

Penyuntikan Gonadorelin pada Saat Estrus Terhadap Perkembangan Folikel dan Terjadinya Ovulasi serta *Non Return Rate* pada Sapi Bali yang Mengalami Kawin Berulang

(*GONADORELIN INJECTION DURING ESTRUS ON FOLLICLE DEVELOPMENT AND OVULATION AND NON-RETURN RATE IN BALI CATTLES THAT EXPERIENCE REPEATED BREEDING*)

**Gusde Wahyu Krisna Suputra^{1*}, I Gusti Ngurah Bagus Trilaksana²,
Tjok Gde Oka Pelayun², I Wayan Sukernayasa², I Nyoman Oka Widiarta³**

¹Praktisi Dokter Hewan di Br. Beluangan, Peraan Kangin, Baturiti, Tabanan, Bali, Indonesia;

²Laboratorium Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar, Bali, Indonesia;

³Puskesmas Sobangan, Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Badung, Bali, Indonesia.

*Email: gusde.wahyu99@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pemberian gonadorelin mampu menyebabkan terjadinya perkembangan folikel mencapai folikel yang siap untuk di ovulasikan dan terjadi ovulasi serta fertilisasi pada sapi bali yang mengalami kawin berulang di Desa Sobangan, Kabupaten Badung, Bali. Pengamatan folikel yang berkembang dan waktu ovulasi dilakukan menggunakan USG transrektal melalui palpasi rektal. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah *rancangan acak lengkap* (RAL) yang terdiri dari tiga kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol tanpa injeksi gonadorelin (P0), kelompok yang mendapat injeksi gonadorelin dosis 50µg/im/ekor (P1) dan, kelompok yang mendapat injeksi gonadorelin dosis 100µg/im/ekor (P2). Injeksi gonadorelin dilakukan saat keluarnya leleran bening dari vagina sebagai tanda munculnya estrus dan semua sampel di IB 12 jam setelah munculnya estrus. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata diameter folikel pada saat estrus kelompok P0 7,37±0,46mm, kelompok P1 7,67±0,78mm, dan kelompok P2 7,59±0,77mm dan secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P>0,05$). Saat mencapai folikel *de graff* rata-rata diameter folikel pada kelompok P0 11,27±0,59mm, kelompok P1 10,08±0,60mm, kelompok P2 9,92±1,06mm secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$). Saat ovulasi rata-rata diameter folikel pada kelompok P0 10,53±0,57mm, pada kelompok P1 9,51±0,59mm, pada kelompok P2 9,33±0,89mm, secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$). Waktu ovulasi pada kelompok P0 adalah 71,56±1,33 jam, sedangkan untuk kelompok P1 dan P2 adalah 12,00±0,00 jam dan secara statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$). Persentase *non return rate* pada ketiga kelompok perlakuan adalah 0%, 77,8% dan 88,9%, masing-masing untuk P0, P1 dan P2.

Kata kunci: Gonadorelin; kawin berulang; *non return rate*; sapi bali; waktu ovulasi

Abstract

This study aims to prove that gonadorelin administration is able to cause follicle development to reach follicles that are ready to be ovulated and ovulation and fertilization occurs in bali cattle that experience repeated breeder in Sobangan Village, Badung Regency, Bali. Observations of developing follicles and the timing of ovulation were performed using transrectal ultrasound via rectal palpation. The design used in this study was a completely randomized design (CRD) consisting of three treatment groups, namely the control group without gonadorelin injection (P0), the group receiving 50 g/im/head injection of gonadorelin (P1) and the group receiving 50g/im/head injection. gonadorelin injection at a dose of 100g/im/head (P2). Gonadorelin injection was performed when clear discharge came out of the vagina as a sign of the appearance of estrus and all samples in IB at 12 hours after the appearance of estrus. The results showed that the average follicle diameter at the time of estrus in the

