

Penentuan Keberhasilan Involusi Uterus Sapi Perah *Friesian Holstein* Berdasarkan Kadar Estrogen Setelah Beberapa Penginjeksian Selenium-Vitamin E

(DETERMINATION OF THE SUCCESS UTERINE INVOLUTION IN FRIESIAN
HOLSTEIN DAIRY COW BASED ESTROGEN LEVELS
AFTER MULTIPLE INJECTION OF SELENIUM-VITAMIN E)

Widya Ayu Pradini¹, Sri Rahayu²,
Mochammad Sasmito Djati²

¹Balai Besar Pelatihan Peternakan-Batu

Jl. Songgoriti No.24, Batu, Jawa Timur, 0341-591302

²Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Malang, Jawa Timur, 0341-554403

Email : adhif22@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas penambahan selenium-vitamin ETM secara intramuskular terhadap peningkatan kadar estrogen sebagai tanda selesainya proses involusi uteri sapi perah *Friesian Holstein* (FH) setelah melahirkan. Penelitian ini menggunakan sapi perah FH bunting 7 bulan sebanyak 20 ekor yang dibagi dalam empat perlakuan berdasarkan dosis selenium-vitamin ETM yang diberikan. Perlakuan kontrol (P0) tidak diberikan selenium-vitamin ETM, perlakuan 1 (P1) diberikan 0,5mg/mL selenium + 50 mg/mL vitamin ETM, perlakuan 2 (P2) diberikan 1,5mg/mL selenium + 50 mg/mL vitamin ETM dan perlakuan 3 (P3) diberikan 2 mg/mL selenium + 100 mg/mL vitamin ETM. Pemberian selenium-vitamin ETM dilakukan pada kebuntingan 7 bulan, 8 bulan, 9 bulan, 7 hari dan 14 hari setelah melahirkan. Setelah melahirkan sapi perah FH tersebut diambil serum darah untuk analisis kadar estrogen menggunakan metode *Bovine Estrogen ELISA Kit* (EST) pada hari ke-25, ke-45, ke-65 dan saat estrus pertama setelah melahirkan di posisi *standing heat*. Hasil analisis kadar estrogen tertinggi pada hari ke-25, ke-45, ke-65 dan saat estrus pertama hari setelah melahirkan dalam satuan pg/mL terdapat pada perlakuan 3 (P3) yakni 8,94 ± 0,22; 9,64 ± 0,55; 9,86 ± 0,67 dan 10,14 ± 0,84, namun involusi uteri tercepat berdasarkan kadar estrogen terdapat pada perlakuan 2 (P2) yaitu hari ke-45 dengan kadar estrogen 9,12 ± 0,94. Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa penambahan selenium dan vitamin E pada saat usia kebuntingan tujuh bulan sampai hari ke-14 setelah melahirkan berpengaruh nyata terhadap peningkatan kadar estrogen sebagai tanda keberhasilan proses involusi uteri sehingga sapi perah FH dapat segera estrus setelah melahirkan.

Kata-kata kunci : selenium-vitamin ETM, kadar estrogen, involusi uteri

ABSTRACT

The aims of this study were to determine the effectiveness of selenium-vitamin ETM to the increased levels of estrogen as a sign of completion uterine involution process in dairy cows *Friesian Holstein* (FH) after calving. Twenty pregnant FH cows were used in this experiment. The cows divided into four groups. The first group (as control, P0) was not given selenium-vitamin ETM, the second group (P1) was given 0.5 mg/mL selenium + 50 mg/mL vitamin ETM, the third group (P2) was given 1,5 mg/mL selenium + 50 mg/mL vitamin ETM and the fourth group (P3) was given 2 mg/mL selenium + 100 mg/mL vitamin ETM. The administration of selenium-vitamin ETM performed at the 7th months of pregnancy, 8th month of pregnancy, two weeks before calving, 7 and 14 days after calving intramuscularly. After calving, the serum of dairy cows were taken for analysis of estrogen levels on the 25th day, the 45th, the 65th and current first postpartum estrus in the position of standing heat using *Bovine Estrogen ELISA Kit* (EST) metode. The results of the analysis of high estrogen levels on day 25, the 45th, the 65th and current first estrus days after giving birth in units of pg / mL found in treatment 3 (P3), which were a 8.94 ± 0.22; 9.64 ± 0.55; 9.86 ± 0.67 and 10.14 ± 0.84 respectively, but the fastest uterine involution based estrogen levels was in treatment 2 (P2) on the 45th day with 9.12 ± 0.94 for the estrogen levels.. The conclusions of the study was the addition of selenium and vitamin E at the 7th month of pregnancy until the 14th day after calving may significantly affecton the increased levels of estrogen which indicates the success of uterine involution in dairy cows FH.

