

# Pemodelan Matematik untuk Menentukan Faktor-faktor Penyebab Repeat Breeding pada Sapi Aceh

(Mathematical Modelling to Determine the Factors That Cause Repeat Breeding in Aceh Cattle)

Arman Sayuti<sup>1\*</sup>, Cut Nila Thasmi<sup>2</sup>, Tongku Nizwan Siregar<sup>2</sup>, Husnurrisal<sup>3</sup>, Sri Wahyuni<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

<sup>3</sup>Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala

\*Penulis untuk korespondensi: armansayuti\_73@unsyiah.ac.id

Diterima 19 Januari 2022, Disetujui 16 Desember 2022

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan membuat pemodelan untuk diagnosis *repeat breeding* (RB) pada sapi aceh berdasarkan intensitas estrus, profil hormonal, profil biokimia darah, dan jumlah infeksi bakteri pada saluran uterus. Hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah 16 ekor sapi aceh yang terdiri atas 7 ekor sapi aceh fertil dan 9 ekor sapi aceh RB, yang berumur 3-8 tahun dengan skor kondisi tubuh (BCS) 3-4. Seluruh sapi aceh fertil dan RB dilakukan sinkronisasi estrus menggunakan hormon PGF $2\alpha$  dengan pola penyuntikan ganda dengan interval 11 hari. Setelah penyuntikan PGF $2\alpha$ , intensitas estrus diamati 3 kali sehari yakni pada pukul 08.00, 12.00, dan 16.00 WIB, masing-masing pengamatan selama 20 menit. Koleksi serum dilakukan pada pagi hari (jam 07.00-09.00 WIB). Koleksi serum dilakukan untuk pemeriksaan kadar hormon estradiol dan progesteron menggunakan teknik *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Selain itu, sampel darah juga digunakan untuk pemeriksaan profil biokimia darah. Koleksi sampel bakteri dilakukan dengan metode *swab* uterus. Hasil pemodelan diagnosis RB pada sapi aceh diperoleh model matematis regresi linear sebagai berikut :

$$Y = a + bX_1 + bX_2 + \dots + bX_{11}$$

$$S/C = -5,28 + 1,27X_1 - 0,69X_2 - 0,99X_3 - 0,23X_4 + 2,28X_5 - 0,53X_6 + 0,71X_7 - 0,29X_8 + 0,09X_9 + 3,04X_{10}$$

Berdasarkan hasil dari pemodelan diagnosis RB pada sapi aceh menunjukkan bahwa penyebab utama RB pada sapi aceh adalah infeksi bakteri pada uterus yang kemungkinan mengakibatkan sapi tersebut mengalami stres yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah. Selain itu, RB pada sapi aceh juga dipengaruhi oleh ketidakseimbangan nutrisi dan hormonal yang mengakibatkan intensitas estrus menjadi rendah.

**Kata kunci:** pemodelan matematik, *repeat breeding*, sapi aceh

## ABSTRACT

This study was aimed at creating a model for diagnosing repeat breeding (RB) in Aceh cattle based on oestrus intensity, hormonal profile, blood biochemical profile, and the number of bacterial infections in the uterine tract. This study used 16 Aceh cattle consisting of 7 fertile Aceh cattle and 9 RB Aceh cattle, aged 3-8 years old with body condition scores (BCS) ranging from 3-4. All fertile and RB aceh cattle were estrus synchronized using PGF $2\alpha$  hormone with a double injection pattern at 11 day intervals. After PGF $2\alpha$  injection, the oestrous intensity was observed 3 times a day at 08.00, 12.00, and 16.00 WIB, and each observation lasted for 20 minutes. Serum collection was carried out in the mornings (07.00-09.00 WIB). Serum collection was performed to examine the levels of estradiol and progesterone hormones using the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) technique. In addition, the biochemical profiles of the blood were also examined. The collection of bacterial samples was carried out by the uterine swab method. The results of the RB diagnosis modeling in Aceh cattle obtained a linear regression mathematical model as follows:

$$Y = a + bX_1 + bX_2 + \dots + bX_{11}$$

$$S/C = -5,28 + 1,27X_1 - 0,69X_2 - 0,99X_3 - 0,23X_4 + 2,28X_5 - 0,53X_6 + 0,71X_7 - 0,29X_8 + 0,09X_9 + 3,04X_{10}$$

Based on the results of the RB diagnosis modeling in Aceh cattle, it shows that the main cause of RB in Aceh cattle is bacterial infection of the uterus. This may cause the cattle to experience stress, which is characterized by high level of glucose in the blood. In addition, RB in Aceh cattle is also influenced by nutritional and hormonal imbalances that result in low estrous intensity.

