

Perbandingan Respons Penyerentakan Ovulasi Berbasis Progesteron Intravaginal pada Sapi Dara Friesian Holstein dan Persilangannya dengan Belgian Blue

(*COMPARISON OF RESPONSES TO OVULATION SYNCHRONIZATION BASED ON INTRAVAGINAL PROGESTERONE DEVICE BETWEEN HEIFERS OF FRIESIAN HOLSTEIN AND ITS CROSS WITH BELGIAN BLUE*)

**Zultinur Muttaqin^{1*}, Nurul Azizah¹, Anita Hafid¹,
Diana Andrianita Kusumaningrum¹, Anneke Anggraeni¹,
Aqdi Faturahman Arrazy¹, Andi Baso Lompengeng Ishak²**

¹ Pusat Riset Peternakan, Organisasi Riset Pertanian dan Pangan,
Badan Riset dan Inovasi Nasional
Jalan Raya Jakarta Bogor km 46, Cibinong, Bogor,
Jawa Barat, Indonesia 16911

²Balai Penelitian Ternak, Kementerian Pertanian
Jalan Veteran III Banjarsari, Ciawi, Bogor,
Jawa Barat, Indonesia 16002

*Email: zultinur.m@gmail.com

ABSTRACT

The ovulation synchronization (ovsynch) protocol was designed to synchronize ovulation, thereby allowing timed artificial insemination (TAI) of all heifers without detection of estrus. However, the effectiveness of ovsynch based on progesterone internal device in different breeds, Friesian Holstein (FH) and its cross with Belgian Blue (BBx_{FH}), has not been previously compared. The aim of this study was to compare the response to ovsynch in FH and its cross with Belgian blue heifers. A total of eight heifers (4 FH and 4 BBx_{FH}) were used in this research and treated with ovsynch: GnRH I + Cuemate[®] (7 days) - PGF_{2α} – 48 hours – GnRH II – 26 to 28 hours TAI. Ovulatory response, preovulatory follicle diameter, CL diameter, ovulation time and pregnancy percentage were compared between breeds. Ultrasonography was performed in d0, d7 until ovulation, Ov+7 days after ovulation (CL), and 45 days after TAI (pregnancy diagnosed). Ovulatory response, preovulatory follicle diameter and *corpus luteum*/CL diameter were similar ($P > 0.05$) in both breeds FH and BBx_{FH} (75% vs 100%; 13.6 ± 3.2 mm vs 14.9 ± 1.4 mm; and 25.4 ± 2.5 mm vs 21.3 ± 1.6 mm, respectively). In addition, pregnancy outcomes at d45 were greater in BBx_{FH} than in FH heifers (75% vs 50%). Ovsynch protocol based on progesterone intravaginal device was effective in synchronizing ovulation in both breeds without affecting the diameter of the dominant follicle and CL.

Keywords: breeds; ovsynch; progesterone; reproduction

ABSTRAK

Protokol *ovulation synchronization* (*ovsynch*) dirancang untuk dapat menyerentakkan ovulasi, sehingga inseminasi buatan (IB) dapat dilakukan secara tepat waktu/*fixed time* pada sapi dara tanpa diperlukan deteksi estrus. Namun, efektivitas dari *ovsynch* berbasis progesteron intravaginal melalui pengamatan dinamika ovarium pada bangsa sapi yang berbeda, Sapi Friesian Holstein (FH) dan persilangannya dengan Belgian Blue (BBx_{FH}), belum pernah dibandingkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan respons perlakuan *ovsynch* pada sapi dara

