

Waktu Ovulasi dan Angka Kebuntingan pada Sapi Perah yang Mengalami Kawin Berulang setelah Pemberian GnRH, Vitamin ADE dan Infusi Iodium Povidon

Ovulation Time and Pregnancy Rate in Dairy Cows that Have Repeat Breeding After Giving GnRH, Vitamin Ade and Povidone Iodine Infusion

Yuliati Wahyu Setyorini¹, Surya Agus Prihatno^{2*}

¹Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul Sapi Perah Baturraden Banyumas, Jawa Tengah

²Departemen Reproduksi dan Obstetri, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Corresponding author, Email: prihatno@ugm.ac.id

Naskah diterima: 9 Maret 2022, direvisi: 18 Maret 2022, disetujui: 30 Maret 2022

Abstract

The pregnancy rate in dairy cows that experience repeated mating is very low. The impact of economic losses on farmers is very real due to low productivity. This study aims to determine the time of ovulation and pregnancy rate in dairy cows that experienced repeated mating after administration of GnRH, vitamin ADE and infusion of povidone-iodine. A total of 24 female FH dairy cows have given birth, aged 3-6 years, and have repeated mating. Cows were divided into 4 groups consisting of 6 heads per treatment group. Group P1 as control, group P2 were given GnRH dose of 250 g per head, group P3 was given vitamin ADE at a dose of 5 ml and infusion of 1% povidone-iodine intrauterine. The P4 group was given vitamin ADE, 1% intra-uterine povidone-iodine infusion, and GnRH. Synchronization of oestrus using Prostaglandin F2 α to uniform the time of onset of oestrus. All oestrus cows were mated by artificial insemination (AI). Examination of ovulation time perrectally less than 12 hours, 12 to 24 hours, and more than 24 hours after the end of oestrus and pregnancy rates using ultrasonography (USG) at 30-45 days and rectal palpation at 60-90 days after insemination. Analysis of the results using descriptions and Kruskal-Wallis test. The results of the analysis showed that the time of ovulation was not significantly different ($P>0.05$) and the need for the treatment group was significantly higher than the control group ($P<0.05$). It was concluded that the administration of GnRH, vitamin ADE and iodine infusion of povidone to dairy cows that experienced repeated mating was able to increase the pregnancy rate.

Keywords: dairy cows; GnRH; iodine povidone; pregnancy; repeated mating

Abstrak

Angka kebuntingan pada sapi perah yang mengalami kawin berulang sangat rendah. Kerugian secara ekonomi bagi peternak sangat nyata disebabkan rendahnya produktivitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu ovulasi dan angka kebuntingan pada sapi perah yang mengalami kawin berulang setelah pemberian GnRH, vitamin ADE dan infusi iodium povidon. Sebanyak 24 ekor sapi perah FH betina pernah beranak, umur 3-6 tahun, mengalami kawin berulang, dan digunakan dalam penelitian ini. Sapi dibagi 4 kelompok terdiri dari 6 ekor per kelompok perlakuan. Kelompok P1 sebagai kontrol, kelompok P2 diberi GnRH dosis 250 μ g per ekor, kelompok P3 diberi vitamin ADE dengan dosis 5 ml dan infusi iodium povidon 1% secara intra uterus. Kelompok P4 diberi vitamin ADE, infusi iodium povidon 1% intra uterus, dan GnRH. Sinkronisasi estrus menggunakan Prostaglandin F2 α dengan tujuan menyeragamkan waktu timbulnya estrus. Semua sapi estrus dikawinkan secara insiminasi buatan (IB). Pemeriksaan waktu ovulasi secara perrektal kurang dari 12 jam, 12 sampai 24 jam dan lebih dari 24 jam setelah estrus berakhir dan angka kebuntingan menggunakan *ultrasonography* (USG) pada 30-45 hari dan palpasi rektal pada 60-90 hari setelah inseminasi. Analisa hasil menggunakan deskripsi dan Kruskal-Wallis test. Hasil analisis menunjukkan ketepatan waktu

ovulasi tidak berbeda secara signifikan ($P>0,05$) dan angka kebuntingan kelompok perlakuan lebih tinggi dibanding kontrol secara signifikan ($P<0,05$). Disimpulkan pemberian GnRH, vitamin ADE dan infusi iodium povidon pada sapi perah yang mengalami kawin berulang mampu meningkatkan angka kebuntingan

