).

PEIV memungkinkan produksi embrio dalam jumlah besar dari ovarium donor yang dipotong jika asal usul betina tidak penting diketahui. Ovarium-ovarium donor dengan bangsa yang sama dapat diproses sebagai satu batch. Prosedur ini memudahkan semua tahapan produksi, identifikasi dan pembekuan sehingga biaya produksi embrio rendah dan dapat dikomersialkan dengan harga yang kompetitif. Tipe produksi seperti ini digunakan pada bangsa sapi potong premium untuk produksi anak komersial memanfaatkan ovarium sapi perah. Negara yang mengandalkan bangsa sapi potong unggul lokal untuk industri dagingnya (contoh: Italia dan Jepang) telah mengembangkannya. Produksi masal dapat juga digunakan untuk diseminasi embrio sapi perah bagi negara-negara berkembang.

Efisiensi teknologi PEIV dipengaruhi oleh banyak faktor, tetapi faktor utamanya adalah status donor, kualitas oosit, dan teknik yang digunakan untuk kultur embrio sampai tahap blastosis. Walaupun telah tercapai kemajuan berarti dalam PEIV sejak mulai diimplementasikan dalam pemuliabiakan hewan, beberapa hal masih perlu diperbaiki. Hal ini meliputi daya tahan oosit dan embrio terhadap pembekuan, menurunkan pengaruh kultur terhadap ukuran anak, meningkatkan kualitas oosit, penggunaan semen hasil seksing, ICSI, dan kultur folikel preantral.

### **SEKSING SEMEN, EMBRIO, DAN FETUS**

Kemungkinan praseleksi seks selalu mendapat perhatian besar diantara peneliti dan pengusaha peternakan. Semen yang sudah diseksing dapat meningkatkan keuntungan yang diharapkan industri sapi perah dan sapi potong melalui produksi anak dengan jenis kelamin yang diinginkan, menguntungkan untuk pemasaran spesifik atau kebutuhan produksi komersial. Sebagai contoh, produksi anak betina diharapkan pada ternak perah penghasil susu, dan produksi anak jantan diharapkan pada ternak potong penghasil daging. Seksing dapat juga diaplikasikan bagi perusahaan pembibitan dan balai IB untuk menguji pejantan elit dengan jumlah betina yang sedikit (Hohenboken, 1999).

Tabel 1. Berbagai metode seksing

Seksing	Metode
Semen	Kandungan DNA, volume kepala, immunologi
Embrio	Biopsi dan PCR, hibridisasi <i>in situ</i> fluorescence, kecepatan tumbuh <i>in vitro</i>
Fetus	Ultrasonografi hari ke-60 kebuntingan

Berbagai metode seksing pada semen, embrio maupun fetus telah dikembangkan (Tabel 1). Hasil dan akurasi sebagian besar teknik ini cukup memuaskan baik menggunakan metode praseleksi (seksing semen atau embrio) atau pascaseleksi (fetus). Pada skala komersial, metode yang rutin dipakai untuk seksing embrio adalah biopsi embrio dan amplifikasi DNA spesifik kromosom-Y menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Metode ini efektif untuk lebih dari 90% embrio dengan tingkat akurasi diatas 95% (Seidel, 1999).

Praseleksi seks di tampaknya menjadi bisnis yang prospektif di masa depan. Saat ini tercatat satu perusahaan komersial yang menyediakan semen yang sudah diseksing (XY Inc., Fort Collins, USA), dan praseleksi didasarkan pada perbedaan kandungan DNA antara sperma yang mengandung kromosom X dan kromosom Y. Mesin sorting sel kecepatan tinggi yang digunakan perusahaan ini dapat memisahkan 6 juta sperma X atau sperma Y per jam dengan kemurnian 90% (Johnson dan Welch, 1999).

