

TESIS

**"PROFIL HORMON PROGESTERON PADA SAPI PERAH YANG
MENGALAMI KEGAGALAN INSEMINASI BUATAN (IB)
DI KPSP SETIA KAWAN KECAMATAN TUTUR
KABUPATEN PASURUAN"**



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

TBR. 11/18
Fad
P

Oleh :

ISNAINI FADILAH

061614153008

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2018

**"PROFIL HORMON PROGESTERON PADA SAPI PERAH YANG
MENGALAMI KEGAGALAN INSEMINASI BUATAN (IB)
DI KPSP SETIA KAWAN KECAMATAN TUTUR
KABUPATEN PASURUAN"**

PENELITIAN EKPLORATIF LABORATORIK

T E S I S

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi Veteriner
Pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya**

Oleh :

ISNAINI FADILAH

061614153008

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2018

PERNYATAAN



Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**PROFIL HORMON PROGESTERON PADA SAPI PERAH YANG
MENGALAMI KEGAGALAN INSEMINASI BUATAN (IB) DI KPSP
SETIA KAWAN KECAMATAN TUTUR
KABUPATEN PASURUAN**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 11 Mei 2018



Isnaini Fadilah
NIM. 061614153008

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI

Tanggal : 11 Mei 2018

Oleh :

Pembimbing Ketua



Dr. Trilas Sardjito, drh., M.Si
NIP. 195505301987011001

Pembimbing

Prof. Mas'ud Hariadi, drh., M. Phil., Ph.D
NIP. 195105021967031003

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Dr. Rimayanti, drh., M. Kes
NIP.196303121988032003

Usulan Penelitian Tesis ini Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 13 Oktober 2017

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Ketua : Dr. Trilas Sardjito, drh., M.Si

Anggota : 1. Prof., Mas'ud Hariadi, drh., M. Phil., Ph.D
2. Prof., Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si
3. Prof., Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes
4. Prof., Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes

Usulan Tesis ini Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 19 April 2018

PANITIA PENGUJI SEMINAR HASIL PENELITIAN TESIS

Ketua : Prof., Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si

Anggota : 1. Prof., Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes
2. Prof., Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes
3. Dr. Trilas Sardjito, drh., M.Si
4. Prof., Mas'ud Hariadi, drh., M. Phil., Ph.D

Tesis ini Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 11 Mei 2018



PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof., Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si

Anggota : 1. Prof., Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes
2. Prof., Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes
3. Dr. Trilas Sardjito, drh., M.Si
4. Prof., Mas'ud Hariadi, drh., M. Phil., Ph.D

Surabaya, 11 Mei 2018
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



A handwritten signature in black ink, appearing to read "Pudji Srianto", written over the official seal.

Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes.
NIP. 195601051986011001

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji dan syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan, kesabaran dan kesehatan kepada penulis dan tak lupa nabi Muhammad SAW atas tauladannya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul : Profil Hormon Progesteron pada Sapi Perah yang Mengalami Kegagalan Inseminasi Buatan (IB) Di KUD Setia Kawan Kecamatan Tukur Kabupaten Pasuruan.

Penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pihak-pihak yang membutuhkannya. Tesis ini disusun untuk memenuhi syarat memperoleh gelar Magister di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dalam penyusunan ini, penulis tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih sebanyak-banyaknya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada mereka yang telah mengorbankan waktu, tenaga serta pikiran untuk membantu, menolong dan mengarahkan penulis, sehingga ini bisa diselesaikan.

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang telah memberikan fasilitas dalam menempuh pendidikan dan seluruh Bapak dan Ibu Dosen beserta jajaran staf Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah banyak memberikan perhatian dan bimbingan bagi penulis.

Demikian pula, penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Trilas Sardjito, drh., M.Si selaku dosen pembimbing utama, Prof Mas'ud Hariadi, drh., M. Phil., Ph.D selaku dosen pembimbing, Prof., Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes selaku dosen penguji serta, Prof., Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si sebagai penguji dan pemilik penelitian yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, dan nasehat yang sangat berguna hingga terselesaikannya naskah ini.

Kedua orang tua tercinta ayahanda Mokhamad Khamidun dan ibunda Sri Purwanti terima kasih atas kasih sayang, doa, nasehat dan semangat buat penulis selama ini. Saudara tercinta Khoiru Indana dan Nazwa Salsa Bela serta segenap keluarga besar. Terima kasih atas bantuan yang sudah diberikan sahabat-sahabat tercinta Rinda Dewi Safitri, Arrifah Ratna Dewi, drh., Maharani Kartika, drh., Achmad Aris, drh., Fakhri Arsyia Pradana S.KH, Fadila Zikri Amanda, drh., selaku teman penelitian serta teman-teman calon Magister angkatan 2016 yang selalu memberi semangat, serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari segala kesempurnaan yang disebabkan oleh keterbatasan ilmu, pengetahuan dan kemampuan yang dimiliki penulis. Untuk itu segala kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk dijadikan koreksi demi memperbaiki penulisan tesis ini.

Surabaya, 11 Mei 2018

Penulis

RINGKASAN

**PROFIL HORMON PROGESTERON PADA SAPI PERAH YANG
MENGALAMI KEGAGALAN INSEMINASI BUATAN (IB) DI KPSP
SETIA KAWAN KECAMATAN TUTUR
KABUPATEN PASURUAN**

Susu merupakan salah satu komoditas pemenuhan gizi yang banyak diminati masyarakat. Tingginya minat tersebut berbanding terbalik dengan tingkat produksi susu yang mampu dihasilkan peternak sapi perah. Tercatat petani sapi perah lokal hanya mampu memproduksi sekitar 1.500 -1.600 ton per hari, 900 ton produksi tersebut berasal dari Jawa Timur dan produksi susu di Indonesia tahun 2013 mengalami penurunan sebesar 15%. Jawa Timur memiliki daerah-daerah yang menjadi sentra sapi perah salah satunya adalah KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan. Tercatat perkembangan data populasi di KPSP Setia Kawan sebanyak 18.002 ekor pada tahun 2012, 18.023 ekor pada tahun 2013 dan 16.872 ekor pada tahun 2015. Penurunan jumlah populasi tersebut akan berpengaruh pada jumlah pedet yang dilahirkan dan produksi susu yang dihasilkan. Penyebab penurunan jumlah populasi di KPSP Setia Kawan dikarenakan adanya permasalahan reproduksi salah satunya adalah kegagalan Inseminasi Buatan (IB). Kegagalan IB bisa menjadi masalah yang penting secara ekonomi pada peternakan sapi perah. Kerugian ekonomis yang ditimbulkan yaitu meningkatnya biaya untuk perkawinan, *calving interval* yang panjang, meningkatnya sapi-sapi yang diafkir dan tidak lahirnya pedet setiap tahun. Hormon ovarium yang mempunyai peranan besar terhadap reproduksi salah satunya progesteron. 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. Informasi akurat tentang hormon reproduksi yaitu progesteron selama masa siklus birahi pada sapi perah yang mengalami kegagalan IB sangat terbatas.

Berdasarkan latar belakang tersebut, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil hormon progesteron sapi perah pada hari ke-0 (birahi), 7, 14, 21 dan 28. Peneliti melakukan survei lapangan ke peternak anggota KPSP Setia Kawan didampingi oleh petugas lapangan kemudian melihat dan mencatat data sekunder dari kartu *recording* sapi perah yang mengalami kegagalan IB umur 3,5-5,5 tahun yang sudah pernah beranak minimal 1 kali, kondisi tubuh terlihat sehat dan siklus birahi normal. Lima belas ekor sapi perah tersebut diambil sampel susu pada hari ke-0, 7, 14 dan 21 (hari ke-0, birahi). Sampel susu diambil langsung dari ambung sapi betina yang telah masuk kedalam kategori dengan menggunakan kantung asi steril sebanyak 50 ml yang diambil pada pagi hari. Sampel susu dimasukkan kedalam *ice box*, suhu dipertahankan pada 4°C dengan menggunakan termometer agar susu tetap dingin yang kemudian akan dipindahkan kedalam *freezer* agar membeku. Sampel susu yang telah membeku di *thawing* dalam suhu

kamar sampai mencair. Setelah sampel susu mencair, kemudian diambil masing-masing sebanyak 6 ml dengan menggunakan spuit 10 ml dari masing-masing sampel sebanyak 15. Sampel tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi 10 ml, kemudian tutup tabung reaksi dan diletakkan kedalam *centrifuge*. *Centrifuge* sampel dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Sampel tersebut akan terpisah antara lemak dan skim susu, kemudian ambil skim susu sebanyak 1 ml dengan spuit 5 ml kemudian pindahkan kedalam *microtube*. Kemudian tutup *microtube* dan selotip dengan rapat dan diberi label pada tiap sampel. Analisis hormonal dilakukan dengan menggunakan metode *sandwich* ELISA.

Hasil penelitian menunjukkan pada hari ke-0 (birahi), 7 dan 14 konsentrasi progesteron mengalami peningkatan pada 15 ekor sapi perah, pada hari ke-21 sebanyak 3 ekor sapi perah mengalami penurunan konsentrasi progesteron dan kembali birahi, tiga ekor tersebut mengalami kegagalan fertilisasi. Kegagalan fertilisasi secara umum disebabkan oleh kelainan anatomi saluran reproduksi dan kelainan ovulasi (akibat gangguan hormonal), kualitas spermatozoa yang abnormal maupun faktor inseminator dan peternak sedangkan 12 ekor sapi perah lainnya mengalami peningkatan konsentrasi progesteron yaitu 15ng/ml. Pada hari ke-28 menunjukkan 3 ekor sapi perah dengan konsentrasi progesteron terus meningkat dan dinyatakan sapi perah tersebut bunting. Tingginya konsentrasi progesteron saat bunting disebabkan oleh korpus luteum tetap berfungsi merangsang sel endometrium untuk menghasilkan *uterine milk* yang merupakan nutrisi awal bagi embrio setelah implantasi sedangkan sebanyak 9 ekor sapi perah dengan konsentrasi progesteron menurun yang mengalami kematian embrio dini. Kematian embrio dini di KPSP Setia Kawan disebabkan peralatan Inseminasi Buatan (IB) tidak aseptis sehingga menjadi media masuknya bakteri dan jamur, penggunaan limbah roti sebagai pakan ternak yang mengandung jamur menyebabkan infeksi ringan seperti endometritis subklinis.

SUMMARY

PROGESTERONE PROFILE ON DAIRY COWS WHICH EXPERIENCES THE FAILURE OF ARTIFICIAL INSEMINATION (AI) IN KPSP SETIA KAWAN, TUTUR, PASURUAN DISTRICT

Milk is one of the nutritional fulfillment commodities that many people in demand. The high interest is inversely proportional to the level of milk production that can be produced dairy farmers. Recorded local dairy farmers are only able to produce about 1.500 -1.600 tons per day, 900 tons of production comes from East Java and milk production in Indonesia in 2013 decreased by 15%. East Java has areas that become dairy centers one of them is KPSP Setia Kawan, Tukur District, Pasuruan Regency. Recorded development of population data in KPSP Setia Kawan as much as 18.002 in 2012, 18.023 in 2013 and 16.872 in 2015. The decline in population will affect the number of calves born and the production of milk produced. The cause of the decline in the number of population in KPSP Setia Kawan due to the problem of reproduction one of them is the failure of Artificial Insemination (AI). Artificial Insemination (AI) Failure can be an economically important problem on dairy farms. Economic losses incurred include increased costs for mating, long calving intervals, increased cows in the rejects and birth of calves each year. Ovarian hormones that have a major role to reproduce one of them is progesterone. The concentration of progesterone in the blood and milk can determine the state of the animal in an infertile, normal, estrous, and pregnant state so that it can be used for estrous detection and other pathological conditions. Appropriate Information About the reproductive hormone progesterone during the estrous cycle of dairy cows with Artificial Insemination (AI) is very limited.

Based on this background, the purpose of this study was to find out the progesterone profile of dairy cow on day 0 (estrous), 7, 14, 21 and 28. The researcher conducted field survey to breeders of KPSP Setia Kawan member accompanied by field officer then saw and recorded secondary data from card of dairy cow recording that experienced failure of Artificial Insemination aged 3.5-5.5 years who have had a child at least 1 time, body condition looks healthy and normal cycle of estrous. Then 15 dairy cows were taken milk samples on days 0, 7, 14 and 21 (day 0, estrous). Milk samples were taken directly from the udders of cows that had entered into the category using 50 ml sterile breast milk bag taken in the morning. Milk samples are inserted into the ice box, the temperature is maintained at 40⁰C by using a thermometer to keep the milk cool, which is then transferred into the freezer to freeze. The milk samples have been frozen at thawing at room temperature until it melts. After the samples of the milk melted, then taken each of 6 ml by using 10 ml syringe from each sample of 15. The sample is inserted into a 10 ml reaction tube, then close the test tube and put into the centrifuge. Centrifuge sample with speed 3500 rpm for 15 minutes. The

sample will be separated between fat and skim milk, then take skim milk as much as 1 ml with 5 ml syringe then move into microtube. Then close the microtube and tape tightly and labeled on each sample. Hormonal analyzes were performed using the sandwich ELISA method.

The results showed that on day 0 (estrous), 7 and 14 concentrations of progesterone increased in 15 dairy cows, on the 21st day as many as 3 dairy cows had decreased progesterone and estrous concentration, the three had failure fertilization. Failure of fertilization is generally caused by anatomical abnormalities of the reproductive tract and abnormalities of ovulation (due to hormonal disturbances), abnormal spermatozoa qualities as well as inseminator and breeder factors while 12 dairy cows have increased progesterone concentrations of 15 ng / ml. On the 28th day showed 3 dairy cows with the concentration of progesterone continues to increase and declared dairy cows are pregnant. The high concentration of progesterone during pregnancy caused by the corpus luteum still serves to stimulate the endometrial cells to produce uterine milk which is the early nutrient for the embryo after implantation while 9 dairy cows with decreased progesterone concentrations experienced early embryonic death. Early embryonic mortality in KPSP Setia Kawan is caused by artificial insemination (AI) equipment is not aseptic so it becomes the medium of bacteria and fungus entry, the use of waste of bread as animal feed containing fungus cause mild infection such as subclinical endometritis.

**PROGESTERONE PROFILE ON DAIRY COWS WHICH EXPERIENCES
THE FAILURE OF ARTIFICIAL INSEMINATION (AI) IN KPSP SETIA
KAWAN, TUTUR, PASURUAN DISTRICT**

Isnaini Fadilah

ABSTRACT

This study aims to prove the profile of progesterone hormone in milk samples in dairy cow that experienced failure of Artificial Insemination (AI) in KPSP Setia Kawan, Tukur, Pasuruan district. This study used 15 dairy cows that experienced Artificial Insemination failure aged 3.5-5.5 years who had breeding at least one time, body condition looks healthy and normal estrous cycle. Fifteen dairy cows were taken milk samples on days 0, 7, 14, 21 and 28 (day 0, estrous) and samples were taken in the morning. Hormonal progesterone analysis was performed using the ELISA method. The results showed that on day 0 (estrus), 7 and 14 concentrations of progesterone increased in 15 dairy cows, on the 21st day there was a decrease in progesterone concentrations in 3 dairy cows that returned estrous and 12 cows increased. On the 28th day there was an increase in progesterone concentration and was declared pregnant in 3 cows while 9 other cows declined and experienced early embryonic death.

Keywords: Dairy Cow, Progesterone, Estrous Cycle, Artificial Insemination (AI)



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN SAMPUL DALAM.....	ii
PRASYARAT GELAR.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
LEMBAR PENGESAHAN.....	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	vi
UCAPAN TERIMAKASIH.....	ix
RINGKASAN.....	xi
SUMMARY.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
DAFTAR ISI.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xx
SINGKATAN DAN LAMBANG.....	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Sapi Perah.....	5
2.2 Gambaran Lokasi Penelitian.....	7
2.3 Siklus Birahi Sapi.....	9
2.3.1 Proestrus.....	9
2.3.2 Estrus.....	10
2.3.3 Metestrus.....	11
2.3.4 Diestrus.....	12
2.4 Inseminasi Buatan (IB) pada Sapi.....	12
2.5 Faktor yang Memengaruhi Inseminasi Buatan (IB).....	13
2.5.1 Peternak.....	13
2.5.2 Manajemen Pemeliharaan.....	14
2.5.3 Pakan.....	14
2.5.4 Kesuburan Ternak.....	15
2.5.5 Lingkungan.....	16
2.6 Hormon Progesteron.....	18

2.7	Hormon Progesteron dalam susu	20
2.8	ELISA (<i>Enzymelinked Immunosorbent Assay</i>)	22
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL	26
3.1	Kerangka Konseptual	26
BAB 4	MATERI DAN METODE	29
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	29
4.2	Populasi dan Besar Sampel	29
4.2.1	Populasi	29
4.2.2	Sampel	29
4.2.3	Besar sampel	29
4.2.4	Teknik pengambilan sampel	30
4.3	Bahan Penelitian	31
4.4	Peralatan Penelitian	31
4.5	Waktu dan Tempat Penelitian	31
4.6	Prosedur Penelitian	31
4.6.1	Prosedur pengambilan sampel	31
4.6.1.1	Prosedur pengambilan serum	32
4.7	Definisi Operasional	32
4.8	Pengukuran Kadar Progesteron	33
4.9	<i>Sandwich</i> ELISA	35
4.10	Bagan Kerangka Operasional	36
4.11	Analisis Data	36
BAB 5	HASIL	37
5.1	Gambaran Profil Hormon Progesteron	37
BAB 6	PEMBAHASAN	41
6.1	Konsentrasi Hormon Progesteron	41
BAB 7	KESIMPULAN	51
7.1	Kesimpulan	51
7.2	Saran	51
	DAFTAR PUSTAKA	52
	LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Populasi Sapi Perah di Indonesia	6
2.2 Persentase waktu kejadian biarhi pada sapi induk	11
5.1 Konsentrasi Hormon Progesteron pada hari ke-0, 7, 14, 21 dan 28.	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Sapi Perah	7
2.2 Peta Pasuruan	8
2.3 <i>Direct</i> ELISA	23
2.4 <i>Indirect</i> ELISA.....	24
2.5 <i>Sandwich</i> ELISA.....	25
3.1 Bagan Kerangka Konseptual	26
4.1 Tahapan Prosedur <i>Sandwich</i> ELISA.....	35
4.2 Bagan Kerangka Operasional.....	36
5.1 Profil Hormon Progesteron sampel susu.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Peternak dan Sampel Susu.....	59
2. Data Hasil Pemeriksaan Hormon Progesteron Sampel Susu.....	60
3. Analisis Data (Rancangan Sama Subjek)	67
4. Alat dan Bahan Penelitian.....	71
5. Dokumentasi Penelitian	73

SINGKATAN DAN LAMBANG

CL	= Corpus Luteum
FH	= Friesian Holstein
FSH	= Follicle Stimulating Hormone
GnRH	= Gonadotrophin releasing Hormone
IB	= Inseminasi Buatan
LH	= Luteinizing Hormone
ELISA	= Enzymelinked Immunosorbent Assay

BAB 1

PENDAHULUAN



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu merupakan salah satu komoditas pemenuhan gizi yang banyak diminati masyarakat. Tingginya minat tersebut berbanding terbalik dengan tingkat produksi susu yang mampu dihasilkan peternak sapi perah. Tercatat petani sapi perah lokal hanya mampu memproduksi sekitar 1.500 ton-1.600 ton per hari, 900 ton produksi tersebut berasal dari Jawa Timur dan produksi susu di Indonesia tahun 2013 mengalami penurunan sebesar 15% (Ditjen PPHP, 2014).