**Keywords:** Aceh cattle, mathematical modelling, repeat breeding

## PENDAHULUAN

Permasalahan yang sering dihadapi dalam penanganan gangguan RB pada sapi adalah diagnosa yang kurang tepat (Prihatno *et al.*, 2013), karena penyebab RB tidak begitu jelas dan multifaktor (Nath *et al.*, 2014). Faktor penyebab gangguan RB dapat berupa faktor manajemen, lingkungan dan individu sapi, namun faktor utama penyebab RB belum diketahui dengan pasti (Saraswat dan Purohit, 2016). Hal inilah yang menyebabkan kesulitan dalam mendiagnosa gangguan RB sekaligus menentukan faktor penyebabnya secara tepat dan akurat.

Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan beberapa faktor penyebab munculnya gangguan RB pada sapi, yaitu faktor hormonal (Sood *et al.*, 2015; Ayam *et al.*, 2017; Ahammed *et al.*, 2017), intensitas estrus yang rendah (Bage *et al.*, 1997; Wodaje *et al.*, 2016; Sood *et al.*, 2015), nutrisi (Prihatno *et al.*, 2013a; Akhtar *et al.*, 2013; Agrawal *et al.*, 2015; Ahmed *et al.*, 2017; Widayati *et al.*, 2018), dan infeksi uterus (Ata *et al.*, 2010; Azizunnesa *et al.*, 2011; Bhat *et al.*, 2014; Jeon *et al.*, 2015). Penyebab lainnya adalah kondisi patologis pada saluran uterus (Pascottini *et al.*, 2016; Altun *et al.*, 2018) yang telah diidentifikasi sebagai faktor risiko terjadinya gangguan RB pada sapi aceh dan saling memengaruhi satu sama lain.

Sapi yang mengalami gangguan RB memperlihatkan intensitas estrus dan konsentrasi hormon yang rendah dibandingkan sapi fertil (Perez-Marin *et al.*, 2007; Cummins *et al.*, 2012). Pada sapi aceh RB juga menunjukkan intensitas yang rendah, kadar estradiol yang rendah dan kadar progesteron yang rendah pada awal fase luteal (Thasmi *et al.*, 2016). Intensitas estrus pada sapi aceh dipengaruhi oleh konsentrasi hormon reproduksi (Hafizuddin *et al.*, 2012). Rendahnya konsentrasi hormon progesteron akan memengaruhi hipofisa anterior dalam menghasilkan dan melepaskan hormon FSH dan LH. Gangguan sekresi FSH dan LH akan memengaruhi proses folikulogenesis dan ovulasi sehingga akan berdampak terhadap intensitas estrus. Penelitian lain melaporkan bahwa rendahnya intensitas estrus pada sapi aceh dipengaruhi oleh faktor nutrisi. Defisiensi nutrisi dapat mengakibatkan kinerja atau aktivitas ovarium menjadi tidak optimal, sehingga terjadi ketidakseimbangan hormonal yang berperan dalam sistem reproduksi (Prihatno *et al.*, 2013a).

Konsentrasi glukosa darah dan total protein yang rendah dapat menyebabkan terhambatnya sintesis atau pelepasan hormon GnRH, FSH, dan LH, dan juga menghambat pelepasan estradiol, dan progesteron sehingga akan berpengaruh terhadap perkembangan folikel dan ovum (Prihatno *et al.*, 2013a; Siregar *et al.*, 2015), kegagalan fertilisasi, dan kematian embrio dini

(Siregar *et al.*, 2017). Defisiensi kolesterol juga dapat memengaruhi sintesis hormon steroid (Murray, 2003) sedangkan defisiensi dan ketidakseimbangan mineral berpengaruh terhadap peningkatan insidensi RB (Das *et al.*, 2002). Defisiensi mineral seperti Ca, Mg, P, K, Na, Cl dan S juga dapat berpengaruh terhadap intensitas estrus dan ovulasi, tertundanya involusi uterus, meningkatnya kasus prolapsus uteri, distokia dan retensi plasenta (Yanuartono *et al.*, 2016). Kekurangan Zinc dapat menyebabkan penurunan sekresi GnRH dari hipotalamus dan akan menyebabkan penurunan konsentrasi hormon FSH dan LH, sehingga mengakibatkan terhentinya proses ovulasi (Modi *et al.*, 2013).