Key words : selenium-vitamin ETM, estrogen levels, involution uterine

PENDAHULUAN

Periode setelah melahirkan dinyatakan berhasil jika ditandai dengan lengkapnya proses involusi uterus dan kembalinya fungsi ovarium. Foldi *et al.*, (2006), Sheldon *et al.*, (2009), Wathes *et al.*, (2011) dan Saut *et al.*, (2011) mengemukakan bahwa setelah melahirkan, uterus mengalami *remodeling* yakni terjadinya pengurangan ukuran uterus, perbaikan sel-sel yang rusak, dan kembalinya bangun jaringan pada kondisi normal setelah pengeluaran plasenta. Wathes *et al.*, (2011) mengemukakan bahwa uterus kembali pada kondisi normal dalam waktu 2-3 minggu setelah melahirkan, apabila tidak ada kontaminasi bakteri. Sementara itu Hajurka *et al.*, (2005) melaporkan bahwa secara normal waktu involusi pada kondisi pramiparaous ialah 23 hari dan pluriparaous ialah 27 hari serta rata-rata waktu total untuk involusi uterus adalah 30-40 hari.

Keberhasilan involusi uterus ditandai dengan kembali diproduksinya estrogen, berkurang dan mengecilnya ukuran uterus, serta didukung dengan terbebasnya uterus dari kontaminasi bakteri saat melahirkan atau kontaminasi dari kejadian retensi plasenta (Hafez dan Hafez, 2000). Kadar estrogen memainkan peran kunci dalam pengendalian endokrin dan penampilan estrus selama periode praovulasi (Allrich *et al.*, 1994; Sumiyoshi *et al.*, 2014).

Kejadian estrus pada ternak merupakan faktor penting dalam proses reproduksi. Keberhasilan sangat reproduksi dipengaruhi oleh tersedianya pakan yang berkualitas bagi ternak, dan cukup serta lingkungan yang serasi. Pernyataan tersebut sesuai hasil laporan Rukkwamsuk (2011) bahwa kecukupan nutrisi seperti kalsium, selenium, dan vitamin E berhubungan dengan performans reproduksi khususnya selama periode *post partus*. Selenium dan vitamin E merupakan suplemen nutrisi yang memiliki peran penting untuk perbaikan reproduksi sapi perah dan sangat baik diberikan saat bunting (Sattar *et al.*, 2007). Selenium-vitamin E berperan dalam mekanisme penghambatan produksi *nitric oxide* saat proses produksi estrogen dari sel granulosa sehingga aktivitas folikulogenesis dan ovulasi dapat berlangsung (Dunnam *et al.*, 1999). El-Shahat dan Monem (2011) mengemukakan bahwa selenium dan vitamin E memengaruhi kecepatan waktu timbulnya estrus dan meningkatkan kejadian konsepsi, karena

selenium dan vitamin E merupakan antioksidan yang menstimulasi proses steroidogenesis dan merangsang kelenjar pituitari anterior untuk mensekresikan hormon steroid serta menginisiasi kejadian folikulogenesis pada ovarium. Peningkatan hormon steroid seperti estrogen, menandakan siklus ovarium telah berfungsinya kembali sehingga mampu menstimulus tingkah laku berahi (Toelihere, 1981).

Berdasarkan fenomena mengenai pentingnya selenium-vitamin E terhadap reproduksi maka tujuan penelitian ini ialah mengetahui efektivitas selenium dan vitamin E terhadap peningkatan kadar estrogen sebagai tanda selesainya proses involusi uterus sapi perah FH setelah melahirkan dan melengkapi data hasil-hasil penelitian terdahulu tentang efek selenium-vitamin E terhadap optimalisasi reproduksi sapi perah FH.

