

ANALISIS KONSENTRASI ESTROGEN DAN PROGESTERON DENGAN WAKTU OPTIMUM INSEMINASI BUATAN DAN CONCEPTION RATE PADA SAPI PASUNDAN

Euis Nia Setiawati^{1*} dan Vony Armelia²

¹Pusat Pelatihan Kesehatan Hewan, Cinagara Bogor, Jawa Barat, Indonesia

²Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

*Korespondensi email: e.niasetiawati@gmail.com

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi estrogen dan progesteron terhadap waktu optimum inseminasi buatan (IB) dan conception rate pada sapi Pasundan bunting. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok I, sapi di IB 0 jam (saat estrus), kelompok II, sapi di IB 12 jam setelah estrus dan kelompok III, sapi di IB 24 jam setelah estrus. Pengamatan estrus dilakukan 2 kali sehari yaitu pagi hari (jam 6.00-8.00 wib) dan sore hari (jam 16.00-18.00 wib) yang ditandai dengan keluarnya leleran bening transparan dari vagina. Hasil penelitian menunjukkan bahwa conception rate tertinggi pada sapi Pasundan dengan waktu IB 24 jam setelah estrus (90%), namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) dengan yang di IB 12 jam (80%) setelah estrus, sedangkan sapi yang di IB saat estrus, tidak ada yang bunting (0%). Kadar progesteron dan estrogen pada sapi Pasundan bunting meningkat sejalan dengan umur kebuntingan yaitu $15,43 \pm 0,50$ ng/ml / $24,81 \pm 2,86$ pg/ml pada umur kebuntingan 30 hari, $17,16 \pm 0,34$ ng/ml / $26,43 \pm 1,32$ pg/ml pada umur kebuntingan 60 hari dan $20,78 \pm 0,59$ ng/ml / $27,02 \pm 1,49$ pg/ml pada umur kebuntingan 90 hari. Simpulan bahwa waktu IB terbaik adalah 24 jam setelah estrus, kadar progesteron dan estrogen meningkat pada sapi pasundan sejalan dengan umur kebuntingan.

Kata kunci: sapi Pasundan, inseminasi buatan, estrogen, progesteron, *conception rate*

Abstract. This study aims to determine the concentration of estrogen and progesterone on the optimum time of artificial insemination (AI) and conception rate in pregnant Pasundan cattle. The design used was a completely randomized design (CRD). This study consisted of three treatment groups, namely group I, cows in AI 0 hours (during estrus), group II, cows in AI 12 hours after estrus and group III, cows in AI 24 hours after estrus. Observation of estrus was carried out 2 times a day, namely in the morning (6.00-8.00 WIB) and afternoon (16.00-18.00 WIB) which was marked by the release of transparent clear discharge from the vagina. The results showed that the highest conception rate was found in Pasundan cattle with IB 24 hours after estrus (90%), however statistically there was no significant difference ($P > 0.05$) with those in AI 12 hours (80%) after estrus. while the cows that were AI during estrus, none were pregnant (0%). Progesterone and estrogen levels in pregnant Pasundan cattle increased with gestational age, namely 15.43 ± 0.50 ng/mL at 30 days of gestation, 17.16 ± 0.34 ng/mL at 60 days of gestation and 20.78 ± 0.59 ng/mL at 90 days of gestation. The conclusion that the best AI time is 24 hours after estrus and progesterone and estrogen levels increase in Pasundan cattle along with gestational age.

Keywords: Pasundan cattle, artificial insemination, estrogen, progesterone, conception rate.

Pendahuluan

Sapi Pasundan memiliki tubuh yang kecil, serta memiliki daya tahan terhadap penyakit tropis dan mampu bertahan dalam perubahan lingkungan yang ekstrim termasuk lingkungan yang memiliki pakan dengan kualitas rendah (Arifin, 2017). Salah satu usaha untuk meningkatkan produktivitas usaha sapi Pasundan dengan pola usaha pembibitan adalah melalui introduksi genotipe unggul ataupun persilangan dengan menerapkan teknologi inseminasi buatan (IB), namun fakta di lapangan keberhasilan program IB pada sapi Pasundan belum optimal. Teknik Inseminasi Buatan (IB) merupakan metode perkawinan paling ideal untuk meningkatkan populasi ternak, meningkatkan mutu genetika ternak, dan mempertahankan kemurnian genetika ternak. Hal-hal yang perlu diketahui sebelum melaksanakan IB diantaranya adalah penentuan waktu berahi sapi betina dengan tepat (Abidin et