Kata kunci: GnRH, iodium povidone; kawin berulang, kebuntingan, sapi perah

Pendahuluan

Latar Belakang

Repeat breeding (kawin berulang) pada sapi perah merupakan salah satu gangguan reproduksi yang menyebabkan kerugian ekonomi cukup besar bagi peternak karena jumlah inseminasi yang lebih banyak, jarak beranak yang panjang, dan penurunan produksi. Sapi yang mengalami kawin berulang (*repeat breeding*) adalah sapi betina yang mempunyai siklus dan periode estrus normal, sudah dikawinkan tiga kali atau lebih dengan pejantan fertil atau diinseminasi buatan dengan semen pejantan fertil tetapi tetap belum bunting (Robert, 1986)

Kejadian kawin berulang pada sapi persilangan sekitar 36% (Azeez *et al.*, 2017), 25,96% (Arun *et al.*, 2020), pada sapi perah di Daerah Istimewa Yogyakarta 29,4 % (Prihatno *et al.*, 2013), sapi perah di India tertinggi 51,94% (Harichandan *et al.*, 2018), dan 23,60% (Aruna *et al.*, 2021). Penyebab dasar kawin berulang adalah kegagalan fertilisasi dan kematian embrio dini. Kegagalan fertilisasi dan kematian embrio dini disebabkan gangguan hormon, kesalahan manajemen, dan infeksi (Robert, 1986). Di bawah kondisi lapangan, kawin berulang dikaitkan terutama dengan endometritis subklinis, defisiensi korpus luteum dan ovulasi tertunda (Stolla dan de Kruif, 1999., Parkinson 2009). Waktu ovulasi yang tertunda (*delayed ovulation*) merupakan salah satu faktor penyebab gagal fertilisasi dan kawin berulang (Parkison, 2009)

Beberapa penelitian yang pernah dilakukan baik di dalam dan luar negeri terhadap pemberian GnRH, vitamin ADE dan iodium povidon secara terpisah pada sapi anestrus maupun pada kasus kawin berulang. Pemberian analog GnRH dan vitamin ADE pada sapi dara anestrus mampu meningkatkan angka kebuntingan yang lebih tinggi dibanding yang tidak diberi perlakuan (Sarker *et al.*, 2015). Penelitian yang berkaitan dengan penggunaan

infusi iodium povidon 1% pada 6 hari sebelum atau sesudah inseminasi dapat meningkatkan angka kebuntingan dan menurunkan *days open* (Rayos *et al.*, 2002., Ahmed dan Elseikh, 2014). Iodine povidon merupakan antiseptik dengan aktivitas antimikrobial spektrum luas, memiliki efek mikrobisidal yang kerjanya cepat dan berkesinambungan, aktif melawan bakteri gram positif dan negatif, spora bakteri, jamur, protozoa dan beberapa jenis virus mampu menetralkan mikroba yang ada dalam uterus. Zobel *et al.* (2010) membuktikan dengan protokol *double ovsynch* dapat meningkatkan angka kebuntingan pada sapi perah yang mengalami kawin berulang. Keskin *et al.* (2010) melaporkan bahwa pemberian prostaglandin F₂ α dan GnRH pada saat inseminasi buatan (IB) menghasilkan angka kebuntingan 25%. Berbagai upaya penanganan kawin berulang yang telah dilakukan ternyata tidak mengkaji waktu ovulasi dan angka kebuntingannya bervariasi dan oleh karena itu peneliti ingin mengetahui waktu ovulasi dan angka kebuntingan pada sapi perah setelah pemberian GnRH, vitamin ADE dan infusi iodium povidon. Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah menjadi alternatif metode penanganan yang dapat diaplikasikan untuk meningkatkan angka kebuntingan pada sapi perah yang mengalami kawin berulang.

Materi dan Metode

Persetujuan Etik

Semua perlakuan terhadap hewan dan sampel dalam penelitian ini telah disusun sesuai dengan standar operasional penelitian ilmiah dan telah mendapatkan *Ethical Clearance* dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada dengan nomor 00092/04/LPPT/VIII/2017.