Semen yang diseksing sangat bermanfaat dalam program IB, ET, dan PEIV. Semen hasil seksing ini telah diuji coba di lapangan. IB sapi dara menggunakan semen hasil seksing menghasilkan angka kebuntingan yang sama baiknya antara dosis rendah ( $1-1,5 \times 10^6$  sperma) maupun dosis tinggi ( $3 \times 10^6$  sperma), sehingga dosis rendah cukup memadai untuk pelaksanaan IB. Semen beku yang hasil seksing yang dipakai dalam PEIV menghasilkan perkembangan embrio sampai tahap blastosis mencapai 18-26% (Lu *et al*, 2001). Seksing embrio komersial dimulai di Trans Ova Genetics dengan memakai metode AB Technology (Pullman, WA). Prosedur membutuhkan waktu 5 menit untuk setiap biopsi embrio dan 2 jam untuk proses PCR (Faber *et al*, 2003).

## KLONING SEL SOMATIS

Kloning hewan pertama menggunakan sel somatis domba betina Finn Dorset dilaporkan di Skotlandia dan dinamakan Dolly (Wilmot *et al*, 1997). Sampai saat ini kloning telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies hewan, memperlihatkan minat yang besar dalam memproduksi (mengklon) genotipe spesifik (Baguisi *et al*, 1999; Campbell *et al*, 1996; Stice *et al*, 1998; Wells *et al*, 1999). Efisiensi kloning sangat bervariasi pada semua spesies yang berhasil dikloning. Pada sapi misalnya, angka kebuntingan berkisar 0-86%, angka kelahiran 0-28%, dan harapan hidup anak berkisar 0-100% (Faber *et al*, 2003). Variasi ditimbulkan bukan hanya oleh genotipe tetapi juga oleh sel donor inti yang digunakan, perlakuan sel donor sebelum transfer inti, dan sumber sel telur yang jadi resipien.

Pemanfaatan teknologi kloning dalam industri masih menjadi perdebatan. Secara umum, aplikasi komersial kloning tergantung pada tiga faktor yaitu faktor ekonomi (perbandingan biaya dengan pendapatan), faktor norma-norma sosial (kesejahteraan ternak, kepedulian terhadap lingkungan, dan penerimaan konsumen), dan faktor perundangan-undangan (kesehatan hewan dan keamanan pangan). Dari ketiga faktor tersebut, faktor ekonomi tampaknya menjadi penggerak utama dalam komersialisasi kloning.

Variasi ekstrim dan inefisiensi relatif kloning yang telah dilakukan oleh banyak kelompok peneliti, aplikasi utama kloning adalah untuk keperluan biomedis dan pengembangbiakan ternak elite. Secara teknis, kloning menjadi satu-satunya pilihan dalam hal menyelamatkan genetik yang hilang dari hewan yang mati secara prematur atau menjadi steril karena penyakit dan kecelakaan. Dengan metode terbaru kloning mamalia, muncul kepedulian mengenai berbagai isu diantaranya pewarisan sifat mitokondria dan modifikasi epigenetik yang tidak diharapkan yang disebabkan oleh prosedur kloning (Humpherys *et al*, 2001; Meireles *et al*, 2001). Tentu saja, betina klon akan mempunyai perubahan permanen dalam pewarisan sifat mitokondria. Walaupun demikian, perubahan epigenetik tidak akan diturunkan pada generasi berikutnya (Tamashiro *et al*, 2002). Belum diketahui bagaimana masalah tersebut akan mempengaruhi aplikasi komersial kloning secara luas.

Dalam perkembangannya kloning dikombinasi dengan teknik transgenesis untuk memproduksi hewan transgenik. Pemanfaatan teknologi transgenik memungkinkan diperolehnya ternak dengan karakteristik unggul yang diinginkan (Pinkert, 1994; Prather *et al*, 2003). Aplikasi komersial hewan klon-transgenik nantinya akan diproduksi dengan

penyisipan gen pada lokasi yang spesifik dalam genom. Teknik ini telah terbukti berhasil pada mencit dan intensif diteliti pada hewan-hewan besar. Dalam skala riset, telah diproduksi domba klon-transgenik pertama yang diberi nama Poly (Roslin Institute, Scotlandia), mengandung gen yang menyandi protein susu manusia sehingga potensi komersialnya tinggi. Gen-gen lain yang bernilai komersial untuk industri pangan dan biomedis terus diuji coba untuk produksi ternak transgenik (Tabel 2).