al.,2012), sedangkan menurut Inchaisri at al., (2011), keberhasilan IB sangat tergantung pada waktu inseminasi. Banyak studi telah melaporkan bahwa angka kebuntingan terbaik diperoleh apabila IB dilakukan pada waktu pertengahan estrus hingga akhir estrus. Waktu yang tepat dalam pelaksanaan IB merupakan faktor utama yang harus diperhatikan. Pada waktu IB ternak harus dalam keadaan berahi, karena pada saat itu servik pada posisi yang terbuka (Ihsan, 2010). Hasil penelitian terdahulu menyatakan bahwa berdasarkan pengamatan estrus menggunakan Heat Watch System memperoleh waktu optimum inseminasi antara jam ke 4–12 setelah standing estrus (Dalton 2012).

Pelaksanaan IB pada prinsipnya harus mendahului waktu ovulasi. waktu inseminasi berkaitan dengan puncak kesuburan ternak betina, yaitu pada waktu menjelang ovulasi dan kapasitas spermatozoa di dalam saluran reproduksi betina. Rataan waktu ovulasi sapi betina berlangsung antara 25-30 jam sejak estrus dan 11-13 jam setelah berakhirnya estrus (Sonjaya, 2007). Selanjutnya Dalton (2012), menyatakan bahwa sapi akan berovulasi sekitar 27.6 ± 5.4 jam setelah terlihat estrus, sedangkan perjalanan sperma menuju tempat fertilisasi sekitar 6-12 jam dan daya hidup sperma di dalam saluran reproduksi betina adalah 24 jam (Dalton 2012). Meskipun ovum memiliki periode maksimum kapasitas untuk proses fertilisasi sekitar 20–24 jam, namun periode optimum berlangsung hanya sekitar 6–10 jam. Hal ini bermakna bahwa sekali sel telur terovulasi, diestimasi viabilitas hidup kurang dari 12 jam, kecuali jika terjadi pembuahan. Pemeriksaan intensif terhadap waktu tepat inseminasi pada berbagai tahap estrus memperjelas angka konsepsi akan maksimum jika IB dilakukan mulai fase metestrus sampai beberapa jam setelah berakhirnya ekspresi standing estrus (Abidin, Z., et al., 2012).

Banyak faktor yang mempengaruhi tingkat keberhasilan IB yaitu bangsa ternak, kondisi ternak pada saat berahi, keterampilan inseminator saat mendeposisikan semen, deteksi berahi dan ketepatan waktu saat IB (Susilawati, 2011). Salah satu penyebab kegagalan inseminasi adalah karena ketidak seimbangan sistem hormonal. Hormon ovarium yang mempunyai peranan besar terhadap reproduksi salah satunya progesteron. Progesteron salah satu hormon penting yang berhubungan dengan reproduksi yang disekresikan oleh sel-sel luteal corpus luteum (CL). Konsentrasi progesteron dalam darah maupun susu dapat menentukan keadaan hewan tersebut dalam keadaan infertil, normal, birahi, dan bunting sehingga dapat digunakan untuk deteksi birahi dan mengetahui kondisi patologis lainnya. Lebih lanjut Santos et al. (2004) melaporkan mayoritas kematian embrio dapat terjadi menjelang 60 hari setelah IB, sebelum plasenta terbentuk sempurna, meliputi kematian embrio pada umur 0-7 hari setelah IB (very early embryo). Progesteron salah satu hormon penting yang berhubungan dengan reproduksi yang disekresikan oleh sel-sel luteal corpus luteum (Atabany 2000). Lebih lanjut Siregar (2002), menyatakan bahwa konsentrasi progesterone (P4) merupakan salah satu indikator yang dapat digunakan untuk mengukur jumlah ovulasi, sedangkan menurut Gaja et al (2013), progesterone merupakan hormon kunci yang berperan penting dalam pengaturan siklus estrus dan pemeliharaan kebuntingan. Konsentrasi progesteron sapi yang tidak bunting normalnya menurun pada hari ke-17 sampai 20 siklus estrus, sedangkan sapi bunting konsentrasi progesterone(P) terus dipertahankan tinggi sampai menjelang akhir kebuntingan (Ginther et al., 2010). Saat usia kebuntingan trimester 2, plasenta menghasilkan progesteron ± 210 mg/hari dengan metabolic clearance rate (MCR) ± 2110 l/hari. Kadar progesteron plasma maternal meningkat secara linier dari 40 $\mu\text{g/ml}$ (trimester 1) sampai lebih dari 175 $\mu\text{g/ml}$ (trimester 3). Progesteron juga sangat penting untuk menunjang perkembangan kelenjar susu (Conneely et al., 2002). Konsentrasi hormon progesteron pada hari ke-21 adalah diatas 15 ng/ml dikatakan positif bunting (Pemayun dan Budiasa, 2014). Penelitian ini

