

# Pengaruh Rasio Rumput dan Konsentrat Terhadap *Milk Urea Nitrogen*, Progesteron, dan Status Kebuntingan Sapi Friesian Holstein

## *Efficacy of Grass and Concentrate Ratio on Milk Urea Nitrogen, Progesterone, and Pregnancy Status in Friesian Holstein*

Enggar Hardaningtyas<sup>1</sup>, Imam Mustofa<sup>2\*</sup>, Sri Pantja Madyawati<sup>2</sup>, Rimayanti<sup>2</sup>,  
Erma Safitri<sup>2</sup>, Herry Agoes Hermadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Magister Biologi Reproduksi, <sup>2</sup>Divisi Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

\*Corresponding author: [imam.mustofa@gmail.com](mailto:imam.mustofa@gmail.com)

### Abstrak

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan mengetahui pengaruh rasio rumput dan konsentrat terhadap nilai *milk urea nitrogen* (MUN), kadar progesteron dan status kebuntingan pada sapi perah Friesian Holstein. Sebanyak 18 sapi perah dipilih secara acak dari populasi yang kemudian dikelompokkan berdasarkan pakan, MUN dan kebuntingan. Pengambilan sampel susu dilakukan pada hari ke-7 setelah estrus lalu dites menggunakan metode Barthelot untuk mengukur kadar urea nitrogen. Sampel darah diambil tiga kali yaitu pada saat estrus (D0), hari ke-7 setelah estrus (D7) dan hari ke-22 (D22) setelah estrus, kemudian dilakukan pengujian dengan ELISA. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan hari ke-90 setelah inseminasi buatan melalui palpasi rektal. Hasil analisis dari rasio pakan dan konsentrat, kadar progesteron dan nilai MUN tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p > 0,05$ ), tetapi pada produksi susu ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan status kebuntingan, kadar progesteron pada D22 menunjukkan perbedaan yang signifikan sedangkan pada D0 dan D7 tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Dapat disimpulkan dalam penelitian ini bahwa rasio rumput dan konsentrat tidak meningkatkan nilai MUN, kadar progesteron dan status kebuntingan pada sapi perah Friesian Holstein.

Kata kunci: rumput, konsentrat, *milk urea nitrogen*, progesteron, Friesian Holstein

### Abstract

*This study was conducted to know the influence of grass to concentrate ratio to milk urea nitrogen (MUN) level, progesterone level and pregnancy status in Friesian Holstein. A total of 18 dairy cows were randomly selected from the population. The cows were grouped based on feed and MUN and pregnancy. Milk sample collection was carried out once on the seventh day after estrus (D7) and tested with the Barthelot method for measuring urea nitrogen levels. Blood samples were taken three times, on the day of estrus (D0), seven days after estrus (D7), and twenty-two days after estrus (D22), and were tested using Immuno-Sorbent Assay (ELISA). Pregnancy examination was carried out at D90 after artificial insemination through rectal palpation. Based on the analysis, grass to concentrate ratio, progesterone level and MUN level showed no significant difference ( $p > 0.05$ ) but it showed significantly different on milk yield ( $p < 0.05$ ). Based on pregnancy status, progesterone level at D22 showed significantly different whereas at D0 and D7 showed insignificantly different. MUN level and grass to concentrate level also showed significantly different. It can be concluded that the ratio of grass and concentrate did not increase MUN level, progesterone level and pregnancy rate.*

Keywords: grass, concentrate, milk urea nitrogen, progesterone, Friesian Holstein

Received: 30 January 2021

Revised: 18 July 2022

Accepted: 19 August 2022

### PENDAHULUAN

Tolak ukur dari keberhasilan performa produksi sapi perah adalah adanya siklus

reproduksi sapi perah dan produksi susu yang baik. Produksi susu pada sapi perah dapat ditingkatkan dengan pemberian pakan tinggi protein (Nourozi *et al.*, 2010) namun seringkali



produksi susu yang tinggi tidak diikuti dengan performa reproduksi yang baik pula. Gilmore *et al.* (2011) menyatakan bahwa sapi perah yang memiliki produksi susu tinggi mengalami penurunan performa reproduksi. Pemberian pakan tinggi protein akan menimbulkan tingginya kadar urea sebagai produk akhir metabolisme protein dalam tubuh yang dapat dengan mudah diukur melalui kadar nitrogen dalam darah maupun susu.

