

TESIS

**IDENTIFIKASI BAKTERI NON SPESIFIK
DALAM VAGINA DAN SERVIKS SERTA
KADAR PROGESTERON PADA KASUS KAWIN
BERULANG (*REPEAT BREEDING*) SAPI POTONG**

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS



Oleh

DANIATUL HIDAYATI

NIM 061814153001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**IDENTIFIKASI BAKTERI NON SPESIFIK
DALAM VAGINA DAN SERVIKS SERTA
KADAR PROGESTERON PADA KASUS KAWIN
BERULANG (*REPEAT BREEDING*) SAPI POTONG**

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS



Oleh

DANIATUL HIDAYATI

NIM 061814153001

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**IDENTIFIKASI BAKTERI NON SPESIFIK
DALAM VAGINA DAN SERVIKS SERTA
KADAR PROGESTERON PADA KASUS KAWIN
BERULANG (*REPEAT BREEDING*) SAPI POTONG**

PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS

TESIS

**untuk memperoleh gelar Magister
dalam Program Studi Biologi Reproduksi
pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya**

**DANIATUL HIDAYATI
NIM 061814153001**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul:

**IDENTIFIKASI BAKTERI NON SPESIFIK DALAM VAGINA
DAN SERVIKS SERTA KADAR PROGESTERON PADA KASUS
KAWIN BERULANG (*REPEAT BREEDING*) SAPI POTONG**

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, 24 Juli 2022



Daniatul Hidayati
061814153001

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI

Tanggal 25 Juli 2022

Oleh :

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Suherni Susilowati, drh., M. Kes.

NIP. 195906261987012001

Pembimbing



Suzanita Utama, drh., M.Phil., Ph.D.

NIP. 196110021990022001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Biologi Reproduksi
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Dr. Erma Safitri, drh., M.Si.

NIP. 196907231999032001

Usulan Penelitian Tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 25 September 2019

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Ketua : Prof. Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes.

Anggota : 1. Suzanita Utama, drh., M.Phil., Ph.D.
2. Dr. Erma Safitri, drh., M.Si.
3. Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si.
4. Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 25 Juli 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Erma Safitri, drh., M.Si.

Anggota :

1. Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si.
2. Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.
3. Prof. Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes.
4. Suzanita Utama, drh., M.Phil., Ph.D.

Surabaya, 5 Agustus 2022

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP.

NIP. 196201161992032001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur Kehadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan tesis dengan judul **“Identifikasi Bakteri Non Spesifik dalam Vagina dan Serviks serta Kadar Progesteron pada Kasus Kawin Berulang (*Repeat Breeding*) Sapi Potong”**. Penulis menyadari bahwa pelaksanaan penelitian hingga terselesaikannya tesis ini tidak terlepas dari bantuan banyak pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Suherni Susilowati, drh., M.Kes. selaku dosen pembimbing utama dan Suzanita Utama, drh., M.Phil., Ph.D. selaku dosen pembimbing serta, terima kasih atas kesediaannya dalam meluangkan waktu dan dengan sabar memberikan bimbingan, saran, dan nasihat yang berguna mulai awal hingga akhir penelitian sampai penyusunan tesis ini.

Dr. Erma Safitri, drh., M.Si. selaku ketua penguji sekaligus ketua Program Studi Biologi Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si. dan Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes. selaku dosen penguji tesis, terima kasih atas segala nasihat dan masukan yang diberikan kepada penulis demi kesempurnaan naskah tesis ini.

Almarhum Dr. Abdul Samik, drh., M.Si. terima kasih atas bimbingan dan

kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk ikut serta dalam proyek penelitian. Seluruh dosen beserta staf kependidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah banyak membantu dan membekali ilmu selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Keluarga tersayang Bapak Abdul Hamid, Ibu Siti Khabibah, suami tercinta; Akhmad Mujtaba serta saudara tak sedarah; Anita Kurniawati, Wahyu Panca Handayani, Banatul Murtafi'ah, terima kasih selama ini tidak henti-hentinya mendoakan dan memberi support hingga terselesaikannya penelitian dan pendidikan penulis.