Desain penelitian

Sebanyak 24 (dua puluh empat) ekor sapi perah bangsa *Friesian Holstein* (FH)

terpilih yaitu ada korpus luteum, sudah pernah beranak 1-4 kali, tidak sedang bunting, umur 3 sampai 6 tahun, skor kondisi tubuh (SKT) 2,75-3,25, mengalami kawin berulang yaitu sudah dilakukan inseminasi dua kali atau lebih tetapi belum bunting, secara klinis sehat serta memiliki siklus reproduksi normal milik Balai Besar Pembibitan Ternak Unggul Hijauan Pakan Ternak (BBPTUHPT) Baturraden, Baturraden, Jawa Tengah. Pemberian pakan hijauan berupa rumput dan legume sekitar 55 kg/ekor/hari dan konsentrat sebanyak 12 kg/ekor/hari sesuai kebutuhan sapi periode laktasi. Kecukupan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Sapi perah dibagi ke dalam 4 kelompok terdiri dari 6 ekor per kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan (P) 1 sebagai kontrol, kelompok P2 diberi GnRH (*Gonadorelin*, Fertagyl™, Intervet, International B.V., Boxmer, Holland) dosis 250 µg per ekor segera setelah IB, kelompok P3 diberi vitamin ADE dosis 5 ml per ekor secara intramuskuler (Vigantol-E®, Bayer, tiap ml mengandung vitamin A Palmitate 300.000 IU, vitamin D₃ 100.000 IU, dan vitamin E acetate 50 mg) sebanyak 2 kali dengan selang waktu 11 hari dan Infusi iodium povidon 1% sebanyak 200 ml per ekor secara intra uterus. Kelompok P4 diberi Vitamin ADE, Infusi iodium povidon 1%, dan GnRH segera setelah IB. Sinkronisasi estrus dilakukan pada semua sapi menggunakan Prostaglandin F2α dengan tujuan menyeragamkan waktu timbulnya estrus.

Semua sapi estrus dikawinkan secara inseminasi buatan (IB).

Pemeriksaan waktu ovulasi pada ovarium dilakukan secara palpasi rektal dan USG setiap 12 jam setelah estrus berakhir dan hasil pemeriksaan dikategorikan pada kelompok waktu ovulasi kurang dari 12 jam, 12 sampai 24 jam dan lebih dari 24 jam. Waktu ovulasi ditentukan dari menghilangnya folikel dominan dengan diameter lebih dari 10 mm sehari setelah estrus secara tiba-tiba (Putro, 2008).

Pemeriksaan kebuntingan dilakukan menggunakan *ultrasonography* (USG) pada 30-45 hari dan palpasi rektal pada 60-90 hari setelah inseminasi. Analisa hasil dilakukan secara deskripsi dan uji Kruskal-Wallis

Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian terhadap waktu ovulasi dan angka kebuntingan pada sapi perah yang mengalami kawin berulang setelah pemberian GnRH, vitamin ADE dan iodine povidon 1% terlihat pada Tabel 1.

Hasil penelitian menunjukkan waktu ovulasi pada kelompok P1 terjadi sebelum 12 jam sebesar 16,7%, 12-24 jam sebesar 66,7%, diatas 24 jam sebesar 16,7 % setelah estrus berakhir dengan angka kebuntingan sebesar 16.7%. Pada kelompok P2 waktu ovulasi terjadi sebelum 12 jam sebesar (66,7%) dan 12-24 jam sebesar 33,3% dengan angka kebuntingan sebesar 66,7%. Pada kelompok P3 waktu

Tabel 1. Waktu ovulasi dan angka kebuntingan pada sapi perah yang mengalami kawin berulang setelah pemberian GnRH, vitamin ADE dan iodine povidon 1%.

