

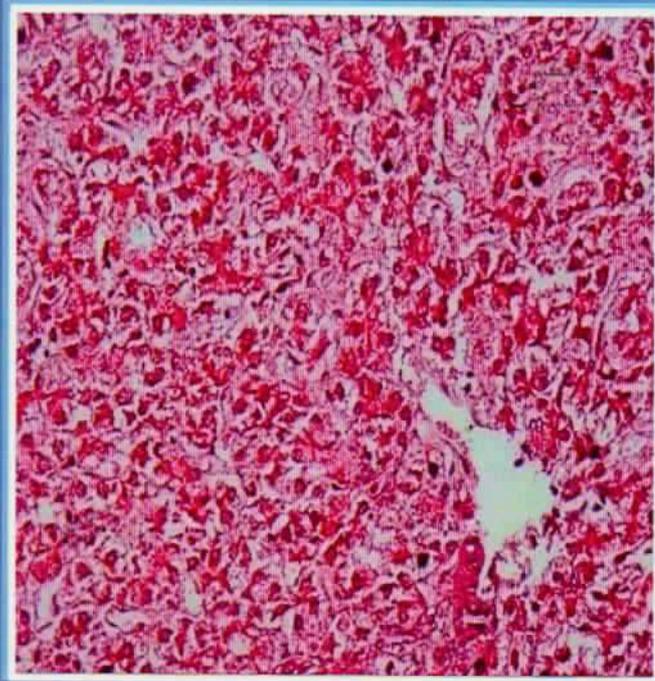
9

ISSN 2015-8930

MEDIA

Kedokteran Hewan

Veterinary Medicine Journal



Vol . 30 No. 1 Januari 2014

Media Kedokteran Hewan memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan Peternakan.

Terbit pertama kali tahun 1985 dengan frekuensi terbit tiga kali setahun pada bulan **Januari, Mei dan September.**

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting :

Widjiati

Sekretaris :

Suryo Kuncorojakti

Bendahara :

M. Gandul Atik Yulianti

Iklan dan Langganan :

Hardany Primarizky

Penyunting Pelaksana :

Sri Subekti

Agus Sujarwo

Suwarno

Epy M. Luqman

Ngakan Made Rai Widjaya

Mas'ud Hariadi

Suzanita Utama

Muhammad Yunus

Mirni Lamid

Penyunting Penyelia :

Lita Rakhma Yustinasari

Berty Ferijanti

Alamat Redaksi : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Tel. (031) 5992785 - 5993016; Fax (031) 5993015
E-mail : mkh_ua@yahoo.com

Rekening : Bank Mandiri a.n. Media Kedokteran Hewan FKH Unair
No Rek. 141-00-0714413-2

Kedokteran Hewan diterbitkan oleh **Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia (PDHI)**
dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Ketentuan Umum Penulisan Naskah

