

**PENINGKATAN ONSET ESTRUS DAN LAJU OVULASI DOMBA EKOR GEMUK (*Ovis aries*)
MELALUI PENGIMBASAN CAIRAN FOLIKEL SAPI
*INCREASING ONSET ESTRUS AND OVULATION RATE FAT TAIL EWE (*Ovis aries*) BY
FOLLICULAR FLUID INDUCTION***

Oleh:

Rusdin

Program Studi Produksi Ternak Fakultas Pertanian, Universitas Tadulako, Palu

Telp./Fax. 0451-429738

(Diterima: 28 Desember 2005, disetujui: 5 Juli 2006)

ABSTRACT

The objective of this study was to explore response of the fat tail ewe on increasing prolificacy by bovine follicular fluid (bFF) induction. This study was conducted from March 2003 until May 2004 at the Station of Animal Breeding and Forage, Livestock Services, East Java Province, Garahan-Silo, Jember. The measured responses of bFF induction were onset of estrus and ovulation rate. The study was implemented by using Completely Randomized Design (CRD) with four treatments of follicular fluid volume induction, i.e., bFF_{0.0 ml}, bFF_{3.5 ml}, bFF_{7.0 ml}, and bFF_{10.5 ml}. Each treatment was replicated six times. Results of the study indicated that the bFF induction significantly and highly significantly ($P < 0.01$) affected the onset of estrus and ovulation rate. The onset of estrus of bFF_{10.5 ml} took place 290.74 hours after the induction that was highly significant ($P < 0.01$) compared to bFF_{0.0 ml} (81.98 hours), bFF_{3.5 ml} (88.09 hours), and bFF_{7.0 ml} (180.19 hours). The bFF_{7.0 ml} also had higher ovulation rate (1.67) and highly significant difference ($P < 0.01$) compared to bFF_{3.5 ml} (1.17 head) than bFF_{10.5 ml} (1,00) and bFF_{0.0 ml} (1,00).

PENDAHULUAN

Domba termasuk dalam subfamili Caprinae, famili Bovidae, genus *Ovis*, dan spesies *Ovis aries*. Indonesia mempunyai dua bangsa domba yang telah beradaptasi dengan baik pada kondisi lingkungan dan sistem pengelolaan, baik secara intensif maupun ekstensif. Bangsa domba tersebut adalah Domba Ekor Pipih (DEP) atau domba Jawa Ekor Kurus (JEK) (Wodzicka-Tomaszewska dkk., 1991) dan Domba Ekor Gemuk (DEG), dengan daerah penyebaran yang berbeda. DEP/JEK dijumpai pada daerah relatif lembab, seperti Jawa Barat, sedlajun DEG pada daerah relatif kering, seperti Jawa Timur, Nusa Tenggara (Sutama, 1993; Heriyadi dkk., 2002), dan di sebagian wilayah kabupaten Donggala (Sulawesi)

(Devendra dan McLeroy, 1982), yakni di daerah perbukitan Lembah Palu, Sulawesi Tengah.

Laju kelahiran atau jumlah anak seke-lahiran setiap ekor induk merupakan kompo-nen penting dalam mengukur produktivitas domba. Di peternakan rakyat Lembah Palu Sulawesi Tengah, prestasi reproduksi, utama-nya domba betina tergolong rendah, yang terlihat dari jumlah anak sekelahiran setiap ekor induk rata-rata satu ekor. Keadaan ini merupakan masalah yang dihadapi baik oleh peternak maupun oleh pemerintah daerah pada subsektor peternakan, yang sampai saat ini belum diperoleh pemecahannya.