METODE PENELITIAN

Pemilihan dan Pengelompokan Hewan Coba

Ternak yang dipergunakan dalam penelitian ini ialah sapi perah FH sebanyak 20 ekor, bunting tujuh bulan, laktasi kedua, dengan kisaran bobot badan 400-570 kg dan dalam kondisi sehat. Sapi perah FH yang telah terpilih dikelompokkan menjadi empat kelompok perlakuan dosis selenium-vitamin E dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak lima ekor (Tabel 1). Sapi perah FH tersebut diberi pakan sesuai formula dari Balai Besar Pelatihan Peternakan Kota Batu, Jawa Timur. Pakan yang dipergunakan terdiri dua macam yaitu hijauan jagung dan konsentrat. Nutrisi pada konsentrat mengandung protein kasar (PK) 17% dan *Total Digestible Nutrient* (TDN) 71%.

Pemberian Selenium-Vitamin ETM

Pemberian selenium-vitamin ETM sebanyak 10 mL dilakukan sebanyak lima kali, yakni pada usia kebuntingan tujuh bulan, delapan bulan, sembilan bulan, tujuh hari dan 14 hari setelah partus menggunakan spuit *disposable* 10 mL dengan jarum suntik ukuran 18 G secara intramuskuler pada daerah *musculus gluteus*.

Pemeriksaan Kadar Estrogen Darah

Pemeriksaan kadar estrogen serum darah dilakukan sebanyak empat kali yaitu pada hari ke-25, hari ke-45, hari ke-65 dan saat estrus pertama setelah melahirkan. Serum darah

Tabel 1 Pengelompokan perlakuan hewan coba

Kelompok	Jenis Perlakuan
P0 (5 ekor)	tanpa perlakuan selenium
P1 (5 ekor)	selenium – vitamin E TM dosis A (Sodium selenite 0,5 mg/mL + vit E 50 mg/mL)
P2 (5 ekor)	selenium – vitamin E TM dosis B (Sodium selenite 1,5 mg/mL + vit E 50 mg/mL)
P3 (5 ekor)	selenium – vitamin E TM dosis C (Sodium selenite 2 mg/mL + vit E 100 mg/mL)

untuk pemeriksaan kadar estrogen diperoleh dari 10 mL darah yang diambil dari *vena jugularis* sebelah kiri menggunakan spuit 20 mL. Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dibiarkan selama 2–3 jam pada suhu 15°C, selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk pengambilan serumnya. Serum disimpan dalam freezer bersuhu minus 20°C. Analisis kadar estrogen dilakukan menggunakan metode *Bovine estrogen* (EST) ELISA Kit, dengan satuan pg/mL.

Analisis Data

Rancangan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan sidik ragam. Apabila terdapat perbedaan di antara perlakuan dosis selenium-vitamin E dilanjutkan dengan uji Wilayah Berganda Duncan untuk menguji perbedaan nilai rata-rata peubah yang diukur dari setiap perlakuan dengan derajat kesalahan (α) = 5% .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian mengenai kadar estrogen pada hari ke-25, ke-45, ke-65 dan saat estrus memperlihatkan bahwa kadar estrogen pada semua perlakuan lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol (Tabel 2). Hasil ini memberikan makna bahwa penambahan selenium-vitamin ETM memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan kadar estrogen setelah melahirkan pada sapi perah FH. Namun, kadar estrogen pada hari ke-65 setelah melahirkan terdapat perbedaan signifikan antara P1, P2 dan P3. Pada perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan P1 tetapi berbeda dengan P3. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa dosis optimal untuk peningkatan kadar estrogen dalam kaitannya sebagai tanda keberhasilan involusi uteri ialah 1,5 mg/mL selenium dan 50 mg vitamin E.