P0 group was 7.37 ± 0.46 mm, the P1 group was 7.67 ± 0.78 mm, and the P2 group was 7.59 ± 0.77 mm and statistically did not show any difference. which meaningful ($P > 0.05$). When reaching the de graff follicle, the mean follicle diameter in the P0 group was 11.27 ± 0.59 mm, the P1 group was 10.08 ± 0.60 mm, the P2 group was 9.92 ± 1.06 mm statistically showed a significant difference ($P < 0.05$). At ovulation the mean follicle diameter in the P0 group was 10.53 ± 0.57 mm, in the P1 group 9.51 ± 0.59 mm, in the P2 group 9.33 ± 0.89 mm, statistically showed a significant difference ($P < 0.05$). Ovulation time in the P0 group was 71.56 ± 1.33 hours, while for the P1 and P2 groups it was 12.00 ± 0.00 hours and statistically showed a significant difference ($P < 0.05$). The percentage of non-return rates in the three treatment groups were 0%, 77.8% and 88.9%, for P0, P1 and P2, respectively.

Keywords: Bali cattle; gonadorelin; repeat breeder; non return rate; ovulation time

PENDAHULUAN

Sapi bali adalah sapi potong lokal yang sangat ideal untuk dikembangkan ditinjau dari aspek reproduksi karena memiliki angka fertilitas yang tinggi (rata-rata 83%), serta memiliki kadar lemak yang rendah dan juga memiliki daya adaptasi yang cukup baik terhadap lingkungan yang baru. Namaun dalam pengembangan populasi sapi bali masih terkendala oleh rendahnya efisiensi reproduksi. Efisiensi reproduksi dikatakan baik apabila seekor sapi dapat melahirkan satu pedet dalam satu tahun (Ball dan Peters, 2004). Kejadian kawin berulang merupakan salah satu gangguan reproduksi yang dapat mempengaruhi efisiensi reproduksi. Penyebab utama kejadian kawin berulang adalah karena kegagalan fertilisasi dan kematian embrio dini (Singh *et al.*, 2004). Dari hasil penelitian Perez-Marín *et al.* (2012) melaporkan, kegagalan fertilisasi dan kematian embrio dini dapat disebabkan oleh berbagai faktor yaitu terjadinya disfungsi hormon, pengaruh nutrisi dan folikel pada ovarium yang tidak berkembang dengan sempurna.

Perkembangan folikel pada ovarium sangat tergantung oleh hormone gonadotropin yaitu *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH). Stimulasi pelepasan hormone gonadotropin sangat dipengaruhi oleh asupan nutrisi (Wahyuni *et al.*, 2018). Rendahnya asupan nutrisi dan cadangan energi tubuh akan mempengaruhi respon ovarium, yang menyebabkan rendahnya sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone*

(GnRH) di hipotalamus sehingga mempengaruhi pelepasan pulsatil dari FSH dan LH di hipofisa anterior yang diperlukan untuk perkembangan folikel (Schillo, 1992). Besung *et al.* (2019) melaporkan bahwa nutrisi merupakan faktor penyebab terjadinya gangguan reproduksi sapi potong di daerah tropis. Wahyuni *et al.* (2018) menambahkan selain rendahnya asupan nutrisi faktor stres karena lingkungan yang terlalu panas dapat mempengaruhi sekresi hormone gonadotropin sehingga folikel tidak berkembang meski asupan nutrisi terpenuhi. Beberapa penelitian yang telah dilaporkan untuk meningkatkan performa reproduksi pada sapi betina dapat ditangani dengan pemberian GnRH dan agonisnya.

Gonadorelin merupakan agonis dari GnRH yang berfungsi untuk menstimulasi pelepasan FSH dan LH di hipofisa anterior (Hafez, 2002). Pemberian GnRH dapat meningkatkan sekresi FSH dan LH di hipofisa anterior, yang akan menstimulasi perkembangan folikel dan ovulasi serta pembentukan korpus luteum (Pemayun, 2010). Hasil penelitian Pursley *et al.* (1995) melaporkan bahwa pemberian GnRH selama siklus estrus menyebabkan folikel dominan mengalami ovulasi. Peters (2005) melaporkan pemberian GnRH dapat meningkatkan angka kebuntingan sekitar 18% dibanding kontrol yang tidak diterapi.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri

dari tiga kelompok perlakuan. Sapi bali yang mengalami kawin berulang dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok pertama (P0) yaitu kelompok kontrol/tanpa injeksi gonadorelin, kelompok kedua (P1) mendapatkan injeksi gonadorelin dosis 50 µg/im/ekor dan kelompok ketiga (P2) mendapatkan injeksi gonadorelin dosis 100 µg/im/ekor. Semua kelompok perlakuan di IB 12 jam setelah estrus.