Salah satu cara yang harus dilakukan untuk mempercepat peningkatan populasi domba adalah

anterior disertai penghambatan fungsi reseptor FSH pada sel granulosa folikel, sehingga apa-bila penghambatan tersebut dihentikan, terjadi perangsangan serentak pertumbuhan dan perkembangan beberapa folikel (multiple folliculogenesis). Melalui mekanisme ini, diharapkan dapat meningkatkan laju ovulasi (ovulation rate). Metode ini relatif sederhana melalui penggunaan cairan folikel (CFs), yang mudah diperoleh dan sebagai limbah Rumah Potong Hewan (RPH) serta pemurnian CFs yang bebas steroid mudah dilakukan. Mengingat hal tersebut, maka perlu suatu pemecahan untuk peningkatan keefisienan reproduksi ternak.

Pilihan pemecahan penggunaan pertumbuhan folikel, di antaranya melalui pemanfaatan CFs, yang mengandung faktor penghambat (inhibitor), di antaranya inhibin dan FSH reseptor binding-inhibitor (FSH-RBI). Melalui mekanisme umpan balik negatif-nya menyebabkan penghambatan sekresi FSH secara endogen dari pituitary anterior disertai penghambatan fungsi reseptor FSH pada sel granulosa (Hamilton dkk., 1992). CFs mengandung inhibin dan FSH-RBI yang merupakan salah satu hormon tak-steroid kelompok protein yang dapat dikumpulkan dari CFs (bovine follicular fluid/bFF) (McNeilly, 1985 dalam McNeilly dan Wallace, 1987), cairan folikel domba (ovine follicular fluid/oFF) (McNeilly, 1996), serta cairan folikel kerbau (buffalo follicular fluid/buFF) (Campbell dkk., 1995; Singh dkk., 1997).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan keseluruhan kegiatan penelitian mulai 01 Maret

2003 sampai 10 Maret 2004. Kegiatan penelitian dilaksanakan di tiga tempat, yaitu: di Laboratorium Reproduksi Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Jatinangor Bandung, dengan kegiatan yang dilakukan berupa koleksi cairan folikel ovarium sapi yang peroleh di Rumah Potong Hewan (RPH) Ciroyom dan Kopo Cirangrang, milik Dinas Pertanian Kota Bandung. Kegiatan isolasi cairan folikel sapi (CFs) yang mengandung hormon tak-steroid dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Universitas Jember. Selanjutnya aplikasi pengimbasan CFs yang mengandung hormon tak-steroid hasil isolasi yang pelaksanaannya dalam dua tahap (tahap awal dan pengamatan atau koleksi data) dilaksanakan di UPT Balai Pembibitan Ternak dan Hijauan Makanan Ternak (BPT-HMT) Dinas Peternakan Jawa Timur, Garahan-Silo, Jember.

Metode Penelitian dan Perancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen (laboratorium dan lapangan) berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 4 perlakuan dan 6 ulangan (Steel dan Torrie, 1982; Gaspersz, 1991; Gomez dan Gomez, 1984). Volume CFs pada perlakuan penelitian ini didasarkan pada metode McNeilly dan Wallace (1987) menggunakan cairan folikel sapi (CFs). Volume pengimbasan CFs yang digunakan sebagai perlakuan, yaitu 3,5, 7, dan 10,5 ml, yang diimbaskan dua kali sehari (Pukul 09.00 dan 17.00) selama 2 hari berturut-turut pada hari ke-9 dan ke-10 tahap pertumbuhan corpus luteum (tahap luteal). Perlakuan dan ulangan yang diberikan dirinci: CFs_{0,0 ml} = mendapat perlakuan NaCl fisiologis 0,0 ml setiap ekor, sebanyak 6 ekor, CFs_{3,5 ml} = mendapat

folikel volume 10,5 ml setiap ekor, sebanyak 6 ekor.