Peningkatan kadar estrogen menandakan bahwa siklus ovarium telah berfungsi kembali sehingga mampu menstimulus tingkah laku berahi (Toelihere, 1981). Pernyataan tersebut sejalan dengan Hafez dan Hafez (2000), bahwa produksi estrogen menunjukkan keberhasilan involusi uteri, yaitu telah kembalinya ukuran dan fungsi uterus setelah melahirkan seperti pada keadaan tidak bunting.

Peningkatan kadar estrogen disebabkan pengaruh dari selenium-vitamin ETM, hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Basini dan Tamanini (2000) secara *in vitro* pada sel granulosa yang membuktikan bahwa selenium berperan merangsang proliferasi sel dari beberapa folikel kecil yang akan mendorong produksi estrogen. Beckett dan John (2005) serta Drutel *et al.*, (2013) mengemukakan bahwa selenium yang ditemukan dalam setiap gram jaringan tiroid berperan penting untuk fungsi

Tabel 2. Rataan dan hasil analisis kadar estrogen setelah melahirkan pada sapi perah FH

Perlakuan	Kadar Estrogen setelah Melahirkan (pg/mL)			
	25 Hari	45 Hari	65 Hari	Saat Estrus 1
P0	6,30 ± 0,53 ^A	6,33 ± 0,56 ^A	6,53 ± 1,07 ^A	7,81 ± 0,95 ^A
P1	8,85 ± 0,80 ^B	9,05 ± 0,51 ^B	9,08 ± 0,48 ^{BC}	10,06 ± 0,66 ^B
P2	8,13 ± 0,84 ^B	9,12 ± 0,94 ^B	8,37 ± 1,26 ^B	9,63 ± 0,87 ^B
P3	8,94 ± 0,22 ^B	9,64 ± 0,55 ^B	9,86 ± 0,67 ^C	10,14 ± 0,84 ^B

Keterangan : Superskrip huruf besar sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05).

normal tiroid dan homeostasis hormon tiroid. Hormon tiroid, T3, berperan untuk memodulasi aksi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) dalam proses biosintesis steroid (Krassas *et al.*, 2000), dan FSH berperan menstimulus pertumbuhan dan perkembangan folikel de Graaf di dalam ovarium untuk mendorong pelepasan estrogen (Toelihere, 1981). Semakin banyak jumlah folikel membuat kadar estrogen dapat meningkatkan, serta pada folikel yang sedang tumbuh dihasilkan estrogen yang lebih banyak (Salisbury dan Van Denmark, 1985).

Peningkatan estrogen yang diproduksi oleh folikel-folikel pada masa praovulasi mendorong pelepasan LH dari hipofisis anterior untuk memicu terjadinya ovulasi (Buttler, 2005). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Said *et al.*, (2012) pada tikus menggunakan efek radioprotektif yang menyatakan bahwa selenium (*sodium selenite*) mampu mendukung folikulogenesis dengan meningkatkan proliferasi sel granulosa ovarium, berperan dalam sekresi FSH dan estradiol, serta mengaktifasi *glutathione peroxide* sehingga dapat menurunkan kejadian peroksidasi lemak dan tekanan oksidatif.

Hasil analisis mengenai kadar estrogen saat estrus pertama setelah melahirkan yang didapatkan dari penelitian ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Lyimo *et al.*, (2000), bahwa kadar estrogen yang diukur saat estrus dengan tanda *standing heat* pada sapi perah berkisar pada $7,76 \pm 2,39$ pg/mL. Kadar estrogen saat estrus pada ruminansia lain seperti kambing, juga berada pada kisaran $7,7 \pm 1,7$ pg/mL (Khanum *et al.*, 2008). Hal serupa juga dikemukakan oleh Lopez *et al.*, (2004), bahwa kadar estrogen (estradiol) saat estrus dengan satu ovulasi dalam rentang 4,1- 9,1 pg/mL dengan rata-rata $5,5 \pm 0,3$ pg/mL, sedangkan saat estrus dengan *multiple* ovulasi dalam rentang 2,2-14,6 pg/mL dengan rata-rata $7,8 \pm 0,4$ pg/mL. Peneliti lain, Nelson *et al.*, (2006), juga menyatakan bahwa sapi yang diinduksi dengan *estradiol cypionate* (ECP), konsentrasi estrogen (estradiol) yang dalam kondisi *standing heat* ialah $8,3 \pm 0,7$ pg/mL sedangkan yang tidak diinduksi konsentrasinya ialah $5,2 \pm 0,7$ pg/mL.