Jawa Timur memiliki daerah-daerah yang menjadi sentra sapi perah salah satunya adalah KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan. Tercatat perkembangan data populasi di KPSP Setia Kawan sebanyak 18.002 ekor pada tahun 2012, 18.023 ekor pada tahun 2013 dan 16.872 ekor pada tahun 2015. Penurunan jumlah populasi tersebut akan berpengaruh pada jumlah pedet yang dilahirkan dan produksi susu yang dihasilkan. Penyebab penurunan jumlah populasi di KPSP Setia Kawan dikarenakan adanya permasalahan reproduksi yaitu panjangnya calving interval (18-24 bulan), rendahnya angka konsepsi (< 40%) serta tingginya service per conception (> 3) (Rustamaji dkk., 2007) yang berdampak pada rendahnya efisiensi reproduksi. Salah satu penyebab rendahnya efisiensi reproduksi pada sapi perah yaitu kegagalan Inseminasi Buatan (IB) (Prihatno dkk., 2013).

Kegagalan IB bisa menjadi masalah yang penting secara ekonomi pada peternakan sapi perah. Kerugian ekonomis yang ditimbulkan yaitu meningkatnya

biaya untuk perkawinan, *calving interval* yang panjang, meningkatnya sapi-sapi yang diafkir dan tidak lahirnya pedet setiap tahun (Canu *et al.*, 2010).

Ketidakseimbangan sistem hormonal dapat menyebabkan kegagalan IB (Siregar, 2009). Saat birahi diindikasikan konsentrasi estrogen tinggi dan konsentrasi progesteron rendah dalam darah. Jika ada gangguan reproduksi konsentrasi progesteron dan estrogen tidak seimbang. Adanya ketidakseimbangan hormon tersebut selama birahi akan menghambat mekanisme *positive feedback* oleh estrogen ke hipotalamus, menghasilkan rendahnya frekuensi *LH pulse* dan mempengaruhi pertumbuhan folikel dan ovulasi (Tortora *and* Derrickson, 2009).

Hormon ovarium yang mempunyai peranan besar terhadap reproduksi salah satunya progesteron (Siregar, 2009). Progesteron salah satu hormon penting yang berhubungan dengan reproduksi yang disekresikan oleh sel-sel luteal corpus luteum (CL) (Hafez, 2000). 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 (Angsar dkk., 2010). Selama kebuntingan, pertumbuhan dan perkembangan uterus dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi hormon progesteron dan estradiol (Anderson, 2003).

Informasi akurat tentang hormon reproduksi yaitu progesteron selama masa siklus birahi pada sapi perah yang mengalami kegagalan IB sangat terbatas. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui profil hormon

progesteron pada sapi perah yang mengalami kegagalan IB di KPSP Setia Kawan Kecamatan Tukur Kabupaten Pasuruan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian tersebut dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Bagaimana profil hormon progesteron pada sapi perah yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan profil hormon progesteron pada sapi perah yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk menentukan profil hormon progesteron pada sapi perah yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) didalam susu pada hari ke-0 (birahi), 7, 14, 21 dan hari 28 setelah birahi guna melihat status reproduksi sapi perah dan membantu peternak mengetahui keberhasilan IB secara cepat di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pendukung dan informasi ilmiah terhadap pengembangan ilmu pengetahuan mengenai profil hormon progesteron pada sapi perah yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) di Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dokter hewan untuk menentukan terapi yang tepat pada sapi perah yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) di Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sapi Perah

Sapi perah *Friesian Holstein* (FH) merupakan salah satu jenis ternak yang memiliki prospek pengembangan yang cukup baik dengan keunggulannya, yakni mempunyai masa laktasi panjang dan produksi susu tinggi, serta produksi susu yang baik (Atabany dkk., 2011). Sapi FH mempunyai ciri fisik yang khas yakni warna bulunya hitam dan putih dengan batas warna yang jelas (Mandaka dan Hutagaol, 2005)

Sapi perah berasal dari Belanda Utara dan Friesland Barat. Menurut Blakely dan Bade (1994) sapi diklasifikasikan menurut taksonomi sebagai berikut :

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Theria
Ordo	: Artiodactyla
Subordo	: Ruminansia
Famili	: Bovidae
Subfamili	: Bovinae
Genus	: <i>Bos</i>
Spesies	: <i>Bos taurus</i> , <i>Bos indicus</i>

Menurut Ensminger and Tyler (2006), sapi ini telah ada sejak 2000 tahun yang lalu. Sapi perah FH merupakan sapi perah yang banyak dipelihara karena beberapa faktor keunggulannya yakni sapi perah yang produksi susunya tertinggi dibandingkan bangsa sapi perah lainnya dengan kadar lemak yang sangat rendah sekitar 3,65% (Sudono dkk., 2003).

Sapi FH juga merupakan jenis sapi perah yang cocok untuk daerah Indonesia, namun produksi susu per ekor per harinya pada sapi FH yang ada di Indonesia relatif rendah jika dibandingkan dengan produksi susu di Negara asalnya (Atabany dkk., 2011). Sudono., dkk (2003) menjelaskan bahwa dari persilangan sapi perah FH dengan sapi local yang ada di Indonesia menurunkan sapi peranakan FH yang dalam perkembangannya di Indonesia telah mampu beradaptasi dengan baik terhadap kondisi lingkungan.

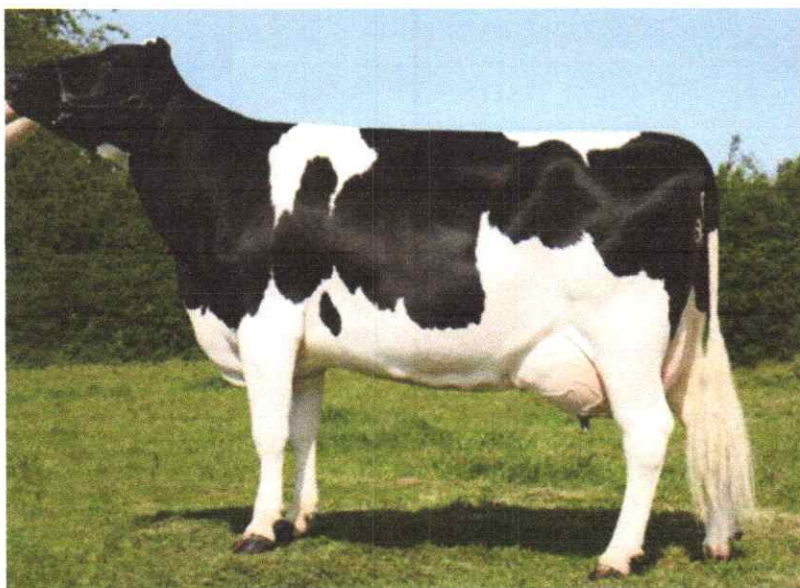
Pulau	Populasi	
	(ekor)	(%)
Sumatera	2.388	0,40
Jawa	592.436	99,21
Bali+Nusa Tenggara	194	0,03
Kalimantan	365	0,06
Sulawesi	1.741	0,29
Maluku+Papua	11	0,00
Jumlah	597.135	100,00

Tabel 2.1 Populasi Sapi Perah di Indonesia (Pustadin, 2013; Statistik Pertanian, 2013).

Menurut provinsi, populasi sapi perah terbesar adalah Jawa Timur sekitar 296,3 ribu ekor atau 49,61% dari total populasi sapi perah Indonesia. Provinsi lain yang memiliki populasi sapi perah cukup besar adalah Jawa Tengah dan Jawa Barat masing-masing 149,9 ribu ekor atau 25,11% dan 140 ribu ekor atau 23,44% dari total populasi sapi perah Indonesia. Sementara itu beberapa provinsi seperti

Kepulauan Riau, Kalimantan Tengah, Sulawesi Tenggara, Maluku, Maluku Utara, dan Papua Barat tidak dijumpai sama sekali sapi perah (PSPK, 2011). Selama 2005–2009, trend pertumbuhan populasi sapi perah di Jawa Barat meningkat 5,72%, di Jawa Tengah meningkat 3,86 %, dan di Jawa Timur meningkat 15,61%.

Produksi susu di Indonesia terkonsentrasi di Pulau Jawa. Pada kurun waktu 1980 – 2016, pertumbuhan produksi susu di Pulau Jawa sebesar 8,43% per tahun, dengan peningkatan tertinggi pada tahun 2010 sebesar 87,44% atau 420,66 ribu ton dari tahun 2009. Perkembangan periode 2012 – 2016, produksi susu justru menurun dengan rata-rata hasil berkurang 1% per tahun atau turun menjadi 840,43 ribu ton.



Gambar 2.1 Sapi Perah

2.2 Gambaran Lokasi Penelitian

Kabupaten Pasuruan merupakan salah satu kabupaten di Jawa Timur yang memiliki letak geografis yaitu antara $112^{\circ} 33' 55''$ hingga $113^{\circ} 30' 37''$ Bujur Timur dan antara $70^{\circ} 32' 34''$ hingga $80^{\circ} 30' 20''$ Lintang Selatan.



Gambar 2.2 Peta Pasuruan

Batas – batas wilayah Kabupaten Pasuruan meliputi :

- Utara : Kabupaten Sidoarjo dan Selat Madura
 Selatan : Kabupaten Malang.
 Timur : Kabupaten Probolinggo.
 Barat : Kabupaten Mojokerto.

Luas wilayah keseluruhan yang dimiliki Kabupaten Pasuruan adalah 147.401,50 Ha atau 3,13% dari luas Provinsi Jawa Timur, terdiri dari 24 Kecamatan, 24 Kelurahan, 341 Desa dan 1694 Penduduk (Pemerintah Kabupaten Pasuruan, 2014).

Kecamatan Tatur merupakan salah satu kecamatan di Kabupaten Pasuruan yang berada di ketinggian rata-rata 4m dpl dan luas wilayah 96,7 km², menjadikan Kecamatan Tatur sebagai sentra peternakan dan penghasil susu sapi perah (BPS Pasuruan, 2015). Koperasi Peternakan Sapi Perah (KPSP) Setia

Kawan, Pasuruan, Tutar, Nongkojajar yang berdiri sejak tahun 1911 menjadi ujung tombak pengkoordinasi dari terpenuhinya kebutuhan akan susu (KPSP Setia Kawan, 2011).

Koperasi Peternakan Sapi Perah (KPSP) Setia Kawan, Kecamatan Tutar, Kabupaten Pasuruan merupakan koperasi terbesar di Provinsi Jawa Timur. Wilayahnya yang luas yakni mencakup 12 desa yang termasuk pada Kecamatan Tutar dan berada di lereng sebelah barat Pegunungan Tengger di ketinggian 400-2.000 meter menjadikan kawasan KPSP Setia Kawan menjadi daerah yang cocok untuk pengembangan produksi susu sapi perah dengan produksi per harinya biasa mencapai 73.000 liter (KPSP Setia Kawan, 2014).

2.3 Siklus Birahi Sapi

Siklus birahi merupakan suatu periode secara psikologis maupun fisiologis pada ternak betina yang bersedia menerima aktivitas perkawinan dengan pejantan. Interval antara timbulnya satu periode birahi ke periode berikutnya disebut sebagai siklus birahi (Marawali, dkk., 2001; Sonjaya, 2005). Siklus birahi secara klinis dapat dibagi menjadi 4 fase yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Angsar, 2010).

2.3.1 Proestrus

Proestrus adalah fase sebelum estrus, dimana folikel de graaf tumbuh dibawah pengaruh hormon FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan menghasilkan estradiol yang bertambah. Fase ini berlangsung selama 3-4 hari (Marawali dkk., 2001). Estradiol meningkatkan jumlah suplai darah ke saluran kelamin dan

meningkatkan perkembangan estrus, vagina, tuba fallopi dan ovarium. Pada fase ini, ternak betina belum siap menerina perkawinan meskipun sudah mulai menunjukkan tanda-tanda birahi (Najamudin, 2010).

Fase yang pertama kali dari siklus birahi ini sebagai fase pematangan folikel ovarium yang berisi ovum membesar terutama karena meningkatnya cairan folikel yang berisi cairan estrogenik. Rangsangan estrogen dari folikel melalui aliran darah menyebabkan peningkatan vaskularisasi dan pertumbuhan sel genital dalam persiapan untuk birahi (Tortora *and* Derrickson, 2009).

2.3.2 Estrus

Estrus (birahi) yaitu masa ternak ingin dikawinkan yang berlangsung selama 2-3 hari. Biasanya sapi tidak tenang, vulva semakin membengkak dan adanya peningkatan sirkulasi sehingga vestibulum tampak berwarna merah, keluarnya cairan bening yang mudah melekat, jernih dan kental dari vulva. CL (corpus luteum) akan memproduksi hormon progesteron, sehingga produksi estrogen menurun. LH mencapai produksi yang cukup tinggi pada masa birahi, ini merupakan awal atau permulaan ovulasi (Larson, 2006). Pada umumnya memperlihatkan tanda – tanda gelisah, nafsu makan turun atau hilang sama sekali, menghampiri pejantan dan tidak lari bila pejantan menungganginya (Angsar, 2010), fase estrus ditandai dengan sapi betina yang menerima dinaiki oleh pejantan,. Pada saat itu, keseimbangan hormon hipofisa bergeser dari FSH ke LH yang mengakibatkan peningkatan LH, hormon ini akan membantu terjadinya ovulasi dan pembentukan korpus luteum yang terlihat sesudah birahi.

Peternak perlu mengetahui waktu kejadian birahi pada sapi induk sehingga dapat memperkirakan waktu kawin (IB) yang tepat dan memungkinkan terjadi kebuntingan. Selk (2000) melaporkan persentase waktu kejadian birahi pada sapi induk, sebagai berikut :

Waktu birahi	Gejala birahi (%)
06.00 – 12.00	22
12.00 – 18.00	10
18.00 – 24.00	25
24.00 – 06.00	43

Tabel 2.2 Persentase waktu kejadian birahi pada sapi induk (Selk, 2002)

2.3.3 Metestrus

Metestrus ditandai dengan berhentinya puncak birahi dan bekas folikel setelah ovulasi mengecil dan berhentinya pengeluaran lendir. Fase ini berlangsung selama 3-4 hari (Marawali dkk., 2001). Selama metestrus, rongga yang ditinggalkan oleh pemecahan folikel mulai terisi dengan darah. Darah membentuk struktur yang disebut korpus hemoragikum. Setelah sekitar 5 hari, korpus hemoragikum mulai berubah menjadi jaringan luteal yang menghasilkan korpus luteum (CL). Fase ini sebagian besar berada dibawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum (Angsar, 2010). Progesteron menghambat sekresi FSH oleh pitutari anterior sehingga menghambat pertumbuhan folikel ovarium dan mencegah terjadinya birahi. Pada masa ini terjadi ovulasi, kurang lebih 10-12 jam sesudah birahi, kira-kira 24 sampai 48 jam sesudah birahi (Marawali dkk., 2001).

2.4.4 Diestrus

Diestrus adalah periode terakhir dan terlama pada siklus birahi yang berlangsung selama 10-14 hari, korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Pada fase ini, CL berkembang dengan sempurna dan pengaruh hormon yang dihasilkan, progesteron, tampak pada dinding uterus. Bila ovum tidak dibuahi, CL akan tetap berfungsi selama kurang lebih 19 hari, tetapi mulai berdegenerasi kira-kira pada waktu yang bersamaan, jadi mempersiapkan kembali siklus birahi yang akan datang (Marawali dkk., 2001).

Pengetahuan peternak mengenai siklus birahi dan birahi merupakan salah satu faktor penting terhadap keberhasilan perkawinan. Peternak yang mengetahui siklus birahi dan birahi akan mengawinkan sapi perah mereka dalam waktu yang tepat. Kebersihan kandang dan sapi merupakan syarat yang harus dipenuhi agar terhindar dari gangguan reproduksi terutama infeksi reproduksi. (Gilbert *et al.*, 2005; Noakes *et al.*, 2009).

Peternak harus mengetahui bagaimana mengamati dan mengenal tanda – tanda birahi pada ternak betina serta segera melaporkannya kepada inseminator. Deteksi birahi harus dilakukan paling sedikit dua kali sehari, di pagi dan petang dengan teliti 20 sampai 60 menit (Angsar dkk., 2010).

2.4 Inseminasi Buatan (IB) pada sapi

Inseminasi Buatan atau kawin suntik dikenal dengan sebutan *artificial insemination* (Bahasa Inggris). *Artificial* berarti tiruan atau buatan, sedang *insemination* berasal dari *inseminates* (latin) yang berarti pemasukan,

penyampaian atau deposisi dan semen adalah cairan yang mengandung benih jantan yang diejakulasikan pada saat kopulasi atau penampungan. Inseminasi Buatan dapat didefinisikan menjadi cara pemasukan atau deposisi semen ke dalam saluran kelamin betina menggunakan alat buatan manusia dan bukan secara ilmiah (Hardijanto dkk., 2010).

Keberhasilan pelaksanaan Inseminasi Buatan (IB) harus tepat dalam menumpahkan bibit pejantan ke dalam alat kelamin betina, sehingga tidak mengurangi kesuburan spermatozoa dan dapat menjamin waktu terjadinya pembuahan yang optimal. Saat subur, sel telur sapi sangat terbatas, maka pelaksanaan IB yang tepat selama periode birahi merupakan faktor penentu keberhasilan (Sugeng, 2002).

Waktu optimum untuk melakukan inseminasi harus diperhitungkan dengan waktu kapasitasasi, yaitu suatu proses fisiologik yang di alami oleh spermatozoa di dalam saluran kelamin betina untuk memperoleh kapasitasasi atau kesanggupan membuahi ovum. Waktu inseminasi pada sapi dianjurkan tidak boleh kurang dari 4 jam sebelum ovulasi atau tidak boleh melebihi 6 jam sesudah birahi (Susilawati, 2011).