Kelompok	Perlakuan	Jumlah sapi (ekor)	Waktu Ovulasi (jam) Setelah estrus berakhir			Persentase kebuntingan (%)
			<12	12-24	>24	
P1	Kontrol	6	1/6 (16,7%)	4/6 (66,7%)	1/6 (16,7%)	1/6 (16,7) ^a
P2	GnRH	6	4/6 (66,7%)	2/6 33,3%	0	4/6 (66,7) ^b
P3	Vit ADE+ Iodin Povidon 1%	6	2/6 33,3%	4/6 (66,7%)	0	3/6 (50) ^b
P4	Vit ADE + Iodin Povidon1%+ GnRH	6	5/6 83,3%	1/6 (16,7%)	0	6/6 (100) ^b

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan (P<0.05)

ovulasi terjadi sebelum 12 jam sebesar (33,3%) dan 12-24 jam sebesar (66,7%) dengan angka kebuntingan sebesar 50%, sedangkan pada kelompok P4 waktu ovulasi terjadi sebelum 12 jam sebesar (83,3%) dan 12-24 jam sebesar (16,7%) dengan angka kebuntingan sebesar 100%. Hasil analisis statistik menunjukkan waktu ovulasi kelompok perlakuan dan kontrol tidak ada perbedaan ($P>0,05$), sedangkan angka kebuntingan kelompok perlakuan lebih tinggi dibanding kontrol secara signifikan ($P<0,05$) seperti terlihat pada Tabel 1

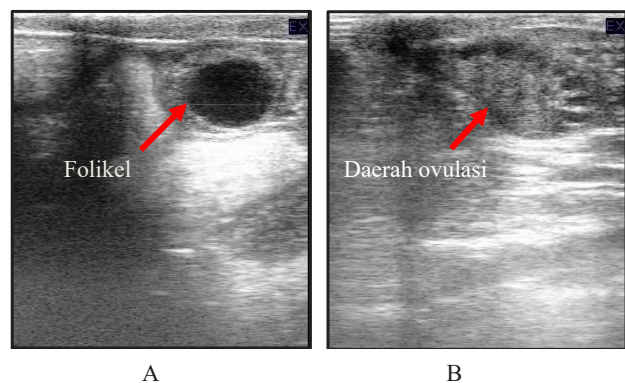
Hasil penelitian pada kelompok P1 menunjukkan angka kebuntingan sebesar 16,67. Ternyata sapi yang mengalami kawin berulang masih dapat bunting walau tanpa perlakuan. Rendahnya angka kebuntingan kemungkinan disebabkan gagal fertilisasi karena keterlambatan ovulasi (ovulasi terjadi diatas 12 jam setelah estrus berakhir sekitar 83.3%) akibat rendah hormon LH dalam darah atau mungkin karena kematian embrio dini akibat adanya kontaminan mikroba di uterus, sehingga produksi endotoksin yang dihasilkan mikroba akan menekan produksi LH, mengurangi sekresi estradiol dari folikel dominan, meningkatkan kemungkinan atresi folikel dominan, terganggunya ovulasi dan menyebabkan kematian embrio dini (Roche, 2006).

Hasil pengamatan menunjukkan sapi-sapi pada kelompok P2 dan P4 (kelompok yang diberi perlakuan GnRH segera setelah IB), waktu ovulasi sebagian besar terjadi sebelum 12 jam setelah estrus berakhir dengan angka kebuntingan masing-masing sebesar 66,7% dan 100%. Pada kelompok P3 dan P1 (kontrol) waktu ovulasi bervariasi dan sebagian besar pada rentang waktu 12-24 jam setelah estrus berakhir dengan angka kebuntingan 50% dan 16,7%. Pada kelompok P1 ada 1 ekor yang mengalami ovulasi setelah jam ke 24 setelah estrus berakhir.

Waktu ovulasi pada kelompok perlakuan P2 dan P4 yang diberi penambahan GnRH segera setelah IB lebih cepat dan seragam dari pada kelompok yang tidak diberi GnRH yaitu mendekati jam ke 12 setelah estrus berakhir. Rentang waktu ini menunjukkan ketepatan waktu ovulasi normal pada sapi yaitu sekitar 10-12 jam setelah estrus berakhir (Hafez, 1993).

Pemberian GnRH saat inseminasi diduga dapat melepaskan LH *endogenous* yang kemudian dapat mengkoordinasikan terjadinya ovulasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian lain bahwa ovulasi dapat diinduksi dengan pemberian LH (Sartori *et al.*, 2001) dan pada sapi dosis tunggal analog GnRH merangsang pengeluaran LH selama 5 jam (Chenault *et al.*, 1990). Gambaran folikel dan folikel yang mengalami ovulasi dapat dilihat pada Gambar 1.