Faktor nutrisi dan biokimia darah juga dapat memengaruhi tingkat infeksi mikroorganisme pada uterus. Interaksi bakteri pada jaringan uterus terjadi bersamaan dengan proses metabolisme di dalam tubuh, dan infeksi dapat terus berkembang apabila bakteri mendapatkan sumber nutrisi yang cukup (Wang *et al.*, 2018). Ketidakseimbangan metabolisme dalam tubuh juga meningkatkan risiko kejadian endometritis subklinis, khususnya keseimbangan energi negatif yang mengganggu respons imun (Wagener *et al.*, 2017). Peningkatan konsentrasi asam lemak non esterifikasi dan asam beta-hidroksibutirat, dan BCS yang buruk dapat meningkatkan risiko endometritis subklinis (Galvao *et al.*, 2010; Heidarpour *et al.*, 2012).

Berdasarkan penjelasan di atas, diketahui bahwa faktor-faktor penyebab RB (faktor hormonal, intensitas estrus, nutrisi, infeksi uterus dan kondisi patologis saluran uterus) pada sapi saling berhubungan yang secara signifikan yang secara signifikan memengaruhi kejadian RB pada sapi khususnya sapi aceh. Upaya penegakan diagnosa gangguan RB pada sapi aceh memerlukan data dan informasi yang dikumpulkan dari berbagai tahapan penelitian yang telah dilakukan secara sistematis dan komprehensif. Data dan informasi tersebut dapat dijadikan sebagai komponen pembuatan model diagnosa gangguan RB. Aplikasi pemodelan dalam mendiagnosa gangguan RB sangat bermanfaat dalam ketepatan penanganan gangguan RB pada sapi aceh maupun jenis sapi lainnya.

## BAHAN DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan 16 ekor sapi aceh yang terdiri atas 7 ekor sapi aceh fertil dan 9 ekor yang mengalami RB. Sapi fertil merupakan sapi >2 bulan *pascapartus* yang mempunyai riwayat berhasil bunting dengan sekali inseminasi dan mempunyai dua kali siklus reguler, sedangkan sapi RB terdiri atas sapi yang didiagnosis mengalami RB yaitu sapi yang gagal

bunting setelah lebih dari tiga kali diinseminasi namun memiliki siklus estrus normal. Penentuan RB dilakukan berdasarkan nilai *service per conception* (S/C). Nilai S/C merupakan jumlah perkawinan seekor ternak betina hingga menjadi bunting. Nilai S/C diperoleh dari informasi peternak dan petugas IB di lapangan.

### Prosedur Penelitian

Langkah-langkah dalam penyusunan model dalam penelitian ini yaitu a. pengumpulan data, b. selanjutnya dilakukan uji normalitas data dan kolinearitas. c. penentuan metode analisis regresi yaitu metode *entered*. d. penentuan koefisien determinasi dan analisis ANOVA untuk menentukan ada tidaknya pengaruh antara variabel independen terhadap variabel dependen. e. pembentukan persamaan regresi linier berganda. Data primer yang diambil meliputi data jumlah sapi aceh yang mengalami RB berdasarkan S/C sebagai variabel dependen (Y), sedangkan variabel independen (X) meliputi faktor intensitas birahi ( $X_1$ ), kadar hormon estradiol ( $X_2$ ) pada hari ke-0 (saat estrus), kadar hormon progesteron hari ke-1 ( $X_3$ ), progesteron hari ke-2 ( $X_4$ ), progesteron hari ke-3 ( $X_5$ ), progesteron hari ke-4 ( $X_6$ ), progesteron hari ke-5 pasca sinkronisasi PGF $2\alpha$  ( $X_7$ ), kadar kolesterol ( $X_8$ ), glukosa ( $X_9$ ), dan jumlah infeksi bakteri ( $X_{10}$ ). Seluruh data yang diperoleh dikumpulkan dan diolah dengan program SPSS v.24.

