

Penggunaan *Follicle Stimulating Hormone* dan *Pregnant Mare Serum Gonadotrophin* untuk Superovulasi pada Sapi Persilangan Brahman

The Application of Follicle Stimulating Hormone and Pregnant Mare Serum Gonadotrophin Hormone for Superovulation in Brahman Cross Cattle

Adriani*, B. Rosadi, & Depison

Fakultas Peternakan Universitas Jambi

Jln. Jambi Muaro Bulian Km 15 Mandalo Darat Jambi 36361

(Diterima 12-01-2009; disetujui 13-10-2009)

ABSTRACT

Twenty cattle were used in this experiment to determine the effect of administration follicle stimulating hormone (FSH) and pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) hormones on superovulation of Brahman cross cattle. The experiment was designed into completely randomized design with 5 treatments as follows. Treatments 1 (T1): 4 mg of FSH was injected twice a day intra-ovary, T2: 8 mg of FSH was injected twice a day intra-ovary, T3: 300 IU of PMSG was injected single dose intra-ovary, T4: 600 IU of PMSG was injected single dose intra-ovary, T5: 40 mg of FSH was injected intramuscular. All experimental cattle were oestrus synchronized using 15 mg of PGF2 α twice at 11-days intervals. Number of corpus luteum (CL) was detected by rectal palpation at day-7 after artificial insemination. Results showed that 19 cattle (95%) indicated oestrus sign. Eleven cattle (57.9%) showed oestrus sign 2 days after PGF2 α injection and the rest 8 cattle (42.1%) oestrus sign was detected at 3 days after PGF2 α injection. FSH and PMSG treatments increased significantly ($P < 0.05$) number of CL. The highest CL number was found in T5, meanwhile number of CL in T2 and T4 were higher compared to T1 and T3. The average treatment effect could produce 6.8 ± 5.42 CL with range 2–26 CL. On the other hand single dose treatment of 600 IU PMSG (T4) showed high significant number of non ovulatory (persistent) follicle compared to other treatments (T1, T2, T3 and T5) on average number of persistent follicle 2.0 ± 1.97 from 19 cattles. It is concluded that the best superovulation treatment was produced by injection 40 mg of FSH intra-musculary.

Key words: Brahman cross, corpus luteum, PMSG, FSH

PENDAHULUAN

Corpus luteum (CL) merupakan benda yang terbentuk pada tempat ovum diovulasikan dan umumnya dijadikan patokan untuk mende-teksti berapa jumlah ovum yang diovulasikan oleh seekor sapi. Secara alamiah sapi hanya mengovulasikan satu sel telur setiap periode birahi. Namun jumlah ovulasi ini bisa dipacu

* Korespondensi:

Fakultas Peternakan Universitas Jambi
Jln. Jambi MuaroBulian Km 15 Mandalo Darat Jambi 36361
e-mail: adrianiyogaswara@yahoo.com

dengan pemberian hormon secara eksogen seperti *follicle stimulating hormone* (FSH) dan *pregnant mare serum gonadotrophin* (PMSG) baik intramuskuler, intrauterin maupun intraovari (Price *et al.*, 1999; Adriani *et al.*, 2003; Duggavathi *et al.*, 2005; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2004). CL juga berfungsi sebagai penghasil progesteron yang sangat penting untuk memelihara kebuntingan. Semakin banyak dan semakin besar ukuran CL yang dihasilkan, semakin meningkat angka kebuntingan (Gasser *et al.*, 2006; MacNeil *et al.*, 2006).