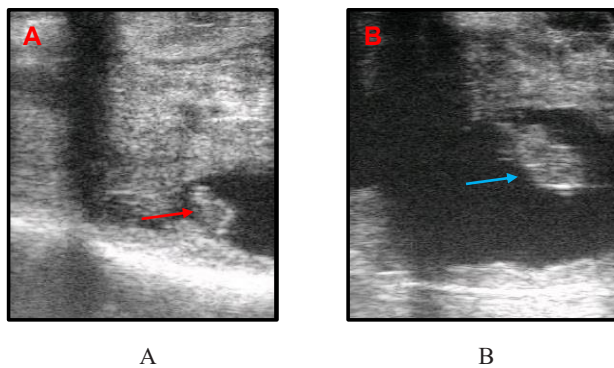
Waktu ovulasi dan angka kebuntingan pada kelompok P4 lebih cepat dan lebih tinggi dari pada kelompok P2. Hal ini kemungkinan karena pemberian vitamin ADE mampu meningkatkan siklus normal sistem reproduksi (Barney, 2003), dan meningkatkan keberhasilan reproduksi (Yasothei, 2014). Selain itu, pemberian infusi iodium povidon 1% pada kelompok P4 secara intra-uterin mampu menetralkan mikroba uterus sehingga uterus menjadi lebih sehat dan jika dikawinkan dapat meningkatkan angka kebuntingan.



Gambar 1. Gambaran *ultrasonography* folikel dominan yang mengalami ovulasi 12 jam setelah estrus berakhir. Folikel dominan sebelum ovulasi (A), daerah ovulasi dari folikel dominan (B)

Waktu ovulasi sapi kelompok P3 kurang dari 12 jam sebesar 33,33% dan 66,67% sisanya mengalami ovulasi antara 12-24 jam setelah estrus berakhir dengan angka kebuntingan 50%. Perlakuan pemberian infusi iodium povidon dan vitamin ADE tanpa disertai pemberian GnRH ternyata mampu menyebabkan ovulasi di kisaran waktu ideal sebesar 33.3%. Peran vitamin ADE yang diberikan dua kali dengan interval 11 hari ternyata mampu menyebabkan ovulasi dan angka kebuntingan sekitar 50%. Angka kebuntingan pada kelompok P3 yang cukup tinggi ini mungkin juga akibat peran dari

iodium povidon 1%. Infusi iodium povidon kemungkinan mampu menetralkan mikroba uterus, terjadinya fertilisasi dan mengurangi kejadian kematian embrio dini serta terjadinya kebuntingan (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil pemeriksaan kebuntingan pada sapi perlakuan menggunakan USG. Embrio umur 30 hari (panah merah, A) dan embrio umur 40 hari (panah biru, B).

Waktu ovulasi sapi kelompok P4 kurang dari 12 jam sebesar 83,33% dan 16,7% mengalami ovulasi antara 12-24 jam dengan angka kebuntingan 100%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok yang diberi GnRH yang sebelumnya diberi vitamin ADE dan infusi iodium povidone 1%, mampu menimbulkan ketepatan waktu ovulasi dan angka kebuntingan tinggi dibanding kelompok P2 dan P3. Hal ini kemungkinan setelah diberi ADE dan infusi iodium povidon kondisi saluran reproduksi lebih baik sehingga GnRH akan lebih efektif ketika fungsi fisiologis saluran reproduksi mendekati optimum. Infusi iodium povidon membuat kondisi uterus lebih serasi untuk pertumbuhan dan perkembangan embrio, sehingga kebuntingan dapat dipertahankan. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan Alagar *et al.* (2017) bahwa Infusi iodium povidon menghilangkan peradangan pada uterus, memperbaiki fungsi reproduksi dan memperbesar peluang terjadi kebuntingan. Ahmed *et al.* (2013) mengatakan aktivitas iodium povidon akan meningkatkan penyembuhan endometrium dan pemulihan aktivitas hipofisis. Di samping itu infusi iodium povidon juga akan meningkatkan metabolisme seluler dari sistem reproduksi termasuk ovarium (Ahmed dan Elseikh, 2014).