Kadar nitrogen dalam darah disebut *Blood Urea Nitrogen* (BUN) sedangkan kadar nitrogen dalam susu disebut dengan *Milk Urea Nitrogen* (MUN). Kadar BUN yang tinggi selalu diikuti dengan kadar MUN yang tinggi dan begitu pula sebaliknya. Sapi perah dengan kadar MUN antara 12-13,99 mg/dL<sup>-1</sup> dan sapi perah dengan kadar MUN 14-15,99 mg/dL<sup>-1</sup> menunjukkan nilai fertilitas sebesar 15% dan 8% lebih tinggi daripada sapi perah dengan kadar MUN dibawah 12 mg/dL<sup>-1</sup>. Penurunan nilai fertilitas sebanyak 10% dialami oleh sapi dengan kadar MUN diatas 18 mg/dL<sup>-1</sup>, sehingga untuk mencapai nilai fertilitas maksimum dibutuhkan kadar MUN antara 12-16 mg/dL<sup>-1</sup> (Nourozi *et al.*, 2010).

Tingkat fertilitas sapi juga dapat dilihat dari kadar hormon progesteron yang diukur selama siklus estrus. Kadar progesteron yang dominan dengan eksistensi CL fungsional akan menjamin kehidupan embrio dan mengurangi kematian embrio dini. Pengukuran kadar progesteron untuk mengetahui keberhasilan IB dapat diketahui lebih dini, dan dari penelitian ini kadar progesteron diatas 15 ng/mL dapat dikatakan positif (Pemayun dan Budiasa, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh rasio rumput dan konsentrat terhadap nilai MUN, kadar progesteron dan status kebuntingan pada sapi perah Friesian Holstein.

## METODE PENELITIAN

### Pengambilan Sampel Susu

Sampel susu diambil dari sampel sapi betina Friesian holstein sebanyak 18 ekor yang dikelompokkan menjadi tiga kelompok berdasarkan pada kriteria nilai rata-rata standar deviasi pakan dan produksi susu. Sampel susu

segar diperoleh pada H+7 yang diperah pada sore hari pada 6 ekor sapi perah betina Friesian Holstein laktasi pada masing-masing kelompok dengan sampel susu sebanyak 50 ml yang diambil langsung dari ambung dan kemudian dikemas dalam kantong plastik ASI steril lalu diletakkan dalam ice box bersama ice pack beku agar suhu susu turun dan mendingin sebelum dipindahkan ke dalam freezer.

### Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah didapat dari 18 ekor sapi betina Friesian Holstein yang dikelompokkan menjadi tiga kelompok berdasarkan pada nilai rata-rata standar deviasi pakan dan produksi susu. Sampel darah diambil dari 6 ekor sapi perah betina Friesian Holstein saat laktasi masing-masing sebanyak 10 ml pada H0, H+7, dan H+22 setelah birahi.

Sapi yang telah direstrain kemudian diambil darahnya pada vena *coccygealis* yang terletak pada daerah ventral tulang ekor kedua atau ketiga dengan menggunakan tabung venoject dan *needle*. Darah yang telah tertampung lalu diberi label dan disentrifuse untuk mendapatkan serum kemudian didiamkan selama beberapa jam pada suhu ruang dalam keadaan miring dengan tujuan untuk mendapatkan serum lebih banyak. Serum kemudian dipisahkan dari endapannya, disimpan kedalam *microtube*, diberi label lalu disimpan kedalam *freezer*.

Serum yang masih beku terlebih dahulu di *thawing* dalam suhu kamar 27°C untuk kemudian digunakan dalam pemeriksaan ELISA. Pemeriksaan kadar progesteron serum dari sampel serum dilakukan di Laboratorium Endokrin, Departemen Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

### Pemeriksaan Kadar MUN

Pemeriksaan kadar MUN menggunakan metode Berthelot. Metode ini digunakan untuk penetapan kadar urea nitrogen karena metode ini sangat spesifik, yaitu melibatkan enzim yaitu urease (enzim umumnya mempunyai satu substrat tertentu).