Pemberian hormon gonadotropin eksogen seperti FSH (Duggavathi *et al.*, 2005) dan PMSG (Adriani *et al.*, 2004; Adriani *et al.*, 2007) merupakan gonadotropin yang telah digunakan secara ekstensif sebagai preparat untuk menghasilkan jumlah ovum yang akan diovolasikan lebih banyak dari kemampuan alami (superovulasi), namun dengan hasil yang bervariasi (Guilbault *et al.*, 1992; Bo *et al.*, 1998; Keffer *et al.*, 1993; Price *et al.*, 1999; Pfister-Genskow *et al.*, 2005; Lucifero *et al.*, 2006). Pemakaian hormon secara eksogen relatif mahal, sehingga perlu dicarikan metode pemberian yang lebih efektif. Pemberian hormon intramuskuler sudah umum digunakan (Walton *et al.*, 1991; Bertolini *et al.*, 2002; Gasser *et al.*, 2006; Perry *et al.*, 2007), tetapi data pemakaian intraovari masih sedikit.

Pemberian $\text{PGF}_2\alpha$ untuk sinkronisasi birahi intramuskuler memakai konsentrasi hormon yang lebih tinggi (20-30 mg) dibanding-

kan intrauterin (0,5-1 mg) (Gordon, 1996), dan intravulva sebanyak 5 mg (Galina & Arthur, 1990). Cara intraovari lebih menguntungkan karena hormon yang digunakan lebih sedikit sehingga lebih efisien tetapi memerlukan keahlian khusus. Hasil penelitian Adriani *et al.* (2006) mendapatkan bahwa penggunaan dosis FSH 2 mg dan 4 mg pada sapi simbrah mampu menghasilkan CL lebih rendah daripada pemberian FSH 40 mg intramuskuler. Pemberian FSH dicoba pada penelitian dengan dosis yang lebih tinggi dari dosis sebelumnya. Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian pengaruh pemberian hormon FSH dan PMSG dengan dosis yang lebih tinggi dari dosis sebelumnya terhadap kemampuan superovulasi yang dihasilkan dengan parameter jumlah CL pada sapi persilangan brahman.

MATERI DAN METODE

Percobaan menggunakan 20 ekor sapi persilangan brahman yang berusia 3-6 tahun, mempunyai bobot badan 332-485 kg, siklus birahi yang normal berdasarkan pengamatan 2 kali birahi, pernah beranak 1-2 kali, dan tidak mempunyai riwayat penyakit reproduksi. Rancangan acak kelompok digunakan pada penelitian ini yang terbagi menjadi 5 jenis perlakuan dan terdiri atas 4 kelompok (Tabel 1). Perlakuan dimulai hari ke-9 (h-0 saat estrus).

Sapi-sapi yang digunakan pada percobaan diadaptasikan dengan kondisi kandang

Tabel 1. Beberapa protokol superovulasi yang diujicobakan pada sapi persilangan brahman

Perlakuan	Uraian
T1	4 mg FSH, 2x sehari intraovari, dosis menurun 0,7; 0,6; 0,4; 0,3 selama 4 hari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ (h-12)
T2	8 mg FSH, 2x sehari intraovari, dosis menurun 1,4; 1,2; 0,8; 0,6 selama 4 hari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ (h-12)
T3	300 IU PMSG, dosis tunggal intraovari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ pada H-12, 250 μg GnRH saat estrus
T4	600 IU PMSG, dosis tunggal intraovari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ pada H-12, 250 μg GnRH saat estrus
T5	40 mg FSH, 2x sehari intramuskuler, dosis menurun 7, 6, 4, 3 selama 4 hari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ (h-12)

dan pakan selama 2 bulan. Masing-masing sapi diberi pakan konsentrat sebanyak 3 kg/ekor/hari. Tujuan adaptasi adalah untuk menyeragamkan kondisi tubuh sapi yang dipakai dalam percobaan. Sinkronisasi birahi dengan menggunakan PGF2 α (Fertagyl; Intervet Boxmeer, Holland) dilakukan setelah 2 bulan sebanyak dua kali dengan interval 11 hari dengan dosis 15 mg intramuskuler. Pemberian FSH (Ovagen; Immuno-chemical products Ltd, Auckland, New Zealand) dan PMSG (Folligon; Intervet Boxmeer, Holland) intramuskuler dan intraovari.