Angka kebuntingan yang tidak maksimal pada kelompok P2 dan P3 dan rendah pada kelompok P1 apabila dibandingkan dengan kelompok P4 mungkin disebabkan oleh kegagalan fertilisasi atau kematian embrio dini. Pada sapi kelompok P3 terdapat 3 ekor sapi yang tidak bunting, namun 2 ekor diantaranya ada indikasi terjadi kematian embrio sebelum umur 35 hari, hal ini dilihat dari hasil pengamatan birahi kembali sapi baru muncul pada hari ke-30 setelah IB, dan hasil pemeriksaan dengan USG pada hari ke 40 hari setelah inseminasi didapatkan Cl besar *midcycle*, yang seharusnya apabila siklusnya normal adalah adanya folikel dominan. Kurang optimalnya sekresi progesteron pada awal kebuntingan dapat juga diikuti kematian embrio dini. Selain itu rendahnya angka kebuntingan dapat juga disebabkan karena umur ovum saat fertilisasi, kapasitas spermatozoa, transportasi sperma dan ovum serta pembelahan embrio.

Pemberian vitamin ADE memberikan pengaruh terhadap kondisi dan fertilitas saluran reproduksi. Pemberian vitamin A memberikan pengaruh secara langsung pada struktur dan fungsi kelenjar pituitaria, kelenjar gonad dan uterus. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Pradini *et al.* (2015) bahwa vitamin E memiliki sifat antioksidan yang menstimulasi proses steroidogenesis dan merangsang kelenjar pituitari anterior untuk sekresi hormon steroid dan menginisiasi folikulogenesis. Vitamin E juga berperan dalam penghambatan *nitric oxide* saat proses produksi estrogen dari sel granulosa sehingga aktivitas folikulogenesis dan ovulasi dapat berlangsung.

Daerah ovulasi dapat dilihat menggunakan USG pada bekas lokasi folikel yang ditandai dengan adanya jaring-jaring yang berwarna *hyperechoic* dan ditengahnya mulai terbentuk massa *hypoechoic*. Waktu ovulasi ini penting diketahui karena ketepatan waktu ovulasi berfungsi dalam memperbesar peluang bertemunya ovum setelah ovulasi dengan sperma dimana umur ovum dan sperma dalam saluran kelamin betina terbatas beberapa jam saja. Ketidaktepatan waktu inseminasi dengan ovulasi akan menghasilkan angka kebuntingan yang rendah dan kegagalan fertilisasi (Hunter, 1994).

Kesimpulan dan Saran

Waktu ovulasi pada sapi perah kawin berulang setelah pemberian vitamin ADE, infusi iodium povidon 1% dan GnRH tidak berbeda, sedangkan angka kebuntingan lebih tinggi dibanding kontrol. Diperlukan kajian yang lebih komprehensif dengan jumlah sampel yang memadai untuk menguatkan peran pembeian GnRH, Vitamin ADE dan Iodin povidon 1% sebagai salah satu metode untuk mengatasi kawin berulang pada sapi perah.