Pemeriksaan Ultrasonografi

Pemeriksaan dilakukan menggunakan ultrasonografi (USG KX 5200, KAIXIN, Hubei China) *real-time transrectal*, Probe yang digunakan merupakan transduser transrektum, mempunyai panjang gelombang 7,5 MHz dan lebar probe 2 cm. Pemberian Gonadorelin dilakukan pada saat munculnya leleran dari vagina. Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah perkembangan folikel pada saat estrus, pada saat mencapai folikel puncak/*de graff* dan saat setelah ovulasi serta waktu terjadinya ovulasi yang diukur dengan USG. Pengamatan perkembangan folikel dilakukan pada pagi hari sampai sore hari dengan interval waktu setiap 4 jam yang dimulai dari saat keluarnya leleran bening dan kental dari vagina dan setelah perlakuan sampai folikel dominan mengalami ovulasi. Pengamatan terhadap persentase *non return rate* diamati 18-25 setelah IB.

Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan diuji normalitas dengan *Shaphiro-wilk* dan homogenitas dengan *Levene*. Analisis statistik dilakukan dengan *Anova*. Bila terjadi perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Untuk data *non return rate* dianalisis menggunakan analisis deskriptif. Pengujian statistik dilakukan menggunakan program SPSS 25.0 for window.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Perkembangan Folikel Ovarium Sapi Bali pada saat Estrus, pada saat Mencapai Folikel Puncak dan pada saat Ovulasi

Hasil penelitian pengamatan terhadap perkembangan folikel menggunakan USG diperoleh ukuran rata-rata diameter folikel pada saat estrus, saat folikel mencapai puncak dan saat ovulasi disajikan dalam Tabel 1.

Dari hasil analisis statistik rata-rata diameter folikel ovarium pada saat estrus menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($P>0,05$) antara kelompok kontrol (P0), injeksi gonadorelin 50µg (P1) dan 100µg (P2). Pada saat mencapai folikel puncak (*de graff*) kelompok kontrol (P0) menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$) dengan kelompok injeksi gonadorelin 50µg (P1) dan 100µg (P2) sedangkan antara kelompok injeksi gonadorelin 50µg (P1) dan 100µg (P2) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$). Pada saat ovulasi menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$) antara kelompok kontrol (P0), injeksi gonadorelin 50µg (P1) dan 100µg (P2). Diameter folikel pada saat estrus, pada saat folikel puncak (*de graff*) dan pada saat ovulasi pada semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P<0,05$).

Dalam penelitian ini rata-rata diameter folikel pada saat munculnya estrus sebelum penyuntikan gonadorelin tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok perlakuan ($P>0,05$). Namun setelah perlakuan injeksi gonadorelin yang merupakan agonis dari GnRH pada kelompok P1 dan P2 dapat mempercepat perkembangan folikel mencapai folikel *de graff* dan ovulasi pada sapi bali yang mengalami kawin berulang. Pemberian gonadorelin dosis 100 µg cenderung mempercepat perkembangan folikel mencapai folikel puncak dibandingkan dengan pemberian dosis gonadorelin 50 µg meskipun secara statistik perbedaan yang tidak bermakna ($P>0,05$). Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan dosis gonadorelin yang di injeksikan, semakin tinggi kadar gonadorelin maka akan mampu menstimulasi hipofisa anterior dalam

pelepasan *Follicle Stimulating Hormon* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH). Hasil penelitian Maidaswar (2007) melaporkan, bahwa penyuntikan *Gonadotropin Releasing Hormon* (GnRH) akan mampu menginduksi pelepasan FSH dan LH dari hipofisa anterior, namun efeknya tergantung kepada dosis GnRH yang diinjeksikan. Dari hasil penelitian Afriani *et al.* (2014) menambahkan, Pemberian dosis GnRH yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kecepatan timbulnya birahi pada sapi pesisir. Suartini *et al.* (2013) menambahkan, pengulangan pemberian dosis *Buserelin* sebagai agonis dari GnRH dapat meningkatkan pelepasan gonadotropin sehingga mempengaruhi perkembangan folikel ovarium.