1. Ketentuan Umum
 - a. Media Kedokteran Hewan memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan Peternakan, berupa hasil penelitian, artikel ulasan balik (review/mini review) dan laporan kasus baik dalam Bahasa Indonesia maupun Bahasa Inggris.
 - b. Naskah/makalah harus orisinal dan belum pernah diterbitkan. Apabila diterima untuk dimuat dalam Veterinaria Medika, maka tidak boleh diterbitkan dalam majalah atau media yang lain.
2. Standar Penulisan
 - a. Makalah diketik dengan jarak 2 spasi, kecuali Judul, Abstrak, Judul tabel dan tabel, Judul gambar, Daftar Pustaka, dan Lampiran diketik menurut ketentuan tersendiri.
 - b. Alinea baru dimulai 3 (tiga) ketukan ke dalam atau (*First line 0,3"*).
 - c. Huruf standar untuk penulisan adalah Book Antiqua 11.
 - d. Memakai kertas HVS ukuran kuarto (8,5 x 11").
 - e. Menggunakan bahasa Indonesia atau bahasa Inggris.
 - f. Tabel/Illustrasi/Gambar harus amat kontras, juga menyertakan *file scanning* (foto) terpisah dengan makalah dengan format JPG. Keterangan tabel, Gambar atau penjelasan lain dalam lampiran diketik 1(satu) spasi.
3. Tata cara penulisan naskah/makalah ilmiah
 - a. Tebal seluruh makalah sejak awal sampai akhir maksimal 12-14 halaman.
 - b. Penulisan topik (Judul, Nama Penulis, Abstrak, Pendahuluan, Metode dst.) tidak menggunakan huruf kapital (*sentence*) tetapi menggunakan *Title Case* dan diletakkan di pinggir (sebelah kiri).
 - c. Sistematika penulisan makalah adalah Judul, Nama Penulis dan Identitas, Abstrak dengan Key words, Pendahuluan, Materi dan Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terima Kasih (bila ada), Daftar Pustaka dan Lampiran.
 - d. Judul harus pendek, spesifik, tidak boleh disingkat dan informatif, yang ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
 - e. Nama penulis di bawah judul, identitas dan instansi penulis harus jelas, tidak boleh disingkat dan ditulis di bawah nama penulis.
 - f. Abstrak maksimal terdiri dari 200 (dua ratus) kata, diketik 1 (satu) spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris.
 - g. Kata kunci (*key words*) maksimum 5 (lima) kata setelah abstrak.
 - h. Materi dan Metode memuat peralatan/bahan yang digunakan terutama yang spesifik.
 - i. Daftar Pustaka disusun secara alfabetik tanpa nomor urut. Singkatan majalah/jurnal berdasarkan tata cara yang dipakai oleh masing-masing jurnal. Diketik 1 (satu) spasi dengan paragraf *hanging 0.3"* dan before 3.6 pt. Proporsi daftar pustaka, Jurnal/Majalah Ilmiah (60%), dan *Text Book* (40%). Berikut contoh penulisan daftar pustaka berturut-turut untuk *Text Book* dan Jurnal.
 Roitt, L., J. Brostoff, and D. Male. 1996. *Immunology*. 4th Ed. Black Well Scientific Pub. Oxford.
 Staropoli, L., J.M. Clement, M.P. Frenkiel, M. Hofnung and V. Deuble. 1996. Dengue-1 virus envelope glycoprotein gene expressed in recombinant baculovirus elicits virus neutralization antibody in mice and protects them from virus challenge. *Am.J. Trop. Med. Hygi*; 45: 159-167.
 - j. Tabel, Keterangan Gambar atau Penjelasan lain dalam Lampiran diketik 1 (satu) spasi, dengan huruf Times New Roman 12.
4. Pengiriman makalah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan (*print out*) sebanyak 3 (tiga) eksemplar. Setelah ditelaah oleh Tim Editor MKH, makalah yang telah direvisi penulis segera dikembalikan ke redaksi dalam bentuk cetakan 1 (satu) eksemplar dengan menyertakan makalah yang telah direvisi dan 1 (satu) CD (Progam MS Word) dikirim ke alamat redaksi: **Media Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jalan Mulyorejo, Surabaya 60115, Telepon 031-599.2785; 599.3016; Fax. 031-599.3015; e-mail : mkh_ua@yahoo.com**
5. Ketentuan akhir

Terhadap naskah/makalah yang dikirim, redaksi berhak untuk:

 - a. memuat naskah/makalah tanpa perubahan
 - b. memuat naskah/makalah dengan perubahan
 - c. menolak naskah/makalah
6. Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah.
7. Makalah yang telah dimuat dikenai biaya penerbitan dan biaya pengiriman.
 Penulis/pelanggan dapat mengirimkan biaya pemuatan makalah/langganan lewat transfer
 Bank Mandiri a.n. Media Kedokteran Hewan FKH Unair No Rek. 141-00-0714413-2
8. harga langganan Rp 300.000,- (Tiga ratus ribu rupiah) pertahun sudah termasuk biaya pengiriman.
9. Semua keputusan redaksi tidak dapat diganggu gugat dan tidak diadakan surat menyurat untuk keperluan itu.