Daftar Pustaka

- Ahmed, F.O., Elsheikh, A.S. and Homeida, A.A. 2013. *Current Therapy of repeat breeding in cross-breed dairy cows with diluted povidone iodine*. U of K.J. Vet. Med. & Anim. Prod. 2(4): 60-69.
- Ahmed, F.O. and Elsheikh, A.S. 2014. Treatment of repeat breeding in dairy cows with Lugol's iodine. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 7(4): 22-26.
- Alagar, S., Napoleon, R.E., Selvaraju, M., Balasubramaniam, G.A. and Selvaraj, P. 2017. Effect of uterine flushing on subclinical endometritis in repeat breeding cows. *Int.J.Curr.Microbiol.App. Sci* 6(7): 2493-2498.
- Arun, H.D., Becha, B.B., Jayakumar, C., Unnikrishnan, M.P., Ajith, K.S., Kurien, M.O. 2020. Occurrence of repeat breeding and prolonged oestrus in crossbred cattle. *J. Vet. Anim. Sci.* 51(2): 132-135.
- Aruna, S. Abdul, A.C.P., K. Promod, B.K. Lekshmi² and M. Ashokkumar. 2021. *Occurrence of repeat breeding in crossbred dairy cattle*. *J. Vet. Anim. Sci.* 52(3): 308-311.
- Azeez, C.P.A., Joseph, M. and Ghosh, K.N.A. 2017. Incidence of infertility conditions among crossbred cattle of Calicut District, Kerala. *J. Vet. Anim. Sci.* 47:5-10.
- Barney, H. Jr. 2003. Vitamins, minerals and dairy cow fertility. University of Florida. <https://ufdcimages.uflib.ufl.edu/IR/00/00/47/23/00001/DS08000.pdf>, diakses tanggal 19 Maret 2022.
- Chenault, J.R., Kratzer, D.D., Rzepkowski, R.A., Goodwin, M.C. 1990. LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *J. Theriogenology* 34: 81-86.
- Hafez, E.S.E. 1993. Hormones, growth factor, and reproduction. In : *The Reproduction in Farm Animal*. 6 Edition. Lea and Fibiger Philadelphia.
- Harichandan, P.P., Barik, A.K., Mishra, P.C., Patra, B.K., Jena, B., Patra, R. and Kund, A.K. 2018. Prevalence of reproductive disorders in Niali and Kantapara block of Cuttack district, Odisha, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(5): 1683-1689.
- Keskin, A., Yilmazbas, G.M., Gumen, A., Karakaya, E., Darici, R., Okut, H. 2010. Effect of hCG vs GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. *Science Direct* 74: 602-607.
- Parkinson T (2009) *The repeat breeder syndrome*. In: Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW (eds) *Veterinary reproduction and obstetrics*. 9th ed., Saunders Elsevier, Edinburgh, pp 463-466.
- Pras dini, W.A, Rahayu, S., Djati, M.S. 2015. Penentuan keberhasilan involusi uterus sapi perah *Friesian Holstein* berdasarkan kadar estrogen setelah beberapa penginjeksian Selenium-Vitamin E. *J. Vet.* 16(3): 351-246.
- Prihatno S A, Kusumawati, Karja N W K and Sumiar to B 2013. Prevalensi dan faktor resiko kawin berulang pada sapi perah pada tingkat peternak *J. Vet.* 4 452-61
- Putro, P. P. 2008. Dinamika perkembangan folikel dominan dan korpus luteum setelah sinkronisasi estrus pada sapi peranakan *Friesian Holstein*. *Disertasi S3*. Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Rayos, A.A., Escueta, H.D.R., Torres, E.B., Marcial, D.B, Jr. 2002. Effect of Intrauterine Infusion of 2% Povidone Iodine Solution on the Reproductive Performance of Repeat Breeder Cows. Philippine. *J Vet Anim Sci*. 28(1): 72-77
- Roberts S J., 1986. Veterinary Obstetrics and Genital Diseases Theriogenology, ed. 3. Woodstock, Vt:Published by author, pp. 447-559.
- Roche, J.F. 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci*. 96: 282–296.
- Sartori, R., Fricke, M.P., Ferreira, J.C.P., Ginter, O.J., WCiltbank, M.C. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of reproduction* 65: 1403-9.
- Sarker, P.K., M.M. Rahman, M.M.U. Bhuiyan, M. Shamsuddin. 2015. Effects of GnRH analogue and vitamin Ad3E on induction of cyclicity in anoestrus heifers. *Bangl. J. Vet. Med* (2015) 13 (2) : 33-40.
- Stolla R, de Kruif A. 1999. Subfertilat. In: Grunert E, de Kruif A (eds) *Fertilitatsstorungen beim weiblichen Rind*. Parey Buchverlag, Berlin, pp 293-300.
- Yasoithai, R. 2014. Importance of vitamins on reproduction in dairy cattle. Review Article. *International J. of Science, Environment and Technology*, 3(6): 2105-2108.
- Zobel, R., Tkalcic, S., Buic, V., Pipal, I., Geres, D., Samardzijas, M. 2010. Repeat breeder syndrome in dairy cows: influence of breed and age on its prevalence and the success of a hormone therapy. *Turk J Vet Anim Sci* 35(6): 405-411.