Waktu Mencapai Folikel Puncak (*De Graff*) dan Ovulasi pada Sapi Bali yang Mengalami Kawin Berulang

Dari hasil analisis statistik menunjukkan rata-rata waktu perkembangan folikel mencapai folikel puncak (*de graaf*) lebih cepat pada kelompok injeksi gonadorelin 50 μ g (P1) dan 100 μ g (P2) yaitu 8,00 \pm 0,00^b jam sedangkan untuk kelompok kontrol (P0) yaitu 67,56 \pm 133^a jam. Perbedaan waktu mencapai folikel puncak (*de graff*) dan ovulasi pada sapi bali yang mengalami kawin berulang lebih jelas dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil analisis dengan menggunakan statistik, diketahui bahwa rata-rata waktu ovulasi pada setiap sapi perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$). Waktu ovulasi pada sapi kontrol (P0) adalah 71,56 \pm 1,33 jam. Sedangkan waktu ovulasi pada sapi yang di injeksi gonadorelin 50 μ g (P1) dan 100 μ g (P2) adalah 12,00 \pm 0,00 jam. Pada kelompok kontrol (P0) memiliki waktu ovulasi yang sangat panjang yaitu 71,56 \pm 1,33 jam dibandingkan dengan kelompok P1 dan P2 yaitu 12,00 \pm 0,00 jam.

Pada penelitian ini, pemberian gonadorelin yang merupakan sintetik hormon GnRH menyebabkan terjadinya

perbedaan waktu mencapai folikel puncak dan ovulasi pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok P1 dan P2 yang mendapatkan injeksi gonadorelin 50 μ g dan 100 μ g rata-rata waktu mencapai folikel puncak adalah 8,00 \pm 0,00 jam dan rata-rata waktu ovulasi 12,00 \pm 0,00 jam. Hasil penelitian ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Senger (2003), bahwa sapi akan mengalami ovulasi 10-12 jam dari akhir estrus atau diantara akhir estrus dan awal metestrus pada fase follikuler. Pemberian hormon gonadorelin yang merupakan agonis GnRH pada sapi yang mengalami kawin berulang dapat menstimulasi perkembangan folikel mencapai folikel *de graff* dan terjadi ovulasi. Hal ini sesuai dengan kerja hormon yang dilaporkan Hafizuddin *et al.* (2012), bahwa pemberian GnRH selama siklus estrus dapat menyebabkan regresi pada folikel dan terjadi ovulasi pada folikel dominan sehingga terjadi inisiasi gelombang folikel yang baru. Hasil penelitian Martinez *et al.* dalam Afriani (2017) membuktikan injeksi gonadorelin *diacetate tetrahydrate*. Gonadorelin *hydrochloride* dapat meningkatkan sekresi LH di hipofisa anterior sehingga mampu menginduksi ovulasi pada folikel dominan dan mempercepat terjadinya gelombang folikel baru.

Pada kelompok P0 yang tidak mendapatkan perlakuan injeksi gonadorelin memiliki waktu ovulasi yang lebih lama (*delayed ovulasi*) dibandingkan dengan kelompok P1 dan P2. Tertundanya ovulasi (*delayed ovulasi*) pada kelompok P0 dapat diakibatkan karena rendahnya sekresi hormon LH, terjadinya gangguan sistem hormonal berdampak pada rendahnya sekresi LH oleh hipofisa anterior sehingga terjadi *delayed ovulasi*, rendahnya kadar LH dalam darah dapat mengakibatkan fase folikuler diperpanjang sehingga folikel yang sudah siap untuk ovulasi dan masuk pada fase luteal mengalami penundaan waktu ovulasi (Jogjavit, 2008). Hal ini