Pemeriksaan kadar MUN menggunakan pereaksi urease, pereaksi II (NADH), dan standart urea-N. Standart urea-N sebanyak 20 mg/dl terlebih dahulu disimpan pada suhu 4°C. Selanjutnya urease, standar urea-N dan skim susu, dicampur dan diamkan selama 15 menit pada suhu 37°C atau pada suhu kamar (27°C) selama 30 menit. Setelah itu campurkan dengan pereaksi I {TRIS pH 7,8; 2- Oxoglutarate; ADP; Urease; GLDH (Glutamate dehydrogenase)} dan pereaksi II (NADH), lalu diamkan pada suhu 37°C selama 20 menit atau pada suhu kamar (27°C) selama 40 menit atau pada suhu 50-60°C selama 3 menit. Selanjutnya 2 ml aquades ditambahkan kedalam pada masing-masing tabung, dicampur rata kemudian hasil dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm.

#### **Pemeriksaan Kadar Hormon Progesteron**

Pemeriksaan kadar hormon progesteron menggunakan metode ELISA *indirect*. Prosedur ini melibatkan dua proses pengikatan antibody primer dan antibody sekunder berlabel. Antibodi primer diinkubasi dengan antigen yang diikuti oleh inkubasi antibody sekunder.

#### **Pemeriksaan Kebuntingan**

Pemeriksaan kebuntingan dilakukan menggunakan teknik palpasi rektal. Pemeriksaan ini dilakukan 90 hari setelah IB oleh dokter hewan penanggungjawab kandang.

#### **Analisis Data**

Data yang ada dianalisis menggunakan uji homogenitas *Kolmogorof dan Smirnov*. Data yang homogen akan dilanjutkan uji parametrik dengan uji t.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kadar MUN yang didapat dari susu sampel penelitian ini berada pada rentang 8-28.5 mg/dL. Kadar progesteron diukur pada saat birahi (H0), pada hari ke-7 setelah birahi (H7) dan pada hari ke-22 setelah birahi (H22) dengan hasil dalam rentang angka yang berurutan sebagai berikut: 0.44-4.79 ng/dL; 2.82-24.26 ng/dL; 1.33-30.11

ng/dL. Penelitian ini menunjukkan hasil produksi susu yang berbanding terbalik dengan rasio rumput dan konsentrat (R/K), dimana R/K rendah berarti jumlah konsentrat yang diberikan lebih banyak. Tabel 2 menunjukkan bahwa produksi susu paling tinggi tampak pada R/K1 yang memiliki R/K paling rendah dari kelompok lainnya. Ini berarti kelompok tersebut diberikan konsentrat dengan jumlah paling tinggi dari kelompok lain.

Kelompok R/K2 dengan produksi susu lebih rendah dari R/K1 memiliki R/K yang lebih tinggi dari R/K1 dan jumlah pemberian konsentrat yang lebih rendah dari R/K1. Kelompok R/K3 yang memproduksi susu paling rendah dari kelompok lainnya menunjukkan R/K paling tinggi dengan jumlah pemberian konsentrat paling rendah, hal ini sejalan dengan hasil penelitian Utomo *et al.* (2018) yang menunjukkan bahwa sapi yang diberikan konsentrat lebih tinggi akan menghasilkan produksi susu yang lebih tinggi.

Pemberian pakan dengan kadar protein tinggi akan menghasilkan konsentrasi urea nitrogen yang tinggi dalam plasma dan susu (Rukkwamsuk, 2011). Namun Jannah *et al.* (2019) menyatakan bahwa asupan protein yang tinggi khususnya konsentrat dalam pakan belum tentu akan meningkatkan kadar MUN. Adanya faktor kesamaan genetik dan bobot hidup sapi yang hampir sama menunjukkan adanya kemampuan yang hampir sama juga untuk mengonsumsi bahan kering (Rianto *et al.*, 2007), hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini dimana tidak terdapat perbedaan yang signifikan diantara kelompok.