FH dan BBx_{FH}. Total delapan ekor sapi dara (4 FH dan 4 BBx_{FH}) digunakan dalam penelitian ini dan diberikan protokol *ovsynch*: GnRH I + Cuemate® (7 hari) - PGF2 α - 48 jam - GnRH II - 26 sampai 28 jam IB. Total ovulasi, diameter folikel preovulatori, diameter *corpus luteum*/CL, waktu ovulasi dan persentase kebuntingan dibandingkan antar bangsa sapi. Pengamatan ultrasonografi/USG dilakukan pada h0, h7 sampai terjadi ovulasi, Ovulasi + tujuh hari setelah ovulasi (CL) dan 45 hari setelah IB (pemeriksaan kebuntingan). Total ovulasi, diameter folikel preovulatori dan diameter CL tidak berbeda nyata ($P>0,05$) antar bangsa sapi FH dan BBx_{FH} (75% vs 100%; $13,6 \pm 3,2$ mm vs $14,9 \pm 1,4$ mm; dan $25,4 \pm 2,5$ mm vs $21,3 \pm 1,6$ mm, berturut-turut). Sebagai tambahan, persentase kebuntingan ditemukan lebih tinggi pada sapi BBx_{FH} dibanding sapi FH pada diagnosis kebuntingan umur 45 hari (75% vs 50%). Protokol *Ovsynch* berbasis preparat progesteron efektif dalam menyerentakkan kejadian ovulasi, baik pada bangsa sapi FH dan BBx_{FH} tanpa memengaruhi diameter folikel dominan dan CL yang dihasilkan.

Kata kunci: bangsa sapi; *ovsynch*; progesteron; reproduksi

PENDAHULUAN

Pemerintah Indonesia melalui Kementerian Pertanian terus berupaya untuk dapat memenuhi kebutuhan daging dalam negeri dan mengurangi ketergantungan terhadap impor. Pada tahun 2020 kebutuhan daging sapi nasional sebesar 681.180 ton, dengan produksi/stok dalam negeri hanya mampu memenuhi kebutuhan sebesar 404.997 ton atau masih terdapat kekurangan (defisit) sebesar 276.183 ton (44,55%) dari kebutuhan yang dipenuhi dari impor daging sapi/kerbau dan sapi bakalan (Ditjen PKH, 2020). Peningkatan kebutuhan ini harus diimbangi dengan peningkatan populasi sapi dan produksi daging dalam negeri. Beberapa program pemerintah di antaranya adalah peningkatan kelahiran melalui intensifikasi inseminasi buatan (IB) pada program Sapi Kerbau Komoditas Andalan Negeri (Sikomandan). Selain itu, dilakukan pula introduksi sapi ras baru Belgian Blue (BB) sesuai keputusan Menteri Pertanian nomor 616 tahun 2020. Sapi BB adalah sapi pedaging yang berasal dari negara Belgia dengan persentase karkas yang tinggi (70-80%), karena karakteristik berotot ganda (*double muscle*), sehingga sapi ini mampu menghasilkan daging hingga 10 kali lipat dari sapi lokal akibat mutasi gen myostatin. Menurut Agung *et al.* (2016) karakter berotot ganda secara genetik dapat diwariskan kepada keturunannya. Potensi genetik unggul ini diharapkan mampu meningkatkan produksi daging sapi di Indonesia melalui peningkatan mutu genetik ternak.

Lebih lanjut pemerintah saat ini telah menargetkan kelahiran 100.000 ekor pedet sapi silangan BB di masyarakat (Republika, 2021). Program ini dirancang pemerintah untuk dapat memperbaiki mutu genetik ternak melalui

pelaksanaan inseminasi buatan/IB menggunakan semen pejantan BB. Sapi pedet hasil silangan BB memiliki beberapa keuntungan, yaitu bobot lahir normal, tidak diperlukan tindakan operasi *sectio caesaria*, pertumbuhan bobot badan optimal dan adaptif di lingkungan tropis (Purwantara *et al.*, 2018). Namun, kendala yang muncul kemudian di lapangan saat pelaksanaan IB adalah respons ovulasi tiap individu ternak yang berbeda, sehingga dibutuhkan adanya intervensi teknologi reproduksi yang mampu menyerentakkan kejadian ovulasi.