Teman seperjuangan dalam menempuh pendidikan magister Maria Gladys Bupu Meze, Adinda Kresna, Ahmad Badiq Qolbi, Yuanara Augusta, Ahmad Budi Purnawan, I Made Erlangga, Endang Ariyanti, Tantri W.P., Fransiska Cicilia Beka, Puput Ade W., dan Nurusdiana, terima kasih sudah membantu, mendoakan dan mensupport. Semoga segala bantuan dan bimbingan kepada penulis menjadi sebuah amal ibadah yang akan dibalas oleh Tuhan Yang Maha Esa. Akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 25 Juli 2022

Penulis

RINGKASAN

IDENTIFIKASI BAKTERI NON SPESIFIK DALAM VAGINA DAN SERVIKS SERTA KADAR PROGESTERON PADA KASUS KAWIN BERULANG (*REPEAT BREEDING*) SAPI POTONG

Repeat breeding merupakan keadaan sapi betina yang mengalami gagal bunting setelah dikawinkan tiga kali atau lebih dengan pejantan fertil atau diinseminasikan dengan dengan semen pejantan fertil tanpa adanya abnormalitas yang teramati (Amiridis *et al.*, 2009). Kawin berulang pada dasarnya disebabkan karena kegagalan fertilisasi dan kematian embrio dini. Kedua hal ini dapat terjadi akibat faktor yang kompleks baik dari faktor pejantan, betina, maupun manajemen yang kurang tepat. Melihat kondisi iklim serta manajemen pemeliharaan di Indonesia, faktor terkait infeksi sub-klinis dan defisiensi hermon kebuntingan (progesteron) penting untuk diamati lebih lanjut sebagai salah satu penyebab kasus kawin berulang (*repeat breeding*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri non spesifik dalam vagina dan serviks serta mengukur kadar progesteron sapi potong yang mengalami *repeat breeding* di Mangaran, Situbondo. Identifikasi bakteri dilakukan dengan menumbuhkan isolat dari lendir vagina dan serviks yang diambil pada saat estrus pada media selektif dan diferensial kemudian dilakukan pewarnaan Gram, uji katalase dan uji biokimia. Pengukuran kadar progesteron dilakukan dengan metode *Enzym Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) dari serum darah yang diambil pada hari ke-28 pasca IB.

Hasil penelitian mengidentifikasi enam genus bakteri non spesifik yang tidak berbeda pada vagina dan serviks yaitu genus *Bacillus* sp., *Escherichia* sp., *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Sterptococcus* sp., dan *Enterobacter* sp. Pengukuran progesteron menunjukkan tiga dari lima belas sapi menunjukkan kadar yang tinggi dengan rata-rata 50,5 ng/ml dan dinyatakan bunting. Adapun 12 sampel

yang lain menunjukkan kadar progesteron rendah dengan rata-rata 5,56 ng/ml dan tidak menunjukkan adanya kebuntingan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa genus bakteri non spesifik yang teridentifikasi tidak berpengaruh terhadap kadar progesteron sapi potong.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi bakteri hingga tingkat spesies serta pengukuran kadar progesteron pada hari dan interval yang berbeda agar dapat diketahui pengaruhnya terhadap kasus *repeat breeding*.

SUMMARY

IDENTIFICATION OF NON SPECIFIC BACTERIAL IN VAGINA AND CERVIX AND MEASURE PROGESTERONE LEVEL IN REPEAT BREEDER BEEF CATTLE

Repeat breeding is a condition in which female cows show no signs of abnormalities but still could not conceive despite having been bred three or more times with fertile males or inseminated with fertile male's semen (Amiridis *et al.*, 2009). The repeat breeding is basically caused by the failure of fertilization or the premature death of the embryo. Both cases can happen because of complex factors coming from the male cows, the female cows, or the poor cattle management. Seeing the climate and farm management in Indonesia, some factors related to the sub-clinical infection and deficiency of pregnancy hormone (progesterone) are important to be further observed as the causes of repeat breeding.

This study aims to identify non-specific bacteria in the vagina and cervix and measure progesterone levels in beef cattle experiencing repeat breeding in Mangaran, Situbondo. The identification of the bacteria was carried out by growing bacterial isolates from vaginal and cervical mucus, which was collected during estrus day, on selective and differential media. The Gram staining, catalase test, and biochemical tests were then performed to obtain the result. The progesterone levels were measured using the Enzym Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) method using blood serum which were collected on the 28th day after the artificial insemination was performed.

The results of this research identified six genera of non-specific bacteria with no differences in the vagina and cervix, which were genus *Bacillus* sp., *Escherichia* sp., *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Sterptococcus* sp., and *Enterobacter* sp. The progesterone measurement showed that three out of fifteen repeat breeding beef cattle had high progesterone level with an average of 50.5 ng/ml and were declared pregnant, while the rest of the samples showed low

progesterone level with average 5.56 ng/ml and no signs of pregnancy. It can be concluded that the non-specific bacteria identified on vagina and cervix had no influence on the progesterone levels in beef cattle.