Teknis pelaksanaan intraovari dengan cara spuit yang berisi cairan hormon yang sudah dilengkapi dengan jarum ukuran 22G diletakkan dalam selongsong logam dengan panjang 30 cm dan diameter 1,8 cm. Sebuah batang pengendali jarum ujungnya diletakkan pada pangkal spuit dan ujung lainnya mencuat sampai keluar selongsong. Selongsong logam untuk memasukkan hormon dimasukkan ke dalam vagina sampai dekat pangkal serviks, ovarium ditarik dengan tangan yang masuk melalui rektum, ovarium didekatkan pada dinding vagina yang dekat dengan pangkal serviks. Jarum ditusukkan menembus dinding vagina sampai ujung jarum masuk ke dalam bagian medula dari ovarium.

Inseminasi buatan dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pertama 12 jam setelah tanda birahi terlihat, kemudian dilakukan lagi 12 jam berikutnya untuk menjamin terjadinya fertilitas yang tinggi. Tujuh hari setelah dilakukan inseminasi buatan, dilakukan penghitungan jumlah ovum yang diovolasikan dengan menghitung jumlah CL dengan cara palpasi rektal. Selain itu juga dihitung jumlah folikel yang belum ovulasi atau folikel menetap. Peubah yang diukur adalah waktu timbulnya birahi setelah perlakuan, jumlah CL, dan jumlah folikel menetap pada sapi persilangan brahman. Keragaman semua data yang dikumpulkan, serta pengaruh perlakuan dianalisa menggunakan sidik ragam sesuai dengan rancangan yang digunakan (Steel & Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Timbulnya Birahi

Sebanyak 19 ekor sapi (95%) dari 20 ekor yang digunakan pada penelitian ini memberikan respon yang baik terhadap perlakuan sinkronisasi birahi dengan menggunakan PGF2 α , sedangkan 1 ekor sapi (5%) tidak memberikan respon. Sapi yang tidak memberikan respon tidak memperlihatkan tanda-tanda birahi, tidak mau didekati dan dikawini pejantan. Setelah dilakukan pemeriksaan secara palpasi rektal ternyata juga tidak terdapat CL atau tidak ovulasi. Hasil penelitian ini sama dengan beberapa hasil penelitian terdahulu, yaitu keberhasilan birahi pada sapi-sapi Eropa berkisar antara 62,5%–100% (McMillan *et al.*, 1980; Pazaran, 1989). Sementara pemberian PGF2 α pada kambing menghasilkan angka birahi sebesar 88,2% (Adriani *et al.*, 2004)

Umumnya sapi memperlihatkan tanda-tanda birahi setelah 2-3 hari pemberian PGF2 α . Sebanyak 11 ekor sapi (57,9%) memperlihatkan tanda-tanda birahi setelah 2 hari pemberian PGF2 α , sementara sapi lainnya memperlihatkan tanda-tanda birahi setelah 3 hari pemberian PGF2 α , yaitu sebanyak 8 ekor (42,11%). Hasil ini relatif sama dengan hasil penelitian Hartantyo *et al.* (1983) bahwa sapi FH akan muncul birahi setelah pemberian PGF2 α sekitar 39–48 jam. Menurut Suzuki & Santo (1985), sapi yang telah diberi PGF2 α akan menimbulkan birahi 2–3 hari berikutnya, dan menurut Perry *et al.* (2007), sapi akan berahi kurang lebih 72 jam setelah pemberian PGF2 α .

Corpus Luteum (CL)

Jumlah CL pada sapi yang memperoleh perlakuan superovulasi dengan menggunakan hormon gonadotropin FSH dan PMSG yang merupakan gambaran keberhasilan superovulasi terdapat pada Tabel 2. Satu ekor sapi (5%) tidak memberikan respon terhadap perlakuan

superovulasi atau tidak ovulasi (tidak terdapat CL). Sementara sebanyak 19 (95%) ekor lainnya memberikan respon yang baik. Sapi yang tidak memberi respon ini berasal dari perlakuan pemberian hormon PMSG sebanyak 600 IU (T4).