bertujuan untuk mengetahui waktu IB yang tepat dan kadar progesteron pada sapi pasundan yang bunting.

Materi dan Metode Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah 30 ekor sapi Pasundan betina dara, Umur 2 – 2.5 tahun dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri dari 10 ekor. Penelitian dilakukan berdasarkan metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL). Seluruh sapi percobaan diadaptasikan dengan lingkungan setempat dan diberi makanan basal berupa rumput lapangan sedangkan air minum diberikan secara adlibitum. Induk sapi percobaan diserentakan berahinya menggunakan prostaglandin ($\text{PGF}2\alpha$, dinoprost tromethamine), dosis 5 ml/ekor sebanyak 2 (dua) kali dengan selang waktu 11 hari. sapi yang berahi dilakukan inseminasi buatan dengan rincian kelompok I, sapi mendapat perlakuan IB pada saat 0 jam (awal estrus), kelompok II sapi di-IB 12 jam setelah estrus, dan kelompok III sapi di-IB 24 jam setelah estrus. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan pada 30 hari, 60 hari dan 90 hari setelah inseminasi buatan dengan metode palpasi rektal.

Sampling darah selama kebuntingan dilakukan 3 (tiga) kali pada kebuntingan umur 30 hari, 60 hari dan 90 hari. Darah diambil dari vena jugularis sebanyak 10 ml dengan menggunakan disposibel syringe yang mengandung anticoagulant, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditempatkan dalam termos berisi es. Darah dibiarkan selama 30 menit kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. Plasma yang terbentuk dipisahkan ke dalam tabung eppendorf yang akan digunakan untuk analisis hormon dan metabolit darah.

Estrogen. Konsentrasi estrogen dalam plasma diukur dengan KIT (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) menggunakan teknik Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Pada masing-masing plat Elisa dimasukkan 25 μl larutan standar, sampel, dan kontrol, kemudian masing-masing dicampur dengan 200 μl reagen konjugat estradiol pada setiap well. Selanjutnya inkubasi selama 120 menit pada suhu ruang. Nilai absorbansi dibaca pada ELISA reader setelah 10 menit dengan panjang gelombang 450 ± 10 nm.

Konsentrasi progesteron dalam plasma diukur dengan KIT (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) menggunakan teknik Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Pada masing-masing plat Elisa dimasukkan 25 μl larutan standar, sampel, dan kontrol, kemudian masing-masing dicampur dengan 200 μl reagen konjugat progesteron pada setiap well. Selanjutnya inkubasi selama 120 menit pada suhu ruang. Nilai absorbansi dibaca pada ELISA reader setelah 10 menit dengan panjang gelombang 450 ± 10 nm.

Data yang terkumpul dianalisis menggunakan Data keberhasilan inseminasi (kebuntingan) dan kadar estrogen dan progesteron dianalisis dengan menggunakan sidik ragam/Analysis of variance, dan bila ada perbedaan dilanjutkan dengan uji Least Significant Difference. Proses pengolahan data dilakukan dengan program SPSS 17.0 for Windows.