Tabel 2. Contoh –contoh locyt-locyt gen dan aplikasi pada ternak

Spesies	Gen	Aplikasi
Babi	$\alpha$ -1,3-galactosyl transferase	Mencegah rejeksi hiperakut dalam xenotransplantasi
Babi, sapi	Fas, Fas-L	Menekan rejeksi yang dimediasi sel pada xenotransplantasi
Sapi	Serum albumin	Produksi serum albumin manusia dalam susu
Sapi	Milk casein	Meningkatkan produksi protein dan formula susu bayi
Semua	SRY dan penentu sex lainnya	Produksi daging dan susu yang lebih efisien
Semua	Growth/differentiation factor 8	Produksi daging yang lebih efisien

### Kloning dalam Industri Pembibitan Sapi

Kloning sapi sangat menjanjikan untuk diaplikasikan dengan skala luas. Hal ini didasarkan fakta bahwa embrio klon dapat diproduksi dengan efisien dan angka kebuntingan hasil kloning juga relatif tinggi. Pemeliharaan kebuntingan dan harapan hidup anak yang rendah menjadi kendala utama untuk menyebarkan aplikasi teknologi ini pada sapi. Permintaan pasar untuk sapi kloning adalah sapi yang mempunyai nilai genetik dan nilai jual yang tinggi diantaranya sapi pejantan yang mempunyai nilai jual semen potensial yang tinggi dan induk betina yang menghasilkan pendapatan signifikan dari produksi embrio. Kloning sel somatik dalam usaha pembibitan komersial dapat menjamin kualitas produk, keseragaman, dan konsistensi. Untuk mewujudkan hal ini dibutuhkan efisiensi yang lebih tinggi dan biaya yang lebih rendah pada proses produksi kloning.

Sebagian upaya kloning difokuskan pada ternak sapi transgenik dengan memanfaatkan genotip-genotip yang sudah diketahui melalui modifikasi genetik (Brink *et al*, 2000; Murray, 1999). Genotipe superior dapat diperbanyak menggunakan teknik kloning dan

digabungkan dengan transgenesis untuk mengintroduksi sifat-sifat yang terkait karakteristik sekunder seperti resistensi terhadap penyakit dan fertilitas. Sifat-sifat ini belum dipertimbangkan dalam skema seleksi konvensional tetapi sekarang mendapat perhatian lebih intens, salah satu alasannya adalah untuk kesejahteraan ternak yang telah berkembang menjadi isu penting dalam segala aspek pemanfaatan hewan untuk keperluan manusia. Hambatan utama teknologi ini adalah tingginya angka kehilangan embrio (rata-rata 5% embrio klon yang berkembang sampai lahir) (Faber *et al*, 2003).

### **Kloning Komersial pada Kuda**

Saat ini kloning kuda sedang dalam tahap pengembangan. Beberapa laboratorium riset akademik dan perusahaan komersial secara aktif meneliti pemanfaatan teknologi transfer inti untuk memproduksi kloning kuda (Li *et al*, 2002). Teknologi pendukung kloning seperti PEIV pada kuda mampu menghasilkan embrio kuda yang kompeten untuk tumbuh. Meskipun fertilisasi *in vitro* sulit dilakukan pada kuda, tetapi dapat diatasi dengan teknik *intracytoplasmic sperm injection* (ICSI) yang telah memfasilitasi lahirnya anak (Choi *et al*, 2002). Teknik-teknik dasar kloning kuda untuk produksi telah banyak dicoba dan berhasil memproduksi kuda kloning walaupun efisiensinya masih rendah (Long *et al*, 2003). Peluang komersialisasi kloning kuda terbuka dengan banyaknya penelitian intensif yang diharapkan dapat meningkatkan keberhasilan produksi kloning sampai taraf efisien.