### Sinkronisasi dan Deteksi Estrus

Seluruh sapi dilakukan sinkronisasi estrus dengan injeksi hormon PGF $2\alpha$  (Lutalyse<sup>TM</sup>, Pharmacia & Upjohn Company, Pfizer Inc.) dengan dosis 25  $\mu$ g/sapi, sebanyak 5 ml secara intramuskulus, dengan pola penyuntikan ganda dengan interval 11 hari. Deteksi estrus setelah penyuntikan PGF $2\alpha$  dilakukan 3 kali sehari yakni pada pukul 08.00, 12.00, dan 16.00 WIB, masing-masing selama 20 menit.

Observasi estrus dilakukan secara visual dan dengan bantuan pejantan. Sapi dengan tanda-tanda estrus primer dan sekunder seperti *standing heat*, menaiki sapi lain, gelisah, vulva merah dan bengkak, keluarnya mukus serviks, dan penurunan nafsu makan diberikan skor pada skala 0-5 (Sonmez et al., 2005).

### Pemeriksaan Konsentrasi Hormon Estradiol dan Progesteron

Prosedur pemeriksaan konsentrasi hormon estrogen dan progesteron dilakukan dengan metode ELISA menggunakan kit estrogen dan progesterone (DRG International Inc., Germany). Koleksi darah untuk pemeriksaan estrogen dan progesterone

dilakukan pada hari ke-0 (saat estrus), hari ke-1, 2, 3, 4, dan 5 pasca sinkronisasi PGF $2\alpha$  kedua.

### Pemeriksaan Kandungan Biokimia Serum Darah

Pengukuran kandungan serum darah berupa total kolesterol, total protein, kadar glukosa dilakukan dengan menggunakan alat *semi auto chemistry analyzer* Photometer Mindray BA 88A. Pemeriksaan konsentrasi magnesium (Mg), fosfor (P), natrium (Na), kalium (K), klorida (Cl), kalsium (Ca) dilakukan dengan menggunakan alat *spectrophotometry* (Cornley).

### Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Mukosa Uterus

Sampel bakteri dikoleksi dari saluran uterus menggunakan *cotton swab* steril yang dipasang pada ujung *gun* IB lalu ditutupi dengan plastik *sheath* steril dan selubung plastik bagian luar (sebagai lapisan pelindung pertama), kemudian *gun* dimasukkan ke dalam vagina. Untuk menghindari kontaminasi pada bagian vagina, plastik *sheath* langsung diarahkan ke serviks. Pada bagian pangkal serviks, *gun* IB didorong keluar dari selubung plastik sampai mencapai bagian dalam uterus. Di dalam uterus, *cotton swab* steril didorong keluar dari plastik *sheath* dan selanjutnya dibuat apusan/*swab* pada lapisan endometrium. *Cotton swab* ditarik kembali ke dalam plastik *sheath* dan dikeluarkan dari uterus (17) Selanjutnya sampel *swab* dimasukkan dalam media *nutrien broth* (NB) dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri dikultur dalam media *nutrien agar* (NA), *blood agar*, *Mac Conkey agar* (MCA), *manitol salt agar* (MSA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Yilmaz et al., 2012; Hasan et al., 2015). Bakteri diidentifikasi morfologinya dengan pewarnaan Gram, uji katalase, hemolisis, dan dilakukan uji biokimia, yaitu *motility*, *indol and urease test* (MIU test), *triple sugar iron agar* (TSI-A), *Voges Proskauer Test* (VP) (Forbes et al., 2007; Dolezel et al., 2010; Hasan et al., 2016).

### Analisis Data

Data terkait intensitas birahi, jumlah bakteri, kadar kolesterol, protein, glukosa, kadar hormon estradiol, dan kadar hormon progesteron dianalisis dengan model regresi linear berganda.