DAFTAR ISI

	Halaman
01 Korelasi Motilitas dengan Viabilitas dan Integritas Membran Sperma Kambing Boer Sebelum dan Sesudah Pembekuan (Nurul Isnaini)	1 - 6
02 Peningkatan Kualitas Semen Beku Kambing PE melalui Suplementasi Antioksidan α -tocoferol dalam Pengencer Semen untuk Inseminasi Buatan (Achadiyah Rachmawati dkk,)	7 - 24
03 Gambaran Radiografi Proses Kesembuhan Patah Tulang Femur pada Tikus Putih Jantan dengan Terapi Ekstrak Tikel Balung (<i>Cissus quadrangularis</i>) (Ira Sari Yudaniayanti dkk,)	25 - 36
04 Karakteristik Karkas, Keempukan Daging dan Kepualaman Daging Sapi di Manokwari (Andoyo Supriyantono dkk,)	37 - 44
05 Penentuan Konsentrasi Faktor Pertumbuhan <i>Insuline Like Growth Factor-1</i> (IGF-1) Hasil Biakan <i>Monolayer</i> Sel Hepar dan Sel Kumulus (Sri Mulyati dkk,)	45 - 50
06 Morfometri Ginjal dan Aorta Abdominalis Kucing Domestik Indonesia dengan Pendekatan Diagnostik Ultrasonografi Dua Dimensi (Deni Noviana dkk,)	51 - 60
07 Pemberian Ekstrak Etanol Biji Pepaya (<i>Carica papaya</i>) pada Tikus Betina (<i>Rattus novergicus</i>) Sebagai Alternatif Bahan Antifertilitas Terhadap Angka Fertilisasi (Yenny Puspitasari dkk,)	61 - 66
08 Potensi Suplementasi Potasium Klorida dan Sodium Bikarbonat Sebagai Thermotolerance Agent pada Hepar Broiler yang Terpapar Heat Stress Kronis (Septian Hakim Susantoputro dkk,)	67 - 74

**Penentuan Konsentrasi Faktor Pertumbuhan *Insuline Like Growth Factor-1* (IGF-1)
Hasil Biakan *Monolayer* Sel Hepar dan Sel Kumulus**

**Concentration determination of Growth Factor *Insuline Like Growth Factor-1* (IGF-1)
Produced by Liver and Cumulus Cells *Monolayer* Culture**

Sri Mulyati, Suzanita Utama, Laba Mahaputra

Departemen Reproduksi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Jalan Mulyorejo, Surabaya - 60115
Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993015
Email : vetunair@telkom.net

Abstrak

Sel kumulus dan sel-sel hepar (hepatosit) memiliki kemampuan untuk memproduksi IGF-1 melalui kultur *monolayer*, tetapi konsentrasi dan bioaktivitas dalam perkembangan embrio tidak jelas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisa dan menguji bioaktivitas IGF-1 yang dihasilkan dalam sel tersebut. Sel hepar dan sel kumulus dibiakkan dalam TCM 199 + FCS 10 %. Konsentrasi sel adalah $1,9 \times 10^6$ / ml dalam medium kultur diinkubasi dalam inkubator pada temperatur $38,5^{\circ}\text{C}$ 5 % CO_2 selama 3, 6, 9, dan 12 hari. Konsentrasi IGF-1 setelah dibiakkan diukur dengan IRMA. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa inkubasi 6 hari dihasilkan kultur *monolayer* paling *konfluen* dibandingkan dengan masa inkubasi yang lain; baik pada sel hepar maupun pada sel *cumulus*, sehingga menghasilkan konsentrasi tertinggi IGF-1. Dalam sel-sel hepar konsentrasi IGF-1 lebih tinggi dibandingkan dalam sel *cumulus*. Kesimpulan dari penelitian ini menyatakan bahwa kultur *monolayer* sel hepar dan sel kumulus sapi dapat menghasilkan IGF-1

Kata kunci: IGF-1, estrogen, progesteron, kultur *monolayer*, sel hepar (hepatosit), sel kumulus.

Abstract

Cumulus cells and liver cells (hepatocyte) have an ability to produce IGF-1 through monolayer culture, but the concentration and the bioactivity in embryo development was not clear. The aim of this study was to analysis and bioactivity test of IGF-1 there found in product cell. Liver cells culture of cattle was prepared by grinding liver tissue followed by trypsination and repeatedly centrifuged were obtained hepatocyte. Cumulus cells were obtained from aspirating ovarian follicles with diameter 2-6 mm. Liver and cumulus cells were cultured in TCM 199 + FCS 10% + BSA 10%. Cell concentration was 1.9×10^6 /ml medium then culture was incubated in incubator at $38,5^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 for 3, 6, 9 and 12 days. IGF-1 concentration after culture was measured by IRMA. The result of research showed that 6 days incubation period resulted the most confluent monolayer compared to the other

incubation period, either in liver or cumulus cells, therefore resulting the highest concentration of IGF-1. In liver cells IGF-1 concentration was higher compared to these of the cumulus cells. The conclusion of this research was that monolayer culture of bovine liver and cumulus cells could produce IGF-1.