Pemasaran produk dan jasa kloning kuda tidak akan ditujukan pada peternak dan pemilik kuda pada umumnya. Kloning adalah metode reproduksi yang relatif mahal yang tampaknya hanya akan dimanfaatkan peternak kuda yang progresif yang memiliki kuda bernilai genetik tinggi dan terdaftar di asosiasi yang diakui. Di negara yang peternakan kudanya sudah maju seperti Amerika Serikat, pasar untuk kuda yang bernilai genetik tinggi terbuka lebar. Sebagai contoh, 1% kuda milik anggota NCHA (*National Cutting Horse Association*) secara rutin dijual dengan nilai lebih dari 100.000 US\$ setiap ekornya. Anggota asosiasi ini cepat mengadopsi teknologi reproduksi yang dapat meningkatkan keuntungan genetik program pemuliaan mereka dan peluang genetik yang maksimum untuk sifat-sifat yang diinginkan.

Proyek sekuensing genom kuda yang masih berjalan, berpotensi merevolusi pemuliaan kuda. Jika gen-gen yang mengkode sifat tertentu teridentifikasi dan hubungan



dengan gen-gen lain diketahui, maka peternak dapat merencanakan perkawinan kuda secara spesifik, menghindari sifat-sifat yang merusak ketika menyeleksi sifat-sifat yang menguntungkan. Penyisihan sifat-sifat yang merusak sangat bermanfaat untuk meningkatkan kesehatan kuda dengan menyelidiki kuda donor atas penyakit-penyakit yang dapat diturunkan. Kloning dikombinasi dengan modifikasi genetik memungkinkan penyingkiran secara permanen gen-gen yang merusak dari genom kuda. Teknologi yang sama juga dapat digunakan untuk meningkatkan kinerja sifat-sifat tertentu dengan memasukan atau memodifikasi gen-gen yang mengkode tulang yang lebih kuat atau otot yang lebih besar.

Aplikasi kloning dan modifikasi gen dalam industri peternakan kuda harus mempertimbangkan kebutuhan dan penerimaan para pelaku industri. Banyak peternak bersikap skeptis terhadap teknologi ini dan cenderung bertahan dengan teknologi reproduksi konvensional yang menurut mereka lebih aman dan alami. Sebagian diantaranya juga khawatir bahwa kloning menyebabkan produksi massal sejumlah kecil genotipe dan meningkatkan koefisien inbreeding dalam satu bangsa kuda. Walaupun demikian, studi kasus di Amerika Serikat menunjukkan bahwa jumlah peternak yang mengadopsi teknologi reproduksi (termasuk kloning) cenderung meningkat (Long *et al*, 2003). Para peternak tersebut berusaha memaksimalkan investasi mereka dan mempercepat peningkatan mutu genetik ternak yang mereka miliki.

## KESIMPULAN

Seiring perkembangan pesat teknologi reproduksi hewan, terbuka peluang komersialisasi teknologi ini untuk produksi pangan dan aplikasi biomedis. Faktor ekonomi (potensi menghasilkan keuntungan) menjadi penggerak utama upaya komersialisasi teknologi reproduksi.

IB, Seksing, ET, PEIV, kloning dan transgenik menjadi komponen teknologi penting saat ini dan di masa depan. Beberapa tahun terakhir, berbagai laboratorium dan perusahaan telah tumbuh dan berkembang menghasilkan produk dan layanan jasa guna memenuhi permintaan publik secara komersial.