2.5 Faktor yang Mempengaruhi Inseminasi Buatan (IB)

2.5.1 Peternak

Menurut Susilawati (2011) ditinjau dari faktor peternak, kegagalan reproduksi dalam tatalaksana yang dapat dibagi atas : 1) Terlambat dalam pendeteksian dan pelaporan birahi dan mengawinkan sapi betina pada waktu yang

tepat. 2) Terlalu singkat pengawinan setelah partus. 3) Buruknya kualitas pakan yang diberikan. 3) buruknya kualitas pakan yang diberikan.

Peternak sebagai pengelola memegang peranan yang sangat penting dalam pengelolaan reproduksi, sehingga perlu adanya peningkatan keterampilan dan kesadaran bagi para peternak. Perlu adanya penyuluhan atau latihan kepada peternak, sehingga mampu meningkatkan kemampuan seperti menyusun ransum pakan, mendeteksi birahi, cara pertolongan kelahiran, praktek beternak yang baik, penanganan pedet, pengelolaan sapi dara dan lain-lain (Hariadi dkk., 2011).

2.5.2 Manajemen Pemeliharaan

Pemeliharaan sapi dapat dilakukan secara ekstensif, semi intensif dan intensif. Pemeliharaan secara ekstensif adalah dengan membiarkan sapi dilepas pada padang penggembalaan selama 24 jam sedangkan secara intensif pada siang hari dilepas pada padang penggembalaan dan pada malam hari dikandangkan. Pemeliharaan intensif adalah pemeliharaan sapi di mana seluruh aktivitas ternak dilakukan dikandang dan kebutuhan pakan ternak disediakan seluruhnya oleh peternak (Sugeng, 2002).

2.5.3 Pakan

Pakan merupakan faktor yang penting, tanpa pakan yang baik dengan jumlah yang memadai, maka meskipun bibit ternak unggul akan kurang dapat memperlihatkan keunggulannya. Agar proses reproduksi berjalan dengan normal, diperlukan ransum pakan yang memenuhi kebutuhan baik untuk pertumbuhan maupun untuk reproduksi. Ransum pakan disebut berkualitas baik dan lengkap bila didalamnya mengandung karbohidrat dan lemak sebagai sumber energy,

protein sebagai zat pembangun tubuh, mineral dan vitamin sebagai zat pelengkap untuk pertumbuhan tubuh. Kekurangan salah satu zat makanan diatas dapat mendorong terjadinya gangguan reproduksi (Hariadi dkk., 2011).

Pada umumnya sapi membutuhkan pakan berupa hijauan dan pakan tambahan 1-2 % dari berat badan. Bahan pakan tambahan ini dapat berupa dedak halus (bekatul), bungkil kelapa, gaplek dan ampas tahu (Tabrany, 2004). Selanjutnya Bandini (2003) mengatakan bahwa setiap hari sapi memerlukan pakan hijauan sebanyak 10% dari berat badannya dan dibiarkan dua kali sehari yaitu pagi dan sore. Pemberian pakan dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu dengan pengembalaan (*pasture fattening*), kreman atau *dry lot fattening*, dan kombinasi dari keduanya.

Berfungsinya alat reproduksi ternak sapi betina secara sempurna tidak lepas dari proses-proses biokimia dari sebagian besar alat tubuh. Hal ini menunjukkan sapi bunting memerlukan nutrisi makanan yang baik dan seimbang dengan kebutuhannya (Sumoprastowo, 2003). Defisiensi makanan untuk sapi sedang bunting menyebabkan embrio yang sedang tumbuh dan berkembang bisa merusak kondisi sapi tersebut dan menyebabkan kematian embrio maupun fetus didalam uterus atau kelahiran pedet yang lemah atau cacat (Murtidjo, 2000).

2.5.4 Kesuburan Ternak

Produktivitas ternak betina bibit dapat dinilai dari jumlah anak yang dihasilkan per tahun atau per satuan waktu. Jarak dari kelahiran sampai terjadinya kebuntingan selanjutnya merupakan faktor yang sangat menentukan dari segi

ekonomis. Pemulihan fertilitas induk menyangkut kondisi saluran reproduksi induk setelah melahirkan melalui fase penghambatan aktivitas pembiakan selama anetrus dan involusi uterus selesai. Pemulihan kesuburan ternak setelah melahirkan ditandai oleh kembalinya siklus birahi, mau dikawini pejantan dan dilanjutkan terjadi kebuntingan. Apabila aktivitas siklus birahi terjadi, involusi uterus tidak lagi menjadi faktor pembatas fertilitas, tetapi angka konsepsi akan rendah bila induk dikawinkan dalam dua bulan pertama setelah melahirkan. Makin panjang jarak kawin kembali setelah beranak, angka konsepsi yang diperoleh akan semakin tinggi (Susilawati, 2011).

Waktu yang optimal untuk melaksanakan IB adalah pada saat uterus sudah kembali normal, sebaiknya uterus bebas dari penyakit yang menular, dan telah mengalami beberapa kali birahi setelah beranak baru setelah di IB. Hal ini agar alat reproduksi mencapai involusi yang sempurna sebelum mencapai sapi itu menjadi bunting lagi, sapi sesudah beranak memerlukan waktu 26 hari untuk beristirahat supaya alat reproduksi kembali normal ke bentuk semula, Namun demikian dianjurkan supaya sapi itu diberi waktu lebih lama untuk menjadikan uterus normal kembali sehingga fertilitasnya menjadi optimal (Susilawati, 2013).

2.5.5 Lingkungan

Musim sangat berpengaruh terhadap siklus birahi pada sapi perah. Musim panas yang dimiliki Indonesia karena terletak di daerah tropis, bisa menjadi penyebab utama stres yang secara langsung mempengaruhi siklus birahi pada sapi. Kondisi ini tampaknya sesuai dengan pendapat West (2003) yang menyatakan bahwa stres panas yang dialami ternak dapat menyebabkan

penurunan asupan energy yang tersedia untuk fungsi produksi dan reproduksi. Kandang yang berukuran sempit akan menyebabkan induk ternak berdesak-desakan, ventilasi udara yang kurang akan menyebabkan pergerakan udara tidak lancar sehingga udara didalam kandang menjadi panas apalagi disertai sanitasi yang kurang baik (Hariadi dkk., 2011).

Kandang sapi perah yang baik adalah kandang yang sesuai dan memenuhi persyaratan kebutuhan dan kesehatan sapi perah. Sapi perah akan berproduksi maksimal apabila berada dikondisi yang nyaman (*comfortable*). Bila kedua hal tersebut tidak terpenuhi akan menyebabkan terjadinya gangguan reproduksi yang berkaitan pada rendahnya efisiensi reproduksi. Menurut Sudono dkk. (2003). Persyaratan umum kandang untuk sapi perah meliputi (1) sirkulasi udara cukup dan mendapat sinar matahari, sehingga kandang tidak lembab, kelembaban ideal yang dibutuhkan sapi perah adalah 60-70%; (2) lantai kandang selalu kering; (3) tempat pakan yang lebar sehingga memudahkan sapi dalam mengonsumsi pakan yang disediakan; (4) adanya tempat air minum agar air selalu tersedia sepanjang hari. kelembaban udara yang baik untuk pemeliharaan sapi perah adalah sebesar 60% dengan kisaran 50%-75% (Hariadi dkk., 2011).

Produksi sapi perah dapat optimum apabila kondisi internal dan eksternal sapi perah baik. Kondisi eksternal berkaitan dengan lingkungan yang baik adalah pengaruh suhu. Suhu lingkungan yang optimum untuk sapi perah dewasa berkisar antara 5-21° C, sedangkan kelembaban udara yang baik untuk pemeliharaan sapi perah adalah sebesar 60% dengan kisaran 50%-75% (Sudono dkk., 2003). Suhu kandang yang terlalu panas dan kelembaban yang terlalu tinggi dapat berpengaruh

buruk pada proses reproduksi khususnya pada saat pembuahan (Sonjaya, 2005). Stres panas dapat memperpendek lama birahi, dan penurunan intensitas birahi menyebabkan waktu inseminasi buatan tidak tepat, serta ovulasi yang diperpendek menyebabkan kegagalan Inseminasi Buatan.

2.6 Hormon Progesteron

Proses reproduksi berkaitan dengan mekanisme sistem hormonal, yaitu hubungan antara hormon-hormon hipotalamus dan hipofisa yakni gonadotrophin releasing hormon (GnRH), follicle stimulating hormon (FSH) dan luteinizing hormon (LH), hormon-hormon ovarium (estrogen dan progesteron) dan hormon uterus (prostaglandin) (Hafez, 2000). Hormon ovarium yang mempunyai peranan besar terhadap reproduksi adalah estrogen dan progesteron.

Progesteron merupakan hormon steroid yang terlibat dalam siklus birahi betina (Angsar, 2010). Progesteron merupakan hormon yang diproduksi dan dilepaskan ke dalam darah oleh corpus luteum pada ovarium. Corpus luteum (CL) terbentuk setelah folikel mengalami ovulasi (Bearden dkk., 2004). Pada saat birahi, konsentrasi hormon ini rendah dan mulai berkembang setelah ovulasi. Pada saat sapi dibuahi dan bunting, progesteron dalam darah tetap tinggi sampai menjelang partus. Konsentrasi progesteron serum darah dapat menentukan keadaan hewan tersebut dalam keadaan infertil, normal, birahi, dan bunting sehingga dapat digunakan untuk deteksi birahi, pemeriksaan kebuntingan dan mengetahui kondisi patologis lainnya (Siregar, 2009). Progesteron mempertahankan kebuntingan dengan menghasilkan suatu lingkungan endometrial yang sesuai untuk kelanjutan hidup dan perkembangan embrio.

Progesteron menghambat produksi FSH dan LH, sehingga mencegah terjadinya estrus, ovulasi dan siklus estrus. P4 bekerjasama dengan esterogen menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan sistem alveolar kelenjar *mamae* (Hafez, 2000).

Konsentrasi progesteron dalam darah erat korelasinya dengan konsentrasinya dalam susu. Progesteron merupakan hormon steroid yang memiliki afinitas dengan lemak susu. Progesteron dalam susu ini lebih tinggi konsentrasinya dibandingkan dengan didalam darah Hal ini dapat disebabkan karena daya larut dari progesteron tersebut sebagai hormon steroid dan dikatakan juga bahwa sintesis progesteron dalam jaringan *mamae* sapi dilakukan oleh suatu enzim (Atabany dkk., 2011).

Progesteron dapat digunakan sebagai tes kebuntingan karena korpus luteum hadir selama awal kebuntingan pada semua spesies ternak. Progesteron dapat diukur dalam cairan biologis seperti darah dan susu, kadarnya menurun pada hewan yang tidak bunting. progesteron rendah pada saat tidak bunting dan tinggi pada sapi bunting. pemeriksaan pada susu lebih dianjurkan dari pada pemeriksaan pada darah, karena kadar progesteron lebih tinggi dalam susu dari pada dalam plasma darah. Lagi pula sampel susu mudah didapat saat pemerah tanpa menimbulkan stress pada sapi. (Auruf, 2012).

Ketidakseimbangan sistem hormonal dapat menyebabkan kegagalan Inseminasi Buatan (IB) (Siregar, 2009). Saat birahi diindikasikan oleh konsentrasi estrogen tinggi dan konsentrasi progesteron rendah dalam darah. Jika ada gangguan reproduksi kemungkinan konsentrasi progesteron berada di atas suprabasal. Adanya konsentrasi progesteron di atas suprabasal selama birahi akan

menghambat mekanisme *positive feedback* oleh estrogen ke hipotalamus, rendahnya LH pulse menyebabkan ovarium mengalami *delayed ovulation* atau *anovulation* sehingga terjadi gagal fertilisasi dan kegagalan Inseminasi Buatan (IB) (Lamming and Darwash, 2004). Begitu juga sebaliknya, rendahnya konsentrasi hormon progesteron pada saat diestrus maupun pada saat bunting akan menyebabkan kegagalan kebuntingan dan kematian embrio dini akibat mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) (Arthur, 2001).

Aktivitas ovarium yang tidak optimal ditandai dengan adanya ukuran folikel ovarium yang tidak maksimal. Sekresi estrogen yang rendah dapat menghambat mekanisme *positive feedback* ke hipotalamus. Hipotalamus tidak mampu untuk mengeluarkan GnRH dalam jumlah optimal. Rendahnya GnRH yang dihasilkan menyebabkan pengeluaran hipofisa anterior tidak optimal sehingga hipofisa anterior tidak mampu mengeluarkan FSH dan LH secara optimal yang memengaruhi pertumbuhan folikel ovarium dan ovulasi (Tortora and Derrickson, 2009).

2.7 Progesteron dalam Susu

Progesteron dalam susu berasal dari darah yaitu kelenjar mammae yang suplay darah tersebut sangat diperlukan untuk produksi susu. Nutrient yang dimanfaatkan dalam sintesa susu, berasal dari darah. Kira-kira 400 volume darah harus mengalir ke dalam kelenjar mammae untuk mensintesa 1 volume susu (Akers, 2002). Suplay darah yang utama untuk kelenjar mammae pada sapi, kuda, domba dan kambing adalah dari arteri pudic eksterna. Arteri-arteri yang menembus cabang-cabang kelenjar mammae dan mengikuti jaringan konektif

inilah yang membentuk lobus dan lobulus. Alveoli dikelilingi oleh sebuah network dari kapiler- kapiler arteri yang mentransfer nutrient yang digunakan dalam sintesa susu.

Network sel-sel myoepithelial meliputi seluruh permukaan alveoli dan pembuluh-pembuluh kecil yang mengalir lobulus. Sel-sel tersebut lembut, berfungsi seperti otot tetapi berasal dari ectodermal bukan mesodermal. Sel-sel tersebut berasal dari sel-sel epithelial. Sel-sel myoepithelial adalah jaringan kontraktif yang memegang peran penting dalam *milk ejection/ milk let down* (pengeluaran susu). Serat otot halus ditemukan pula di kelenjar mammae. Serat-serat tersebut berhubungan dengan ukuran arteri dan vena yang kecil serta mengontrol supply darah kepada sel-sel sekretori (Bearden *et al.*, 2004).

Struktur kelenjar ambing tersusun dari jaringan parenkim dan stroma (connective tissue). Parenkim merupakan jaringan sekretori berbentuk kelenjar tubulo-alveolar yang mensekresikan susu ke dalam lumen alveol. Lumen alveol dibatasi oleh selapis sel epitel kuboid. Lapisan sel epitel ini dikelilingi oleh sel-sel myoepitel yang bersifat kontraktif sebagai responnya terhadap hormon oxytocin dan selanjutnya dikelilingi oleh stroma berupa jaringan ikat membrana basalis. Pembuluh darah dan kapiler terdapat pada jaringan ikat di antara alveol-alveol ini. Beberapa alveol bersatu membentuk suatu-struktur lobulus dan beberapa lobulus bergabung dalam suatu lobus yang lebih besar. Penyaluran susu dari alveol sampai ke glandula sisterna melalui suatu sistem duktus yang disebut ductus lactiferus (Hurley 2000).

2.8 ELISA (*Enzymelinked Immunosorbent Assay*)

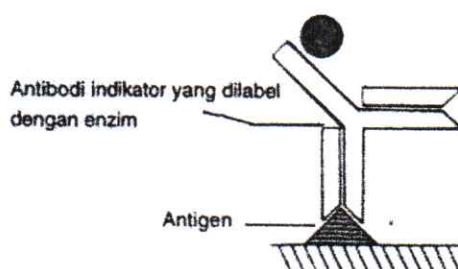
Imunologi merupakan ilmu yang relatif baru dikembangkan pada masa sekarang, dan immnuoassay adalah salah satu dari pengembangan metode dari cabang ilmu ini. Perkembangan *immunoassay* semakin luas dan digunakan untuk metode standar pada analisis pangan karena spesifisitas, sensitivitas dan simplisitasnya. *Immunoassay* juga digunakan untuk menganalisa hormon, residu dalam pangan, identifikasi bakteri dan virus, serta deteksi protein (Sporns 2004). Salah satu *immunoassay* yang sering digunakan yaitu ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*). ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) adalah suatu teknik biokimia yang terutama digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel (Sumaria, 2013). Pemeriksaan ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) dipakai untuk pengujian semua antigen atau antibodi. Metode ELISA mempunyai ciri yaitu menggunakan indikator enzim untuk reaksi imunologi. (Pomeranz, 2000).

Pemeriksaan ELISA ini memiliki 2 teknik dan 4 tipe yaitu:

- a) Teknik Kualitatif adalah Berdasarkan bahwa tiap antibodi berikatan pada antigen yang spesifik.
- b) Teknik kuantitatif berdasarkan jumlah ikatan antigen-antibodi yang ditentukan dengan nilai absorbansi. Teknik ini menggabungkan spesifitas antibodi dengan kepekaan uji enzimatis dengan spektrofotometer biasa (Pomeranz, 2000).

Beberapa macam teknik ELISA yang relatif sering digunakan, antara lain : Direct ELISA, Indirect ELISA, Sandwich ELISA dan Kompetitif ELISA (Oktavia, 2012).

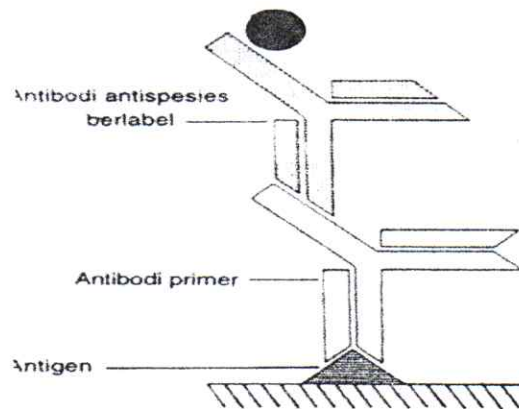
Direct ELISA biasanya digunakan dengan kompetisi dan Inhibisi ELISA untuk deteksi antigen (Gambar 2.3). Antigen secara langsung diadsorbsikan ke suatu substrat padat. Permukaan substrat dicuci dengan antibodi yang ditemplei enzim digunakan untuk menunjukkan adanya antigen dan hasilnya akan terlihat bila ditambahkan substra dan antiserum harus dikonjugasikan pada enzim. Keterbatasan konfigurasi ini berkaitan dengan sifat pengikatan substrat padat dan kualitas antibodi indikator. Teknik ini kurang fleksibel, dan konfigurasi ini biasanya digunakan pada uji untuk mengenali suatu antigen (Sumaria, 2013).