Secara umum rata-rata jumlah CL yang dihasilkan dari penelitian ini termasuk kategori tinggi. Masing-masing perlakuan memberikan hasil CL yang berbeda. Perlakuan T5 memiliki jumlah CL yang sangat tinggi dengan rata-rata $13,8 \pm 8,42$, perlakuan T2 dan T4 memiliki rata-rata di atas enam, yaitu berturut-turut $6,6 \pm 2,06$ dan $6,3 \pm 3,51$, T1 dan T3 termasuk kategori sedang dengan rata-rata CL masing-masing adalah $3,3 \pm 0,96$ dan $4,5 \pm 1,26$. Menurut Schiling (1981), sapi yang mendapat perlakuan superovulasi dengan hormon secara ekso-gen dengan jumlah CL antara 0-2 termasuk kategori rendah, nilai 3-6 termasuk kategori sedang dan sapi yang menghasilkan CL di atas 6 termasuk kategori tinggi.

Perlakuan superovulasi menggunakan hormon FSH dan PMSG dapat meningkatkan jumlah CL yang dihasilkan ($P < 0,05$). Perlakuan T5 nyata lebih tinggi daripada perlakuan T1, T2, T3 dan T4, sementara perlakuan T2 dan T4 nyata lebih tinggi daripada perlakuan T1 dan T3. Tingginya jumlah CL yang dihasilkan sejalan dengan yang dikemukakan oleh Takadomi

et al. (1993) yang menyatakan bahwa super-ovulasi dengan menggunakan 38 mg FSH intramuskuler dosis menurun menghasilkan rata-rata CL sebesar 8,4 per donor. Yusuf (1990) menyatakan bahwa sapi Bali yang diberi perlakuan FSH untuk superovulasi menghasilkan rata-rata CL sebesar 3,0.

Perlakuan T5 dengan pemberian FSH intramuskuler merupakan perlakuan terbaik dari hasil penelitian ini. Hal ini diduga karena dosis yang diberikan telah sesuai dengan yang dianjurkan. Sementara pemberian intraovari masih sulit dibandingkan karena sangat sedikit data yang tersedia. Masih rendahnya CL yang dihasilkan intraovari dibandingkan dengan intramuskuler ini kemungkinan karena masih kurangnya dosis yang diberikan. Hasil penelitian Adriani *et al.* (2006) mendapatkan bahwa pemberian FSH intraovari sebanyak 2 dan 4 mg pada sapi simbrah menghasilkan CL sebanyak $3,0 \pm 1,2$ dan $4,5 \pm 1,73$.

Hasil CL yang didapat pada penelitian ini sedikit lebih tinggi daripada hasil penelitian lain, yaitu pada sapi FH yang diberi 28 mg FSH per donor dosis menurun didapatkan jumlah CL sebanyak 6,2 per donor (Guilbault *et al.*, 1992). Pemberian 40 mg FSH pada sapi simbrah dengan dosis menurun didapatkan jumlah rata-rata CL sebesar $9 \pm 4,68$ (Adriani *et al.*, 2006). Selain itu pemberian 4 mg FSH

Tabel 2. Jumlah *corpus luteum* (CL) pada sapi persilangan brahman berdasarkan perlakuan pemberian hormon FSH (follicle stimulating hormone) dan PMSG (pregnant mare serum gonadotrophin)

Perlakuan	Jumlah sapi (ekor)	Jumlah CL	Rataan CL	Kisaran jumlah CL
T1	4	13	$3,25 \pm 0,96^c$	2-2
T2	4	26	$6,60 \pm 2,06^b$	4-9
T3	4	17	$4,50 \pm 1,26^c$	3-6
T4	3	19	$6,30 \pm 3,51^b$	3-10
T5	4	55	$13,80 \pm 8,42^a$	7-26
Jumlah	19	130	$8,80 \pm 5,42$	2-26