## HASIL

Faktor-faktor yang memengaruhi RB pada sapi aceh yang ditentukan dalam penelitian ini yaitu faktor intensitas birahi ( $X_1$ ), kadar hormon estradiol ( $X_2$ ), kadar hormon progesteron hari ke-1 ( $X_3$ ), progesteron



hari ke-2 ( $X_4$ ), progesteron hari ke-3 ( $X_5$ ), progesteron hari ke-4 ( $X_6$ ), progesteron hari ke-5 pasca sinkronisasi PGF2 $\alpha$  ( $X_7$ ), kadar kolesterol ( $X_8$ ), glukosa ( $X_9$ ), dan jumlah infeksi bakteri ( $X_{10}$ ) dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,993 seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Nilai koefisien determinasi faktor-faktor penyebab RB pada sapi aceh

Model Summary				
Model	R	R Kuadrat	R Kuadrat disesuaikan	Estrimasi Std. Error
1	.996 <sup>a</sup>	.993	.968	.26259

Keterangan :

- a. : Prediktor: (Konstanta), Jumlah bakteri, estradiol, progesteron, kolesterol, progesteron, glukosa, Intensitas birahi, progesteron, progesteron
- R : Nilai koefisien determinasi

Nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,993 menunjukkan bahwa variabel-variabel yang diteliti secara simultan sangat berpengaruh terhadap nilai S/C sebesar 99,3%, sedangkan 0,7% dipengaruhi oleh variabel lain di luar variabel yang diteliti. Adapun nilai signifikansi dari faktor-faktor yang diuji disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil analisis ANOVA dan nilai signifikansi terhadap faktor-faktor penyebab RB pada sapi aceh

ANOVA <sup>a</sup>					
Model	Jumlah Kuadrat	df	Kuadrat rata-rata	F	Sig.
1 Regresi	27.507	10	2.751	39.894	.006 <sup>b</sup>
Residu	.207	3	.069		
Total	27.714	13			

Keterangan :

- a : variabel terikat: SC
- b : Prediktor: (konstanta), Jumlah bakteri, estradiol, progesteron, kolesterol, progesteron, glukosa, Intensitas birahi, progesteron, progesteron
- F : nilai F hitung
- sig.: signifikansi hubungan antar variabel bebas dengan variabel terikat

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap RB pada sapi aceh disajikan pada Tabel 3.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan Tabel 2 diperoleh nilai Fhitung sebesar 39,89 dan Pvalue sebesar 0,006, menunjukkan bahwa variabel-variabel yang diamati dalam penelitian ini secara simultan berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) terhadap nilai S/C. Hal ini menjelaskan bahwa kejadian RB pada sapi aceh sangat dipengaruhi oleh faktor intensitas birahi, konsentrasi hormon estradiol, konsentrasi hormon progesteron hari ke-1 sampai 5 pasca estrus, kadar kolesterol, glukosa, dan prevalensi infeksi bakteri. Pada sapi perah, faktor-faktor yang berpotensi atau berpengaruh terhadap kejadian RB adalah defisiensi nutrisi, umur ternak, deteksi estrus yang tidak tepat, disfungsi endokrin, dan abnormalitas lingkungan uterus dan oviduk serta endometritis (39). Faktor-faktor tersebut sering muncul secara bersamaan sehingga sulit untuk mengkarakterisasi penyebab utama kejadian RB (Ferraz et al., 2017).

Hasil analisis menunjukkan bahwa faktor intensitas estrus secara simultan berpengaruh sangat nyata terhadap nilai S/C pada sapi aceh ( $Pvalue = 0,01$ ) yang berasosiasi positif terhadap RB artinya apabila intensitas estrus meningkat sebesar satu satuan maka nilai S/C akan meningkat sebesar 1,27. Semakin baik intensitas estrus maka tingkat kejadian RB pada sapi aceh akan semakin rendah. Intensitas estrus yang tinggi dapat meningkatkan angka kebuntingan dibandingkan dengan intensitas estrus yang rendah (Roelofs et al., 2010). Terdapat hubungan positif antara angka kebuntingan dan ekspresi estrus pada sapi (Yusuf et al., 2010). Sapi yang memperlihatkan intensitas estrus lebih kecil dari 3,5 (skala skor 1-5) kemungkinan dapat menyebabkan anestrus, *silent ovulation* (Sonmez et al., 2005) dan meningkatnya jumlah S/C (Kune dan Najamuddin, 2002) yang pada akhirnya akan berdampak terhadap peningkatan kejadian RB. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa sapi aceh yang memiliki intensitas estrus di bawah 3,5 akan cenderung mengalami RB.