Gambar 2.3 *Direct ELISA* (Burgess, 1995)

Indirect ELISA, antigen terikat pada plate. Digunakan untuk deteksi antibodi (Gambar 2.4). Antigen teradsorbsi pada substrat padat, antibodi primer tidak berlabel dan dapat diperoleh dari serum atau cairan tubuh lain. Antibodi sekunder terikat pada enzim yang sesuai dan antibodi ini biasanya disebut konjugat serta hasil akan terlihat bila ditambahkan substrat. Antigen dan antibodi sekunder biasanya dibuat konstan dan yang

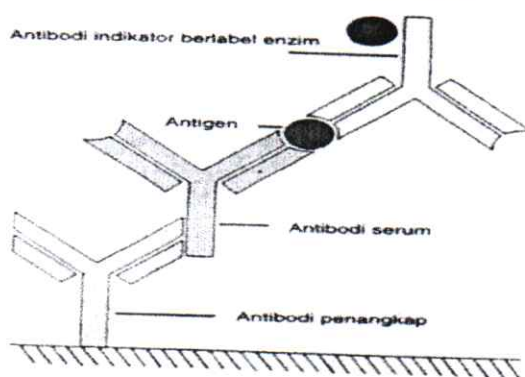
berubah adalah antibodi primer. Kelemahan utama konfigurasi ini terletak pada tidak adanya spesifisitas karena sebagai akibat bereaksi dengan antigen yang tidak murni. Ketidakmurnian disebabkan sampel kemungkinan masih mengandung antigen dalam jumlah yang sangat kecil atau dari antiserum yang ditambahkan sehingga reaksi tidak spesifik (Sumaria, 2013).



Gambar 2.4 *Indirect* ELISA (Burgess, 1995)

Sandwich ELISA, antibodi terikat pada plate digunakan untuk deteksi antigen dimana pada teknik ini menggunakan antibodi yang terikat pada fase padat untuk menangkap antigen secara spesifik (Gambar 2.5). Teknik ELISA jenis ini menggunakan antibodi primer spesifik untuk menangkap antigen yang diinginkan dan antibodi sekunder tertaut enzim signal untuk mendeteksi keberadaan antigen yang diinginkan. Pada dasarnya, prinsip kerja dari *sandwich* ELISA mirip dengan *direct* ELISA, hanya saja pada *sandwich* ELISA, larutan antigen yang diinginkan tidak perlu dipurifikasi. Namun, karena antigen yang diinginkan tersebut harus dapat berinteraksi dengan antibodi primer spesifik dan antibodi sekunder

spesifik tertaut enzim signal, maka teknik ELISA sandwich ini cenderung dikhususkan pada antigen memiliki minimal 2 sisi antigenic (sisi interaksi dengan antibodi) atau antigen yang bersifat multivalent seperti polisakarida atau protein. Pada *sandwich* ELISA, antibodi primer seringkali disebut sebagai antibodi penangkap, sedangkan antibodi sekunder seringkali disebut sebagai antibodi deteksi (Oktavia, 2012).



Gambar 2.5 *Sandwich* ELISA (Burgess, 1995)

Kompetitif ELISA atau ELISA pemblok, teknik ini dapat digunakan dalam sejumlah konfigurasi dasar, kompetisi dapat terhadap antigen atau terhadap antibodi. Pengujian pada kompetisi antibodi membutuhkan antigen untuk ditangkap antibodi secara langsung maupun lewat antibodi spesifik ke substrat padat. Antibodi yang telah dikenal berkompetisi dengan antibodi yang tidak dikenal untuk mendapatkan tempat penempelan pada antigen. Antibodi yang telah diketahui dapat dilabel atau dapat dideteksi menggunakan antibodi antispeciesnya. Perlu diketahui bahwa untuk konfigurasi ELISA kompetitif harus dibatasi hanya untuk penambahan dua antibodinya dilakukan secara bersamaan (Sumaria, 2013).

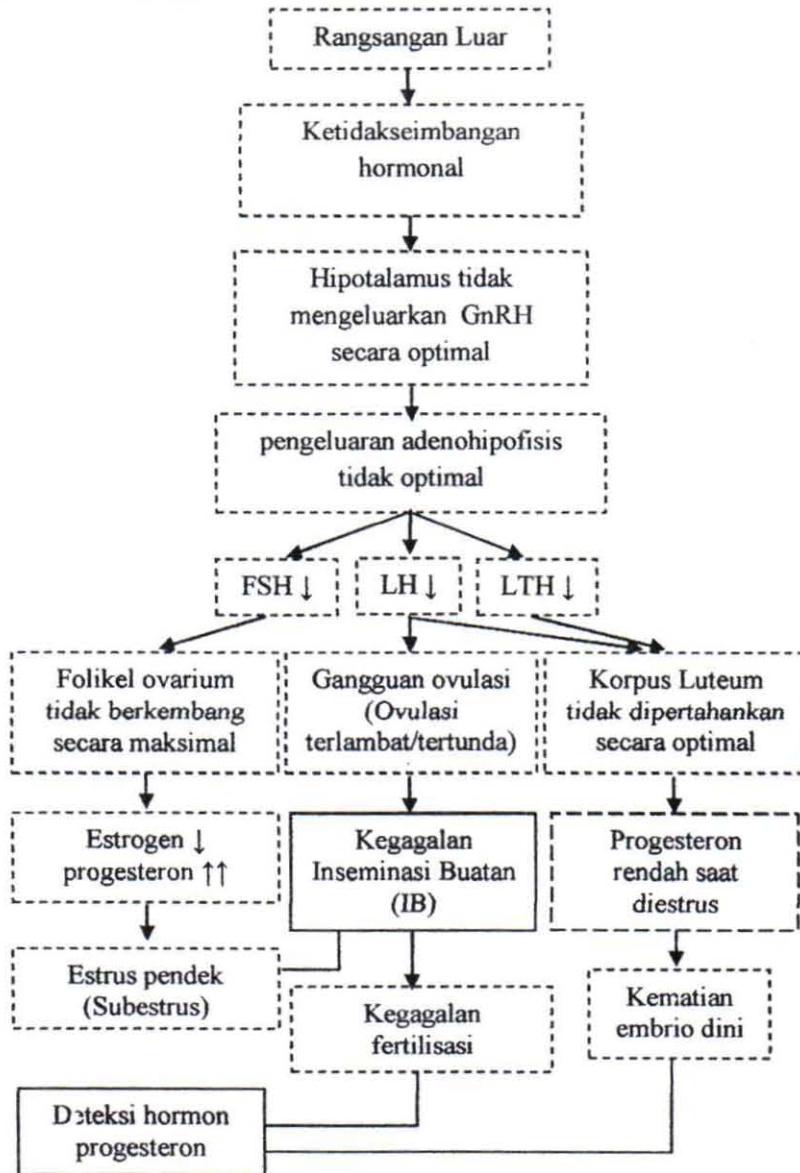
BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL



BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan:

 = Diteliti

 = Tidak diteliti

Gambar 3.1. Bagan kerangka konseptual

Proses reproduksi berkaitan dengan mekanisme sistem hormonal, yaitu hubungan antara hormon-hormon hipotalamus dan hipofisa (kelenjar adenohipofisis). Kelenjar adenohipofisis mensekresikan tiga hormon gonadotropin yaitu, *follicle stimulating hormone* (FSH), *luteinizing hormone* (LH) dan *Luteotropic Hormone* (LTH). Hormon-hormon ini sangat penting dalam pengaturan ovarium dan untuk produksi ovarium dan pelepasan hormon-hormon ovarium (estrogen dan progesteron) dan juga terdapat hormon uterus (prostaglandin) (Hafez, 2000). LH juga ikut berpengaruh terhadap pembentukan korpus luteum yang berasal dari folikel yang sudah pecah. Sekresi LH yang terus menerus penting untuk mempertahankan korpus luteum dan sekresi progesterone untuk kelanjutan kebuntingan pada sapi. Disamping itu, LTH mempunyai pengaruh langsung terhadap jaringan-jaringan perifer seperti kelenjar susu (Husbandry, 2013).

Ketidakseimbangan sistem hormonal dapat menyebabkan kegagalan Inseminasi Buatan (IB) (Siregar, 2009). Saat birahi diindikasikan konsentrasi estrogen tinggi dan konsentrasi progesteron rendah dalam darah. Jika ada gangguan reproduksi konsentrasi progesteron dan estrogen tidak seimbang. Adanya ketidakseimbangan hormon tersebut akan menghambat mekanisme *positive feedback* oleh estrogen ke hipotalamus, Hipotalamus tidak mampu untuk mengeluarkan GnRH dalam jumlah optimal. Rendahnya GnRH yang dihasilkan menyebabkan pengeluaran hipofisa anterior tidak optimal sehingga hipofisa anterior tidak mampu mengeluarkan FSH, LH dan LTH secara optimal yang mempengaruhi pertumbuhan folikel ovarium,

ovulasi dan korpus luteum sebagai penghasil progesteron (Tortora *and* Derrickson, 2009).

FSH rendah menyebabkan aktivitas ovarium yang tidak optimal ditandai dengan adanya ukuran folikel ovarium yang tidak maksimal. Folikel ovarium yang tidak berkembang secara maksimal dan rendahnya LH pulse menyebabkan ovarium mengalami *delayed ovulation* (ovulasi tertunda) sehingga terjadi gagal fertilisasi, kegagalan IB (Lamming *and* Darwash, 2004) dan akan menyebabkan kegagalan kebuntingan seperti yang diungkapkan oleh Perry *et al.*(2004) bahwa aktivitas ovarium akan memengaruhi tingkat fertilitas, artinya sapi yang mempunyai ukuran folikel tidak maksimum cenderung mengalami kegagalan kebuntingan. Begitu juga sebaliknya, rendahnya konsentrasi hormon progesteron pada saat diestrus maupun pada saat bunting akan menyebabkan kegagalan kebuntingan dan kematian embrio dini (Arthur, 2001).

Diagnosa pada hewan betina yang mengalami kegagalan IB salah satunya dapat dilakukan dengan cara pemeriksaan hormon (Siregar, 2009). Kegagalan IB ini merupakan permasalahan di dunia peternakan yang harus segera diatasi karena sangat merugikan peternak.

BAB 4

MATERI DAN METODE



BAB 4 MATERI DAN METODE

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis dan rancangan penelitian ini termasuk penelitian eksploratif laboratorik dengan menggunakan teknik *purposive sampling*.

4.2 Populasi dan Besar Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini menggunakan sapi perah *Friesian Holstein* betina sebanyak 15 ekor sapi perah umur 3,5-5,5 tahun yang sudah pernah beranak minimal 1 kali, kondisi tubuh terlihat sehat dan siklus birahi normal yang berasal dari daerah Kecamatan Tutur, Kabupaten Pasuruan.

4.2.2 Sampel

Sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sampel susu sapi perah yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) yang pertama maupun kedua kali.

4.2.3 Besar sampel

Penelitian ini merupakan penelitian ekplorasi laboratorik dengan menggunakan teknik *purporsive sampling*. Besar sampel yang digunakan adalah 75 sampel susu.

4.2.4 Teknik pengambilan sampel

Peneliti melakukan survei lapangan ke peternak anggota KPSP Setia Kawan didampingi oleh petugas lapangan kemudian melihat dan mencatat data sekunder dari kartu *recording* sapi perah yang mengalami kegagalan IB. Lalu 15 ekor sapi perah tersebut diambil sampel susu pada hari ke-0, 7, 14 dan 21 (hari ke-0, birahi) dan hari ke-0 dilakukan Inseminasi Buatan(Siregar, 2009).

Sampel susu diambil langsung dari ambing sapi betina yang telah masuk kedalam kategori dengan menggunakan kantung asi steril sebanyak 50 ml yang diambil pada pagi hari. Setelah itu sampel susu dimasukkan kedalam *ice box*, suhu dipertahankan pada 4°C dengan menggunakan termometer agar susu tetap dingin yang kemudian akan dipindahkan kedalam *freezer* agar membeku. Sampel susu yang telah membeku di *thawing* dalam suhu kamar sampai mencair. Setelah sampel susu mencair, kemudian diambil masing-masing sebanyak 6 ml dengan menggunakan spuit 10 ml dari masing-masing sampel sebanyak 15. Sampel tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi 10 ml, kemudian tutup tabung reaksi dan diletakkan kedalam *centrifuge*. *Centrifuge* sampel dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Sampel tersebut akan terpisah antara lemak dan skim susu, kemudian ambil skim susu sebanyak 1 ml dengan spuit 5 ml kemudian pindahkan kedalam *microtube*. Kemudian tutup *microtube* dan selotip dengan rapat dan diberi label pada tiap sampel. Analisis

hormonal dilakukan dengan menggunakan metode *sandwich* ELISA (Siregar, 2009).

4.3 Bahan Penelitian

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 15 ekor sapi perah *Friesian Holstein* betina berumur 3,5-5,5 tahun, skim susu dan *Bovine ELISA kit* untuk pemeriksaan hormon progesteron.

4.4 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan meliputi: susu plastik asi steril, *ELISA reader*, *vortex (Bamstead Thermolyne, type 37600 mixer)*, *waterbath, freezer (-40°C)*, *beaker glass, micropipette* dan *centrifuge (Hettic, Zentrifugen Mikro 22R)*.

4.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel susu sapi perah dilakukan di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tutur, Kabupaten Pasuruan. Sedangkan pemeriksaan ELISA dilakukan di Laboratorium Leprosy *Institut Of Tropical Disease* Universitas Airlangga. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2017 sampai dengan Januari 2018.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Prosedur pengambilan sampel

Pengambilan sampel susu sapi perah dilakukan pada hari ke- 0, 7, 14 dan 21 (hari ke-0, birahi) (Siregar, 2009).

4.6.1.1 Prosedur pengambilan sampel susu

Sampel susu diambil dari data recording sapi yang mengalami kawin berulang di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tutur, Kabupaten Pasuruan. Jumlah sampel susu diambil sebanyak 75 sampel yang diperoleh dari 15 ekor sapi betina *Friesian holstein* yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) yang pertama atau kedua kali.

Setelah mendapatkan sapi betina dengan data yang sesuai kemudian susu segar diambil pada pagi hari masing-masing sebanyak 50 ml yang diambil langsung dari ambing kemudian dikemas dalam plastik asi steril lalu diletakkan dalam *ice box* bersama *ice pack* yang telah membeku agar susu menjadi dingin sebelum dipindahkan ke dalam *freezer*.

4.7 Definisi Operasional

1. Profil hormon progesteron adalah konsentrasi progesterone dalam air susu yang diambil pada hari ke-0 (birahi), 7, 14, 21 dan 28 yang diukur menggunakan ELISA dengan teknik *sandwich* ELISA dan susu sapi perah sebagai sampel. Susu dianalisis menggunakan *Bovine Progesterone ELISA kit* yang diproduksi oleh *Bioassay Technology Laboratory, China*.

2. Kegagalan Inseminasi Buatan (IB) adalah sapi yang tidak mengalami bunting setelah dilakukan Inseminasi Buatan (IB) 1 atau 2 kali dan kembali birahi dengan siklus birahi normal.

4.8 Pengukuran Konsentrasi Progesteron

Sampel susu yang telah diambil kemudian diuji dengan menggunakan uji ELISA (Hausmann *et al.*, 2007). Konsentrasi hormon progesteron dalam sampel susu dianalisis menggunakan *Bovine Progesterone ELISA kit* yang diproduksi oleh *Bioassay Technology Laboratory, China*.

Prinsip dari uji ELISA adalah reaksi kompleks antigen-antibodi dengan melibatkan peran enzim konjugasi anti spesimen imunoglobulin dan substrat sebagai indikator dalam reaksi. Teknik ini merupakan uji serologik kuantitatif dan dilakukan dengan menggunakan pelat mikrotiter (Layla dan Poewadikarta, 1993). Proses ELISA dan pembacaan hasil ELISA dilakukan di *Laboratorium Leprosy Institute of Tropical Disease, Universitas Airlangga*.

Semua sampel dan kit progesteron diletakkan dalam temperatur ruangan (25°C). semua sampel yang beku dicairkan terlebih dahulu pada temperatur ruangan. Sediakan 240 µl *reagen standard solution* yang sudah siap digunakan lalu masukkan *reagent standard solution* tersebut ke dalam *well*, setelah itu sebanyak 50 µl larutan *standard well*, kontrol dan sampel dimasukkan ke dalam sumuran dengan menggunakan pipet *disposable tip* yang selalu diganti dengan yang baru setiap memasukkan larutan standar sampel-sampel ke dalam sumuran sebanyak 40 µl untuk menghindari

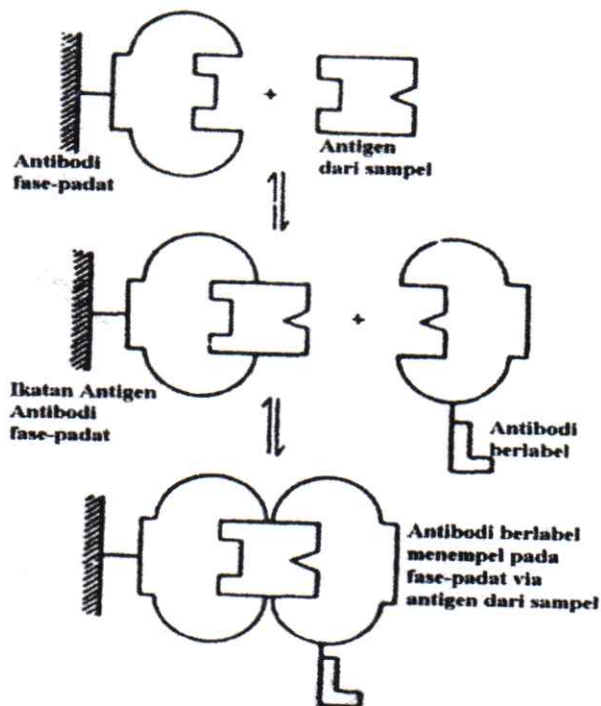
kontaminasi, kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruangan (Lequin, 2005).

Langkah berikutnya adalah menambahkan 10 μl *biotin-conjugate antibody* ke dalam setiap sumuran kemudian dicampur selama 10 detik. Setelah itu, tambahkan 50 μl *streptavidin-HRP* lalu dilakukan *micromixer* sampel tersebut. Proses berikutnya adalah inkubasi sampel selama 60 menit. Inkubasi tersebut dimaksudkan untuk memberi kesempatan sampel dan *Enzym Conjugate* berkompetisi untuk berikatan dengan antibodi. Setelah diinkubasi selama 60 menit, keluarkan dengan cepat isi dari sumuran lalu dilakukan pencucian sumuran sebanyak lima kali dengan menggunakan alat *Imunowash*. Letakkan sumuran pada kertas penyerap untuk membersihkan sisa droplet yang ada di dalam sumuran secara keseluruhan. Setelah mikroplat benar-benar kering diberi masing-masing 50 μl *Substrate Solution A* dan *B*. Mengingat substrat sangat rentan terhadap cahaya, maka dalam tahap ini larutan disimpan di dalam ruangan yang bebas cahaya dan diinkubasikan lagi dalam waktu 15-30 menit (Hausmann *et al.*, 2007).

Reaksi diakhiri dengan menambahkan larutan penyetop (*Stop Solution*) sebanyak 50 μl ke dalam masing-masing sumuran untuk menghentikan reaksi enzimatik. Selanjutnya, sumuran dimasukkan ke dalam *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 450 nm \pm 10 nm. Dianjurkan bahwa untuk membaca sumuran sekitar 10 menit setelah penambahan *Stop Solution*. Hasil perolehan data yang berupa *Optical Density* (OD) diinterpolasikan secara computerized. (Baker *et al.*, 2007).