Keywords: IGF-1, estrogen, progesterone, monolayer culture, liver cell (hepatocyte), cumulus cell.

Pendahuluan

Penerapan bioteknologi merupakan upaya meningkatkan efisiensi reproduksi ternak terutama guna mendapatkan ternak dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Embrio transfer merupakan salah satu cara yang dipandang efisien dan efektif dalam bidang reproduksi. Keberhasilan hal tersebut membutuhkan embrio yang berkualitas. Produksi embrio secara *in vivo* terbatas oleh kemampuan ternak betina donor untuk menghasilkan embrio. Untuk itu produksi embrio secara *in vitro* merupakan suatu alternatif produksi embrio. Dewasa ini teknologi reproduksi lebih terfokus pada fertilisasi *in vitro* yaitu proses mempertemukan dan bersatunya oosit dan spermatozoa di luar tubuh induk pada suatu media tertentu. Tahapan dalam fertilisasi *in vitro* meliputi koleksi oosit, pematangan oosit, koleksi spermatozoa, kapasitas spermatozoa dan penetrasi spermatozoa ke dalam zona pelusida oosit sampai terbentuknya *zygote*. Keberhasilan fertilisasi *in vitro* memberi harapan besar terhadap pengadaan embrio di masa depan (Yulnawati, 2006).

Di bidang kedokteran hewan, dengan fertilisasi *in vitro* organ reproduksi berupa ovarium yang merupakan limbah dari rumah potong hewan dapat dimanfaatkan sebagai sumber oosit. Di samping itu dengan berkembangnya

bioteknologi khususnya biologi molekuler, limbah ovarium dapat dimanfaatkan untuk memproduksi hormon *natural steroid* yaitu estrogen dan progesteron serta memproduksi *growth factor* yaitu *insulin like growth factor-1* (IGF-1) melalui biakan *monolayer* sel kumulus dengan menggunakan media tertentu. Penggunaan sel kumulus, sel epitel tuba Fallopii dan endometrium sapi sebagai ko-kultur dalam media biakan embrio telah dilaporkan dapat meningkatkan angka *cleavage* embrio, hal ini menunjukkan bahwa sel kumulus, sel epitel tuba Fallopii dan sel epitel endometrium menghasilkan substansi yang dapat memacu pertumbuhan embrio (Trilaksana, 2008).

Hepar merupakan tempat utama memproduksi IGF-1 sebagai hormon endokrin yang beredar dalam sirkulasi darah. Peningkatan *Growth Hormon* (GH) akan merangsang hepar untuk meningkatkan sekresi IGF-1 (Greenspan, 1994). Peranan GH adalah mengatur pertumbuhan tulang dan jaringan *extraskeletal* dengan mengontrol sekresi IGF-1. Sebagai *growth factor*, maka IGF-1 berperan sebagai pengatur pertumbuhan *postnatal* dengan jalan meningkatkan pertumbuhan *skeletal* melalui proliferasi *chondrocyte* dan meningkatkan pertumbuhan jaringan *extraskeletal* dengan jalan meningkatkan pembelahan sel dan sintesis protein (MacGillivray, 1995). Selain