Further research is needed to analyze the bacteria to the species level and measure progesterone levels on different days and intervals in order to determine its effect on repeat breeding cases.

**IDENTIFIKASI BAKTERI NON SPESIFIK DALAM VAGINA DAN
SERVIKS SERTA KADAR PROGESTERON PADA KASUS KAWIN
BERULANG (*REPEAT BREEDING*) SAPI POTONG**

Daniatul Hidayati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri non spesifik dalam vagina dan serviks serta mengukur kadar progesteron sapi potong *repeat breeder*. Sebanyak lima belas ekor sapi potong di Mangaran, Situbondo digunakan sebagai sampel dengan kondisi tidak menunjukkan tanda kebuntingan setelah dilakukan dua kali IB tanpa adanya gangguan teramati. Identifikasi bakteri non spesifik dilakukan dengan mengisolasi bakteri dari isolat lendir vagina dan serviks yang diambil pada saat estrus. Pengambilan serum darah dilakukan pada hari ke-28 pasca IB. Hasil penelitian mengidentifikasi enam genus bakteri non spesifik yang tidak berbeda pada vagina dan serviks yaitu genus *Bacillus* sp., *Escherichia* sp., *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Sterptococcus* sp., dan *Enterobacter* sp. Hasil pengukuran progesteron diperoleh tiga dari lima belas sapi menunjukkan kadar yang tinggi dengan rata-rata 50,5 ng/ml dan dinyatakan bunting. Adapun 12 sampel yang lain menunjukkan kadar progesteron rendah dengan rata-rata 5,56 ng/ml dan tidak menunjukkan adanya kebuntingan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa genus bakteri non spesifik teridentifikasi pada sapi baik yang mengalami *repeat breeder* dengan kadar progesteron rendah maupun sapi potong yang mengalami kebuntingan dengan kadar progesterone tinggi.

Kata kunci: Sapi potong, Bakteri non spesifik, Vagina, Serviks, Progesteron,
Repeat Breeding

**IDENTIFICATION OF NON SPECIFIC BACTERIAL
IN VAGINA AND CERVIX AND MEASURE PROGESTERONE LEVEL
IN REPEAT BREEDER BEEF CATTLE**

Daniatul Hidayati

ABSTRACT

This research aims to identify non-specific bacteria found in vagina and cervix and measure the progesterone level in repeat breeding beef cattle. The purposive samples were taken in Mangaran, Situbondo, in 15 repeat breeding beef cattle that showed no abnormalities nor signs of pregnancy despite the second attempts of artificial insemination had been performed. To identify the non-specific bacteria, the mucus samples were collected on their estrus day and were isolated in selective and differential media. Blood samples were also collected 28 days after the artificial insemination to obtain serum. The result of the research identified six genera of non-specific bacteria with no differences on vagina and cervix, which were *Bacillus* sp., *Escherichia* sp., *Corynebacterium* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., and *Enterobacter* sp. The measurement of the progesterone level also showed that three out of the fifteen repeat breeding beef cattle had high progesterone level with an average of 50.5 ng/ml and were declared pregnant, while the rest of the samples showed low progesterone level with average 5.56 ng/ml and showed no signs of pregnancy. It can be concluded that the non-specific bacteria identified on vagina and cervix in both repeat breeder beef cattle with low progesterone level and pregnancy beef cattle with high progesterone concentration.

Key words: Beef Cattle, Non Specific Bacteria, Vagina, Cervix, Progesterone, Repeat Breeder

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
PERSETUJUAN	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRAK.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
DAFTAR ISI.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvix
DAFTAR GAMBAR	xx
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xxii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Kritis.....	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Sapi Potong	6
2.1.1 Sapi Potong di Kecamatan Mangaran	6
2.1.2 Anatomi dan Fisiologi Sapi Betina	7
2.1.3 Siklus Estrus pada Sapi	9