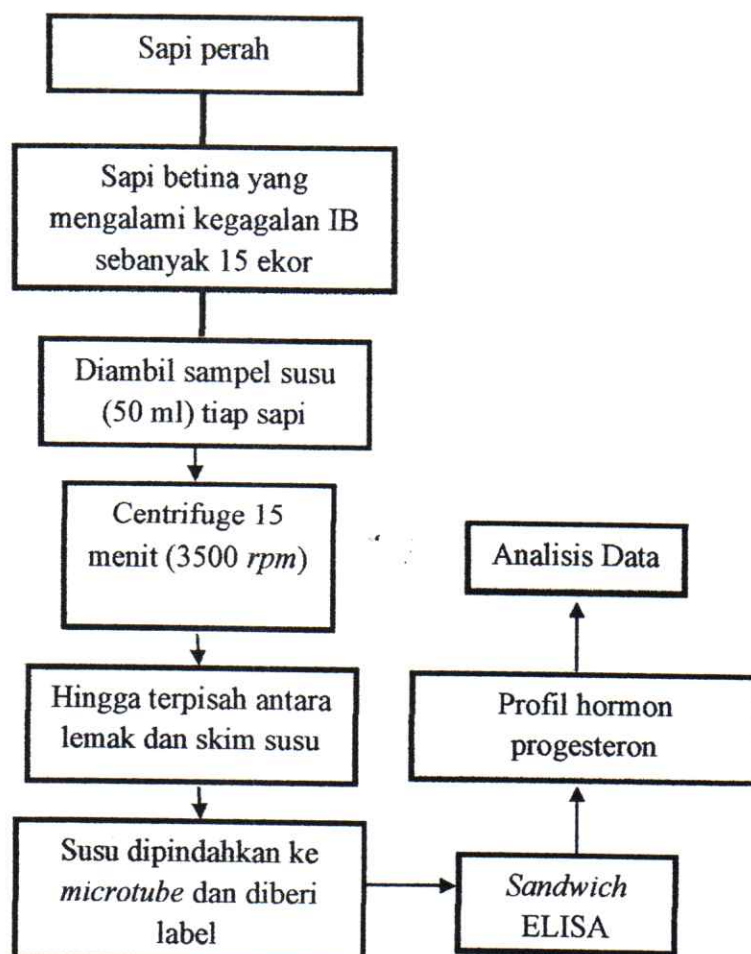
4.9 Sandwich ELISA

Penelitian ini menggunakan teknik *Sandwich* ELISA sebagai teknik pemeriksaan hormon progesteron. Prinsip ujinya berdasarkan pada ikatan spesifik antigen pada antibodi (Ab primer) dengan antibodi sekunder (anti species Ig) yang dilabel enzim kemudian target akan diuraikan oleh enzim yang terdapat di dalam substrat untuk selanjutnya hasil urai reaksi enzim lebih lanjut akan bereaksi dengan chromogen dan terbentuk warna yang dapat dikuantitasi dan proporsional dengan jumlah antibodi yang ada dalam sampel. Pembacaan densitas optik (OD) dari warna yang terbentuk selanjutnya diukur. Tahapan prosedur uji sandwich ELISA seperti pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1 Tahapan Prosedur *Sandwich* ELISA (Pomeranz, 2000)

4.10 Bagan Kerangka Operasional



Gambar 4.2 Bagan Kerangka Operational Penelitian

4.11 Analisis Data

Hasil ELISA diolah menggunakan program komputasi computer Microsoft Excel 2007 dengan memasukkan hasil pembacaan dari ELISA reader. Analisis statistic menggunakan uji ANOVA sama subjek.

BAB 5

HASIL



BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Gambaran Profil Hormon Progesteron

Setelah dilakukan penelitian tentang profil hormon progesteron pada sapi perah yang mengalami kegagalan Inseminasi Buatan (IB) dari sampel susu yang diambil pada hari ke-0 (birahi), 7, 14, 21 dan 28 sebanyak 15 ekor berumur 3,5-5,5 tahun yang sudah pernah beranak minimal 1 kali, kondisi tubuh terlihat sehat dan siklus birahi normal yang berasal dari daerah Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan didapatkan hasil konsentrasi progesteron yang dapat dilihat pada **Tabel 5.1**

Tabel 5.1. Konsentrasi Hormon Progesteron sampel susu sapi perah diambil pada hari ke-0, 7, 14, 21 dan 28

Konsentrasi Hormon Progesteron (ng/ml)					
	H-0	H-7	H-14	H-21	H-28
Sapi-1	2,923	4,718	7,265	3,023	5,326*
Sapi-2	3,122	5,898	7,138	3,028	4,102*
Sapi-3	2,855	4,307	8,12	15,81	16,521**
Sapi-4	3,148	5,551	8,879	15,341	11,815***
Sapi-5	2,453	4,301	7,622	2,677	4,237*
Sapi-6	3,202	5,379	9,381	16,024	13,181***
Sapi-7	3,019	5,417	8,992	15,821	12,193***
Sapi-8	2,971	5,209	9,095	15,722	11,892***
Sapi-9	3,305	5,281	9,198	15,38	11,913***
Sapi-10	3,199	5,362	8,683	15,653	13***
Sapi-11	3,258	4,583	8,216	15,483	17,028**
Sapi-12	3,348	5,189	8,86	16,256	17,803*
Sapi-13	3,325	5,382	8,897	15,89	12,574***
Sapi-14	3,099	5,324	8,989	15,206	13,011***
Sapi-15	2,989	5,541	9,079	15,153	12,796***

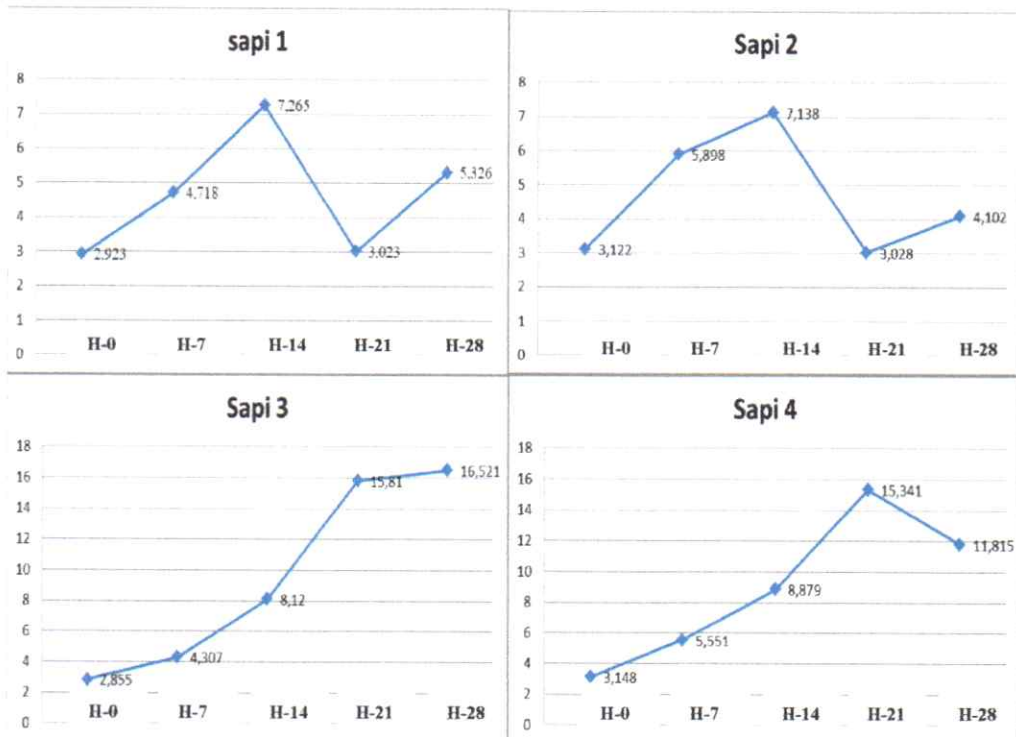
Keterangan :

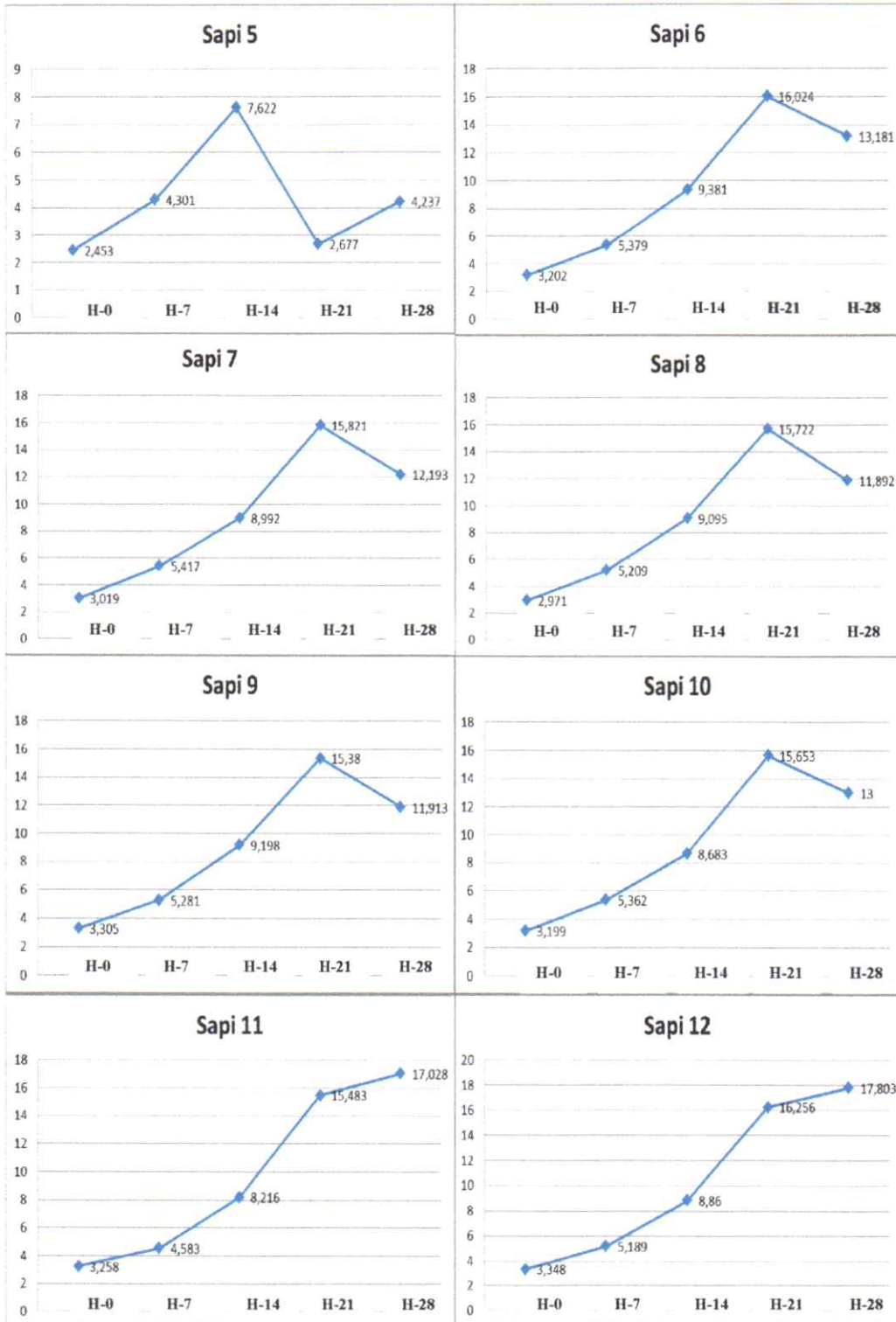
- * = Kegagalan fertilisasi
- ** = Bunting
- *** = Kematian embrio dini

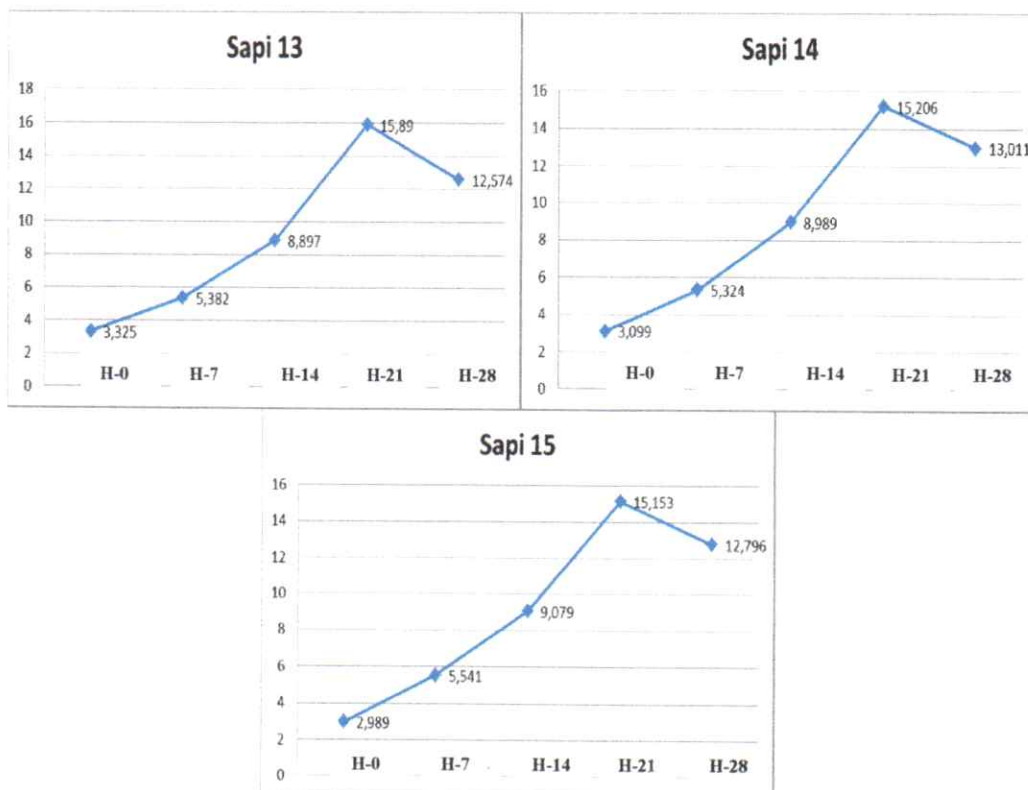
Rataan konsentrasi hormon progesteron (*mean*) ng/ml sesuai Tabel 5.1 pada hari ke-0, 7, 14, 21 dan 28 berturut-turut : 2,923;3,122; 2,855; 3,148; 2,453; 3,202; 3,019; 2,971; 3,305; 3,199; 3,258; 3,348; 3,325; 3,099; 2,989; 4,718; 5,898; 4,307; 5,551; 4,301; 5,379; 5,417; 5,209; 5,281; 5,362; 4,583; 5,189; 5,382; 5,324; 5,541; 7,265; 7,138; 8,12; 8,879; 7,622; 9,381; 8,992; 9,095; 9,198; 8,683; 8,216; 8,86; 8,897; 8,989; 9,079; 3,023; 3,028; 15,81; 15,341; 2,677; 16,024; 15,821; 15,722; 15,38; 15,653; 15,483; 16,256; 15,89; 15,206; 15,153; 5,326; 4,102; 16,521; 11,815; 4,237; 13,181; 12,193; 11,892; 11,913; 13; 17,028; 17,803; 12,574; 13,011; 12,796.

H-0 H-7 H-14 H-21 H-28

Konsentrasi Progesteron (ng/ml)







Gambar 5.1. Profil Hormon Progesteron sampel susu pada hari ke-0, 7, 14, 21 dan 28.

Profil hormon diatas berdasarkan hari ke-0 (birahi),7, 14, 21, 28 dari 15 ekor sapi perah dinyatakan tiga ekor sapi perah mengalami kegagalan fertilisasi dan kembali birahi pada hari ke-21 setelah birahi. Tiga ekor sapi perah yang mengalami bunting karena konsentrasi progesteron terus meningkat sampai hari ke-28 setelah birahi dan sembilan ekor sapi perah mengalami kematian embrio dini karena konsentrasi progesteron tinggi dan dinyatakan bunting tetapi konsentrasi menurun setelah hari ke-28.

BAB 6

PEMBAHASAN



BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Konsentrasi Hormon Progesteron

Progesteron merupakan hormon yang sangat penting dalam pengaturan fungsi siklus hormonal reproduksi hewan betina (Siregar, 2009). Hasil pemeriksaan hormon progesteron yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan dan penurunan konsentrasi hormon. Konsentrasi hormon tersebut dapat dilihat dari hari ke-0, 7, 14, 21 dan 28.

Rataan konsentrasi hormon pada hari ke-0 (birahi) pada 15 ekor sapi meliputi : 2,923; 3,122; 2,855; 3,148; 2,453; 3,202; 3,019; 2,971; 3,305; 3,199; 3,258; 3,348; 3,325; 3,099; dan 2,989. Hasil konsentrasi pada 15 ekor tersebut sesuai dengan hasil beberapa peneliti yang mengemukakan bahwa konsentrasi progesteron dalam susu, hewan dinyatakan birahi apabila konsentrasi progesteron antara 2,2 – 3,5 ng/ml susu dan tidak birahi apabila konsentrasi progesteron kurang dari 2,2 ng/ ml susu (Hoffman *et al.*, 1983).

Rataan konsentrasi hormon pada hari ke -7 pada 15 ekor sapi meliputi : 4,718; 5,898; 4,307; 5,551; 4,301; 5,379; 5,417; 5,209; 5,281; 5,362; 4,583; 5,189; 5,382; 5,324; dan 5,541. Hasil tersebut menjelaskan bahwa selama siklus birahi, konsentrasi progesterone sudah dapat dideteksi hari ke ke tiga (Valdez *et al.*, 2005) dan meningkat sampai hari delapan setelah birahi dan terus meningkat sampai hari ke-21 pada saat bunting (McDonald, 2000). Pernyataan ini sesuai dengan Frestantie (2016) bahwa pembentukan korpus luteum sudah terjadi setelah ovulasi, sehingga hormon progesteron mulai diproduksi.

Rataan konsentrasi hormon pada hari ke -14 pada 15 ekor sapi meliputi : 7,265; 7,138; 8,12; 8,879; 7,622; 9,381; 8,992; 9,095; 9,198; 8,683; 8,216; 8,86; 8,897; 8,989; dan 9,079. Pada fase luteal, hormon progesteron menghambat sekresi hormon gonadotropin yaitu *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) pada kelenjar hipofisis anterior. Hambatan tersebut menyebabkan folikel pada ovarium tidak berkembang dan hormon estrogen tidak dihasilkan, sehingga hewan tidak menunjukkan gejala birahi (McDonald, 2000; Hafez, 2000).