diproduksi oleh sel hepar, IGF-1 juga diproduksi oleh beberapa jaringan yang bekerja secara endokrin, parakrin dan autokrin, seperti sel-sel di dalam ovarium, sel epitel tuba Fallopii, sel epitel endometrium (Hafez *et al.*, 2000). Penelitian untuk memproduksi *growth factor* (IGF-1) melalui biakan *monolayer* sel kumulus sapi sudah pernah dilakukan (Trilaksana, 2008), akan tetapi melalui biakan *monolayer* sel hepar sapi belum pernah dilakukan. Selama ini hepar hanya digunakan untuk memenuhi kebutuhan konsumsi sebagai sumber protein hewani. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk memanfaatkan hepar yang mempunyai peranan lebih penting sebagai penghasil utama IGF-1 melalui pembuatan kultur *monolayer* sel hepar (hepatosit) untuk memproduksi IGF-1. Di samping itu penggunaan hepar dalam penelitian ini adalah sebagai bahan alternatif/pengganti ovarium yang juga merupakan organ penghasil IGF-1.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan hepar dan ovarium sapi yang dipotong di rumah potong hewan (RPH) Pegirian Surabaya.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang dilaksanakan melalui tahapan penelitian, sebagai berikut :

1. Pembuatan biakan *monolayer* sel hepar dan sel kumulus dan pemanenan hasil biakan.
2. Penentuan konsentrasi faktor pertumbuhan *Insuline-like Growth Factor-1* (IGF-1) dengan teknik *Immuno Radio Matrix Assay* (IRMA).

Data yang diperoleh kemudian ditabulasikan. Sebelum dilakukan analisis statistik, dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov one sample* dan uji homogenitas dengan menggunakan uji *Levene's* terhadap data yang dikumpulkan. Analisis data jumlah sel *monolayer* dan penentuan konsentrasi IGF 1 diuji dengan uji F (ANAVA), dan untuk mengetahui tingkat signifikansinya diuji dengan *honesty significant different* (HSD) 5%. Semua perhitungan statistik dilakukan menggunakan program *SPSS 14.0 for Windows*.

Hasil dan Pembahasan

1. Jumlah Sel *Monolayer* Setelah Kultur

Pengamatan rata-rata dan standar deviasi jumlah sel *monolayer* pada perlakuan kombinasi antara asal sel dan lama kultur didapatkan rata-rata jumlah sel *monolayer* antara 40,00 - 71,25 % yang tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$) di antara perlakuan kombinasi tersebut (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata dan Standar Deviasi Jumlah Sel *Monolayer* (%) Setelah Kultur pada Perlakuan Kombinasi antara Asal Sel dan Lama Kultur

Asal sel	Lama kultur	Rata-rata \pm Std. Deviasi
Sel hepar	3 hari	60,00 \pm 16,733
	6 hari	71,25 \pm 10,878
	9 hari	62,50 \pm 8,563
	12 hari	40,00 \pm 0,000

Sel kumulus	3 hari	67,50 ± 8,563
	6 hari	70,63 ± 9,287
	9 hari	63,13 ± 12,500
	12 hari	49,38 ± 12,366

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa lama kultur hari ke 6 pada kultur sel hepar maupun sel kumulus menghasilkan jumlah sel yang lebih tinggi daripada hari ke 3, 9 dan ke 12. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Trilaksana (2008), bahwa pada kultur hari ke 6 merupakan waktu yang optimal untuk kultur sel karena sel sudah tumbuh membentuk sel yang konfluen (melekat sempurna). Pada kultur sel hari ke 3, sel belum melekat dan tumbuh secara sempurna di dasar cawan petri, sehingga jumlah sel yang dihasilkan masih sedikit. Sedangkan pada hari ke 9 dan 12, karena persediaan nutrisi dalam media kultur TCM 199 sudah mulai berkurang sehingga sudah mulai banyak sel yang tidak tumbuh atau mati sehingga

banyak yang mengambang di permukaan media.

2. Konsentrasi IGF-1 Hasil Kultur Sel *Monolayer*

Berdasarkan analisis statistik dengan uji F (Anava) Faktorial terhadap konsentrasi IGF-1 kultur dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan sangat bermakna dengan nilai probabilitas $p=0,000$ ($p<0,01$) pada efek utama asal sel pada berbagai lama kultur dan terdapat perbedaan sangat bermakna dengan nilai probabilitas $p=0,000$ ($p<0,01$) terhadap lama kultur pada berbagai asal sel, diketahui pula bahwa antara asal sel dan lama kultur menunjukkan interaksi yang sangat signifikan dengan nilai probabilitas $p=0,000$ ($p<0,01$).