Saat ini, kombinasi perlakuan *gonadotropin releasing hormone* (GnRH), progesteron intravaginal dan prostaglandin (PGF2 α) diharapkan dapat mengontrol gelombang folikel untuk proses penyerentakkan/sinkronisasi ovulasi (*ovsynch*) dan pelaksanaan IB secara tepat waktu/*fixed time* (Sahu *et al.*, 2014; Kasimanickam *et al.*, 2014). Perbandingan respons *ovsynch* pada sapi akseptor IB menggunakan protokol ini perlu diteliti lebih jauh. Pada riset kali ini digunakan dua bangsa sapi yang berbeda menurut kategori umur tertentu (dara), yaitu sapi Friesian Holstein (FH) dan Belgian Blue yang disilangkan/*cross* dengan FH (BBx_{FH}). Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan respons *ovsynch* berbasis progesterone intravaginal pada sapi dara FH dan BBx_{FH} agar diperoleh informasi tentang dinamika ovarium meliputi pertumbuhan gelombang folikel, tingkat kejadian ovulasi, diameter folikel preovulatori dan pembentukan *corpus luteum* (CL).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan empat ekor sapi dara FH dan empat ekor sapi dara BB *cross* yang berasal dari hasil kawin silang antara pejantan

BB dan indukan FH (BBx_{FH}), berumur 2-3 tahun dengan bobot badan antara 350-400 kg. Semua sapi yang digunakan memiliki nilai *Body Condition Score* (BCS) antara 2,7-3,2 dengan skala penilaian 1-5, memiliki siklus birahi dan organ reproduksi yang normal berdasarkan pemeriksaan trans-rektal menggunakan *ultrasonography* (USG). Sapi dipelihara secara intensif di dalam kandang, diberi pakan rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) sebanyak 30 kg hijauan/ekor/hari dan diberi imbuhan 5 kg pakan konsentrat/ekor/hari.

Klirens Etik

Penggunaan hewan coba dan jenis perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Kesejahteraan Hewan Coba Balitbangtan (KKHCB), Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian dengan nomor registrasi: Balitbangtan/Balitnak/Rm/12/2021.

Protokol Sinkronisasi Ovulasi (*Ovsynch*)

Protokol *ovsynch* (Gambar 1) dilakukan secara acak tanpa memperhatikan fase siklus birahi ternak. Perlakuan ini diawali dengan penyuntikan *gonadotropin releasing hormone*/GnRH dalam hal ini sediaan gonadoreline 0,5 mg dalam 5 mL pelarut (Fertagyl[®], MSD Animal Health, USA) dan pemasangan progesteron intravaginal dalam hal ini mengandung 1,56 g progesteron dalam dua *pod silicon* (Cue-mate[®], Vetoquinol Australia Pty Ltd, Hamilton, Queensland, Australia). Sediaan cue-mate[®] dipasang di dalam vagina selama tujuh hari menggunakan aplikator khusus yang telah diberi pelumas gel. Penyuntikan 5 mL hormon prostaglandin dalam hal ini 5 mg dinoprost trometamol per mL larutan (Lutalyse[®], Pfizer Animal Health, Manhattan, New York, USA) dilakukan secara intramuskuler (i.m) bersamaan dengan pelepasan cue-mate[®] dan dua hari (48 jam) kemudian diberikan penyuntikan GnRH kedua secara i.m. untuk menginduksi terjadinya ovulasi. Pelaksanaan IB dilakukan 26-28 jam setelah perlakuan GnRH terakhir tanpa memperhatikan gejala estrus yang muncul.

Pengamatan Ovaria

Pengamatan ovarium dilakukan menggunakan USG portabel (BMV[®] model PT50A vet) dengan pemindai/*probe* rektal frekuensi 6-7 MHz. Perekaman data dalam bentuk gambar dan video disimpan dalam USB *flashdisk* yang terhubung dengan unit USG. Respons perlakuan *ovsynch* terhadap dinamika ovarium pada masing-masing bangsa sapi dievaluasi melalui pengukuran diameter folikel

dominan dan *corpus luteum* (CL).