Keterangan: superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$); T1=4 mg FSH, 2x sehari intraovari, dosis menurun 0,7; 0,6; 0,4; 0,3 selama 4 hari, 15 mg PGF₂α (h-12); T2=8 mg FSH, 2x sehari intraovari, dosis menurun 1,4; 1,2; 0,8; 0,6 selama 4 hari, 15 mg PGF₂α (h-12); T3=300 IU PMSG, dosis tunggal intraovari, 15 mg PGF₂α pada H-12, 250μg GnRH saat estrus; T4=600 IU PMSG, dosis tunggal intraovari, 15 mg PGF₂α pada H-12, 250μg GnRH saat estrus; T5=40 mg FSH, 2x sehari intramuskuler, dosis menurun 7, 6, 4, 3 selama 4 hari, 15 mg PGF₂α (h-12).

intraovari pada sapi simbrah juga memberikan CL sedikit lebih rendah, yaitu $3,0 \pm 1,15$. Kondisi ini diduga karena perbedaan jumlah FSH yang diberikan. FSH juga diberikan dengan jumlah 8 mg per donor pada penelitian ini. Kondisi ini diduga memberikan rangsangan yang lebih baik pada ovarium untuk menghasilkan ovum (Duggavathi *et al.*, 2005; Gasser *et al.*, 2006; Cushman *et al.*, 2007).

Semakin dekat titik pemberian hormon dengan sel target maka semakin sedikit konsentrasi hormon yang diberikan. Pemberian $\text{PGF}_2\alpha$ intramuskuler untuk sinkronisasi birahi sebesar 20-30 mg, sementara intrauterin 0,5–1 mg (Gordon, 1996). Menurut Galina & Arthur (1990), pemberian hormon intravulva sebanyak 5 mg menghasilkan respon yang sama dengan pemberian 25 mg intramuskuler.

Folikel Menetap

Folikel menetap atau folikel yang tidak diovulasikan sebagai respon perlakuan superovulasi dengan pemberian hormon gonadotropin FSH dan PMSG terdapat pada Tabel 3. Semakin sedikit jumlah folikel menetap yang ditemukan sebagai akibat perlakuan superovulasi, maka semakin baik hasil yang diperoleh.

Folikel menetap yang dihasilkan dari 19 ekor sapi sebanyak 38 dengan rata-rata $2,0 \pm 1,97$, dan kisaran folikel menetap adalah 0–6. Rataan jumlah folikel menetap yang dihasilkan pada penelitian ini masih tergolong baik (jumlahnya sedikit) dibandingkan hasil penelitian Walsh *et al.* (1993) yang menyatakan bahwa pemberian 24 mg FSH dosis berulang yang diberikan 1 kali dan 2 kali sehari mendapatkan jumlah folikel menetap masing-masing 2,8 dan 4,1. Penelitian lain dengan 30 mg FSH + PVP 30% dosis tunggal dan 30 mg FSH dosis berulang didapat jumlah folikel menetap masing-masing sebesar 3,2 dan 2,3 (Yamamoto *et al.*, 1995). Hasil ini sedikit lebih tinggi daripada penelitian pada sapi simbrah yang mendapatkan jumlah folikel menetap sebesar 1,5 (Adriani *et al.*, 2006). Adanya perbedaan ini diduga karena perbedaan dosis FSH dan PMSG yang digunakan pada perlakuan dan adanya perbedaan bangsa sapi yang digunakan.