Namun, hasil analisis mengenai kadar estrogen saat estrus pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Mondal *et al.*, (2006).

Peneliti tersebut menyatakan bahwa kadar estrogen di awal estrus telah mencapai $27,29 \pm 0,79$ pg/mL. Peneliti lain yang serupa dengan hasil tersebut Henricks *et al.*, (1971) mengemukakan bahwa kadar estrogen saat estrus pada plasma darah berkisar 15-25 pg/mL, sedangkan Arije *et al.*, (1974) menyatakan bahwa kadar estrogen mencapai puncak estrus pada dua hari sebelum estrus ialah 500 pg/mL, serta laporan Tabatei *et al.*, (2014) yang melaporkan bahwa kadar estrogen pada saat proestrus dan estrus (18-21 hari) dalam plasma darah ialah $105,30 \pm 22,62$ pg/mL.

Mengacu dari beberapa hasil penelitian terdahulu mengenai kadar estrogen saat estrus, dapat dinyatakan bahwa selenium-vitamin E berperan memperbaiki fungsi reproduksi setelah melahirkan (Sattar *et al.*, 2007) sehingga mendukung keberhasilan involusi uteri yang dapat terjadi di hari ke-25 sampai hari ke-50 setelah melahirkan (Leslie, 1983; Palmer, 2003; Melendez *et al.*, 2004). Adanya perbedaan kadar estrogen yang terjadi saat estrus pada penelitian ini diasumsikan terdapat perbedaan karakter fisiologi reproduksi setiap individu ternak.

Keadaan level estrogen dalam mendukung keberhasilan involusi uteri dapat diamati pada hari ke-45 dan hari ke-65 setelah melahirkan, khususnya perlakuan 2 (P2). Pada hari ke-65 setelah melahirkan kadar estrogen P2 mengalami penurunan apabila dibandingkan dengan kadar estrogen di hari ke-45 setelah melahirkan (Tabel 2). Terjadinya penurunan kadar estrogen tersebut diasumsikan bahwa sebelum hari ke-65, sapi perah FH sudah mengalami involusi uteri dan kembali estrus. Palmer (2003) dan Hirsbrunner *et al.*, (2002) menyatakan bahwa pada kondisi uterus normal, involusi uteri dapat berlangsung 25-50 hari setelah melahirkan. Dengan adanya estrus, sapi mengalami perkawinan sehingga terjadi fertilisasi. Keberhasilan fertilisasi ditandai dengan adanya produksi interferon (IFN α) (Maan *et al.*, 1999) oleh *trophoblast* dari hari ke-10 setelah konsepsi. Senyawa IFN α merupakan antiluteolitik yang berfungsi mempertahankan produksi progesteron (Stewart *et al.*, 2001; Fleming *et al.*, 2010), menekan produksi prostaglandin F $_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) dan reseptor estrogen di endometrium. Keadaan ini yang menyebabkan penurunan kadar estrogen di dalam darah (Noakes *et al.*, 2003; Rahman, 2006).

SIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini adalah pemberian injeksi selenium dan vitamin E dengan dosis 1,5 mg/mL selenium dan 50 mg/mL vitamin E sebanyak lima kali pada saat usia kebuntingan tujuh bulan sampai hari ke-14 setelah melahirkan mendorong keberhasilan proses involusi uteri sapi perah sehingga sapi tersebut dapat segera estrus setelah melahirkan.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh penambahan selenium-vitamin E terhadap peningkatan kadar hormon lain seperti oksitosin, yang mungkin berperan terhadap keberhasilan involusi uteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Pertanian RI atas beasiswa tugas belajar S2 tahun 2012 yang telah diberikan dan dosen-dosen pascasarjana Universitas Brawijaya yang telah membina, membimbing, memotivasi, dan memberikan bekal ilmu kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Allrich RD. 1994. Endocrine and Neural Control of Estrus in Dairy Cow. *Journal of Dairy Science* 77 : 2738-44.
- Arije GR, Wiltbank JN, Hopwood ML. 1974. Hormone Levels in Pre and Post Parturient Beef Cows. *Journal of Animal Science* 39(2) : 338.
- Basini G, Tamanini C. (2000). Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cell possible involvement of nitric oxide. Abstract. *Domest Anim Endocrinol* 18: 1-17.
- Beckett GJ, Arthur JR. 2005. Selenium and Endocrine System. *Journal of Endocrinology* 184 : 455-465.
- Buttler WR. 2005. *Relationship of Negative Energy Balance with Fertility*. Report. Department of Animal Science. Cornell University. *Advances in Dairy Technology* 17.
- Drutel A, Archambeaud F, Carron P. 2013. Selenium and The Thyroid Gland. *Clin Endocrinol* 78(2) : 155-164.
- Dunnam RC, Hill MJ, Lawson DM, Dunbar JC. 1999. Ovarian Hormone Secretory Response to Gonadotropin and Nitric Oxide Following Chronic Nitric Oxide Deficiency in Rat. *Biology of Reproduction* 60 : 959-963.
- El-Shahat K, Monem UMA. 2011. Effect of Dietary Supplementation with Vitamin E and/or Selenium on Metabolic and Reproductive Performance of Egyptian Baladi Ewes Under Subtropical Conditions. *World Applied Sciences Journal* 12(9) : 1492-1499.
- Fleming JA, Choi Y, Johnson GA, Spencer TE, Bazer FW. 2001. Cloning of The Ovine Estrogen Receptor – Alpha Promoter and Functional Regulation by Ovine Interferon - Tau. *Endocrinology* 142 : 2879-2887.
- Foldi J, Kulcsa M, Pecsai A, Huyghe B, De Sa C, Lohuis J. C. A. M, Cox P, Gy Huzzenicza. 2006. Bacterial Complications of Postpartum Uterine Involution in Cattle. *Animal Reproduction Science* 96 : 265-281.
- Hafez B, Hafez ESE. 2000. *Reproduction in Farm Animal*. 7th Ed. South Carolina. Kiawah Island.
- Hajurka J, Macak V, Hura V. 2005. Influence of Health Status of Reproductive Organs on Uterine Involution in Dairy Cows. *Bull Vet Inst Pulawy* 49 : 53-58.
- Henricks DW, Dickey JF, Hill JR. 1971. Plasma Estrogen and Progesterone Levels in Cow Prior to and During Estrus. *Endocrinology* 89 : 1350.
- Hirsbrunner G, Knutti B, Liu I, Kupfer U, Scoltysik G, Steiner A. 2002. An In Vivo Study On Spontaneous Myometrial Contractility in The Cow During Estrus and Diestrus. *Anim Reprod Sci* 70 : 171-180.
- Khanum SA, Hussain M, Kausar R. 2008. Progesterone and Estradiol Profiles During Estrous Cycle and Gestation in Dwarf Goats (*Capra Hircus*). *Pakistan Vet J* 28(1) : 1-4.
- Krassas GE, Poppe K, Gliner D. 2000. Thyroid Function and Human Reproductive Health. *Endocrine Reviews. Edrv Endojournals Org* 31(5) : 702-755.
- Leslie KE. 1983. The Events of Normal and Abnormal Postpartum. Reproductive Endocrinology and Uterine Involution in Dairy Cows. A Review. *Can Vet J* 24 : 67-71.
- Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Frickie PM, Wiltbank MC. 2005. Relation Between Level of Milk Production and Multiple Ovulation in Lactating Dairy Cow. *Journal of Dairy Science* 88 : 2783-2793.