Koleksi Cairan Folikel

Koleksi cairan folikel sapi (CFs) dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama, dilakukan pengambilan ovarium dari RPH, kemudian pemilihan folikel dominan (FD) dan melakukan teknik aspirasi untuk koleksi CFs menggunakan disposable injeksi 10 ml. Tahap Kedua, dilakukan untuk tujuan koleksi CFs sampai memenuhi volume yang dibutuhkan (\pm 600 ml). Pengambilan ovarium dilakukan setiap hari (pukul 13.00 – 17.00 dan malam hari pukul 20.00 – 03.00 dini hari), yang disesuaikan dengan waktu pelaksanaan penyembelihan. Ovarium di setiap RPH ditampung dalam toples kecil yang telah diisi \pm 50 ml larutan NaCl fisiologis dan ditambahkan antibiotika (penisilin 100 IU/ml dan streptomycin 0,1 mg/ml). Aspirasi CFs dilakukan dari semua jenis folikel dominan berdiameter 4–20 mm. CFs yang diperoleh setiap harinya dimasukkan ke dalam botol volume 60 ml. Selama koleksi CFs, semua botol yang terisi CFs ditutup rapat agar tidak terkontaminasi dengan unsur asing dan bakteri, lalu disimpan dalam lemari es bersuhu 5° C. Beberapa saat sebelum CFs dibawa ke laboratorium, CFs yang terdapat di dalam beberapa botol volume 60 ml dimasukkan ke dalam satu botol volume 600 ml. Pada saat CFs dibawa ke laboratorium, suhu tetap terjaga (5° C) dengan cara bahan CFs dimasukkan ke dalam termos es yang diisi dengan es batu. Setiba di laboratorium, CFs dimasukkan ke dalam lemari es kembali yang bersuhu 5° C, guna menunggu proses isolasi. Isolasi untuk pemisahan hormon steroid dan tak-steroid dengan penambahan charcoal dextran coated ke dalam CFs dengan perbandingan 5

mg/ml (McNeilly, 1996). Sesaat sebelum dilakukan sentrifus, CFs dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge 200 ml (sebanyak 4 tabung), kemudian ditambah charcoal dextran coated pada masing-masing tabung sentrifus dengan perbandingan 5mg/ml. Hal ini sesuai metode yang dilakukan McNeilly (1984 dalam McNeilly dan Wallace, 1987). Selanjutnya, campuran CFs dan charcoal dextran coated diaduk hingga homogen pada suhu kamar selama satu jam, kemudian disentrifus bersuhu 4° C pada 1.500 grav. (\pm 3.000 rpm) selama 30 menit, agar dapat terpisah hormon steroid dan tak-steroid. CFs mengandung hormon tak-steroid diperoleh dengan menuang CFs dari tabung sentrifus 200 ml ke dalam erlenmeyer 250 ml secara perlahan-lahan, agar hormon steroid yang terikat oleh charcoal dextran coated dan yang menempel pada dinding tabung sentrifus, tidak bercampur lagi. CFs yang mengandung hormon tak-steroid hasil isolasi, sebelum disuntikkan pada domba betina percobaan sesuai volume perlakuan, terlebih dahulu disimpan pada freezer -20° C, agar kualitasnya tetap terjaga.

Teknik Pengimbasan Cairan Folikel pada Domba Percobaan

Dari 24 ekor induk DEG percobaan, enam ekor di antaranya tidak diimbas cairan folikel (CF_{0,0 ml}), tetapi mendapatkan suntikan (pengimbasan) NaCl fisiologis 3,5 ml (placebo) pada keenam ekor induk DEG untuk mendapat perlakuan pengimbasan yang sera-gam. Selanjutnya, induk DEG percobaan lain-nya masing-masing enam ekor diimbas dengan CFs bebas steroid sesuai dosis perlakuan CFs; 3,5 ml, 7,0 ml, dan 10,5 ml. Teknik pengim-basan melalui penyuntikan pada intra venus (i.v) 2 kali setiap hari, yakni hari ke-9

jugularis. Sebelum dilakukan pengimbasan CFs pada hari ke-9 dan ke-10 daur estrus (McNeilly dan Wallace, 1987) terlebih dahulu dilakukan penyamaan estrus dengan menggunakan PGF_{2α} (Prosolvin, Bayer Indonesia) dengan dosis 7,5 mg setiap pengimbasan, yakni sore hari dari pukul 16.00 sampai pukul 17.00 (Hermans dkk., 1981; Atmamihardja, 1982; Evans dan Maxwell, 1987) secara intra muskuler (i.m) di daerah otot paha kaki belakang pada hari ke-11 daur estrus (setelah 13 jam pelaksanaan pengimbasan cairan folikel) (McNeilly dan Wallace, 1987).