Rataan konsentrasi hormon pada hari ke -21 meliputi : 3,023; 3,028; 15,81; 15,341; 2,677; 16,024; 15,821; 15,722; 15,38; 15,653; 15,483; 16,256; 15,89; 15,206; dan 15,153. Konsentrasi progesteron pada sapi perah yang bunting meningkat sejalan dengan umur positif bunting sehingga pengukuran konsentrasi progesteron untuk mengetahui keberhasilan IB lebih dini. Pemayun dan Budiasa (2014) mengemukakan bahwa konsentrasi progesteron diatas 15 ng/ml dapat dikatakan positif. Penelitian ini menunjukkan bahwa 12 ekor sapi perah yang menunjukkan hasil diatas 15 ng/ml. Tiga sapi yang kembali ke siklus birahi atau mengalami kegagalan fertilisasi dengan konsentrasi : 3,023; 3,028; dan 2,677 ng/ml pada sapi nomor 1, 2 dan 5 yang dapat dilihat pada **Tabel 5.1**. Peningkatan konsentrasi progesteron terjadi secara gradual mulai hari ke - 4 mencapai puncaknya pada hari ke - 14 setelah birahi, sedangkan penurunan konsentrasi progesteron mulai terjadi setelah hari ke - 14 dan mendekati konsentrasi saat birahi mulai hari ke - 20. Peningkatan dan penurunan konsentrasi progesteron sejalan dengan perkembangan korpus luteum selama siklus birahi (Frastantie,

2017). Penurunan konsentrasi progesteron diakibatkan oleh sifat luteolitik Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$).

Kegagalan fertilisasi secara umum dapat disebabkan karena gangguan pada hewan betina yaitu kelainan anatomi saluran reproduksi dan kelainan ovulasi (akibat gangguan hormonal). Kelainan anatomi antara lain penyumbatan tuba falopii, adhesi antara ovarium dengan bursa ovarium, kondisi didalam uterus yang kurang baik dan fungsi saluran reproduksi menurun (Yahya, 2017). Penyumbatan pada tuba falopii yang menyebabkan sel telur yang diovulasikan dari ovarium gagal mencapai tempat fertilisasi yaitu di ampulla dan spermatozoa juga terhalang untuk mencapai tempat fertilisasi sehingga proses fertilisasi gagal (Larson, 2006). Sedangkan kelainan ovulasi tersebut disebabkan oleh rendahnya konsentrasi hormon gonadotropin (FSH dan LH). Kegagalan fertilisasi juga terjadi karena adanya gangguan hormon estrogen yaitu pada sapi yang mengalami subestrus (birahi pendek) karena rendahnya konsentrasi hormon estrogen. Selain dari faktor betina, kegagalan fertilisasi dapat disebabkan oleh kualitas pejantan yaitu karakteristik semen yang kualitasnya tidak baik (spermatozoa abnormal). Inseminator dan peternak juga merupakan penyebab kegagalan fertilisasi yaitu aspek yang sering terjadi di lapangan adalah keterlambatan waktu inseminator untuk melakukan IB pada sapi yang sedang lirahi yang berakibat pada tidak tercapainya angka konsepsi yang maksimal dan posisi *gun* saat pelaksanaan IB, kualitas Semen Beku (*Handling* dan *Thawing*) dan pengetahuan peternak dalam ketelitian mendeteksi birahi sehingga terlambat dalam melapor kepada inseminator (Haryanto dkk., 2015).

Keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) juga didukung oleh peranan sumber daya manusia (SDM) yaitu inseminator dan peternak. Selain dari petugas inseminator yang mempengaruhi keberhasilan Inseminasi Buatan (IB), peternak juga menjadi salah satu faktor yang paling berpengaruh dalam keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) hal ini dikarenakan peternaklah yang memiliki tugas dalam memelihara dan bertanggung jawab mengawasi ternaknya apabila memperlihatkan gejala-gejala birahi. Bila dibandingkan dengan petugas inseminator peternak memiliki waktu yang lebih banyak untuk ternaknya sehingga dapat dijadikan kesimpulan bahwa peternak juga memiliki peranan yang cukup besar dalam mendukung keberhasilan Inseminasi Buatan (IB) (Hastuti, 2008).

Rataan konsentrasi hormon pada hari ke-28 pada 15 ekor sapi perah meliputi : 5,326; 4,102; 16,521; 11,815; 4,237; 13,181; 12,193; 11,892; 11,913; 13; 17,028; 17,803; 12,574; 13,011; dan 12,796. Hasil penelitian ini menunjukkan 3 ekor sapi nomor 3, 11, dan 12 dengan konsentrasi progesteron yang terus meningkat diatas 15 ng/ml sesuai yang dilaporkan Pemayun dan Budiasa (2014) sapi tersebut dinyatakan positif bunting. Tingginya konsentrasi progesteron saat bunting karena korpus luteum tetap berfungsi merangsang sel endometrium untuk menghasilkan *uterine milk* yang merupakan nutrisi awal bagi embrio setelah implantasi (McDonald, 2000; Hafez, 2000). Sapi yang bunting korpus luteumnya akan dipertahankan selama bunting sehingga konsentrasi hormon progesteron dalam susu tetap tinggi (Drajat, 2002). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Pratiwi (2014) bahwa sewaktu embrio mengalami pembelahan dan pembentukan

blastosis, uterus juga mengalami perubahan-perubahan menyediakan diri untuk implantasi. Selama periode progesteronal, terjadi pengurangan aktivitas muskuler dan tonisitas uterus, yang akan membantu mempertahankan blastosis di dalam uterus. Pada waktu yang bersamaan, pemberian darah ke epitel uterus bertambah. Di samping itu, bahan makanan (glikogen dan lemak) berkumpul di dalam epitel uterus. Bahan ini bersama reruntuhan seluler dan leukosit-leukosit di dalam uterus membentuk susu uterus (*uterine milk*) yang menyediakan makanan untuk embrio pada awal hidupnya sebelum plasenta chorio-alantois terbentuk. Pembentukan membran plasenta sudah mulai terbentuk pada 15-17 hari setelah fertilisasi yang merupakan periode *maternal recognition of pregnancy* dan bertujuan untuk mencegah pelepasan prostaglandin prostaglandin F_{2α} sehingga tidak terjadi regresi korpus luteum dan progesteron dapat dipertahankan dengan baik dalam memelihara kebuntingan (Hafez, 2000).

Periode kebuntingan dimulai dengan fertilisasi dan berakhir dengan kelahiran fetus yang hidup. Satu periode kebuntingan adalah periode dari mulai terjadinya fertilisasi sampai terjadinya kelahiran normal (Larson, 2006). Frastantie (2017) menyatakan bahwa pertumbuhan makhluk baru terbentuk sebagai hasil fertilisasi ovum oleh spermatozoa dapat dibagi menjadi 3 periode, yaitu : periode ovum, periode embrio dan periode fetus. Periode ovum dimulai dari terjadinya fertilisasi sampai terjadinya implantasi, sedangkan periode embrio dimulai dari implantasi sampai saat dimulainya pembentukan alat – alat tubuh bagian dalam. Periode ini disambung oleh periode fetus. Perkembangan individu baru baru selama dibagi dalam (1) periode ovum yaitu periode sejak terbentuknya zigot,

morula dan blastula hingga implantasi yang berlangsung antara 0-13 hari. (2) periode embrio yaitu periode dari perkembangan blastula hingga pembentukan sistem organ termasuk plasenta yang berlangsung antara 13-45 hari dan (3) periode fetus yaitu periode dari pembentukan sistem organ dan plasenta hingga partus yang berlangsung dari 45 hari hingga partus (Frastantie, 2017).

Keberhasilan kebuntingan sangat ditentukan oleh beberapa proses diantaranya (1) folikel harus memiliki kemampuan menghasilkan sel telur yang mampu dibuahi dan mengalami perkembangan embrionik. (2) lingkungan oviduk dan uterus harus memiliki kelayakan untuk pengangkutan gamet, fertilisasi dan perkembangan embrio dan (3) korpus luteum harus mampu memelihara kebuntingan. Secara berangsur-angsur perubahan fisiologi akan terjadi yaitu 8 jam setelah ovum mengalami fertilisasi dan embrio akan menuju uterus untuk menyiapkan perkembangan selanjutnya (Noakes *et al*, 2009).

Selain itu diperoleh sembilan ekor sapi dengan konsentrasi dibawah 15 ng/ml yaitu 11,815; 13,181; 12,193; 11,892; 11,913; 13; 12,574; 13,011; dan 12,796 pada sapi nomor 4, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 14, dan 15 yang dapat dilihat pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa sapi di KPSP Setia Kawan mengalami kematian embrio dini. Pada hewan yang gagal bunting konsentrasi progesteron akan turun akibat regresi korpus luteum pada hari ke 18-24 setelah birahi (Drajat, 2002).

Kematian embrio diartikan sebagai kematian embrio sampai dengan akhir implantasi. Kurang lebih 25-40% kasus kematian embrio dini terjadi dalam suatu peternakan. Kematian embrio dini lebih sering terjadi pada periode awal embrio dari pada periode akhir. Setelah terjadi proses fertilisasi yang terjadi pada bagian

ampula dari tuba fallopii, individu baru yang terbentuk disebut zigot. Zigot yang mengalami pembelahan (*cleavage*) disebut dengan embrio. Embrio dalam perkembangannya akan berpindah menuju rongga uterus disusul dengan proses implantasi. Implantasi adalah upaya embrio untuk mengadakan hubungan langsung dengan dinding uterus sehingga terjadi hubungan yang erat antara embrio dengan dinding uterus induknya. (Soenardirahardjo, 2017). Implantasi terjadi apabila embrio telah bertaut pada endometrium. Proses embrio mamalia menempel pada uterus melibatkan proses proliferasi, diferensiasi dan migrasi dari sel embrio maupun dari uterus (Gordon, 2004). Menjelang penempelan pada endometrium, embrio ruminant melayang-layang bebas selama beberapa hari dalam lumen uterus bersamaan dengan tropektoderm yang tumbuh membesar. Pada sapi pertautan berlangsung pada hari ke 11 sampai 40 (Gordon, 2004).

Cepat dan lambatnya transport dari ovum dipengaruhi oleh keseimbangan estrogen-progesteron yang juga mempengaruhi kematian embrio pada saat implantasi. Ketidakseimbangan kedua hormon tersebut akan menyebabkan regresi korpus luteum dan berakhirnya kebuntingan. Periode kritis dari kehidupan embrio adalah pada periode akhir blastosis. Kematian embrio dini selain hormon juga dapat disebabkan oleh faktor genetik, nutrisi, suhu, lingkungan kandang, stress, infeksi dan jumlah embrio pada uterus.

Salah satu faktor yang mempengaruhi kematian embrio dini di KPSP Setia Kawan adalah *gun atau plastic sheet* yang tidak aseptik dan pakan tambahan yaitu limbah roti (roti afkir) yang mengandung jamur. KPSP Setia Kawan pada pelaksanaan Inseminasi Buatan (IB) di lapangan juga tidak didukung dengan

prasarana yang menunjang dan kondisi sanitasi yang kurang baik sehingga pelaksanaan IB tersebut menjadi media masuknya infeksi bakteri dan jamur. Hal ini dapat dilihat dari *plastic sheet* yang tidak aseptik karena *plastic sheet* tersebut terkontaminasi feses (**Lampiran 4**). Keberadaan bakteri didalam uterus setelah partus tidak selalu menimbulkan infeksi pada uterus (Sheldon *et al.*, 2006), namun juga bisa menimbulkan infeksi endometrium yang ringan atau endometritis subklinis (Noakes *et al.*, 2009). Gautam *et al* (2010) menyatakan bahwa kegagalan Inseminasi Buatan (IB) sapi di Indonesia umumnya bersifat subklinis akibat infeksi bakteri dan jamur pada organ reproduksi sapi betina.

Infeksi endometritis subklinis merupakan peradangan pada bagian uterus yang paling ringan. Pada umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri yang masuk ke dalam uterus melalui serviks dan vagina. Bakteri yang sering ditemukan pada serviks dan vagina adalah *streptococcus sp*, *staphylococcus sp*, *Escherichia sp* dan *Corynebacterium sp* yang berasal dari feses pada waktu Inseminasi Buatan (IB), pertolongan distokia dan retensio (Madyawati dkk., 2017). Sapi yang mengalami endometritis subklinis pada umumnya mempunyai siklus birahi normal dengan jarak birahi yang lebih lama tetapi apabila dikawinkan sulit bunting dan cenderung akan mengalami kawin berulang (Prihatno *et al.*, 2013) sesuai dengan Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementrian Pertanian (2017) melaporkan pada sapi akseptor IB di Indonesia banyak dijumpai endometritis subklinis yang berakibat 80% kawin berulang.

Pakan tambahan yang digunakan sebagian kelompok ternak yaitu limbah roti (roti afkir) yang terkontaminasi jamur juga merupakan faktor penting

penyebab kematian embrio dini yang terjadi di KPSP Setia Kawan. Dari 9 ekor sapi perah yang mengalami kematian embrio beberapa peternak menggunakan limbah roti ini sebagai pakan tambahan. Kandungan jamur yang cukup tinggi pada limbah roti dapat mengakibatkan penyakit dan gangguan reproduksi, bahkan keberadaan mikotoksin sebagai metabolit sekunder juga dapat menjadi residu pada susu yang dihasilkan sapi perah tersebut (Diyatmoko dkk., 2010).

Limbah roti yang digunakan sebagian peternak di KPSP Setia Kawan telah dilakukan penelitian sebelumnya oleh Saputra (2018) dengan menguji limbah roti tersebut sebagai pengetahuan dari efek yang ditimbulkan apabila sapi dikonsumsi sebagai pakan ternak. Identifikasi jenis jamur yang tumbuh pada limbah roti di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan meliputi *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus parasiticus*, *Mucor sp* dan *Rhizopus nigricans*. Hasil uji identifikasi jamur pada limbah roti yang dilakukan oleh Saputra (2018) merupakan data pendukung yang menguatkan kejadian kematian embrio dini di KPSP Setia Kawan. Penggunaan limbah roti sebagai pakan tambahan ternak sangat merugikan peternak karena dapat menyebabkan infeksi ringan seperti endometritis subklinis yang berakibat pada kematian embrio dini maupun gangguan reproduksi di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan.

Kematian embrio terjadi pada induk stres yang terekspos suhu tinggi maupun suhu yang berubah-ubah (tidak menentu). Fertilisasi pada sapi saat suhu yang tidak menentu akan mengganggu didalam lingkungan uterus dan akan mati pada periode kritis saat implantasi (Soenardirahardjo, 2017). Stres karena panas

pada usia kebuntingan 8-17 hari akan mengubah lingkungan uterus yang tidak sesuai untuk pertumbuhan embrio dan aktivitas sekretori saat bunting. Panas akan menyebabkan sekresi $PGF2\alpha$ dari uterus, sehingga korpus luteum akan mengalami regresi dan kebuntingan tidak dapat dipertahankan (Frestantie, 2016).

BAB 7

KESIMPULAN



BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi hormon progesteron pada hari ke-0 (birahi), 7 dan 14 mengalami peningkatan pada 15 ekor sapi perah.

Pada hari ke-21 tiga ekor sapi perah mengalami kegagalan fertilisasi dan pada hari ke-28 konsentrasi progesteron terus meningkat diatas 15 ng/ml pada tiga ekor sapi perah dan dinyatakan bunting sedangkan konsentrasi progesteron menurun pada 9 ekor sapi perah yang mengalami kematian embrio dini di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan.

7.2 Saran

1. Kebersihan pada saat proses Inseminasi Buatan (IB) perlu diperhatikan agar tidak ada kontaminasi bakteri yang berakibat pada gangguan reproduksi.
2. Sosialisasi pada peternak dalam pemilihan pakan yang baik dan benar.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam menanggulangi gangguan reproduksi yang terjadi di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tukur, Kabupaten Pasuruan.

DAFTAR PUSTAKA



DAFTAR PUSTAKA

- Akers R.M. 2002. Lactation and The Mammary Gland. Edisi ke 1 United State:Iowa State Press.
- Amiridis, G.S., T.H. Tsiligianni., E. Dovolou., C. Rekkas., D. Vouzaras and I. Menegatos . 2009. Combined administration of gonadotroin- releasing hormone, progesterone, meloxicam is an effective treatment for the repeat breeder cow. *Theriogenology* 7 : 542-548.
- Angsar M. D., Listya S. Seksio Sesarea. 2010. Wiknjosastro H, editor. Ilmu Bedah Kebidanan, 3rd ed. Jakarta:Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Hal:133 – 141.
- Arthur, G.H., E.N. David and H. Pearson. 2001. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8th ed. Bailliere Tindall, London.
- Arini Krisna Oktavia. 2014. Tes ELISA melalui <http://pandalikespurple.blogspot.com/2012/04/test-elisa.html> diakses 23 Desember 2014.
- Atabany, A., B.P. Purwanto dan T. Tahormat. 2011. Hubungan Masa Kosong dengan Produktivitas pada Sapi Perah Frisien Holstein di Baturraden, Indonesia. *Media Peternakan Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor* 34 (2): 77-82.
- Auruf, A. 2012. Pengaruh Perbedaan Protokol Induksi Berahi Terhadap Lama berahi Pada Sapi Perah Di Kabupaten Sinjai.
- Badan Pusat Statistik Kota Pasuruan. 2015. Geografi Wilayah Menurut Kecamatan di Kabupaten Pasuruan. <http://pasuruankab.bps.go.id/linkTabelStatis/view/id/22>. {16 Oktober}.
- Baker, G.B, S. Dunn & A. Latja. 2007. *Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology: Practical neurochemistry methods*, vol. 6. Springer Science, New York. PP: 475.
- Bambang P. S. 2017. *Teratology pada Hewan Ternak*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Bandini, Y. 2003. *Sapi Bali*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Basyir, A. 2009. Meningkatkan Efisiensi Reproduksi melalui Kelahiran Pedet Kembar. <http://www.vet-indo.com> Diakses 9 April 2016