2.2 Hormon Progesteron	10
2.3 Inseminasi Buatan (IB).....	13
2.4 Kawin Berulang (<i>Repeat Breeding</i>)	14
2.4.1 Faktor Penyebab terjadinya Kawin Berulang.....	15
2.4.2 Kegagalan Fertilisasi	16
2.4.3 Kematian Embrio Dini	18
2.5 Gangguan Reproduksi pada Sapi Betina.....	19
2.6 Bakteri Spesifik dan Bakteri Non Spesifik	20
2.6.1 <i>Escherichia coli</i>	22
2.6.2 <i>Enterobacter aerogenes</i>	22
2.6.3 <i>Corynebacterium pyogenes</i>	22
2.6.4 <i>Streptococcus pyogenes</i>	23
2.6.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.7 Identifikasi Bakteri.....	24
2.7.1 Isolasi Bakteri.....	24
2.7.1.1 <i>Eosin Methylen Blue Agar</i> (EMBA).....	24
2.7.1.2 <i>Mac Conkey Agar</i> (MCA)	25
2.7.1.3 <i>Mannitol Salt Agar</i> (MSA).....	25
2.7.2 Pewarnaan Gram	25
2.7.3 Uji Biokimia.....	26
2.7.3.1 Uji Katalase	26
2.7.3.2 <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA)	26
2.7.3.3 <i>Sulphide Indol Motility</i> (SIM)	26
2.7.3.4 Sitrat.....	27
2.7.3.5 Urease	27
2.7.3.6 Uji MR-VP	27
2.8 Teknik ELISA	28
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....	32
3.1 Kerangka Konseptual.....	32
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.....	33
BAB 4 MATERI DAN METODE.....	35
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	35
4.2 Populasi dan Sampel	35
4.2.1 Populasi	35
4.2.2 Sampel.....	35
4.3 Definisi Operasional.....	35
4.4 Bahan dan Instrumen Penelitian.....	36
4.5 Waktu dan Tempat Penelitian	37

4.6 Prosedur Pegambilan dan Pengumpulan Data	37
4.6.1 Identifikasi Sapi.....	37
4.6.2 Koleksi Sampel Lendir Vagina dan Lendir Serviks	38
4.6.3 Koleksi Sampel Darah.....	38
4.6.4 Isolasi Bakteri.....	38
4.6.5 Pewarnaan Gram	39
4.6.6 Uji Katalase	39
4.6.7 Identifikasi Bakteri	40
4.6.8 Analisis Hormon Progesteron	41
4.7 Analisis Data.....	42
4.8 Kerangka Operasional.....	43
BAB 5 HASIL PENELITIAN	44
5.1 Identifikasi Bakteri.....	44
5.2 Analisis Hormon Progesteron	46
BAB 6 PEMBAHASAN.....	48
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	58
7.1 Kesimpulan	58
7.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	60

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1 Hasil identifikasi bakteri non spesifik dari lendir vagina dan serviks sapi potong yang mengalami <i>repeat breeding</i>	44
5.2 Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia bakteri non spesifik sapi potong yang mengalami <i>repeat breeding</i>	45
5.3 Hasil pengukuran kadar progesteron sapi potong <i>repeat breeder</i> pada hari ke-28 yang tidak bunting	46
5.4 Hasil pengukuran kadar progesteron sapi potong <i>repeat breeder</i> pada hari ke-28 yang mengalami kebuntingan	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Direct ELISA	29
2.2 Indirect ELISA	30
2.3 Sandwich ELISA.....	31
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	32
4.1 Kerangka Operasional Penelitian	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Media.....	64
2. Genus Bakteri Non Spesifik Teridentifikasi dalam Vagina dan Serviks Sapi Potong <i>Repeat Breeder</i>	67
3. Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia isolat lendir vagina dan serviks sapi potong <i>repeat breeder</i>	68
4. Hasil pengukuran kadar progesterone pada hari ke-28 pasca IB sapi potong <i>repeat breeder</i>	69

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

°C	=	Derajat celcius
BPS	=	Badan Pusat Statistik
CO ₂	=	Carbon dioksida
ELISA	=	<i>Enzyme Linked Immuno Assay</i>
EMBA	=	<i>Eosin Methylen Blue Agar</i>
FSH	=	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
H ₂ S	=	Dihidrogen sulfida
IB	=	Inseminasi Buatan
LH	=	<i>Luteinizing Hormone</i>
LPS	=	Lipopolisakarida
MCA	=	<i>MacConkey Agar</i>
MSA	=	<i>Mannitol Salt Agar</i>
NaCl	=	Natrium Clorida
NK	=	<i>Natural Killer</i>
PBS	=	Phosphate Buffered Saline
SCA	=	<i>Simmons Citrate Agar</i>
SIM	=	<i>Sulphide Indole Motility</i>
TSIA	=	<i>Triple Sugar Iron Agar</i>
UPSUS SIWAB	=	Upaya Khusus Sapi Induk Wajib Bunting