Pengamatan Onset Estrus dan Laju Ovulasi

Pengamatan onset estrus dan laju ovulasi dilakukan untuk memperoleh gambaran waktu (hari) terjadinya pertumbuhan dan perkembangan folikel serta ovulasi sebagai pengaruh perlakuan. Pengamatan gejala estrus dilakukan tiga kali dalam sehari, yaitu pada pagi hari antara pukul 05.00 sampai 10.00, siang hari antara pukul 13.00 sampai 16.00, dan malam hari antara pukul 20.00 sampai 23.00 selama 3 hari berturut-turut, setelah hari terakhir perlakuan injeksi cairan folikel (hari ke-11, ke-12, dan ke-13) atau

setelah 1-2 hari injeksi PGF_{2α}, sampai semua domba induk percobaan menunjukkan gejala estrus. Gejala estrus yang diamati yaitu; tingkah laku menaiki, dan gejala diam bila dinaiki domba kawannya atau melalui deteksi berahi menggunakan pejantan pengusik.

Onset estrus diamati terhadap setiap individu domba induk percobaan saat pertama memperlihatkan tanda estrus, baik melalui pengamatan secara cermat terhadap perubahan tingkah laku maupun melalui bantuan penanda menggunakan pejantan. Cara perhitungan nilai yang menunjukkan onset estrus pada semua DEG percobaan, dilakukan setelah waktu pengimbasan cairan folikel terakhir (perhitungan waktu nol adalah waktu terakhir pengimbasan cairan folikel) hingga waktu awal penampakan gejala estrus.

Pengamatan laju ovulasi dilakukan melalui pengamatan jumlah Corpus Luteum (CL) yang tumbuh DEG percobaan pada umur kebuntingan 45 hari, dengan metode laparoscopy (Harrison dan Wildt, 1980). Tujuan pelaksanaan endoscope laparoscopy ditujukan untuk mengamati dan mengetahui ovulasi jamak melalui pengamatan dan penghitungan jumlah CL yang tumbuh dalam satu daur

Tabel 1. Rerata Pengaruh Perlakuan terhadap Onset Estrus DEG Percobaan

Perlakuan	Jumlah DEG (ekor)	Onset Estrus (jam)
CF _{S0,0 ml}	6	81,98 a
CF _{S3,5 ml}	6	88,09 a
CF _{S7,0 ml}	6	180,19 b
CF _{S10,5 ml}	6	290,74 c

Keterangan: CF_{S0,0 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 0,0 ml, CF_{S3,5 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 3,5 ml, CF_{S7,0 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 7,0 ml, CF_{S10,5 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 10,5 ml. Huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05).

Berdasarkan data yang tercantum pada Tabel 1, waktu onset estrus beragam antara 81,99 jam sampai 290,74 jam pada 24 ekor DEG percobaan. Rerata onset estrus pada DEG percobaan yang cepat terjadi pada $CF_{S_{0,0}}$ ml (81,98 jam), diikuti $CF_{S_{3,5}}$ ml (88,09 jam), $CF_{S_{7,0}}$ ml (180,19 jam), dan $CF_{S_{10,5}}$ ml (290,74 jam). Makin meningkat volume pengimbasan cairan folikel, makin lama timbulnya onset estrus.