Hasil dan Pembahasan

Persentase Kebuntingan Pasca Inseminasi Buatan

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa Persentase kebuntingan setelah inseminasi buatan pada sapi Pasundan tertera pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pada Tabel 1 ternyata rata-rata persentase kebuntingan pada penelitian ini berturut-turut adalah 0.00% untuk waktu IB yang dilakukan 0 jam, 80.00% untuk waktu IB yang dilakukan 12 jam, dan 90.00 % untuk waktu IB yang dilakukan 24 jam pasca awal estrus atau pertama

kali terlihat keluarnya leleran bening dan kental dari vagina. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa persentase kebuntingan tertinggi dicapai pada inseminasi buatan yang dilakukan 24 jam pasca awal estrus. Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa waktu inseminasi buatan antara 12 jam dengan 24 jam tidak berpengaruh nyata ($P>0,05$) terhadap persentase kebuntingan, meskipun secara numerik bahwa persentase kebuntingan pada inseminasi buatan 24 jam pasca awal estrus lebih tinggi dari inseminasi buatan 12 jam pasca estrus. Menurut Abidin et al. (2012), hal yang perlu diketahui sebelum melaksanakan IB diantaranya adalah penentuan waktu berahi sapi betina dengan tepat. Lebih lanjut Inchaisri et al., (2011), menyatakan bahwa keberhasilan IB sangat tergantung pada waktu inseminasi. Selama siklus berahi, perubahan karakteristik fisik lendir servik dapat digunakan untuk menunjukkan waktu yang optimal untuk melakukan IB (Tsiligianni et al., 2011). Pengamatan berahi merupakan salah satu faktor penting dalam manajemen reproduksi sapi (Prihatno, 2006). Pemeriksaan intensif terhadap waktu tepat inseminasi pada berbagai tahap estrus memperjelas angka konsepsi akan maksimum jika IB dilakukan mulai fase metestrus sampai beberapa jam setelah berakhirnya ekspresi standing estrus (Dransfield et al., 1998).

Tabel 1. Rataan Persentase Kebuntingan Setelah Inseminasi Buatan

Waktu IB(Ekor)	Ulangan	Jumlah Bunting (Ekor)	Angka Kebuntingan (%)
0 Jam Pasca Awal Estrus	10	0	0.00
12 jam Pasca awal Estrus	10	8	80.00
24 jam Pasca awal Estrus	10	9	90.00

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata persentase kebuntingan yang dicapai relatif lebih rendah dibanding hasil penelitian Pemayun (2014) pada sapi Bali dengan rincian persentase kebuntingan 0% untuk waktu IB yang dilakukan 0 jam, 75% untuk waktu IB yang dilakukan 12 jam, dan 100% untuk waktu IB yang dilakukan 24 jam pasca estrus. Kondisi lebih rendahnya hasil kebuntingan pada penelitian ini, diduga karena perbedaan jenis ternak, kecukupan pakan dan kesehatan reproduksi. Hal ini sejalan dengan Hafez (2000), menyatakan bahwa lama estrus dan waktu ovulasi pada setiap spesies ternak sangat bervariasi, rata-rata lama estrus pada sapi adalah 18-19 jam dengan ovulasi terjadi 10-11 jam setelah estrus berakhir. Rataan waktu ovulasi sapi betina berlangsung antara 25-30 jam sejak estrus atau 11-13 jam setelah berakhirnya estrus (Sonjaya, 2007). Lebih lanjut Dalton (2012), menyatakan bahwa sapi akan berovulasi sekitar 27.6 ± 5.4 jam setelah terlihat estrus, sedangkan perjalanan sperma menuju tempat fertilisasi sekitar 6-12 jam dimana daya hidup sperma di dalam saluran reproduksi betina adalah 24 jam dan waktu optimum inseminasi antara jam ke 4-12 setelah standing estrus (Dalton 2012). Jika thawing semen beku dilakukan secara baik, maka lama viabilitas sperma dalam saluran reproduksi betina diperkirakan berlangsung sekitar 24-30 jam (Susilawati, T. 2011). Ovum memiliki periode maksimum kapasitas untuk proses fertilisasi sekitar 20-24 jam, dan periode optimum berlangsung hanya sekitar 6-10 jam (Hafizuddin et al., 2016).