Perlakuan pemberian PMSG 600 IU (T4) menghasilkan jumlah folikel menetap lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan perlakuan lainnya (T1, T2, T3, dan T5). Sementara perlakuan lainnya relatif sama atau tidak berbeda secara statistik. Kondisi ini diduga karena sapi yang mendapat perlakuan

Tabel 3. Jumlah folikel menetap pada sapi persilangan brahman berdasarkan perlakuan pemberian hormon FSH (follicle stimulating hormone) dan PMSG (pregnant mare serum gonadotrophin)

Perlakuan	Jumlah sapi (ekor)	Jumlah folikel menetap	Rataan folikel menetap	Sapi terdapat folikel menetap
T1	4	5	$1,25 \pm 1,50^b$	2
T2	4	3	$0,75 \pm 0,96^b$	2
T3	4	8	$2,00 \pm 1,83^b$	3
T4	3	13	$4,33 \pm 1,52^a$	3
T5	4	9	$2,25 \pm 2,63^b$	2
Jumlah	19	38	$2,00 \pm 1,97$	12

Keterangan: superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$); T1=4 mg FSH, 2x sehari intraovari, dosis menurun 0,7; 0,6; 0,4; 0,3 selama 4 hari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ (h-12); T2=8 mg FSH, 2x sehari intraovari, dosis menurun 1,4; 1,2; 0,8; 0,6 selama 4 hari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ (h-12); T3=300 IU PMSG, dosis tunggal intraovari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ pada H-12, 250 μg GnRH saat estrus; T4=600 IU PMSG, dosis tunggal intraovari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ pada H-12, 250 μg GnRH saat estrus; T5=40 mg FSH, 2x sehari intramuskuler, dosis menurun 7, 6, 4, 3 selama 4 hari, 15 mg $\text{PGF}_2\alpha$ (h-12).

T4 (PMSG 600 IU) mendapatkan jumlah PMSG yang lebih tinggi. PMSG sendiri mempunyai waktu paruh yang lebih panjang, yaitu sekitar 5–6 hari, sehingga terjadi pembentukan folikel dalam waktu yang lebih lama dari normal (Gordon, 1996; MacNeil *et al.*, 2006; Echternkamp *et al.*, 2007). PMSG juga menyebabkan ovulasi dalam beberapa tahap sampai konsentrasi progesteron hasil produksi CL pada tahap-tahap sebelumnya berhasil menghambat kerja PMSG tersebut (MacNeil *et al.*, 2006; Perry *et al.*, 2007; Cushman *et al.*, 2007). Pematangan folikel yang terakhir inilah yang tidak sempat ovulasi.

Terdapat 12 ekor sapi (63,2%) yang memiliki folikel menetap dari 19 ekor sapi yang memberi respon terhadap perlakuan superovulasi dengan pemberian FSH dan PMSG, sedangkan 7 ekor sapi lainnya (36,8%) tidak menghasilkan folikel menetap. Hanya terdapat 2 ekor sapi yang mempunyai folikel menetap untuk masing-masing perlakuan pada perlakuan yang menggunakan FSH sebagai hormon eksogen untuk merangsang superovulasi, yaitu perlakuan T1, T2, dan T5. Perlakuan yang menggunakan PMSG sebagai hormon eksogen untuk superovulasi menghasilkan 3 ekor sapi yang mempunyai folikel menetap. Hal ini diduga karena PMSG mempunyai waktu paruh yang lebih lama dibandingkan dengan FSH, sehingga aktivitas PMSG dalam menumbuhkan folikel masih terus berlanjut walaupun sudah ada ovum yang diovolasikan, sehingga folikel tersebut belum ovulasi (Mapletoft *et al.*, 2002). Menurut Gordon (1996), waktu paruh PMSG mencapai 5–6 hari, sementara waktu paruh FSH hanya 2–5 jam.