Berdasarkan analisis sidik ragam, perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap onset estrus DEG percobaan. Hal tersebut disebabkan oleh pengaruh pengimbasan CF s tak-steroid yang menghambat sekresi FSH pituitary anterior. Secara bersamaan, terjadi penghambatan FSH-RBI pada sel granulososa, sehingga menyebabkan reseptor FSH tidak aktif, yang selanjutnya perkembangan folikel dalam proses folikulogenesis terhenti sementara waktu. Peningkatan volume pengimbasan menyebabkan peningkatan waktu penghambatan sekresi FSH pituitary anterior, yang mengakibatkan konsentrasi FSH dalam darah menurun hingga mencapai aras basal dan dalam waktu bersamaan aktifitas reseptor FSH pada sel granulososa juga terhenti. Setelah kurun waktu tertentu, daya kerja CF s tak-steroid dengan sifat hambatnya menghilang, sehingga segera terjadi sekresi FSH pituitary anterior ke sirkulasi darah dan dalam waktu bersamaan, reseptor FSH pada sel granulososa kembali aktif, yang memungkinkan terjadinya proses folikulogenesis. Makin meningkatnya ukuran folikel dominan yang mencapai tahap folikel de Graaf, makin meluasnya antrum folikel, yang berisi CF dengan konsentrasi estradiol-17 β tinggi.

Setelah dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), ternyata $CF_{S_{10,5}}$ ml berbeda sangat nyata lebih lama ($P < 0,01$) daripada $CF_{S_{0,0}}$ ml, $CF_{S_{3,5}}$ ml, dan $CF_{S_{7,0}}$ ml, demikian halnya $CF_{S_{7,0}}$ ml berbeda sangat nyata lebih lama ($P < 0,01$) dari $CF_{S_{0,0}}$ ml dan $CF_{S_{3,5}}$ ml terhadap onset estrus. Sebaliknya, $CF_{S_{3,5}}$ ml tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P > 0,05$) dibanding $CF_{S_{0,0}}$ ml terhadap onset estrus.

Menurut Webb dan Gauld (1987) dan Ahmad dkk. (1996), perkembangan folikel tahap sekunder hingga mencapai tahap folikel de Graaf merupakan tahap mulai terbentuknya reseptor FSH pada sel granulososa oleh FSH-RBI, dan atas rangsangan FSH, maka sel granulososa mensekresi estradiol-17 β . Secara fisiologis, seiring dengan peningkatan konsentrasi estradiol-17 β dalam darah dan menjelang waktu ovulasi, konsentrasi estradiol-17 β akan mencapai suatu tingkatan maksimum (Fortune, 1993; Ginther dkk., 1997), sehingga DEG percobaan memperlihatkan onset estrus.

Pengaruh Perlakuan terhadap Laju Ovulasi

Rerata pengaruh perlakuan terhadap laju ovulasi DEG percobaan disajikan pada Tabel 2. Dari data pada Tabel 2, laju ovulasi tertinggi terjadi pada $CF_{S_{7,0}}$ ml (1,67), diikuti perlakuan $CF_{S_{3,5}}$ ml (1,17), $CF_{S_{0,0}}$ ml, dan $CF_{S_{10,5}}$ ml (masing-masing 1,00). Berdasarkan analisis sidik ragam, perlakuan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap laju ovulasi DEG percobaan. Setelah dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), ternyata $CF_{S_{7,0}}$ ml berbeda sangat nyata lebih baik ($P < 0,01$) dibanding $CF_{S_{0,0}}$ ml, $CF_{S_{3,5}}$ ml, dan $CF_{S_{10,5}}$ ml. Perbedaan tidak nyata ($P > 0,05$) terjadi antara $CF_{S_{0,0}}$ ml dengan $CF_{S_{3,5}}$ ml dan $CF_{S_{10,5}}$ ml.

Didasarkan hasil pengamatan di

Tabel. 2. Rerata Pengaruh Perlakuan terhadap Laju Ovulasi DEG Percobaan

Perlakuan	Jumlah DEG (ekor)	Ovulasi
CF _{S0,0 ml}	6	1,00 a
CF _{S3,5 ml}	6	1,17 a
CF _{S7,0 ml}	6	1,67 b
CF _{S10,5 ml}	6	1,00 a

Keterangan: CF_{S0,0 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 0,0 ml, CF_{S3,5 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 3,5 ml, CF_{S7,0 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 7,0 ml, CF_{S10,5 ml} = Perlakuan pengimbasan cairan folikel sebanyak 10,5 ml. Huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

pituitary ke dalam sirkulasi darah. Hal demikian menyebabkan terjadinya akumulasi FSH optimum untuk disekresi, yang menyebabkan terjadinya perkembangan FD lebih banyak (multiple folikulogenesis) mencapai tahap folikel de Graaf dan hingga ovulasi dibanding perlakuan lain (CF_{S0,0 ml}, CF_{S3,5 ml}, dan CF_{S10,5 ml}).