Pemeriksaan USG dimulai pada hari ke-0, kemudian berlanjut di hari ke-7 sampai dengan terjadinya ovulasi. Pengamatan dengan USG dilakukan setiap hari (1 kali pengamatan per ekor/hari) pada ovarium kiri dan kanan yang meliputi pertumbuhan gelombang folikel, diameter folikel dominan dan CL. Ovulasi ditentukan dari hilangnya penampakan folikel yang sebelumnya diidentifikasi sebagai preovulatori folikel diikuti oleh perkembangan CL. Pemeriksaan kebuntingan dengan USG dilakukan pada hari ke-45 setelah IB. Persentase sapi betina yang bunting berdasarkan pemeriksaan USG dibandingkan dengan jumlah akseptor yang menerima IB.

Analisa Statistika

Perbedaan rata-rata pada pengamatan diameter preovulatori folikel dan diameter CL antar bangsa sapi dianalisa menggunakan *independent two tailed t-test* satu arah dengan *P-value* 0,05 dianggap sebagai berbeda nyata, sedangkan total kejadian ovulasi dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis dengan *P-value* 0,05 dianggap sebagai berbeda nyata. Data waktu kejadian ovulasi dan persentase kebuntingan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa sapi dara FH dan BBx_{FH} memiliki respons ovulasi yang tidak berbeda nyata pada penyuntikan GnRH kedua dalam protokol *ovsynch* yang dilakukan (Tabel 1). Hasil tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan respons ovulasi pada sapi dara FH 54% (Pursley *et al.*, 1995) dan cenderung memiliki respons ovulasi yang sama pada sapi dara peranakan ongole/PO 78% (Imron *et al.*, 2015). Oleh karena itu, meskipun perbedaan bangsa mungkin dapat memberikan perbedaan pada karakteristik reproduksi, terlihat bahwa prosedur *ovsynch* yang dilakukan mampu memberikan respons sinkronisasi yang sama baik pada kedua bangsa sapi tersebut. Selain itu, sapi BBx_{FH} merupakan hasil perkawinan silang antara pejantan BB dan induk FH, sehingga karakteristik reproduksi sapi BBx_{FH} cenderung tidak berbeda signifikan dalam sistem fisiologis reproduksinya (Akbas *et al.*, 2022). Pada penelitian ini terdapat satu ekor sapi dara FH yang teramati tidak mengalami ovulasi pada penyuntikan GnRH kedua. Hasil pengamatan USG menunjukkan

bahwa terdapat CL asesoris yang terus bertahan pada ovarium kanan sampai dengan hari ke-10. *Corpus luteum* tersebut diduga merupakan hasil dari folikel yang ovulasi pada penyuntikan GnRH pertama dan tidak mengalami luteolisis pada saat penyuntikan PGF2 α di hari ke-7 disebabkan oleh umur CL yang masih muda (≤ 16 mm), sehingga tidak cukup responsif dalam merespons PGF2 α yang membutuhkan reseptor dari sel-sel luteal besar (Peterson *et al.*, 2011). Sebagai tambahan, keberadaan CL dapat meningkatkan konsentrasi progesteron dalam darah dan memberikan umpan balik/*feedback* negatif pada sekresi GnRH untuk pertumbuhan folikel dominan (Júnior *et al.*, 2010).