Berdasarkan Tabel 3, maka diperoleh formula atau model regresi sebagai berikut :

$$Y = a + bX_1 + bX_2 + \dots + bX_n$$

$$S/C = -5,28 + 1,27X_1 - 0,69X_2 - 0,99X_3 - 0,23X_4 + 2,28X_5 - 0,53X_6 + 0,71X_7 - 0,29X_8 + 0,09X_9 + 3,04X_{10}$$

Keterangan : S/C (*Service per conception*),  $X_1$  (Faktor intensitas birahi),  $X_2$  (kadar hormon estradiol),  $X_3$  (kadar hormon progesteron hari ke-1),  $X_4$  (progesteron hari ke-2),  $X_5$  (progesteron hari ke-3),  $X_6$  (progesteron hari ke-4),  $X_7$  (progesteron hari ke-5),  $X_8$  (kadar kolesterol),  $X_9$  (Glukosa), dan  $X_{10}$  (jumlah infeksi bakteri).

Tabel 3 Nilai koefisien faktor-faktor penyebab gangguan RB pada sapi aceh

Model	Koefisien <sup>a</sup>				t	Sig.
	Koefisien Unstandarisasi		Koefisien Standarisasi			
	B	Std. Error	Beta			
(Constant)	-5.286	2.375		-2.226	.112	
Intensitas estrus	1.270	.231	.991	5.490	.012	
Estradiol	-.069	.008	-.853	-9.144	.003	
Progesteron H1	-.993	.282	-1.038	-3.521	.039	
Progesteron H2	-.235	.258	-.082	-.911	.429	
Progesteron H3	2.286	.383	1.988	5.970	.009	
Progesteron H4	-.532	.118	-.607	-4.503	.020	
Progesteron H5	.718	.178	.769	4.037	.027	
Kolesterol	-.029	.004	-.950	-6.795	.007	
Glukosa	.096	.011	.955	8.419	.004	
Jumlah bakteri	3.046	.478	1.515	6.370	.008	

Keterangan :

a. : Variabel terikat: *service per conception* (S/C).

B : Koefisien parameter regresi dari variabel unstandarisasi (variabel biasa).

Beta : Koefisien parameter regresi dari variabel terstandarisasi.

t : Nilai t hitung

sig. : Signifikansi hubungan antar variabel bebas dengan variabel terikat

Perbedaan intensitas estrus pada kedua kelompok sapi aceh diasumsikan berhubungan dengan faktor individu dari ternak tersebut atau sebab lainnya. Perbedaan respons estrus pada sapi dapat disebabkan oleh faktor non-perlakuan seperti faktor kondisi ternak, faktor individu, aktivitas kerja yang dilakukan, dan interaksi ternak (Mardiansyah et al., 2006; Saili et al., 2009). Berdasarkan hasil pengamatan estrus menunjukkan bahwa sapi aceh yang mengalami RB memiliki skor intensitas estrus yang lebih rendah dibandingkan sapi aceh fertil dengan skor intensitas berahi masing-masing adalah  $2,89 \pm 1,05$  vs  $4,00 \pm 1,00$  yang diikuti dengan rendahnya konsentrasi hormon estradiol masing-masing adalah  $101,6 \pm 17,4$  vs  $110,4 \pm 20,1$  pg/ml. Intensitas dan durasi estrus sangat memengaruhi kejadian RB pada sapi (Kune dan Najamuddin, 2002; Hasan et al., 2015; Thasmi et al., 2016). Skor intensitas estrus berhubungan dengan konsentrasi konsentrasi hormon estradiol dan progesteron (Sonmez et al., 2005).

Hasil analisis kadar hormon estradiol menunjukkan bahwa secara simultan berpengaruh sangat nyata terhadap nilai S/C pada sapi aceh ( $Pvalue=0,003$ ) yang berasosiasi negatif terhadap RB yakni apabila kadar hormon estradiol meningkat sebesar satu satuan maka nilai S/C akan turun sebesar 0,69. Hal ini menunjukkan bahwa apabila terjadi peningkatan konsentrasi

hormon estradiol dalam darah maka intensitas estrus akan meningkat. Skor intensitas estrus yang tinggi menunjukkan kualitas estrus yang baik, karena semakin jelas penampilan estrus maka identifikasi estrus akan semakin akurat dan pelaksanaan IB akan semakin tepat dan akan menurunkan angka S/C. Semakin kecil angka S/C maka tingkat kejadian RB pada sapi akan semakin rendah. Konsentrasi estradiol dalam darah memiliki korelasi positif dengan intensitas dan durasi estrus (Sonmez et al., 2005) dan akan memengaruhi angka S/C (Meyer et al., 1995).