- Lyimo ZC, Nielen M, Ouweltjes W, Kruip TAM, Van Eerdenburg FCJM. 2000. Relationship Among Estradiol, Cortisol and Intensity of Estrous Behaviour in Dairy Cattle. *Theriogenology* 53(9) : 1783-1795
- Maan GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC. 1999. The Regulation of Interferon Tau Production and Uterine Hormone Receptor During Early Pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility* 54 : 317-28.
- Melendez P, McHale J, Bartolone J, Archbald LF. 2004. Uterine Involution and Fertility of Holstein Cows Subsequent to Early Postpartum PGF₂ Treatment for Acute Puerperal Metritis. *Journal of Dairy Science* 87(10) : 3238-3246.
- Mondals M, Rajkhowa C, Prakash BS. 2006. Relationship of Plasma Estradiol-17 Beta, Total Estrogen and Progesteron to Estrus Behaviour in Mithun (*Bos Frontalis*) Cows. *Hormones and Behaviour* 49(5) : 626-633.
- Noakes D, Parkinson TJ, England GCW. 2003. *Arthur's-Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8th. England. Elsevier Science. British Library.
- Nelson JR, Perry BL, Perry GA. 2006. *Effect of Standing Estrus and Concentration of Estradiol on Uterine pH*. Report. Department of Animal and Range Sciences. South Dakota State University. Beef 08.
- Palmer C. 2003. Postpartum Metritis in Cattle : A Review of The Condition and The Treatment. Report. Department of Large Animal Clinical Sciences of The Western College of Veterinary Medicine. University of Saskatchewan. *Large Animal Veterinary Round* 3(8).
- Rahman ANMA. 2006. Hormonal Change in The Uterus During Pregnancy – Lesson from The Ewes. A Review. *J Agric Rural Dev* 4(1,2) : 1-7.
- Rukkamsuk T. 2011. Effect of Nutrition on Reproductive Performance of Postparturient Dairy Cow in The Tropics. A Review. *Thai J Vet Med* 41 : 103-107.
- Said RS, Nada AS, El Demerdash E. 2012. Sodium Selenite Improves Folliculogenesis in Radiation – Induced Ovarian Failure : A Mechanistic Approach. *Plos One* 7(12) : e50928
- Salisbury GW, Vandenmark NL. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan pada Sapi*. Diterjemahkan oleh R. Djanuar. Yogyakarta. Gajah Mada University Press.
- Sattar A, Mirza RH, Hussein SMI. 2007. Effect of Prapartum Treatment of Vitamin E – Selenium on Postpartum Reproductive and Productive Performance Exotic Cows and Their Calves Under Subtropical Conditions. *Pakistan Vet J* 27(30) : 105-108.
- Saut JPE, Oliviera RSBR, Martins CFG, Moura ARF, Tsuruta SA, Nasciutti NR, Santos RM, Headley SA. 2011. Clinical Observations of Postpartum Uterine Involution in Crossbreed Dairy Cow. *Vet Not* 17(1) : 16-25.
- Sheldon IM, Cronin J, Goetze I, Donofrie G, Schuberth HJ. 2009. Defining Postpartum Uterine Disease and The Mechanism of Infection and Immunity in The Female Reproduction Tract in Cattle. *Biology of Reproduction* 81 : 1025-1032.
- Stewart MD, Johnson GA, Vyhldal CA, Burghardt RC, Safe SH, Yu-Lee LY, Bazer FW, Spencer TE. 2001. Interferon-tau Activates Multiple Signal Transducer and Activator of Transcription Proteins and has Complex Effects on Interferon-Responsive Gene Transcription in Ovine Endometrial Epithelial Cells. *Endocrinology* 142(1) : 98-107.
- Sumiyoshi T, Tanaka T, Kamamoe H. 2014. Relationship Between The Appearances and Changes of Estrous Signal and The Estradiol 17 α , Luteinizing Hormone Surge and Ovulation During The Perioovulatory Period in Lactating Dairy Cow Kept in Tie Stalls. *J Reprod Dev* 60(2) : 106-114.
- Tabataei S, Moghadan MA, Mamouei M, Mirzadeh K, Aghaei A. 2014. Hormonal profile of ovarian follicular fluid and blood plasma during different stages of estrous cycles in Holstein cattle. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 4(2) : 263-268.
- Toelihere MR. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung. PT Angkasa.
- Wathes DC, Cheng Z, Ferwick MA, Fitzpatrick R, Patton J. 2011. Influence of Energy Balance on The Somatotrophic Axis and Matrix Metalloproteinase Expression in The Endometrium of The Post Partum Dairy Cow. *Reproduction* 141 : 269-281.