Diameter folikel preovulatori pada bangsa sapi FH dan BBx FH dalam penelitian ini tidak berbeda nyata (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa kedua bangsa sapi memberikan respons perkembangan folikel yang sama baik, terutama sesaat setelah pelepasan cue-mate[®] dan penyuntikan PGF2 α di hari ke-7 dalam protokol *Ovsynch* berbasis progesterone intravaginal. Seperti diketahui, sapi dara FH dan BBx FH memiliki rata-rata diameter folikel dominan masing-masing sebesar $11,5 \pm 2,1$ mm dan $11,6 \pm 2,5$ mm berturut-turut pada hari ke-7. Pelepasan progesteron intravaginal dapat memberikan umpan balik positif pada hipotalamus (GnRH) dan hipofisis anterior dalam mensekresikan *follicle stimulating hormone*/FSH dan *leutinizing hormone*/LH

untuk proses folikulogenesis dan ovulasi (Walker *et al.*, 2005; Mapletoft *et al.*, 2003). Diameter folikel preovulatori dapat ditentukan oleh beberapa faktor, seperti pada sapi dara FH cenderung memiliki diameter folikel yang lebih kecil dibanding sapi betina dewasa FH (Sartori *et al.*, 2004; Wolfenson *et al.*, 2004), selain itu respons ovulasi pada pemberian GnRH pertama cenderung memiliki ukuran folikel yang lebih kecil dibandingkan yang tidak ovulasi (Keskin *et al.*, 2011). Ditambahkan oleh Perry *et al.* (2007) bahwa ukuran optimal folikel dominan pada sapi dara berada pada kisaran 10,8-15,6 mm yang diikuti dengan peningkatan konsentrasi estrogen karena berhubungan dengan tingginya persentase kebuntingan yang dihasilkan (Lopes *et al.*, 2007). Hal berbeda dilaporkan oleh Imron (2016), bahwa rata-rata diameter folikel dominan cenderung lebih kecil ($11,23 \pm 0,53$ mm) pada sapi dara PO yang menggunakan progesteron intravaginal, disebabkan oleh pelepasan progesteron pada cue-mate[®] mampu menekan pertumbuhan folikel.

Rataan diameter CL pada hari ke-7 setelah ovulasi tidak berbeda signifikan antara sapi dara FH dan BBx FH (Tabel 1). Perbedaan ukuran CL dapat dipengaruhi oleh ukuran folikel sebelumnya dan tingkat konsentrasi estradiol dalam cairan folikel preovulatori yang penting untuk perkembangan selanjutnya (Vernunft *et al.*, 2013). Pada studi ini, walaupun rata-rata ukuran diameter folikel preovulatori

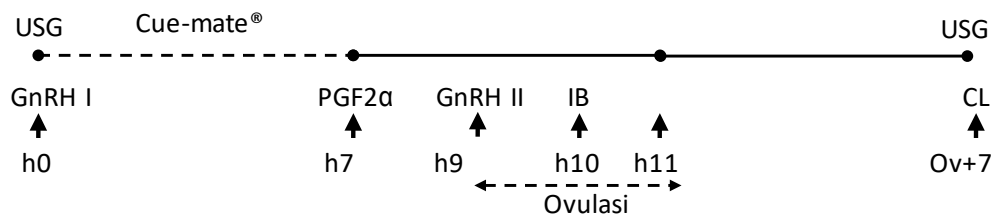
Tabel 1. Respons dinamika ovarium pada sapi dara Freisian Holstein (FH) dan persilangan Belgian Blue (BB) dengan Freisian Holstein setelah protokol *ovsynch*

Pengamatan	FH	BBx FH	<i>P</i> -value
Total Ovulasi (%)	3 (75)	4 (100)	0,3173
Preovulatori Folikel (mm)	$13,6 \pm 3,2$	$14,9 \pm 1,4$	0,2071
Diameter CL (mm)	$25,4 \pm 2,5$	$21,1 \pm 3,3$	0,7599

Note: CL=Corpus Luteum

Tabel 2. Waktu kejadian ovulasi dan persentase kebuntingan pada bangsa sapi Freisian Holstein (FH) dan Persilangan Belgian Blue (BB) dengan Freisian Holstein