- Bearden, H.J., J.W. Fuquay and S.T. Willard. 2004. *Applied Animal Reproduction*. 6th ed. Pearson Prentice Hall, USA.
- Blakely J and D. H. Bade. 1994. *Ilmu Peternakan Edisi ke Empat*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Buku Hormon Reproduksi. 2013 *Animal Husbandry Universitas Lampung*.
- Burgess, G.W., 1995, *Teknologi ELISA dalam Diagnosis dan Penelitian*, diterjemahkan oleh Wayan, T.A., Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Canu, S., M. Boland., G.M Lloyd., M. Newman., M.F. Christie., P.J. May., R.M. Christley., R.F. Smith and H. Dobson. 2010. *Predisposition to repeat breeding in UK cattle and succes of artificial insemination alone or in combination with embryo transfer*. *J. Vet. Rec.* 167:44-51.
- Dewi Hastuti, 2008. *Tingkat Keberhasilan Inseminasi Buatan Sapi Potong Di Tinjau Dari Angka Konsepsi Dan Service Per Conception*. Dosen Fakultas Pertanian Universitas Wahid Hasyim.
- Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementrian Pertanian. 2017. *Pedoman Teknis Gangguan Reproduksi (Ganggrep) 2017*. Hal : 5.
- Direktorat Jendral Pengolahan dan Pemasaran Hasil Pertanian. 2014. *Pengolahan dan Pemasaran*. <http://agribisnis.net-news-category-pengolahan-hasil-pertanian>.
- Diyatmoko, A., M.R.H. Fitrianto, E. Purbowati, M. Arifin dan A. Purmoadi. 2010. *Pemanfaatan Protein Pakan dan Produksi Protein Mikroba pada Sapi Peranakan Ongole (PO) yang diberi Pakan Sisa Pasar Sebagai Pengganti Dedak Padi*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor 13-14 Agustus 2009. Bogor. Puslitbangnak : 220-225
- Drajat, S .A. 2002 . *Ilmu Reproduksi Ternak* . Mataram University Press, Mataram.
- Ensminger, M. E and H.D. Tyler. 2006. *Dairy Cattle Science*. 4th Ed. Danville : The Interstate Printers and Publisher, Inc.
- Frastantie, D. 2017. *Deteksi Kebuntingan Dini pada Sapi Perah dengan Pemeriksaan Ultrasonografi (USG) dan Analisis Hormon Steroid*. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Gautam G., T. Nakao, K. Koike, S.T. Long, M. Yusuf, R.M.S.B.K. Ranasinghe, and A. Hayashi. 2010. *Spontaneous recovery or persistence of postpartum*

- endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. *Theriogenology*, 73: 168-179.
- Gilbert R. O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N Erb and M. Frajblat. 2005. Prevalence of Endometritis and Its Effect on Reproductive Performance of Dairy Cows. *Theriogenology* 64: 1879-1888.
- Gustafsson H and U. Emanuelsson. 2002. Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle. *J Acta Vet Scand* 43:115-125.
- Gordon, I. 2004. *Reproductive Technologies in Farm Animals*. CABI Publishing. Cambridge. USA.
- Hafez, B. and E.S.E. Hafez. 2000. *Reproduction in Farm animal 7 th Edition*. Lippincott William & Wilins : Baltimore, USA.
- Hardijanto, S. Susilowati, T. Suherni, T. Sardjito dan T. W. Suprayogi. 2010. *Buku Ajar Inseminasi Buatan*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Hariadi, M., S. Hardjopranto, H.A. Wurlina., B. Hermadi., B. Utomo, Rimayanti., I. N. Triana., H. Ratnani. 2011. *Ilmu Kemajiran pada Ternak*. Surabaya : Airlangga University Press. 145.
- Haryanto, D., Madi, H., Sri, S. 2015. Beberapa Faktor yang Memengaruhi Service Per Conception pada Sapi Bali di Kabupaten Pringsewu. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* Vol. 3(3) : 145-150.
- Hausmann, M. F., C. M. Vleck, and E. S. Farrar. 2007. A laboratory exercise to illustrate increased salivary cortisol in response to three stressful conditions using competitive ELISA. *Adv. Physiol. Educ.* 31: 110–115.
- Hoffman B. E., Rattenberger and Gunzler. 1983. Fertility Control By Determining Progesterone in Milk and Milk Fat. In *Control of Reproduction in The Cow*. J.M. Sreenan (ED). *Current Topics in Veterinary Medicine* 1. Pp. 562-575.
- Hurley W.L. 2000. Mammary tissue organization. *Lactation Biology*. ANSCI 308. <http://classes.aces.uiuc.edu/Ansci 308/>. [15 – 08 -2006].
- Koperasi Peternakan Sapi Peternakan Setia Kawan. 2011. Profil Koperasi Peternakan Sapi Perah Setia Kawan. <http://www.kpsp-setia kawan.com>. {16 Oktober 2014}.
- Koperasi Peternakan Sapi Peternakan Setia Kawan. 2011. Sejarah Koperasi Peternakan Sapi Perah Setia Kawan. <http://www.kpsp-setia kawan.com>. {16 Oktober 2014}.

- Koperasi Peternakan Sapi Peternakan Setia Kawan. 2014. Produksi Koperasi Peternakan Sapi Perah Setia Kawan. <http://www.kpsp-setia kawan.com>. {11 Maret 2014}.
- Lamming, G. E., O. Darwash and H. L. Back. 2004. Corpus Luteum Function in Dairy Cows and Embryo Mortality. *J Reproduction. Sci.* 37:121-131.
- Larson, J.E., G.C. Lamb, J.S. Stevenso, S.K. Johnson, M.L. day, T.W Geary, D.J.kesler, J.M. Dejarnette, F.N Schrick, A. DiCoztanzo and J.D. Arseneau. 2006. Synchronization Of Estrus In Sucled Beef Cows For Detected Estrous And Artificial Insemination Using Gonadotroping Releasing Hormone, Prostaglandin F2 α , And Progesteron. *J. Anim. Sci.* 71:61.
- Lequin, RM. 2005. Enzyme Immunoassay (EIA) / Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry* 51 (12): 2415–2418.
- Madyawati, S. P., P. Srianto dan W. Tyasningsih. 2017. Identifikasi Bakteri dalam Saluran Reproduksi Sapi Perah Pasca IB di Wilayah KUD yang digunakan sebagai Tempat Praktik Kerja Lapangan Mahasiswa Program Pendidikan Profesi Dokter Hewan (PPDH). Laporan Penelitian Terapan Unggulan. Perguruan Tinggi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Mandaka, S. dan M.P. Hutagaol. 2005. Analisis Fungsi Keuntungan, Efisiensi Ekonomi dan Kemungkinan Skema Kredit bagi Pengembangan Skala Usaha Peternakan Sapi Perah Rakyat di Kelurahan Kebon Pedes, Kota Bogor. *Jurnal Agro Ekonomi*, Vol. 23, No. 2, 2005: 191-208.
- Marawali, A., M.T. Hine, Burhanuddin, H.L.L. Belli. 2001. *Dasar-Dasar Ilmu Reproduksi Ternak*. Departemen Pendidikan Nasional Direktorat Pendidikan Tinggi Badan Kerjasama Perguruan Tinggi Negeri Indonesia Timur. Jakarta.
- McDonald L. E. 2000. *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 3rdEd. London. Bailliere Tindall. Pp 315-367.
- Murtidjo, B.A.2000. *Berternak sapi potong*. Kanisius.Yogyakarta.
- Najamudin. Rusdin. Srianto. Amrozi. Agungpriyono, S dan Yusuf, T. L. 2010. Penentuan Siklus Estrus pada Kancil (*Tragulus javanicus*) Berdasarkan Perubahan Sitologi Vagina. *Jurnal Veteriner* 11:81-86.
- Noakes, D.E. T.J. Parkinson and G.C.W. England. 2009. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 9th. Edinburch London Elsevier Sci;399-408.

- Pemayun T.G.O dan Budiassa I.G.N.B.T. 2014. Waktu Inseminasi Buatan yang Tepat pada Sapi Bali dan Kadar Progesteron pada Sapi Bunting. *Jurnal Veteriner* 3: 425-430.
- Pemerintah Kabupaten Pasuruan. 2014. Gambaran Umum Kabupaten Pasuruan. <http://www.pasuruankab.go.id>. {18 Oktober 2014}.
- Perry G.A., M.F. Smith., A.J. Roberts., M.D. MacNeil and T.W. Geary. 2004. Effect of ovulatory follicle size on pregnancy rates and fetal mortality in beef heifers. *J Anim Sci* 82(Suppl. 2):101 Abstr. 99.
- Pratiwi, H. 2014. Implantasi dan Plasentasi. Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
- Prihatno S.A., A. Kusumawati, N.W.K. Karja, B. Sumiaro. 2013. Prevalensi dan Faktor Resiko Kawin Berulang pada Sapi Perah pada Tingkat Peternak. *Jurnal Veteriner* Desember 2013. 14 : 452-461.
- Pomeranz Y and Meloan CE. 2000. *Food Analysis Theory and Practice*. Third Edition, A Chapman & Hall Food Science Book An Aspen Publication.
- PSPK, 2011. Rilis Hasil Awal 2011. Kementrian – BPS.
- Pusdatin. 2013. *Statistik Pertanian 2013*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. Kementerian Pertanian. 316 hal.
- Rustamaji, B. 2004. *Bangsa Bangsa Sapi Perah di Indonesia*. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Rustamadji. B, Ahmadi., Kustono dan T. Sutarno. 2007. Kinerja usaha peternakan sapi perah rakyat sebagai tulang punggung pembangunan persusuan nasional. Paper. Disampaikan pada Lokakarya Persusuan Nasional. Yogyakarta. Dies 38 Fapet UGM.
- Saputa, R. N. 2018. Dampak Pemberian Roti Afkir terhadap Efisiensi Reproduksi Sapi Perah Friesian Holstein di Wilayah Kerja KPSP Setia Kawan Nongkojajar, Pasuruan. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Saxena, M.S. 2004. Repeat Breeding in Cows and Buffaloes. In Proc, "Nasional Symposium on Conservation and propagation of Indigenous breeds of Cattle and Buffaloes" held at Pantnagar, Uttaranchal, India.
- Selk, G. 2002. Artificial Insemination for Beef Cattle. <http://www.osuextra.com>. (12 Januari 2006).

- Sheldon IM, Lewis GS, Le Blanc JS and Giltbert RO. 2006. Defining post partum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65: 1516– 1530.
- Siregar, T. N. 2009. Profil Hormon Estrogen dan Progesteron Pada Siklus Berahi Kambing Lokal (Estrogen and Progesterone Profile in Aceh Local Goat Estrous Cycle). *Jurnal Kedokteran Hewan*, 3(2).
- Sonjaya, H. 2005. Materi Mata Kuliah Ilmu Reproduksi Ternak. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makasar.
- Sporns P. 2004. *Immunoassay in Food Analysis Laboratory Manual (Food Science Text series)*, third ed.
- Sudono, A., R. F. Rosdiana dan B. S. Setiawan. 2003. *Beternak Sapi Perah Secara Intensif*. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sugeng, Y. B. 2002. *Peternak Sapi Potong*. Swadaya. Jakarta.
- Sumaria. 2013. *Validation Method of Analysis of Immunoglobulin G in Skim Milk Powder using Enzym Link Immunosobent Assay (ELISA)*. Bogor.
- Sumoprastowo. 2003. *Penggemukan Sapid dan Kerbau*. Bhrata. Jakarta.
- 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.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman inseminasi buatan pada ternak*. Penerbit Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Tabrany, H. 2004. Pengaruh Proses Pelayuan terhadap Keempukan Daging. Herman tabrany@yahoo.co.id.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2009). *Principles of Anatomy & Physiology*. USA: John Wiley & Sons. Inc.
- 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 fist follicular wave. *J Anim Sci* 83:597-603.
- West, J. W. 2003. Effect of Heat Stress on Production in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci*. 86: 2131-2144.
- Yahya M. I. 2017. Tingkat Kejadian Gangguan Reproduksi Ternak Sapi Perah di Kabupaten Enkerang. Skripsi Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Hassanudin.

Yusuf, M., T. Nakao., B.M.K. Ranasinghe., G. Gautam., S.T. Long., C.L. Yoshida., K. Koike and A. Hayashi. 2010. Reproductive Performance of Repeat Breeders in Dairy Herds. *J. Theriogenology*. 73: 1220-1229.

LAMPIRAN



Lampiran 1. Data Peternak dan Sapi Sampel Susu

No	Nama Peternak	Desa	Sapi sampel	Umur	IB ke-	Bunting
1	Pak Wardoyo	Telogosari	1	± 3,5 tahun	2	Tidak
2	Pak Sugeng	Tutur	2	± 5,5 tahun	2	Tidak
3	Pak Mulyono	Telogosari	3	± 3,5 tahun	2	Ya
4	Pak Aspat	Pungging	4	± 5,5 tahun	3	Tidak
5	Pak Sunali	Pungging	5	± 5,5 tahun	2	Tidak
6	Bu Rom	Tutur wetan	6	± 4,5 tahun	3	Tidak
7	Pak Sutom	Kuntul	7	± 4,5 tahun	3	Tidak
8	Pak Sidik	Cikur	8	± 5,5 tahun	2	Tidak
9	Pak Buari	Cikur	9	± 4,5 tahun	3	Tidak
10	Bu Piana	Kuntul	10	± 3,5 tahun	3	Tidak
11	Pak seneman	Mucangan	11	± 3,5 tahun	2	Ya
12	Pak Supardi	Mucangan	12	± 4,5 tahun	2	Ya
13	Pak Rubai	Mucangan	13	± 5,5 tahun	3	Tidak
14	Pak Samian	Kumbo	14	± 5,5 tahun	3	Tidak
15	Pak Ponari	Pungging	15	± 5,5 tahun	3	Tidak

Lampiran 2. Data Hasil Pemeriksaan Hormon Progesteron dari Sampel Sapi Perah

Konsentrasi (ng/ml)	H-0	H-7	H-14	H-21	H-28
Sapi-1	2,923	4,718	7,265	3,023	5,326
Sapi-2	3,122	5,898	7,138	3,028	4,102
Sapi-3	2,855	4,307	8,12	15,81	16,521
Sapi-4	3,148	5,551	8,879	15,341	11,815
Sapi-5	2,453	4,301	7,622	2,677	4,237
Sapi-6	3,202	5,379	9,381	16,024	13,181
Sapi-7	3,019	5,417	8,992	15,821	12,193
Sapi-8	2,971	5,209	9,095	15,722	11,892
Sapi-9	3,305	5,281	9,198	15,38	11,913
Sapi-10	3,199	5,362	8,683	15,653	13
Sapi-11	3,258	4,583	8,216	15,483	17,028
Sapi-12	3,348	5,189	8,86	16,256	17,803
Sapi-13	3,325	5,382	8,897	15,89	12,574
Sapi-14	3,099	5,324	8,989	15,206	13,011
Sapi-15	2,989	5,541	9,079	15,153	12,796

snaini PROG 1.mpl

01/26/2018 13:30 PM

Title
 Protocol
 Date/Time 01/26/2018 11:28:01
 Technician
 Plate ID
 Unit
 Reader Setup Endpoint Single 450.0nm Mix off Temp **, *
 Reader Model # iMark
 Reader Serial # 17539
 Reader Version # 1.04.02.E Build 00
 Comments

Using Standard Data Set from Current Experiment.

Linear Fit: $Y = \text{slope} \times X$ 0/50/80%: $X = 21.302 / 51.173 / 81.044$ $Y = 0.061 / 0.148 / 0.234$

Slope: 0.003 (+/-0.000)

Chi2=0.016, RMS=0.052, $r^2=0.000$

Standards Report:

Std #	Conc	Well	Replicates	Mean	SD	%CV
1	2	B1	0.004	0.00	(*)	(*)
2	4	C1	0.026	0.026	(*)	(*)
3	16	E1	0.065	0.065	(*)	(*)
4	32	F1	0.162	0.138	0.033	23.996
		F2	0.115			
5	64	G1	0.258	0.236	0.030	12.856
		G2	0.215			
6	128	H1	0.291	0.291	(*)	(*)

Sample Report:

Sample ID	Well	Replicates	Mean	Conc	SD (Conc)
S-1.01	A3	0.024	0.019	2.923	1.472
	A4	0.014			
S-1.02	B3	0.054	0.036	7.265	8.586
	B4	0.019			
S-1.03	C3	0.031	0.027	4.718	0.245
	C4	0.023			

S-1.04	D3	0.019	0.020	3.023	7.360
	D4	0.021			
S-1.05	E3	0.027	0.026	5.326	0.491
	E4	0.025			
S-2.01	F3	0.009	0.009	3.122	0.000
	F4	0.009			
S-2.02	G3	0.024	0.027	5.898	6.378
	G4	0.030			
S-2.03	H3	0.029	0.030	7.138	0.491
	H4	0.031			
S-2.04	A5	0.014	0.013	3.028	0.981
	A6	0.012			
S-2.05	B5	0.016	0.010	4.102	2.208
	B6	0.015			
S-3.01	C5	0.035	0.028	4.307	3.925
	C6	0.021			
S-3.02	D6	0.006	0.006	2.800	0.000
S-3.03	E5	0.036	0.033	8.120	0.245
	E6	0.030			
S-3.04	F5	0.059	0.060	7.806	1.717
	F6	0.061			
S-3.05	G5	0.062	0.064	16.521	4.170
	G6	0.066			
S-4.01	H5	0.009	0.009	3.148	1.472
	H6	0.009			
S-4.02	A7	0.026	0.027	5.551	1.963
	A8	0.028			
S-4.03	B7	0.035	0.034	8.879	0.491
	B8	0.033			
S-4.04	C7	0.058	0.055	15.341	0.981
	C8	0.052			
S-4.05	D7	0.046	0.048	11.815	3.925
	D8	0.050			
S-5.01	E7	0.016	0.016	2.453	1.227
	E8	0.016			
S-5.02	F7	0.026	0.027	4.301	0.245
	F8	0.028			
S-5.03	G7	0.029	0.030	7.622	9.077
	G8	0.031			

S-5.04	H7	0.016	0.018	2.677	0.245
	H8	0.020			
S-5.05	A9	0.023	0.026	4.237	2.208
	A10	0.029			
S-6.01	B9	0.009	0.010	3.202	0.245
	B10	0.011			
S-6.02	C9	0.026	0.027	5.379	0.736
	C10	0.028			
S-6.03	D9	0.037	0.037	9.381	2.944
	D10	0.037			
S-6.04	E9	0.059	0.061	16.024	1.963
	E10	0.063			
S-6.05	F9	0.035	0.035	8.992	3.378
	F10	0.035			
S-7.01	G9	0.006	0.008	3.019	0.891
	G10	0.010			
S-7.02	H9	0.025	0.027	5.417	2.944
	H10	0.029			
S-7.03	A11	0.035	0.035	8.922	2.208
	A12	0.035			
S-7.04	B11	0.054	0.056	15.821	0.981
	B12	0.058			
S-7.05	C11	0.048	0.050	12.193	0.245
	C12	0.052			
S-8.01	D11	0.005	0.007	2.971	2.944
	D12	0.009			
S-8.02	E11	0.026	0.027	5.209	1.472
	E12	0.028			
S-8.03	F11	0.036	0.036	9.095	0.245
	F12	0.036			
S-8.04	G11	0.054	0.055	15.722	4.906
	G12	0.056			
S-8.05	H11	0.044	0.046	11.897	0.931
	H12	0.048			

snaini PROG 2.mpl

01/26/2018 13:33 PM

Title

Protocol

Date/Time 01/26/2018 11:20:05

Technician

Plate ID

Init

Reader Setup Endpoint Single 450.0nm Mix off Temp **.*

Reader Model # iMark

Reader Serial # 17539

Reader Version # 1.04.02.E Build 00

Comments

Using Standard Data Set from Current Experiment.