Rendahnya konsentrasi estradiol pada sapi RB kemungkinan disebabkan rendahnya kadar kolesterol yang berdampak terhadap proses steroidogenesis di ovarium (Meyer et al., 1995). Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini, dimana konsentrasi estradiol pada sapi aceh RB lebih rendah dibandingkan dengan sapi fertil dengan konsentrasi masing-masing adalah  $101,6 \pm 17,4$  pg/ml dan  $110,4 \pm 20,1$  pg/ml dan kadar kolesterol pada sapi aceh RB lebih rendah daripada sapi fertil dengan konsentrasi masing-masing adalah  $144,00 \pm 40,69$  dan  $185,86 \pm 45,34$  mg/dl.

Konsentrasi hormon progesteron menunjukkan hasil yang bervariasi, pada hari ke-1 pasca sinkronisasi estrus secara simultan berpengaruh nyata terhadap S/C pada sapi aceh dengan nilai  $Pvalue$  sebesar 0,39 yang berasosiasi negatif. Pada hari ke-2 tidak ada

pengaruh nyata terhadap angka *S/C* dengan *Pvalue* sebesar 2,29 yang berasosiasi negatif. Akan tetapi pada hari ke-3 pasca sinkronisasi estrus secara simultan menunjukkan pengaruh sangat nyata terhadap *S/C* (*Pvalue* = 0,009) yang berasosiasi negatif terhadap nilai *S/C*, sedangkan konsentrasi hormon progesteron pada hari ke-4 berpengaruh nyata terhadap angka *S/C* (*Pvalue* = 0,020) juga berasosiasi negatif terhadap angka *S/C*. Konsentrasi hormon progesteron pada hari ke-5 secara simultan juga berpengaruh nyata terhadap angka *S/C* (*Pvalue* = 0,027) yang berasosiasi positif terhadap angka *S/C*. Hal ini menunjukkan bahwa sapi aceh yang mengalami RB cenderung memiliki kadar progesteron yang rendah.

Rendahnya konsentrasi progesteron pada sapi aceh akan memicu terjadinya kegagalan kebuntingan. Kurva progesteron yang rendah pada sapi yang mengalami ovulasi tertunda berkaitan dengan tingkat konsepsi yang rendah dan akan diikuti dengan berkurangnya produksi interferon-tau secara signifikan (Perez-Marín et al., 2012). Sekitar 10-15% kasus kegagalan kebuntingan pada sapi disebabkan oleh tidak cukupnya produksi interferon-tau dalam mempertahankan korpus luteum (Mann dan Lamming, 1999). Tertundanya peningkatan konsentrasi progesteron satu hari pasca ovulasi dapat memberikan efek negatif terhadap kebuntingan dan dapat menyebabkan kegagalan kebuntingan (Wolfenson, 2006).

Rendahnya konsentrasi progesteron berhubungan dengan dua masalah utama yakni stres pada musim panas dan keseimbangan energi negatif (Guzel et al., 2014). Rendahnya kadar progesteron pada sapi aceh diketahui erat kaitannya dengan rendahnya kadar kolesterol dalam darah. Kadar kolesterol yang rendah berkontribusi terhadap rendahnya status energi dan penurunan prekursor sistesis hormon steroid dalam tubuh, termasuk hormon estradiol dan progesteron (Sabasthin et al., 2012; Chatuphonprasert et al., 2018).

Berdasarkan penjelasan di atas bahwa kadar hormon estradiol dan progesteron pada sapi aceh yang mengalami RB sangat dipengaruhi oleh kadar kolesterol dalam darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar kolesterol dalam darah berpengaruh sangat nyata terhadap angka *S/C* pada sapi aceh (*Pvalue* = 0,007) yang berasosiasi negatif terhadap RB, artinya apabila kadar kolesterol meningkat sebesar satu satuan maka angka *S/C* akan turun sebesar 0,29. Hal ini menunjukkan bahwa sapi yang mengalami defisiensi kolesterol umumnya akan memengaruhi performan reproduksi.