Tabel 2. Rerata dan Standar Deviasi Konsentrasi IGF-1 (ng/ml) Hasil Kultur *Monolayer* Setelah Kultur pada Perlakuan Kombinasi antara Asal Sel dan Lama Kultur

Asal sel	Lama kultur	Rata-rata ± SD
Sel hepar	3 hari	76,38 ^b ± 20,539
	6 hari	223,44 ^c ± 68,233
	9 hari	122,81 ^{cd} ± 75,381
	12 hari	13,31 ^a ± 11,943
Sel kumulus	3 hari	78,94 ^{bc} ± 18,710
	6 hari	127,63 ^d ± 27,134
	9 hari	47,56 ^{ab} ± 43,941
	12 hari	24,56 ^a ± 20,513

Keterangan: superskrip berbeda pada kolom sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$)

Hasil uji perbandingan berganda dengan HSD 5% terhadap asal sel tidak ditampilkan karena hanya terdapat dua yaitu sel kumulus dan sel hepar, sehingga dapat dilihat pada uji F dan statistik diskriptif. Berdasarkan uji tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi IGF-1 kultur tertinggi didapatkan pada sel hepar yaitu sebesar 108,98 ng/ml yang menunjukkan perbedaan sangat bermakna ($p < 0,01$) dengan sel kumulus yaitu sebesar 69,67 ng/ml.

Berdasarkan uji perbandingan berganda dengan HSD 5% terhadap lama kultur dapat diketahui bahwa konsentrasi IGF-1 kultur tertinggi didapatkan pada 6 hari yaitu sebesar 175,53 ng/ml yang menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan lama kultur lain (3, 9 dan 12 hari). Konsentrasi IGF-1 kultur terendah didapatkan pada lama kultur 12 hari yaitu sebesar 18,94 ng/ml yang menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan lama kultur lain (3, 6 dan 9 hari). Diketahui pula bahwa lama kultur 3 hari (77,66 ng/ml).

Hasil uji perbandingan berganda dengan HSD 5% terhadap perlakuan kombinasi antara asal sel dan lama kultur menunjukkan bahwa konsentrasi IGF-1 kultur tertinggi didapatkan pada perlakuan kombinasi hepar hari ke 6 yaitu sebesar 223,44 ng/ml yang menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan perlakuan kombinasi lain. Konsentrasi IGF-1 kultur terendah didapatkan pada hepar hari ke 12 yaitu sebesar 13,31 ng/ml yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$) dengan kumulus hari ke 12 (24,56 ng/ml) dan kumulus hari ke 9

(47,56 ng/ml), tetapi menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan perlakuan kombinasi lain (Tabel 2).

Kesimpulan :

Konsentrasi faktor pertumbuhan (IGF-1) hasil kultur *monolayer* sel hepar lebih tinggi daripada sel kumulus. Konsentrasi faktor pertumbuhan (IGF-1) hasil kultur *monolayer* sel hepar dan sel kumulus diperoleh pada lama kultur 6 hari lebih tinggi dibandingkan pada lama kultur 12 hari.

Daftar Pustaka

- Greenspan FS, 1994. Basic and Clinical Endocrinology, 4th ed. Appleton and Lange.
- Hafez ESE, Jainudeen M and Rosnina Y, 2000. Hormones, Growth Factors, and Reproduction di dalam Reproduction in Farm Animals . 7th Edition. Lippincott William & Wilkins. Philadelphia.
- McGillivray MH, 1995. Disorders of Growth and Development in (Felig, P, J.D. Baxter and L.A. Frohman). Endocrinology and Metabolism. 3th ed. New York : McGraw-Hill, Inc. 1619-1639.
- Trilaksana IGNB, 2008. Penentuan Konsentrasi dan Uji Bioaktivitas Faktor Pertumbuhan dan Hormon Steroid Kelamin Produk Sel Monolayer Sel Kumulus dan Sel Epitel Tuba Fallopii Sapi Bali Sebagai Pemacu Pertumbuhan. Disertasi Program Pascasarjana Uniaiversitas Airlangga Surabaya.

Sri Mulyati, dkk. Penentuan Konsentrasi Faktor Pertumbuhan

Yulnawati, 2006. Optimalisasi Produksi Embrio Domba Secara *In Vitro* : Penggunaan Medium CR1aa dan Pengaruh Status Reproduksi Ovarium. Tesis Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.