Linear Fit: $Y = \text{slope} * X$ D/50/80%: $X = 25.042 / 55.198 / 85.353$ $Y = 0.520 / 1.145 / 1.771$

Slope: 0.021 (+/-0.002)

Chi2=1.943, RMS=0.420, $r^2=0.000$

Standards Report:

Std #	Conc	Well	Replicates	Mean	SD	%CV
1	2	G1	0.098	0.102	0.006	5.519
		G2	0.106			
2	4	F1	0.180	0.178	0.004	1.986
		F2	0.176			
3	8	E1	0.370	0.370	(*)	(*)
4	16	D1	0.738	0.744	0.007	0.951
		D2	0.748			
5	32	C1	1.154	1.122	0.045	3.970
		C2	1.090			
6	64	B1	1.814	1.911	0.137	7.176
		B2	2.008			
7	128	A1	2.222	2.188	0.048	2.197
		A2	2.154			

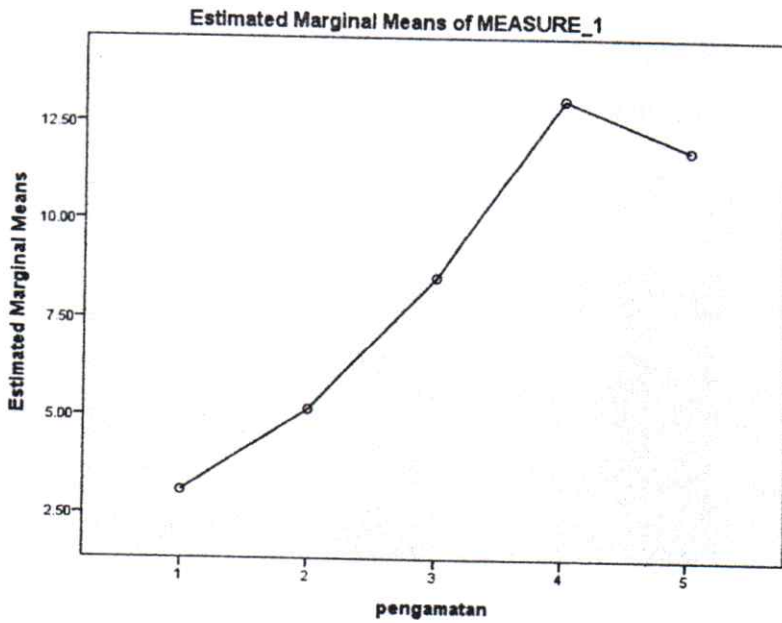
Sample Report:

Sample ID	Well	Replicates	Mean	Conc	SD (Conc)	%CV																																																																																																																																																		
S-10.01	F3	0.144	0.147	3.199	0.681	5.980																																																																																																																																																		
	F4	0.150					S-10.02	G3	0.245	0.247	5.362	4.634	12.113	G4	0.249	S-10.03	H3	0.378	0.379	8.683	0.545	6.199	H4	0.380	S-10.04	A5	0.721	0.722	15.653	1.056	10.488	A6	0.723	S-10.05	B5	0.599	0.600	13.000	0.920	11.297	B6	0.601	S-11.01	C5	0.144	0.148	3.258	0.681	8.960	C6	0.152	S-11.02	D5	0.287	0.245	4.583	2.862	10.307	D6	0.203	S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443	E6	0.357	S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382
S-10.02	G3	0.245	0.247	5.362	4.634	12.113																																																																																																																																																		
	G4	0.249					S-10.03	H3	0.378	0.379	8.683	0.545	6.199	H4	0.380	S-10.04	A5	0.721	0.722	15.653	1.056	10.488	A6	0.723	S-10.05	B5	0.599	0.600	13.000	0.920	11.297	B6	0.601	S-11.01	C5	0.144	0.148	3.258	0.681	8.960	C6	0.152	S-11.02	D5	0.287	0.245	4.583	2.862	10.307	D6	0.203	S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443	E6	0.357	S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384				
S-10.03	H3	0.378	0.379	8.683	0.545	6.199																																																																																																																																																		
	H4	0.380					S-10.04	A5	0.721	0.722	15.653	1.056	10.488	A6	0.723	S-10.05	B5	0.599	0.600	13.000	0.920	11.297	B6	0.601	S-11.01	C5	0.144	0.148	3.258	0.681	8.960	C6	0.152	S-11.02	D5	0.287	0.245	4.583	2.862	10.307	D6	0.203	S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443	E6	0.357	S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384													
S-10.04	A5	0.721	0.722	15.653	1.056	10.488																																																																																																																																																		
	A6	0.723					S-10.05	B5	0.599	0.600	13.000	0.920	11.297	B6	0.601	S-11.01	C5	0.144	0.148	3.258	0.681	8.960	C6	0.152	S-11.02	D5	0.287	0.245	4.583	2.862	10.307	D6	0.203	S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443	E6	0.357	S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																						
S-10.05	B5	0.599	0.600	13.000	0.920	11.297																																																																																																																																																		
	B6	0.601					S-11.01	C5	0.144	0.148	3.258	0.681	8.960	C6	0.152	S-11.02	D5	0.287	0.245	4.583	2.862	10.307	D6	0.203	S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443	E6	0.357	S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																															
S-11.01	C5	0.144	0.148	3.258	0.681	8.960																																																																																																																																																		
	C6	0.152					S-11.02	D5	0.287	0.245	4.583	2.862	10.307	D6	0.203	S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443	E6	0.357	S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																								
S-11.02	D5	0.287	0.245	4.583	2.862	10.307																																																																																																																																																		
	D6	0.203					S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443	E6	0.357	S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																	
S-11.03	E5	0.397	0.377	8.216	1.397	9.443																																																																																																																																																		
	E6	0.357					S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355	F6	0.724	S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																										
S-11.04	F5	0.716	0.720	15.483	0.273	1.355																																																																																																																																																		
	F6	0.724					S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815	G6	0.731	S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																			
S-11.05	G5	0.725	0.729	17.028	0.954	6.815																																																																																																																																																		
	G6	0.731					S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629	S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542	A8	0.240	S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																												
S-12.01	H5	0.149	0.149	3.348	0.511	6.629																																																																																																																																																		
S-12.02	A7	0.240	0.240	5.189	0.716	6.542																																																																																																																																																		
	A8	0.240					S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321	B8	0.408	S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																																												
S-12.03	B7	0.396	0.418	9.078	0.443	2.321																																																																																																																																																		
	B8	0.408					S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397	C8	0.722	S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																																																					
S-12.04	C7	0.718	0.720	16.256	0.852	4.397																																																																																																																																																		
	C8	0.722					S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388	D8	0.733	S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																																																														
S-12.05	D7	0.727	0.730	17.803	1.942	10.388																																																																																																																																																		
	D8	0.733					S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771	E8	0.148	S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																																																																							
S-13.01	E7	0.148	0.148	3.325	0.477	3.771																																																																																																																																																		
	E8	0.148					S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113	F8	0.250	S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																																																																																
S-13.02	F7	0.248	0.249	5.382	3.032	12.113																																																																																																																																																		
	F8	0.250					S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129	G8	0.384																																																																																																																																									
S-13.03	G7	0.380	0.382	8.897	2.215	11.129																																																																																																																																																		
	G8	0.384																																																																																																																																																						

S-13.04	H7	0.724	0.726	15.890	1.397	1.868
	H8	0.728				
S-13.05	A9	0.578	0.580	12.574	1.397	11.550
	A10	0.582				
S-14.01	B9	0.143	0.146	3.099	0.954	7.401
	B10	0.149				
S-14.02	C9	0.246	0.248	5.324	1.363	12.113
	C10	0.250				
S-14.03	D9	0.415	0.415	8.898	1.636	14.172
	D10	0.415				
S-14.04	E9	0.716	0.718	15.206	1.397	7.670
	E10	0.720				
S-14.05	F9	0.600	0.601	13.011	1.261	6.867
	F10	0.602				
S-15.01	G9	0.144	0.144	2.989	2.044	8.960
S-15.02	H9	0.248	0.250	5.541	1.165	7.114
	H10	0.252				
S-15.03	A11	0.419	0.416	9.079	0.647	2.859
	B11	0.413				
S-15.04	C11	0.715	0.717	15.153	0.818	5.312
	D11	0.719				
S-15.05	E11	0.595	0.598	12.796	1.533	12.099
	F11	0.601				
S-9.01	A3	0.147	0.148	3.305	0.681	5.980
	B4	0.149				
S-9.02	B3	0.245	0.247	5.281	0.170	1.614
	B4	0.249				
S-9.03	C3	0.416	0.419	9.198	0.341	3.391
	C4	0.422				
S-9.04	D3	0.721	0.718	15.380	1.090	7.870
	D4	0.715				
S-9.05	E3	0.550	0.554	11.913	1.431	15.297
	E4	0.558				

Lampiran 3. Analisi Data (Rancangan Sama Subjek)

```
SUMMARIZE
/TABLES=hari_0 hari_7 hari_14 hari_21 hari_28
/FORMAT=VALIDLIST NOCASENUM TOTAL LIMIT=100
/TITLE='Case Summaries'
```



```
/MISSING=VARIABLE
/CELLS=COUNT.
```

Summarize

[DataSet0]

Case Summaries^a

	hari 0	hari 7	hari 14	hari 21	hari 28
1	2.92	4.72	7.27	3.02	5.33
2	3.12	5.90	7.14	3.03	4.10
3	2.86	4.31	8.12	15.81	16.52
4	3.15	5.55	8.88	15.34	11.82
5	2.45	4.30	7.62	2.68	4.24
6	3.20	5.38	9.38	16.02	13.18

7		3.02	5.42	8.99	15.82	12.19
8		2.97	5.21	9.10	15.72	11.89
9		3.31	5.28	9.20	15.38	11.91
10		3.20	5.36	8.68	15.65	13.00
11		3.26	4.58	8.22	15.48	17.03
12		3.35	5.19	8.86	16.26	17.80
13		3.33	5.38	8.90	15.89	12.57
14		3.10	5.32	8.99	15.21	13.01
15		2.99	5.54	9.08	15.15	12.80
Total	N	15	15	15	15	15

a. Limited to first 100 cases.

GLM

```

hari_0 hari_7 hari_14 hari_21 hari_28
  /WSFACTOR=pengamatan 5 Repeated
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /PLOT=PROFILE(pengamatan)
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(pengamatan)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /WSDSIGN=pengamatan.

```

General Linear Model

Within-Subjects Factors

Measure: MEASURE_1

	Dependent Variable
pengamatan	
1	hari_0
2	hari_7
3	hari_14
4	hari_21
5	hari_28

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
hari_0	3.0811	.23025	15
hari_7	5.1628	.46944	15
hari_14	8.5609	.71807	15
hari_21	13.0978	5.28214	15
hari_28	11.8261	4.23081	15

Multivariate Tests^a

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pengamatan	Pillai's Trace	.997	995.069 ^b	4.000	11.000	.000
	Wilks' Lambda	.003	995.069 ^b	4.000	11.000	.000
	Hotelling's Trace	361.843	995.069 ^b	4.000	11.000	.000
	Roy's Largest Root	361.843	995.069 ^b	4.000	11.000	.000

a. Design: Intercept

Within Subjects Design: pengamatan

b. Exact statistic

Mauchly's Test of Sphericity^a

Measure: MEASURE_1

Within Subjects Effect	Mauchly's W	Approx. Chi-Square	df	Sig.	Epsilon ^b		
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt	Lower-bound
pengamatan	.000	119.280	9	.000	.301	.314	.250

tests the null hypothesis that the error covariance matrix of the orthonormalized transformed dependent variables is proportional to an identity matrix.

Design: Intercept

Within Subjects Design: pengamatan

May be used to adjust the degrees of freedom for the averaged tests of significance. Corrected tests are displayed in the Tests Within-Subjects Effects table.

Tests of Within-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Source		Type III Sum of Squares				
		Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pengamatan	Sphericity Assumed	1088.841	4	272.210	41.277	.000
	Greenhouse-Geisser	1088.841	1.206	902.890	41.277	.000
	Huynh-Feldt	1088.841	1.258	865.837	41.277	.000
	Lower-bound	1088.841	1.000	1088.841	41.277	.000
Error (Total - pengamatan)	Sphericity Assumed	369.303	56	6.595		
	Greenhouse-Geisser	369.303	16.883	21.874		
	Huynh-Feldt	369.303	17.606	20.976		
	Lower-bound	369.303	14.000	26.379		

Tests of Within-Subjects Contrasts

Measure: MEASURE_1

Source	pengamatan	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pengamatan	Level 1 vs. Level 2	65.004	1	65.004	424.702	.000
	Level 2 vs. Level 3	173.210	1	173.210	361.492	.000
	Level 3 vs. Level 4	308.747	1	308.747	14.176	.002
	Level 4 vs. Level 5	24.257	1	24.257	4.315	.057
Error(pengamatan)	Level 1 vs. Level 2	2.143	14	.153		
	Level 2 vs. Level 3	6.708	14	.479		
	Level 3 vs. Level 4	304.922	14	21.780		
	Level 4 vs. Level 5	78.694	14	5.621		

Tests of Between-Subjects Effects

Measure: MEASURE_1

Transformed Variable: Average

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	1044.772	1	1044.772	258.466	.000
Error	56.591	14	4.042		

1. Grand Mean

Measure: MEASURE_1

95% Confidence Interval

2. pengamatan

Measure: MEASURE_1

95% Confidence Interval

pengamatan	Mean	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound
1	3.081	.059	2.954	3.209
2	5.163	.121	4.903	5.423
3	8.561	.185	8.163	8.959
4	13.098	1.364	10.173	16.023
5	11.826	1.092	9.483	14.169

Lampiran 4. Alat dan Bahan Penelitian



Centrifuge



Micromixer



Mixer



Mikropipet



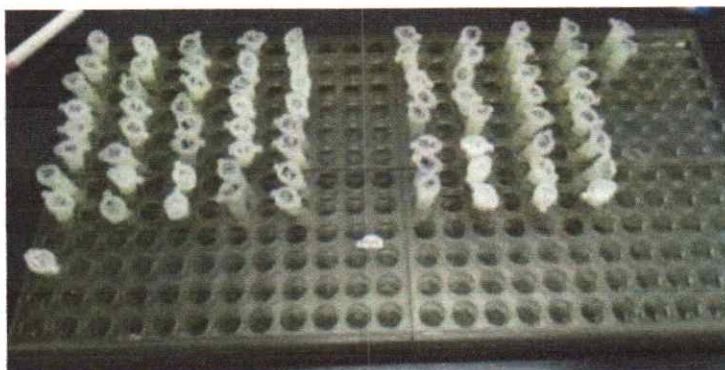
Inkubator



Imunowash



Vortex



75 sampel susu



Bovine PROGESTERONE ELISA kit



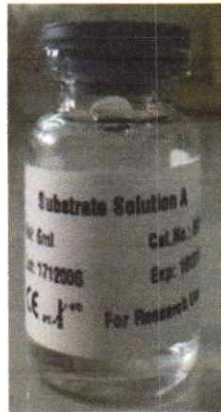
Standard Solution



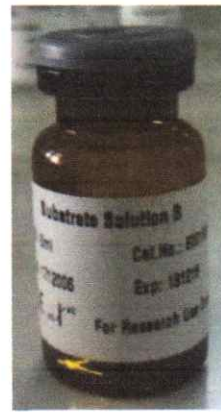
Streptavidin



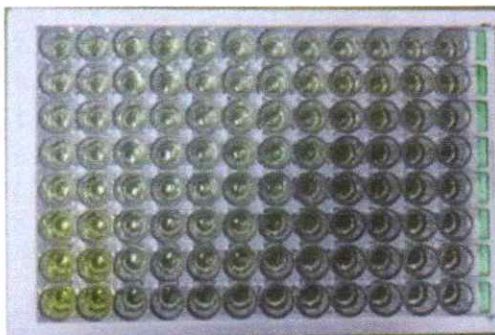
Standard Dilution



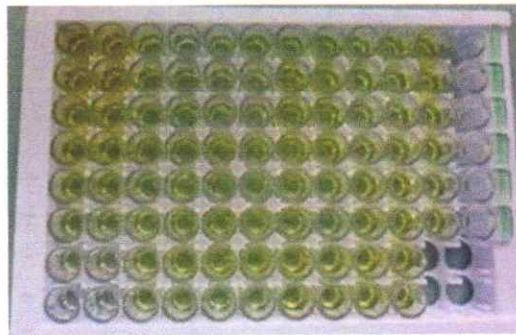
Solution A



Solution B



Hasil ELISA Progesteron 1



Hasil ELISA Progesteron 2

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian



Sapi birahi. Vulva terdapat lendir



Vulva merah dan bengkak



Pengambilan sampel susu di pagi hari.



Persiapan sampel sebelum di centrifuge. Sampel ditimbang menggunakan timbangan analitik.



Sampel susu setelah centrifuge. Susu diambil bagian skim.



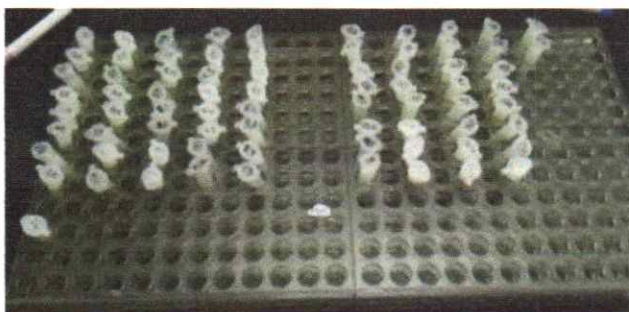
Pengerjaan uji ELISA



Proses centrifuge selama 15 menit, kecepatan 3500 rpm pada suhu 4⁰C



Setelah centrifuge. Sampel dipindah ke tabung eppendorf dan siap untuk uji ELISA



Sampel susu di thawing pada suhu kamar sebelum dilakukan uji ELISA.



Mencampurkan larutan susu dengan vortex.



Kartu *recoding* Inseminasi Buatan (Sampul depan)

Kartu *recoding* Inseminasi Buatan (Sampul belakang) . *Recording* dengan jarak birahi yang lebih lama. IB 1 tanggal 6 Oktober 2017 dan IB 2 tanggal 11 November 2017



Gambar 6.1 *Plastic sheet* yang terkontaminasi feces pada pelaksanaan Inseminasi Buatan (Dokumen pribadi)



Limbah Roti yang digunakan sebagian peternak di KPSP Setia Kawan, Kecamatan Tutur Kabupaten Pasuruan.