	Waktu Ovulasi			Total
	Tidak Ovulasi	0-24 jam setelah GnRH ke-2	>24-48 jam setelah GnRH ke-2	
FH	1 (25%)	2 (50%)	1 (25%)	3 (75%)
% Kebuntingan	0	50	100	50
BBx FH	0 (0%)	2 (50%)	2 (50%)	4 (100%)
% Kebuntingan	0	50	100	75



Gambar 1. Protokol *ovsynch* GnRH-Cuemate-PGF2 α -GnRH. Pengamatan dengan ultrasonografi/USG dilakukan ada h0, h7 sampai terjadi ovulasi, tujuh hari setelah ovulasi (CL) dan 45 hari pascainseminasi buatan(pemeriksaan kebuntingan).

pada sapi dara BBxFH lebih besar ($14,9 \pm 1,4$ mm) dibandingkan sapi dara FH ($13,6 \pm 3,2$ mm), namun menghasilkan pertumbuhan ukuran CL yang sedikit lebih kecil. Hal ini bisa dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jumlah reseptor LH pada folikel (Roche dan Diskin, 2000), berkurangnya stimulasi gonadotropin dan produksi estradiol (Dickinson *et al.*, 2016). Ditambahkan oleh Veronesi *et al.* (2002), bahwa penilaian fungsionalitas CL melalui pengamatan USG perlu memperhatikan tampilan *echogenic*, karena tampilan *echogenic* yang baik memiliki korelasi yang lebih erat terhadap level progesteron, dibandingkan pengukuran yang hanya dilakukan terhadap diameter CL.

Waktu terjadinya ovulasi pada kedua bangsa sapi secara deskriptif terlihat tidak terdapat perbedaan (Tabel 2). Sapi dara FH dan BBxFH teramati melalui USG setengahnya mengalami ovulasi pada 0-24 jam dan >24-48 jam setelah penyuntikan GnRH kedua. Dilaporkan oleh Tenhagen *et al.* (2003), bahwa secara keseluruhan, 58,1% sapi perah primipara dan multipara mengalami ovulasi 26-40 jam setelah GnRH kedua, walaupun terindikasi pada sapi primipara lebih signifikan untuk terjadi ovulasi lebih awal pada 0-17 jam pertama dibanding sapi multipara pada 26-40 jam.

Hasil pengamatan menunjukkan bangsa sapi FH dan BBxFH memiliki angka kebuntingan masing-masing sebesar 50% dan 75%. Variasi waktu ovulasi pada kedua bangsa sapi tersebut setelah penyuntikan GnRH ke-2 memiliki kecenderungan angka kebuntingan yang lebih tinggi pada sapi yang teramati ovulasi >24-48 jam (Tabel 2). Ditambahkan oleh Richard *et al.* (1998) bahwa sapi yang dikawinkan pada 8, 16 dan 24 jam setelah penyuntikan GnRH ke-2 memiliki angka kebuntingan yang tidak berbeda nyata, meskipun secara deskriptif angka kebuntingan tertinggi diperoleh pada IB yang dilakukan 16 jam (45%) dan angka kebuntingan

terendah dicapai pada IB di 0 dan 32 jam setelah penyuntikan GnRH kedua. Sebaliknya, Setyorini dan Prihatno (2022) melaporkan persentase kebuntingan mencapai 66,7% pada sapi kawin berulang yang diberikan injeksi GnRH segera setelah dilakukan IB. Studi lainnya oleh Lynch *et al.* (2010) melaporkan bahwa fertilitas yang lebih baik ditemukan pada sapi dara yang ovulasinya berasal dari folikel berukuran kecil (10,1 s.d. 13,0 mm) dan folikel ukuran sedang (13,0 s.d. 14,1 mm), dibandingkan folikel yang berukuran besar (14,1 s.d. 15,1), dengan asosiasinya terhadap embrio *survival rates* pada hari ke-30 sebesar 76% pada folikel ukuran sedang dan 57% pada folikel ukuran besar. Studi ini menunjukkan kesesuaian antara folikel ovulasi dan keberhasilan kebuntingan. Pada sapi FH dengan rata-rata diameter folikel ovulasi sebesar 14,9 mm (besar) memiliki tingkat kebuntingan 50%, sedangkan sapi BBxFH dengan rata-rata diameter folikel ovulasi 13,6 mm (sedang) memiliki tingkat kebuntingan 75%. Hal ini kemungkinan terkait umur folikel, perkembangan folikel yang berkepanjangan diduga memberikan efek yang merugikan pada oosit (Townson *et al.*, 2002). Perry *et al.* (2007) menunjukkan bahwa diameter optimal folikel preovulatori untuk keberhasilan kebuntingan pada sapi dara yaitu 12,8 mm, sedangkan diameter folikel preovulatori berukuran di bawah 10,5 mm atau di atas 15,7 mm, ternyata mengurangi keberhasilan kebuntingan.