Laju ovulasi yang rendah pada DEG percobaan, diduga disebabkan; pertama, dengan hanya mengandalkan daya hambat inhibin endogen yang menyebabkan daya kerja blocking sekresi FSH pada pituitary anterior berlangsung singkat, sehingga tidak terjadi akumulasi sekresi FSH ke dalam sirkulasi darah (pada perlakuan CF_{S0,0 ml}). Akibat dari kejadian ini, FSH yang disekresi oleh pituitary anterior hanya mampu merangsang pertumbuhan folikel satu (mono folikulogenesis) hingga mencapai FD de Graaf, selanjutnya folikel lainnya diduga terjadi atresia sebelum proses ovulasi. Kedua, walau terjadinya penambahan daya kerja blocking FSH pada pituitary oleh inhibitor, sebagai akibat pengimbasan cairan folikel eksogenous mengandung hormon tak-steroid, namun penghambatan sekresi FSH pituitary anterior tidak berlangsung lama.

Kenyataan ini diduga belum terjadi akumulasi sekresi FSH pituitary, sehingga mengakibatkan folikel yang tumbuh mencapai FD de Graaf pada gelombang folikel dan mencapai ovulasi juga hanya satu (mono ovulation). Ketiga, bila terjadi blocking sekresi FSH pituitary terlalu lama dengan adanya penambahan daya kerja inhibin endogenous sebagai akibat pengimbasan CFs tak-steroid eksogen yang terlalu banyak (perlakuan CF_{S10,5 ml}), diduga waktu terjadinya sekresi FSH tidak sesuai dengan waktu pertumbuhan gelombang folikel. Kejadian ini menunjukkan bahwa folikel yang tumbuh sesuai dengan pertumbuhan gelombang folikel berpeluang untuk terjadi atresia, atau diduga juga terjadi hanya 1 (satu) FD sekunder yang terangsang sempurna oleh FSH hingga tumbuh dan berkembang mencapai ovulasi. Hal ini sejalan dengan pendapat Hafez (1993) bahwa semakin banyak sel granulosa, akan diikuti pula oleh peningkatan reseptor LH, di saat folikel de Graaf mendekati waktu ovulasi.