Profil Konsentrasi Hormon Saat Estrus Dan Bunting

Selama satu siklus berahi, hormon-hormon reproduksi saling berinteraksi untuk menampilkan perubahan fisiologis dan perubahan tingkah laku seekor hewan betina (Sonjaya, 2012). Progesteron bersama estradiol berperan memelihara kebuntingan. Progesteron dan estradiol merangsang sekresi kelenjar uterus (Vallet et al. 2002) dan meningkatkan ekspresi faktor-faktor pertumbuhan epitel uterus, proliferasi, dan diferensiasi konseptus (Geisert & Schmitt 2002; Bigsby et al. 2004; Fowden &

Forhead 2004; Vallet et al. 2004). Hormon kebuntingan dan mammogenik berperan penting dalam pemeliharaan kebuntingan hingga memasuki periode pasca partus. Menurut Arimbawa et al. (2012) peningkatan dan penurunan kadar progesteron sejalan dengan perkembangan korpus luteum. Rataan konsentrasi hormon estrogen dan progesteron ketika sapi pasundan estrus dan bunting disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Konsentrasi Estrogen Dan Progesterone Pada Saat Bunting

Respon Yang Diamati	Bunting 30 hari	Bunting60 (hari)	Bunting 90 (hari)
Estrogen (pg/ /ml)	24.81±2.86	26.43±1.32	27.02 ±1,49
Progesteron (ng/ml)	15,43±0,50	17,16±0,34	20,78±0,59

Berdasarkan hasil pada Tabel 2, menunjukkan bahwa konsentrasi progesteron pada kebuntingan 60 hari dan 150 hari mengalami peningkatan dibanding saat di IB (estrus). Hal ini sejalan dengan Al-Asmakh (2007), menyatakan bahwa hormon progesteron berfungsi memelihara kebuntingan pada semua spesies dengan memacu pertumbuhan uterus dan menekan kontraksi myometrium. Konsentrasi estrogen dan progesteron meningkat sejalan dengan umur kebuntingan, dimana peningkatan jumlah folikel, korpus luteum, dan plasenta menyebabkan kenaikan sekresi dari kelenjar penghasil hormon kebuntingan dan mammogenik seperti estradiol dan progesteron selama kebuntingan Manalu *et al.* (2000a). Lebih lanjut Arimbawa et al. (2012), menyatakan bahwa pertumbuhan folikel selama siklus estrus dikontrol oleh hormon FSH dan LH, keduanya harus ada bila diharapkan pertumbuhan dan fungsi (sekresi estrogen) folikel yang normal. Tingginya kadar progesteron saat bunting karena korpus luteum tetap berfungsi menghasilkan progesteron (McDonald, 2000; Hafez, 2000). Lebih lanjut Anderson (2003) menyatakan bahwa selama kebuntingan pertumbuhan dan perkembangan uterus dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi hormon progesteron dan estradiol.

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa konsentrasi progesteron dan estrogen berpengaruh nyata ($P < 0.01$) terhadap umur kebuntingan. Kondisi ini menunjukkan bahwa semakin tinggi umur kebuntingan maka konsentrasi estrogen dan progesteron meningkat. Lebih lanjut Gaja et al., (2013), menyatakan bahwa progesterone merupakan hormon kunci yang berperan penting dalam pengaturan siklus estrus dan pemeliharaan kebuntingan, dan konsentrasi progesteron terus dipertahankan tinggi sampai menjelang akhir kebuntingan. Progesteron juga sangat penting untuk menunjang perkembangan kelenjar susu (Conneely et al., 2002). Sejalan dengan Dunlap dan Stomshak (2004), menyatakan bahwa progesteron memegang peranan penting dalam mempersiapkan lingkungan uterus untuk implantasi dan peningkatan progesteron selama kebuntingan serta berperan dalam mempertahankan kebuntingan. Progesteron, selain dihasilkan oleh korpus luteum pada awal kebuntingan, juga dihasilkan oleh plasenta dan fetus setelah plasentasi (Ergene O. 2012). Menurut Vallet et al. (2002), progesteron bersama estradiol berperan memelihara kebuntingan. Hal ini senada dengan Osman et al, (2012), menyatakan bahwa progesterone bersama estradiol merangsang sekresi kelenjar uterus dan meningkatkan ekspresi faktor-faktor pertumbuhan epitel uterus, proliferasi, dan diferensiasi konseptus.