SIMPULAN

Protokol penyerentakan/sinkronisasi ovulasi (*ovsynch*) berbasis progesterone intravaginal, efektif dalam menyerentakkan kejadian ovulasi, baik pada sapi dara FH dan BBxFH tanpa ditemukan adanya perbedaan signifikan dalam diameter folikel dominan dan CL yang dihasilkan.

SARAN

Penelitian lebih lanjut diperlukan dalam skala yang lebih besar dan bangsa sapi yang berbeda untuk menguji efektivitas protokol *ovsynch* berbasis progesteron intravaginal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana dengan anggaran penelitian yang berasal dari dana DIPA APBN Balitnak tahun 2021. Ucapan terima kasih disampaikan kepada teknisi Litkayasa kandang ruminansia besar (Bpk. Endang Sopian) yang telah membantu kegiatan penelitian ini dan juga kepada manajemen Balitnak atas penggunaan hewan ternak dan fasilitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung PP, Said S, Sudiro A. 2016. Myostatin gene analysis in the first generation of the Belgian Blue cattle in Indonesia. *J Indonesian Trop Anim Agric* 41(1): 13–20.
- Akbas AA, Sari M, Usta Z, Saatci M. 2022. A field study on fertility traits of Holstein heifer and cows artificially inseminated with sexed Belgian Blue sperm and growth characteristics of crossbred Belgian Blue x Holstein (F1) male calves. *Tome* 75(7): 1072-1080.
- Dickinson SE, Geary TW, Monnig JM, Pohler KG, Green JA, Smith MF. 2016. Effect of pre-ovulatory follicle maturity on pregnancy establishment in cattle: the role of oocyte competence and the maternal environment. *Anim Reprod* 13(3): 209-216.
- Ditjen PKH. 2020. *Laporan kinerja Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Tahun 2020*. In paper knowledge toward a media history of documents: Jakarta. Dirjen PKH. Hlm. 12–26.
- Imron M, Supriatna I, Amrozi, Setiadi MA. 2015. Ovarian dynamic in Ongole Grade cattle after GnRH injection in *ovsynch* protocol based on progesterone device. *Media Peternakan* 38(2): 82–88.
- Imron M, Supriatna I, Amrozi, Setiadi MA. 2016. Respon superovulasi sapi Peranakan Ongole terhadap penyuntikan tunggal FSH ke dalam ruang epidural. *Jurnal Veteriner* 17(1): 78-87.
- Júnior IC, Filho OGS, Peres RFG, Aono FHS, Day ML, Vasconcelos JLM. 2010. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. *Theriogenology* 74(6): 903–911.
- Kasimanickam R, Asay, M, Firth, P, Whittier, WD, Hall JB. 2012. Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate in beef heifers synchronized with five day CO-Synch controlled internal drug release (CIDR) protocol. *Theriogenology* 77: 1624–1631.
- Lopes AS, Butler ST, Gilbert RO, Butler WR. 2007. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in Dairy Cows. *Anim Reprod Sci* 99(1–2): 34–43.
- Lynch CO, Kenny DA, Childs S, Diskin MG. 2010. The relationship between periovulatory endocrine and follicular activity on corpus luteum size, function, and subsequent embryo survival. *Theriogenology* 73(2): 190–198.
- Mapletoft R., Martínez M, Colazo M, Kastelic J. 2003. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. *J Anim Sci* 81(14_suppl_2): E28–E36.
- Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD, Geary TW. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J Anim Sci* 85(3): 684–689.
- Peterson C, Alkar A, Smith S, Kerr S, Hall JB, Moore D, Kasimanickam R. 2011. Effects of one versus two doses of prostaglandin F2alpha on AI pregnancy rates in a 5-day, progesterone-based, CO-Synch protocol in crossbred beef heifers. *Theriogenology* 75(8): 1536–1542.
- Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. 1995. Synchronization of ovulation in Dairy Cows using PGF2α and GnRH. *Theriogenology* 44(7): 915–923.
- Purwantara B, Parlindungan O, Siswanti Y, Imron M, Setiawan Y. 2018. Embryo transfer and artificial insemination program of Belgian Blue cattle in Indonesia: pregnancy rate, birth weight and calving ease. *Proceeding. 20th FAVA Congress and 15th Kivnas PDHI Nusa Dua Bali*. Hlm. 69; 147.