Kadar MUN pada kelompok R/K1 adalah 12,38 mg/dL. Kelompok R/K2 menunjukkan kadar MUN sebesar 15,53 mg/dL, sedangkan pada kelompok R/K3 sebesar 12,43 mg/dL. Dari ketiga kelompok ini didapatkan rata-rata kadar MUN sebesar 14,62 mg/dL. Menurut Hammond (2013), kadar MUN yang baik adalah <18 mg/dL, sehingga kadar MUN dalam penelitian ini masih termasuk dalam batas normal. Kadar MUN adalah indikator penggunaan nitrogen yang baik. Pemberian jumlah protein yang terlalu rendah akan berakibat turunnya kadar MUN, sebaliknya bila terlalu tinggi nilai MUN akan meningkat.

**Tabel 1.** Evaluasi sapi perah Friesian Holstein yang diteliti (N=24)

Parameter	Minimum	Maksimum	Rerata± SD
PS (Liter/hari)	10	35	19.46±6.3
S/C	1	8	4.04±2.24
CI (hari)	338	683	425.21±77.32
DO (hari)	37	98	61.63±16.37
BCS (Skala 1-9)	4	7	5.04±0.69
Parietas	2	5	2.21±0.66
Umur (Tahun)	3	7	4±0.78
Rumput (R, kg)	20	35	33.96±3.29
Konsentrat (K, kg)	5	16	10.42±2.78
R/K	4	2.19	3.53±1.19
MUN (mg/dL)	8	28.5	14.62±4.86
P4 H0 (ng/mL)	0.44	4.79	2.2±1.26
P4 H7 (ng/mL)	2.82	24.26	10.6±7.15
P4 H22 (ng/mL)	1.33	30.11	10.95±9.29

**Tabel 2.** Evaluasi parameter berdasarkan rasio Rumput/Konsentrat (R/K)

Parameter	R/K1	R/K2	R/K3
Rumput (R)	30±7.07	34.71±6.52	35±0
Konsentrat (K)	14.25±2.87	10.35±2.83	5.67±0.58
R/K	2.1±0.2	3.39±0.85	6.22±0.67
Produksi susu	25.75±7.89 <sup>a</sup>	19.18±6.52 <sup>b</sup>	12.67±0.58 <sup>c</sup>
MUN	12.38±2.93	15.53±5.47	12.43±2.11
P4 H0	2.53±0.69	2.29±1.25	1.29±1.02
P4 H7	8.92±5.6	11.21±6.74	9.35±9.92
P4 H22	14.79±13.61	9.61±9.22	13.43±7.72
Status Kebuntingan	3/4 (75%)	6/17 (35.29%)	1/3 (66.66%)

Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ).

**Tabel 3.** Kadar R/K, MUN, dan progesteron berdasarkan status kebuntingan

Parameter	Bunting (n= 8)	Tidak bunting (n= 16)
Produksi susu	22.13±7.38	18.13±5.45
Rumput (R)	31.88±5.3	35±0
Konsentrat (K)	11.5±2.98	9.88±2.6
R/K	2.9±0.77 <sup>b</sup>	3.84±1.27 <sup>a</sup>
MUN	12.13±3.08 <sup>b</sup>	15.86±5.18 <sup>a</sup>
P4 H0	1.93±1.08	2.34±1.35
P4 H7	8.16±6.14	11.81±7.48
P4 H22	17.25±10.06 <sup>b</sup>	7.81±7.3 <sup>a</sup>

Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ).

Rasio pemberian rumput dan konsentrat pada penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada kadar progesteron saat birahi (H0). Penelitian ini menunjukkan rata-rata kadar progesteron pada H0 tidak terlalu tinggi yaitu sebesar 2,2 ng/mL (Tabel 1). Kadar progesteron pada R/K1 adalah sebesar 2,53 ng/mL, pada R/K2 adalah sebesar 2,29 ng/mL dan pada kelompok R/K3 adalah sebesar 1,29 ng/mL (Tabel 2). Hasil penelitian Arimbawa *et al.* (2012)

juga menunjukkan rata-rata kadar progesteron yang tidak terlalu tinggi saat H0 yaitu sebesar 0,52 ng/mL. Sumber utama progesteron pada sapi adalah korpus luteum sehingga sapi termasuk sangat tergantung korpus luteum atau keberadaan korpus luteum sebagai sumber progesteron selama kebuntingan sangat diperlukan (Hafez, 2000). Kadar progesteron yang tidak terlalu tinggi saat birahi (H0) disebabkan karena belum adanya korpus luteum yang terbentuk di awal birahi.