sesuai dengan yang dilaporkan oleh Bhattacharyya and Hafiz. (2009) bahwa sapi betina yang mengalami *delayed ovulasi* memiliki waktu ovulasi yang lebih lama dari akhir estrus. Ratnawati *et al.* (2007) melaporkan, tertundanya ovulasi dapat menyebabkan perkawinan tidak tepat waktu, hal ini dapat disebabkan karena spermatozoa hanya mampu bertahan selama 12 jam di saluran reproduksi sehingga menyebabkan proses fertilisasi tidak terjadi dan menyebabkan sapi betina gagal untuk bunting. Asupan nutrisi dan cadangan energi tubuh sangat berpengaruh terhadap aktifitas dan respon ovarium. Nutrisi akan mempengaruhi fungsi dari hipofisa anterior dalam memproduksi serta menskresi hormon FSH dan LH sehingga menjadi rendah dan menyebabkan tidak terjadi aktifitas ovarium (Noakes *et al.*, 2001). Kondisi ini akan menyebabkan folikel ovarium tidak berkembang mencapai folikel dominan atresia maupun dominan ovulasi (Budiyanto, 2016).

Non return rate pada sapi bali yang mengalami kawin berulang

Nilai *non return rate* dihitung berdasarkan rumus yang digunakan oleh Iswoyo dan Widiyaningrum (2008). Pada penelitian ini persentase *non return rate* (NRR) disajikan pada table 3.

$$NRR = \frac{\text{Jumlah IB} - \text{IB Ulang}}{\text{Jumlah IB}} \times 100\%$$

Hasil penelitian menunjukkan persentase NRR pada kelompok P0 sebesar 0 % yang berarti bahwa semua sampel menunjukkan estrus kembali setelah dilakukan IB, pada kelompok P1 persentase NRR sebesar 77,8 % yang berarti 2 ekor dari 9 ekor sapi sampel menunjukkan estrus kembali setelah dilakukan IB sedangkan pada kelompok P2 persentase NRR sebesar 88,9 % yang berarti hanya 1 ekor dari 9 ekor sapi sampel yang menunjukkan estrus kembali setelah dilakukan IB.

Kegagalan dalam pelaksanaan IB salah satunya disebabkan oleh terjadinya kegagalan ovulasi sehingga menyebabkan tidak terjadi fertilisasi dan sapi menjadi estrus kembali setelah dilakukan IB yang menyebabkan terjadinya kawin berulang.

Penyuntikan GnRH menyebabkan perkembangan folikel mencapai folikel *de graff* atau mencegah terjadinya atresia folikel sehingga folikel dapat berkembang dan terjadi ovulasi. Gonadorelin merupakan salah satu agonis GnRH yang dapat merangsang folikel berkembang mencapai folikel *de graff* sampai terjadinya ovulasi dan juga mencegah terjadinya atresia pada folikel dominan.

Dari beberapa penelitian yang telah dilaporkan untuk meningkatkan performa reproduksi pada sapi betina dapat ditangani dengan pemberian *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) dan agonisnya. Hasil penelitian Prihatno *et al.* (2021) melaporkan persentase angka kebuntingan pada sapi potong betina yang mengalami kawin berulang yang diberi injeksi GnRH (Fertagyl[®], 500µg gonadorelin) saat IB dan 3-4 hari setelah dilakukan IB adalah sebesar 80%, 60% dan 20% pada sapi yang tidak di injeksi GnRH. Widiarta *et al.* (2020) melaporkan pemberian GnRH dapat menstimulasi perkembangan folikel dan munculnya estrus pada sapi bali yang mengalami anestrus postpartum. Ummaisya *et al.* (2020) melaporkan penyuntikan GnRH dapat menginduksi munculnya estrus dan kebuntingan pada sapi perah yang mengalami hipofungsi ovarium. Pemayun (2010) melaporkan pemberian GnRH dan agonisnya dapat meningkatkan sekresi FSH dan LH di pituitari, yang akan menstimulasi perkembangan folikel dan ovulasi serta pembentukan corpus luteum. Hasil penelitian Peters (2005) melaporkan bahwa pemberian GnRH dapat meningkatkan angka kebuntingan sekitar 18% dibanding kontrol yang tidak diberi perlakuan, Stevenson *et al.* (1989) melaporkan pemberian GnRH

memberikan pengaruh yang positif pada angka kebuntingan, Sedangkan hasil penelitian Young and Swanson (1988) menyatakan penyuntikan GnRH tidak berpengaruh secara signifikan terhadap angka kebuntingan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian gonadorelin dapat menstimulasi perkembangan folikel mencapai folikel yang siap untuk ovulasi dan dapat meningkatkan angka *non return rate* pada sapi bali yang mengalami kawin berulang. Pemberian dosis gonadorelin (50 µg/im/ekor dan 100 µg/im/ekor) tidak menyebabkan perbedaan yang signifikan terhadap perkembangan folikel dan terjadi ovulasi serta angka *non return rate* pada sapi bali yang mengalami kawin berulang.