KESIMPULAN

Perlakuan yang paling baik dalam menghasilkan CL pada sapi adalah FSH 40 mg per donor intramuskuler.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada DP2M diucapkan terima kasih atas dana Hibah Bersaing dengan nomor

Kontrak 007/SP2H/DP2M/III/2008 Tanggal 6 Maret 2008. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Kepala Balai Pembibitan Ternak Unggul Dwiguna Sapi dan Ayam Sembawa Sumatra Selatan beserta staf dan Kepala Balai Embrio Transfer Cipelang Bogor beserta staf yang telah banyak membantu sarana dan prasarana demi lancarnya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, A. Sudono, T. Sutardi, W. Manalu, & I-K. Utama.** 2003. Optimalization of kids and milk yield of Etawah-Grade does by superovulation and zinc supplementation. *J. Forum Pascasarjana IPB.* 26:335-352.
- Adriani, A. Sudono, T. Sutardi, W. Manalu, & I-K. Utama.** 2004. The effect of superovulation and dietary zinc in does on the prepartum and postpartum growth of her kids. *J. Pengembangan Peternakan Tropis* 29:177-183.
- Adriani, Depison, B. Rosadi, Y. Supriondo, & Isroli.** 2006. Peningkatan populasi sapi simbrah melalui bioteknologi reproduksi dan penyimpanan embrio beku. *J. Penelitian Universitas Jambi Seri Sains.* 8:55-62.
- Adriani, A. Sudono, T. Sutardi, W. Manalu, & I-K. Utama.** 2007. Prenatal growth in uterus of does by superovulation. *Hayati J. Biosci.* 14:44-48.
- Bertolini M., S. W. Beam, H. Shim, L. R. Bertalini, A. L. Mayer, T. R. Famula, & G. B. Anderson.** 2002. Growth development, and gene expression by in vivo and in vitro-produced day 7 and 16 bovine embryos. *Mol. Reprod. Dev.* 63:318–328.
- Bo, G.A., H. Tribulo, M. Caccia, & R. Tribullo.** 1998. Superovulatory response of beef heifers treated with estradiol benzoate, progesterone and CIDR-B vaginal device. *Theriogenology* 49: 375 (Abst).
- Cushman, R. A., M. F. Alan, R. M. Thallman, & L.V. Cundiff.** 2007. Characterization of biological types of cattle (cycle III): Influence of postpartum interval and estrous cycle length on fertility. *J. Anim. Sci.* 85:2156-2162.
- Duggavathi, R., P. M. Bartlewski, E. Agg, S. Flint, D. M. W. Barrett, & N. C. Rawlings.** 2005. The effect the manipulation of follicle stimulating hormone (FSH)-peak characteristics on follicular wave dynamics in sheep: Does an ovarian-independent endog-