Kesimpulan

Persentase kebuntingan tertinggi diperoleh pada sapi Pasundan yang di inseminasi buatan (IB) 24 jam pasca awal estrus, dan semakin bertambah umur kebuntingan maka konsentrasi estrogen dan progesteron semakin meningkat.



Daftar Pustaka

- Abidin, Z., Y.S. Ondho, dan B. Sutiyono. 2012. Penampilan Berahi Sapi Jawa Berdasarkan Poel 1, Poel 2, dan Poel 3. *J. Anim. Agriculture*. 1(2):86-92.
- Al-Asmakh M. 2007. Reproductive Functions of Progesterone. *Middle East Fertility Society Journal* 12(3) :147-152.
- Arimbawa, I.W.P., I.G.N.B. Trilaksana, T.G.O. Pelayun. 2012. Gambaran Hormon Progesteron Sapi Bali selama Satu Siklus Estrus. *Ind. Med. Vet.* 1(3):330-33.
- Ergene O. 2012. Progesterone Concentrations and Pregnancy Rates of Repeat Breeder Cows Following Post Insemination PRID and GnRH Treatments. *Turk J Vet Anim Sci* 36(3) : 283-288.
- Guyton AC, Hal JE. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-9. Jakarta: Penerbit EGC.
- Hafez ESE, Hafez B. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Edition. Philadelphia (US): Lea and Febiger. p405-430.
- Hafizuddin et al. 2016. Peran Interferon-tau (IFN- τ) dalam Penanganan Reproduksi Ternak Ruminansia Betina. *Wartazoa*. 19(4): 166-171.
- Ihsan, M. N., dan S. Wahjuningsih. 2011. Penampilan Reproduksi Sapi Potong di Kabupaten Bojonegoro. *J. Ternak Tropika*. 2 (2) : 76.
- Manalu W, M.Y. Sumaryadi, and N. Kusumorini, 1996. Effect of Fetal Number on Concentrations of Circulating Maternal Serum Progesterone and Estradiol of Does during Late Pregnancy. *Small Ruminant Res.* 23:117-124.
- Malik A., H. Wahid, Y Rosmina, A. Kasim, and M. Sabri. 2012. Effects of Timed Artificial Insemination Following Estrus Synchronization In Postpartum Beef Cattle. *Open Veterinary Journal*. 2: 1 – 5.
- Nascimento AB, Souza AH, Keskin A, Sartori R, Wiltbank MC. 2014. Lack of Complete Regression of the Day 5 Corpus Luteum after One or Two Doses of PGF 2α in Nonlactating Holstein Cows. *Theriogenology*. 81: 389-395.
- Pelayun, T.G.O. 2014. Waktu Inseminasi Buatan yang Tepat pada Sapi Bali dan Kadar Progesteron pada Sapi Bunting. *Jurnal Veteriner Vol 15 (3)*: 425 – 430.
- Ratnawati. D., C.P. Wulan., A.S. Lukman. 2007. *Petunjuk Teknis Penanganan Gangguan Reproduksi pada Sapi Potong*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Ribeiro ES, Bisinotto RS, Favoreto MG, Martins LT, Cerri RLA, Silvestre FT, Greco LF, Thatcher WW, Santos JEP. 2012. Fertility in Dairy Cows Following Presynchronization and Administering Twice the Luteolytic Dose of Prostaglandin F 2α as One or Two Injections in the 5-day Timed Artificial Insemination Protocol. *Theriogenology*. 78 (2): 273-284.
- Setiadi MA, Setiawan KD, Yunitasari ED. 2014. Response and Characteristics of Estrous of Etawa Grade Goats after Different Routes of Prostaglandin Application. *Proceedings The 2nd Asian- Australasian Dairy Goats Conference*. p135-138.
- Sonjaya, H. 2012. *Dasar Fisiologi Ternak*. Bogor (ID). Institut Pertanian Bogor.
- Susilawati, T. 2011. Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan dengan Kualitas dan Deposisi Semen yang Berbeda pada Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Ternak Tropika*. 12(2): 15 – 24.
- Stotzel C, Plöntzke J, Heuwieser W, Roblitz S. 2012. Advances in Modeling of the Bovine Estrous Cycle: Synchronization with PGF 2α . *Journal Dairy Science*. 78: 1415-1428.
- Torres XV, Morales PL, Arango JC. 2013. The Effect of Dose and Type of Cloprostenol on the Luteolytic Response of Dairy Cattle during the Ovsynch Protocol under Different Oestrous Cycle and Physiological Characteristics. *Journal Reproduction in Domestic Animal*. 48: 874-880.
- Tsiligianni T, Karagiannidis A, Brikas P, Saratsis P. 2000. Physical Properties of Bovine Cervical Mucus during Normal and Induced (Progesterone and/or PGF 2α) Estrus. *Theriogenology*. 55: 629- 640.
- Uslenghi G, Vater A, Aguilar SR, Cabodevila J, Callejas S. 2016. Effect of Estradiol Cypionate and GnRH Treatment on Plasma Estradiol-17 β Concentrations, Synchronization of Ovulation and on Pregnancy Rates in Suckled Beef Cows Treated with FTAI-based Protocols. *Journal Reproduction in Domestic Animal*. 51: 693-699.
- Pelayun IGAGP. 2002. Evaluation of Nephrotomy without Sutures in Dog. *Journal of Veterinary* 3:94.
- Fenton FR, Martinez ND. 1980. The Optimum Time for Artificial Insemination of Cows In Two Climatic Zones Of Venezuela. *Trop Anim Prod* (5)3 : 257-260.
- Graham JD, Christine LC. 1997. Physiological Action of Progesterone in Target Tissues. *Endocrine Reviews* 18(4) : 502-519.



- Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Lippincott William & Wilkins. A Wolter Kluwer Company. Pp 55-63.
- Inchaisri C, Jorritsma R, Vernooij JC, Vos PL, van der Weijden GC, Hogeveen H. 2011. Cow Effects and Estimation of Success of First and Following Inseminations in Dutch Dairy Cows. *Reprod Domest Anim* 46(6) : 1043- 1049.
- McDonald LE. 2000. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 3rdEd. London. Bailliere Tindall. Pp 315-367.
- Muhamad F, Sawar A, Hayat CS, Anwar MI. 2000. Peripheral Plasma Progesterone Concentration During Early Pregnancy in Holstein Friesian Cows. *Pakistan Vet J* 20(4) : 166-168.
- Osman MM, El Bayomi KHM, Abdoon AS, El Nabtiti AAS. 2012. Using of Progesterone Field Test (on Farm) as a Tool for Early Detection of Pregnancy in Dairy Farms. *SCVMJ* 17(1) : 9-18.
- Samad HA, Nazir A, Bengmen NU, Rehman, Ijaz A. 2004. Use of Milk Progesterone Assay for Monitoring Oestrus and Early Pregnancy in Nilli-Ravi Buffaloes. *Pakistan Vet J* 24(3) : 121-124.
- Simersky R, Swaczynova J, Morris DA, Franek MM, Strna TRNAD. 2007. Development of an ELISA-based Kit for the on-Farm Determination of Progesterone in Milk. *Veterinarni Medicina* 52(1) : 19–28.
- Valdez KE, Cuneot SP, Gorden PJ, Turzillo AM. 2005. The Role of Thecal Androgen Production in the Regulation of Estradiol Biosynthesis by Dominant Bovine Follicles during the First Follicular Wave. *J Anim Sci* 83:597-603.
- Vishwanath R, Melis J, Johson DL, Xu ZZ. 2004. Effect of Timing of Insemination of Dairy Cows with Liquid Semen Relative to the Observation of Oestrus. *Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production*. Vol.64., pp.140-142.
- Layek SS, Mohanty TK, Kumaresan A, Behera K, Chand S. 2011. Behavioural Signs of Estrus and Their Relationship to Time of Ovulation in Zebu (Sahiwal) Cattle. *Anim Reprod Sci* 129(3-4) : 140-145.