Saran

Penanganan kasus kawin berulang yang disebabkan karena terjadinya *delayed ovulasi* dapat di tangani dengan penyuntikan gonadorelin pada saat estrus dengan dosis 50µg/im/ekor atau 100µg/im/ekor. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kadar hormone LH pada sapi bali yang mengalami kawin berulang setelah di injeksi gonadorelin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Departemen Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana dan Dinas Pertanian dan Pangan Kabupaten Badung atas dukungan dan segala bantuan fasilitas riset yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

Afriani T, Jaswandi, Defrinaldi, Satria YE. 2014. Pengaruh waktu pemberian gonadotropin releasing hormone (GnRH) terhadap jumlah korpus luteum dan kecepatan timbulnya berahi pada sapi pesisir. *J. Pet. Indon.* 16(3): 1907-1760.

Ball H, Peters AR. 2004. *Reproduction in Cattle. 3rd Ed.* Ltd., United Kingdom : Blackwell Publishing.

Besung INK, Watinasih NL, Mahardika IGNK, Agustina KK, Suwiti NK. 2019. Mineral levels of Bali cattle (*Bos javanicus*) from different types of land in Bali, Nusa Penida, and Sumbawa Islands (Indonesia). *Biodiversitas.* 20(10): 2931-2936.

Bhattacharyya, Hafiz. 2009. Treatment of delayed ovulation in dairy cattle. *Agric. Res. Com. Centre.* 43(3): 209-210.

Budiyanto A, Thopianong TC, Triguntoro, Dewi HK. 2016. Gangguan reproduksi sapi bali pada pola pemeliharaan semi intensif di daerah sistem integrasi sapi – kelapa sawit. *Acta Vet. Indon.* 4(1): 14-18.

Hafez ESE. 2002. *Reproduction in Farm Animal. Edition 7 th ed .* Maryland. USA : Lippincott Williams & Wilkins.

Hafizuddin, Siregar TN, Akmal M. 2012. Hormon dan perannya dalam folikuler pada hewan domestik. *JESBIO.* 1(1): 21- 24.

Iswoyo, Widiyaningrum P. 2008. Performan reproduksi sapi peranakan simental (Psm) hasil inseminasi buatan di Kabupaten Sukoharjo Jawa Tengah. *J. Ilmiah Ilmu-Ilmu Pet.* 11(3): 125-133.

Maidaswar. 2007. Efisiensi superovulasi pada sapi melalui sinkronisasi gelombang folikel dan ovulasi (tesis). Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Noakes DE, Parkinson TJ, England CW. 2001. *Arthur's veterinary reproduction and obsterics.* Harcourt Publishers Limited, The United Kingdom.

Pemayun TGO. 2010. Kadar progesteron akibat pemberian PMSG dan Gn-RH pada sapi perah yang mengalami anestrus postpartum. *Bul. Vet. Udayana.* 2(2): 85-91.