- enous rhythm in FSH secretion exist. *Biol. Reprod.* 72:1466-1474.
- Echternkamp, S. E., R. A. Cushman, M. F. Allan, R. M. Thallman, & K. E. Gregory.** 2007. Effects of ovulation rate and fetal number on fertility in twin-producing cattle. *J. Anim. Sci.* 85:3228-3238.
- Galina, C. S. & G. H. Arthur.** 1990. Review on cattle reproduction in the tropics. Pnt 4. Oestrous cycles. *Anim. Breeding.* 58:697-707.
- Gasser, C. L., G. A. Bridges, M. L. Mussard, D. E. Grum, J. E. Kinder, & M. L. Day.** 2006. Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. *J. Anim. Sci.* 84:2050-2056.
- Gonzalez-Bulnes, A., C. J. H. Souza, B. K. Campbell, & D. T. Baird.** 2004. Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth. *Anim Repd. Sci.* 84:107-119.
- Gordon, I.** 1996. *Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes.* CAB International, Oxon, UK.
- Guilbault, L. A., J. G. Lussier, & F. Grasso.** 1992. Interrelationship of hormonal and ovarian responses in superovulated response heifers pretreated with FSH-P at the beginning of the estrous cycle. *Theriogenology* 37: 1027-1040.
- Hartantyo, S., S. Subagyo, & M. Untoro.** 1983. Pengaruh prostaglandin terhadap performans reproduksi sapi PO. *Proc. Pertemuan Ilmiah Ruminansia Besar.* Puslitbangnak, Balitbang, Deptan. Bogor.
- Keffer C. L., S. L. Stice, & J. Dobrinsky.** 1993. Effect of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone during bovine in vitro maturation on development following in vitro fertilization and nuclear transfer. *Mol. Reprod. Dev.* 36:469-474.
- Lucifero D., J. Suzuki, V. Bordignon, J. Martel, C. Vigneault, J. Therrien, F. Filion, L.C. Smith, & J. M. Transler.** 2006. Bovine SNRPN methylation imprint in oocytes and day 17 in vitro-production and somatic cell nuclear transfer embryos. *Biol. of Reprod.* 75:531-538.
- MacNeil, M. D., T. W. Geary, G. A. Perry, A. J. Roberts, & L. J. Alexander.** 2006. Genetic partitioning of variation in ovulatory follicle size and probability of pregnancy in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:1646-1650.
- Mapletoft, R. J., K. B. Steward, & G. P. Adams.** 2002. Recent advances in the superovulation in cattle. *Repr. Nutr. Dev.* 42:601-611.
- McMillan, K. L., R. I. Henry, V. K. Terife, & P. Philips.** 1980. Calving patterns in seasonal dairy herds. *New Zealand Veterinary J.* 38:151-155.
- Pazaran, H. A. G.** 1989. Effect of reduction doses of PGF 2 α administered into the uterus of Holstein Frisian cows. *Anim. Breeding.* Abstr. 57: 294.
- Perry, G. A., M. F. Smith, A. J. Roberts, M. D. MacNeil, & T. W. Geary.** 2007. Relationship between size of ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:684-689.
- Pfister-Genskow, M, C. Mayer, L. A. Childs, J. C. Larson, T. Peterson, & J. M. Betthaoser.** 2005. Identification of differentially expressed genes in individual bovine preimplantation embryos produced by nuclear transfer; Improper Reprogramming of gene required for development. *Biol. Reprod.* 72: 546-555.
- Price C. A., P. D. Carriere, N. Gosselin, H. Kahran, & L. A. Guilbault.** 1999. Effects of superovulation on endogenous LH secretion in cattle, and consequences for embryos production. *Theriogenology* 51:37-46.
- Schiling.** 1981. Ergebnisse von superovulation sbeherd lungen variabilitat und deren ursachen. *Fachtagung, Wels.*
- Steel R. G. D. & J. H. Torrie.** 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika.* PT. Gramedia Pustaka Utama Jakarta.
- Suzuki, T. & H. Santo.** 1985. *A Textbook for the Training Course in cattle Embryo Transfer.* Fukushima National Livestock Breeding Station. Japan International Cooperation Agensi.
- Takadomi, T., Y. Aoyogi, M. Konishi, H. Kishi, K. Taya, G. Watanabe, & S. Sasamoto.** 1993. Superovulation in Holstein heifers by single injection of FSH using PVP. *Theriogenology* 39: 327 (Abst).
- Walsh, J. H., R. Mantovani, R. T. Duby, E. W. Overstrow, J. R. Dobrinsky, J. F. Roche, & M. P. Boland.** 1993. Superovulatory response in beef heifers following once on twice daily pFSH injection. *Theriogenology* 39: 335-342.
- Walton, J. S., M. L. Goodwin, & K. E. Leslie.** 1991. Gonadotrophin-induced accessory corpora lutea in cow and equine philosophy for the support of bovine pregnancy. *J. Dairy Sci. (Suppl. 1),* 198-204.

- Yamamoto, M., M. Ooe, M. Kawaguchi, & T. Suzuki.** 1995. Dose response to a single intramuscular injection of FSH dissolved in PVP. *Theriogenology* 41: 747-755.
- Yusuf, T. L.** 1990. Pengaruh prostaglandin F- alfa gonadotropin terhadap aktivitas estrus dan superovulasi dalam rangkaian kegiatan transfer embrio pada sapi Fries Hollan, Bali dan Peranakan Ongole. Disertasi Pascasarjana. IPB, Bogor.