KESIMPULAN

1. Volume pengimbasan cairan folikel (CF_{S3,5 ml}, CF_{S7,0 ml}, dan CF_{S10,5 ml}) berpengaruh sangat nyata

2. Volume pengimbasan CFs_{7,0} ml berpenga-ruh nyata memperlambat onset estrus (onset of estrus), namun hanya berpengaruh nyata meningkatkan laju ovulasi atau ovulasi jamak (ovulation rate).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad N., S.W. Beam, W.R. Butler, D.R. Deaver, R.T. Duby, D.R. Elder, J.E. Fortune, L.C. Griel, L.S. Jones, Jr., R.A. Milvae, J.L. Pate, I. Reva, D.T. Schreiber, Jr., D.H. Townson, P.C.W. Tsang, and E.K. Inskeep. 1996. Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cow and heifers. *J. Anim. Sci.* 74: 1943–1952.
- Atmahiardja, S. 1982. “Derajat Kebuntingan Kambing Kacang yang Berahinya Diseragamkan Dengan Prostaglandin F-2a Serta Dikawinkan Secara Alam, Inseminasi Buatan Dengan Mani Cair dan Mani Beku Butiran”. Tesis. Fakultas Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Campbell, B.K., B.M. Gordon, C.G. Tsonis, and R.J. Scaramuzzi. 1995. The effect of acute immunoneutralisation of inhibin in ewes during the early luteal phase of the oestrous cycle on ovarian hormone secretion and follicular development. *J. Endoc.* 145: 479–490.
- Devendra, C. and G.B. McLeroy. 1982. *Goat and Sheep Production in The Tropics*. Longman Group, Ltd., London.
- Evans, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. *Salamon’s Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths, Sidney.
- Fortune, J.E. 1993. Follicular dynamics during the bovine oestrus cycle: A limiting factor in improvement of fertility. *Anim. Reprod. Sci.* 33: 111–125.
- Gasferzs, V. 1991. *Teknik Analisis Dalam Penelitian Percobaan*. Tarsito, Bandung.
- Ginther, O.J., K. Kot, L.J. Kulick, and M.C. Wiltbank. 1997. Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: Oestradiol concentration early in a follicular wave. *J. Reprod. Fertil.* 109(2): 181–186.
- Gomez, K.A dan A.A. Gomez. 1984. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian*. Edisi kedua. Terjemahan E. Syamsuddin dan S. Baharsyah. 1995. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Hafez, E.S.E. 1993. “Anatomy of Female Reproduction”. Pp. 20–35. In: E.S.E. Hafez (ed.), *Reproduction in Farm Animals*. 6th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Hamilton, S.A., Z.Z. Xu, K.R. Kieborz, R.S. Youngquist, and H.A. Garverick. 1992. Relationship between ovarian follicular dynamics and follicle stimulating hormone levels during the bovine oestrus cycle. *J. Anim. Sci.* 70 (Suppl. 1 Abs. 492): 261.
- Harrison, R.M. and D.E. Wildt. 1980. *Animal Laparoscopy*. Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Heriyadi, D., A. Anang, D.C. Budinuryanto, dan H. Hadiana. 2002. *Standarisasi Mutu Bibit Domba Garut*. Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian Universitas Padjadjaran, Bandung. (Tidak dipublikasikan).
- Hermans, W.P., M.H.M. Debets, E.C.M. VAN LEEUWEN, and F.H. de JONG. 1981. Time-related secretion of gonadotrophins after a single injection of steroid-free bovine follicular fluid in prepubertal and adult female rats. *J. Endoc.* 90: 69–76.
- McNeilly, A.S and J.M. Wallace. 1987. “The Effect of Follicular Fluid on Ovulation in The Ewe”. Pp. 119–127. In: J.F. Roche and D. O’ Callaghan (Eds.). *Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm*

- McNeilly, A.S. 1996. Reference from Medical Research Council. MRC Reproductive Biology Unit Centre for Reproductive Biology, Edinburgh.
- Singh, S.K., S.K. Agarwall, M.C. Yadav, and U. Shankar. 1997. Effect charcoal extracted buffalo follicular fluid (buff) on onset of estrus, subsequent cycle length and luteal function in crossbred cattle. *J. Buffalo*. 13(3): 289–295.
- Steel, R.G.D and J.H. Torrie. 1982. Principles and Procedures of Statistics. McGraw–Hill, Inc., New York.
- Sutama, I.K. 1993. Domba Ekor Gemuk di Indonesia: Potensi dan Permasalahannya. Pros. Sarasehan Usaha Ternak Domba dan Kambing Menyongsong Era PJPT II. Bogor, 13–14 Desember 1992. ISPI–HPDKI, Bogor. Hal. 78–84.
- Webb, R. and I.K. Gauld. 1987. “Folliculogenesis in Sheep: Control of Ovulation Rate”. Pp. 107–118. In: J.F. Roche and D. O’ Callaghan (Eds.), Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm Animals. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht.
- Wodzicka–Tomaszewska, M., I.K. Sutama, I.G. Putu, dan T.D. Chaniago. 1991. Reproduksi, Tingkah Laku, dan Produksi Ternak di Indonesia. PT. Gramedia, Jakarta.