- Peters AR. (2005). Veterinary clinical application of GnRH questions of efficacy. *Anim. Reprod. Sci.* 30(2005): 1-13.
- Perez-Marin CC, Moreno LM, Colero GV. 2012. Clinical approach to the repeat breeder cow syndrome. In: A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine (online book). Edited by Perez-Marin CC. Intech Open (<https://www.intechopen.com/books/a-bird-s-eye-view-of-veterinary-medicine>). London, UK.
- Pursley JR, Mee MO, Wilthbank MC. 1995. *Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF $_{2\alpha}$ and GnRH*. Theriogenologi.
- Prihatno SA, Gustari S, Kusumawati A, Budiyanto A, Setyawan EMN, Adi YK. 2021. Pengaruh pemberian GnRH pada sapi potong yang mengalami kawin berulang effect of GnRH administration in beef cows with repeat breeding. *J. Sain Vet.* 39(1): 126-421.
- Ratnawati D, Pratiwi WC, Affandhy LS. 2007. Petunjuk teknis penanganan gangguan reproduksi pada sapi potong. Loka Penelitian Sapi Potong Grati.
- Schiillo KK. 1992. Effects dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70. 1271-1282.
- Senger PL. 2003. *Pathways to pregnancy and parturition revision edition*. Washington state University Research & Technology Park. Current Conception Inc., Washington. Pp. 210-230.
- Singh B, Saravia F, Bage R, Rodriguez M, Martinez H. 2004. Report, master of science. Programme for International Students. Department of obstetrics and gynaecology, Swedish University of Agriculture sciences (SLU), Uppsala Sweden. Report no. 36, ISSN, 1403-2201.
- Suartini NK, Trilaksana IGNB, Pemayun TGO. 2013. Kadar estrogen dan munculnya estrus setelah pemberian buserelin (Agonis GnRH) pada sapi bali yang mengalami anestrus postpartum akibat hipofungsi ovarium. *J. Ilmu Kes. Hewan.* 1(2): 40-44.
- Stevenson JS, Mee MO, Folman Y, Scoby RK. 1989. Timing of GnRH administration and AI relative to the onset of estrus for first services in Holsteins. *J. Dairy. Sci.* 72(1989): 352.
- Ummaisyah WR, Madyawati SP, Wahjuni RS, Rimayanti R, Wurlina W, Restiadi TI. 2020. Efektivitas pemberian GnRH pada sapi perah yang mengalami hipofungsi ovarium terhadap waktu timbulnya birahi dan angka kebuntingan. *Ovozoa.* 9(3): 2302-6464.
- Wahyuni, Purnama H, Djatmikowati TF, Amaliah F, Samik A. 2018. Kombinasi hormon Pmsg Dan Hcg untuk pengobatan kasus hipofungsi gangguan reproduksi pada sapi / kerbau di kegiatan upsus siwab 2017. Balai Besar Veteriner Maros.
- Young AJ, Swanson LV. 1988. Effect of GnRH and hCG at time of insemination of repeat breeders cows. *J. Dairy. Sci.* 71(1988): 1-13.

Tabel 1. Rata-rata diameter folikel saat estrus, saat mencapai folikel de Graff dan saat ovulasi pada sapi bali yang mengalai kawin berulang ($\bar{x} \pm SD$).

Kelompok	Diameter Folikel (mm)		
	Saat Estrus	Saat Puncak	Saat Ovulasi
P0	7,37 \pm 0,46 ^a	11,27 \pm 0,59 ^b	10,53 \pm 0,57 ^d
P1	7,67 \pm 0,78 ^a	10,08 \pm 0,60 ^c	9,51 \pm 0,59 ^c
P2	7,59 \pm 0,77 ^a	9,92 \pm 1,06 ^c	9,33 \pm 0,89 ^c

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$).

Tabel 2. Rata-rata waktu mencapai folikel puncak (de graff) dan ovulasi pada sapi bali yang mengalami kawin berulang ($\bar{x} \pm SD$).

Kelompok	Folikel Puncak (Jam)	Waktu Ovulasi (jam)
P0	67,56 \pm 133 ^a	71,56 \pm 1,33 ^c
P1	8,00 \pm 0,00 ^b	12,00 \pm 0,00 ^d
P2	8,00 \pm 0,00 ^b	12,00 \pm 0,00 ^d

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$).

Tabel 3. Persentase *Non return rate* (%) pada sapi bali yang mengalai kawin berulang

Kelompok	Jumlah IB	Estrus Kembali	<i>Non return rate</i> (%)
P0	9	9	0
P1	9	2	77,8
P2	9	1	88,9



Gambar 1. Folikel saat estrus dengan diameter 9,3 mm (A), folikel *de graff* dengan diameter 11,2 mm (B) dan folikel setelah ovulasi dengan diameter 8,9 mm (C) (= ovarium, F= folikel).