## Daftar Pustaka

- Baguisi A, Behboodi E, Melican DT, Pollock JS, Destremes MM, dan Cammuso T. 1999. Production of goat by somatic cell nuclear transfer. *Nat. Biotechnol.*, 17: 456-461.
- Blondin P, Bousquet D, Twagiramungu H, Barnes F, dan Sirard MA. 2002. Manipulation of follicular development to produce developmentally competent bovine oocytes. *Biol. Reprod.*, 66: 38-43.
- Bousquet D, Twagiramungu H, Morin N, Brisson C, Carboneau G, dan Durocher J. 1999. In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. *Theriogenology*, 51: 59-70.
- Brink MF, Bishop MD, dan Pieper FR. 2000. Developing strategies for the generation of transgenic cattle which produce biopharmaceutical in milk. *Theriogenology*, 53:139-148.
- Callensen H, Greeve T, dan Christensen F. 1987. Ultrasonically guided aspiration of bovine follicular oocytes. *Theriogenology*, 27:217.
- Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, dan Wilmut I. 1996. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*, 380: 64-66.
- Choi YH, Love CC, Love LB, Varner DD, dan Ingram LA. 2002. Developmental competence in vivo and in vitro-matured equine oocytes fertilized by intracytoplasmic sperm injection with fresh or frozen-thawed spermatozoa. *Reproduction*, 123:455-465.
- Eikermann E., Frank KU, Schindler L, dan Nieman H. 2000. Repeated ultrasound-guided follicular aspiration in pregnant heifers and cows. *Theriogenology*, 53:351.
- Faber DC, Molina JA, Ohlrichs CL, Zwaag DFV, dan Ferre LB. 2003. Commercialization of animal biotechnology. *Theriogenology* 59: 125-138.
- Ferre LB, Dalla Lasta M, Medina M, dan Brogliati G. 2002. In vitro embryo production and pregnancy rates from problem pregnant and cyclic cows by transvaginal ovum pick-up. *Theriogenology*, 57: 664.
- Gordon I. 1996. *Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes*. CABI, Wallington, Oxon.
- Hohenboken WD. 1999. Application of sexed semen in cattle production. *Theriogenology*, 52:1421-1433.
- Johnson LA dan Welch GR. 1999. Sex preselection: high speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology*, 52:1323-1341.
- Li X, Morris LH, Allen WR. 2002. In vitro development of horse oocytes reconstructed with nuclei of fetal and adult cells. *Biol. Reprod.*, 66: 1288-1292.
- Long CR, Walker SC, Tang RT, dan Westhusin ME. 2003. New commercial opportunities for advanced reproductive technologies in horses, wildlife, and companion animals. *Theriogenology* 59: 139-149.
- Lu KH, Suh TK, dan Seidel Jr GE. 2001. In vitro fertilization of bovine oocytes with flow-cytometrically sorted and unsorted sperm from different bulls. *Theriogenology*, 55:431.
- Murray JD. 1999. Genetic modification of animals in the next century. *Theriogenology* 51:149.
- Pinkert, C.A. 1994. *Transgenic Animal Technology*. CABI, Oxford, UK.
- Prather, R.S., R.J. Hanley, O.B. Center, L. Lai, and L. Greenstein. Transgenic swine for biomedicine and agriculture. *Theriogenology*, 59 : 115-122.

- Reis A, Staines ME, Watt RG, Dolman DF, dan McEvoy TG. 2002. Embryo production using defined oocyte maturation and zygote culture media following repeated opum pick-up (OPU) from FSH-stimulated Simmental heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 72: 137-151.
- Seidel Jr GE. 1999. Sexing mammalian spermatozoa and embryos – state of art. *J. Reprod. Fertil.*, 54: 477-487.
- Smeaton DC, Harris BL, Xu ZZ, dan Vivanco WH. 2003. Factors affecting commercial application of embryo technologies in New Zealand: a modelling approach. *Theriogenology*, 59: 617-634.
- Stice SL, Robl JM, Ponce de Leon FA, Jerry J, Golueke PF, dan Cibelli JB. 1998. Cloning: new breakthroughs leading to commercial opportunities. *Theriogenology*, 49: 129-138.
- Wells DN, Misica PM, dan Tervit HR. 1999. Production of cloned calves following nuclear transfer with cultured adult mural granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 60: 996-1000.
- Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, dan Campbell KHS. 1997. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385:810-813.