- Republika. 2021. *Mentan panen pedet dan luncurkan program kelahiran 100.000 ekor silangan Belgian Blue di Lampung*. <https://repjogja.republika.co.id/berita/r3tozn380/mentan-panen-pedet-dan-luncurkan-program-kelahiran-100-000-ekor-belgian-blue>. [14 Februari 2022].
- Richard PJ, Silcox RW, Wiltbank MC. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 81(8): 2139–2144.
- Roche JF, Diskin MD. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci* 60: 703-712.
- Sahu SK, Cockrem JF, Parkinson TJ, Laven RA. 2014. The effects of exclusion of progesterone or Day 0 GnRH from a GnRH, prostaglandin, GnRH+progesterone program on synchronization of ovulation in pasture-based dairy heifers. *Theriogenology* 82: 643–651.
- Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci* 87:905–920.
- Setyorini YW, Prihatno SA. 2022. Waktu ovulasi dan angka kebuntingan pada sapi perah yang mengalami kawin berulang setelah pemberian GnRH, vitamin ADE dan infusi iodium povidon. *J Sain Veteriner* 40(1): 97–103.
- Tenhagen BA, Wittke M, Drillich M, Heuwieser W. 2003. Timing of ovulation and conception rate in primiparous and multiparous cows after synchronization of ovulation with GnRH and PGF 2α . *Reprod Domest Anim* 38(6): 451–454.
- Townson DH, Tsang PC, Butler WR, Frajblat M, Griel Jr LC, Johnson CJ, Milvae RA, Niksic GM, Pate JL. 2002. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J Anim Sci* 80: 1053–1058.
- Vernunft A, Weitzel JM, Viergutz T. 2013. Corpus luteum development and its morphology after aspiration of a preovulatory follicle is related to size and steroid content of the follicle in Dairy Cows. *Vet Med* 58(4): 221–229.
- Veronesi MC, Gabai G, Battocchio M, Mollo A, Soldano F, Bono G, Cairoli F. 2002. Ultrasonographic appearance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in Dairy Cows. *Theriogenology* 58(1): 61–68.
- Walker RS, Enns RM, Geary TW, Mortimer RG, Lashell BA, Zalesky DD. 2005. Evaluation of gonadotropin-releasing hormone at fixed-time artificial insemination in beef heifers synchronized using a modified co-synch plus controlled internal device release protocol. *Prof Anim Sci* 21(6): 449–454.
- Wolfenson D, Inbar G, Roth Z, Kaim M, Bloch A, Braw-Tal R. 2004. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology* 62: 1042-1055.