Kadar progesteron terdeteksi mulai meningkat pada hari ke-4 setelah birahi yaitu 2,4 ng/ml dan terus meningkat menjadi 5,2 ng/ml, 7,7 ng/ml masing-masing pada hari ke- 6 dan ke- 8 (Valdez *et al.*, 2005). Hal ini senada dengan hasil penelitian ini dimana kadar progesteron pada H7 setelah birahi meningkat dengan rata-rata sebesar 10,6 ng/mL. Kadar progesteron secara berturut-turut pada kelompok R/K1; R/K2 dan R/K3 adalah sebesar 8,92 ng/mL, 11,21 ng/mL dan 9,35 ng/mL. Rata-rata kadar progesteron pada H22 setelah birahi pada penelitian ini adalah sebesar 10,95 ng/mL. Jumlah ini sesuai dengan penelitian Arimbawa *et al.* (2012) yaitu telah terjadi penurunan yang disebabkan karena puncak produksi progesteron pada H14 setelah birahi.

Penelitian ini menunjukkan secara signifikan bahwa rasio rumput dan konsentrat yang lebih kecil memiliki status kebuntingan yang lebih tinggi (Tabel 3), yang mengindikasikan adanya asupan dan tingkat pencernaan protein yang cukup baik pada kelompok dengan R/K yang lebih kecil. Cheng *et al.* (2015) menyatakan bahwa indikator urea yang tinggi dalam darah sering terjadi pada sapi dengan produksi susu tinggi dan terbukti mengurangi sekresi progesteron dan perkembangan fase luteal pada uterus selama kebuntingan sehingga menurunkan *conception rates* (CR).

Kelompok sapi bunting juga menunjukkan kadar MUN yang lebih rendah daripada kelompok sapi yang tidak bunting. Dalam penelitian ini, kelompok sapi bunting memiliki kadar MUN sebesar 12,13 ng/mL sedangkan kelompok sapi tidak bunting memiliki kadar MUN sebesar 15,86 ng/mL. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Nourozi *et al.* (2010) dalam penelitiannya bahwa sapi dengan kadar MUN antara 12-13,99 ng/mL memiliki tingkat fertilitas lebih tinggi daripada sapi dengan kadar MUN 14-15,99 ng/mL. Penelitian Jannah *et al.* (2019) menyebutkan bahwa sapi bunting memiliki kadar MUN <14 mg/dL dan pada sapi yang tidak bunting memiliki kadar MUN >14 mg/dL, hal ini sesuai dengan pendapat Biswajit *et al.* (2011) yaitu sapi yang memiliki kadar MUN >14 mg/dL mengalami penurunan angka fertilitas. Menurut Arunvipas (2004) dan Roy *et al.* (2011),

konsentrasi urea nitrogen yang tinggi yang tersebar sebagai BUN dan MUN, jika mencapai  $\geq 18$  ng/mL akan menurunkan CR.

Pada H22 setelah birahi, kadar progesteron pada kelompok sapi bunting lebih tinggi daripada kelompok sapi tidak bunting karena terjadi ovulasi yang dilanjutkan dengan kebuntingan. Menurut Romano (2011), saat kebuntingan kadar progesteron mencapai 13,9 ng/mL dan setelah melahirkan akan kembali seperti dalam keadaan sebelum bunting yaitu sebesar  $0,89 \pm 0,24$  ng/mL. Kadar progesteron kurang dari 1 ng/mL menandakan terjadinya fase luteal, sedangkan progesteron lebih dari 1 ng/mL menandakan terjadinya fase folikuler.

Konsentrasi progesteron yang tinggi terjadi karena corpus luteum dipertahankan untuk memproduksi hormon progesteron hingga nantinya akan dibantu dengan keberadaan plasentom yang membantu kerja corpus luteum. Kadar progesteron sampai hari ke-60 setelah IB masih sama dengan kisaran kadar progesteron pada fase luteal menandakan sapi positif bunting.

## KESIMPULAN

Dapat disimpulkan dalam penelitian ini bahwa rasio rumput dan konsentrat tidak meningkatkan nilai MUN, kadar progesteron dan status kebuntingan pada sapi perah Friesian Holstein.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sampaikan terima kasih kepada jajaran dosen dan staf di Divisi Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah menyediakan fasilitas penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Arimbawa, I. W. P., Trilaksana, I. G. N. B., & Pelayun, T. G. O. (2012). Gambaran Hormon Progesteron Sapi Bali selama Satu Siklus Estrus. *Indonesia Medicus Veterinus*, 1(3), 330-336.

- Arunvipas, P., Van Leeuwen, J. A., Dohoo, I. R., Keefe, G. P., Burton, S. A., & Lissemore, K. D. (2008). Relationships Among Milk Urea-Nitrogen, Dietary Parameters, and Fecal Nitrogen in Commercial Dairy Herds. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 72(5), 449-453.
- Biswajit, R., Brahma, B., Ghosh, S., Pankaj, P. K., & Mandal, G. (2011). Evaluation of Milk Urea Concentration as Useful Indicator for Dairy Herd Management: A Review. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advantages*, 6, 1-19.
- Cheng, Z., Chike, F. O., Theerawat, S. U., Susan, C., & Claire, W. (2015). Relationship Between Circulating Urea Concentrations and Endometrial Function in Postpartum Dairy Cows. *Animals*, 5, 748-773.
- Gilmore, H. S., Young, F. J., Patterson, D. C., Wylie, A. R. G., Law, R. A., Kilpatrick, D. J., Elliott, C. T., & Mayne, C. S. (2011). An Evaluation of the Effect of Altering Nutrition and Nutritional Strategies in Early Lactation on Reproductive Performance and Estrous Behavior of High-Yielding Holstein-Friesian Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 94, 3510-3526.
- Hafez, E. S. E. (2000). *Reproduction in Farm Animals*. 7<sup>th</sup> ed. Lippincott William & Wilkins. A Wolter Kluwer Company. Pp: 55-63.
- Hammond, A. C. (2013). Update on BUN and MUN as a Guide for Protein Supplementation in Cattle. U.S. Department of Agriculture. Agriculture Research Service. Subtropical Agriculture Research Station. Brooksville, Florida. Pp: 4601-4672.
- Jannah, M., Mustofa, I., Utama, S., & Mulyati, S. (2019). Identification of Estrogen Levels in Dairy Cows Based on MUN Levels And Pregnancy Rates. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 10(12), 1834-1838.
- Nourozi, M., Alireza, H. M., Mehran, A., & Mohammad, R. Z. (2010). Milk Urea Nitrogen (MUN) and Fertility in Dairy Farm. *Iranian Journal Animal and Veterinary Advance*, 9(10), 1519-1525.
- Pemayun, T. G. O., & Budiasa, I. G. N. B. D. M. K. (2014). Waktu Inseminasi Buatan yang Tepat pada Sapi Bali dan Kadar Progesteron pada Sapi Bunting. *Jurnal Veteriner*, 15(3), 425-430.
- Rianto, E., Wulandari, M., & Adiwiniarti, R. (2007). Pemanfaatan Protein Pada Sapi Jantan Peranakan Ongole dan Peranakan Friesian Holstein yang Mendapat Pakan Rumput Gajah, Ampas Tahu dan Singkong. *Prosiding Puslitbangnak Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Deptan, Bogor*. Hal: 64-70.
- Romano, J. E. (2011). Pregnancy Diagnosis in Cattle. *Veterinary population medicine*. College of Veterinary Medicine, University of Minnesota.
- Rukkwamsuk, T. (2011). Effect of Nutrition on Reproductive Performance of Postparturient Dairy Cows in the Tropics: A Review. *Thai Journal Veterinary Medical*, 41, 103-107.
- Utomo, B., & Miranti, D. P. (2010). Tampilan Produksi Susu Sapi Perah yang Mendapat Perbaikan Manajemen Pemeliharaan. *Caraka Tani*, 25(1), 21-25.
- Valdez, K. E., Cuneot, S. P., Gorden, P. J., & Turzillo, A. M. (2005). The Role of Thecal Androgen Production in The Regulation of Estradiol Biosynthesis by Dominant Bovine Follicles During The First Follicular Wave. *Journal Animal Science*, 83, 597-603.

\*\*\*