Kolesterol merupakan prekursor hormon steroid dalam tubuh termasuk estradiol, progesteron, testosteron, dan vitamin D (Arthur et al., 2018). Defisiensi kolesterol dalam darah akan berdampak

negatif terhadap biosintesis hormon steroid (estradiol dan progesteron) dalam tubuh. Rendahnya kolesterol total pada sapi yang mengalami RB dapat disebabkan oleh rendahnya lemak dalam pakan dan memengaruhi proses reproduksi (Chatuphonprasert et al., 2018). Diet rendah lemak dapat berkontribusi terhadap rendahnya status energi dan menyebabkan kegagalan perkembangan folikel, dan akan memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan embrio (Prihatno et al., 2013a).

Kadar glukosa juga berpengaruh sangat nyata terhadap angka *S/C* pada sapi aceh (*Pvalue* = 0,004) yang berasosiasi positif terhadap RB yang berarti apabila kadar glukosa meningkat sebesar satu satuan maka angka *S/C* akan meningkat sebesar 0,96. Sapi yang didiagnosa mengalami RB memiliki kadar glukosa yang lebih rendah dibandingkan sapi fertil (Chatuphonprasert et al., 2018; Widayati et al., 2018). Kadar glukosa darah yang rendah merupakan indikasi ketidakcukupan sumber energi bagi tubuh dan dapat mengakibatkan infertilitas (Widayati et al., 2018).

Glukosa adalah salah satu substrat metabolisme paling utama yang diperlukan untuk proses reproduksi pada sapi. Rendahnya kadar serum glukosa merupakan faktor penyebab tingginya konsentrasi *non esterified fatty acids* (NEFA) yang mempunyai efek toksik terhadap folikel, oosit, embrio, dan fetus (Mulligan et al., 2006), dan menurunnya sekresi GnRH oleh hipotalamus (Hafizuddin et al., 2012). Penurunan GnRH akan diikuti dengan penurunan sintesa hormon FSH dan LH dan mengakibatkan tidak adanya pertumbuhan folikel ovarium atau hipofungsi ovarium, dan akan menyebabkan terjadinya RB (Gani et al., 2008).

Jumlah bakteri (tingkat infeksi bakteri) pada uterus secara simultan berpengaruh sangat nyata terhadap angka *S/C* sapi aceh (*Pvalue* = 0,008) yang berasosiasi positif. Apabila jumlah infeksi bakteri pada uterus sapi aceh terus meningkat maka akan meningkatkan angka *S/C* sebesar 3,04. Frekuensi dan persentase infeksi bakteri pada uterus berkorelasi positif dengan kejadian RB pada sapi perah ( $r = 0,94$ )

Berdasarkan hasil dari pemodelan diagnosis RB pada sapi aceh menunjukkan bahwa penyebab utama RB pada sapi aceh adalah infeksi bakteri pada uterus. Tingkat infeksi bakteri yang tinggi dapat berakibat terhadap timbulnya endometritis yang pada akhirnya akan menyebabkan RB. Hal ini terlihat dari tingkat infeksi bakteri yang tinggi pada sapi RB. Tingginya infeksi bakteri pada uterus dapat menyebabkan sapi mengalami stres. Hal ini diketahui dari hasil pemeriksaan biokimia darah yang menunjukkan kadar glukosa yang tinggi pada sapi RB. Kadar glukosa yang tinggi tersebut mengindikasikan bahwa



sapi aceh RB mengalami stres akibat endometritis kronis. Selanjutnya faktor lain yang memengaruhi RB pada sapi aceh yaitu ketidakseimbangan nutrisi. Hal ini terlihat dari hasil pemeriksaan biokimia darah yakni kadar kolesterol yang rendah pada sapi RB dibandingkan dengan sapi fertil. Kadar kolesterol yang rendah akan menyebabkan terganggunya proses steroidogenesis, khususnya estradiol dan progesteron. Rendahnya estradiol akan berpengaruh terhadap rendahnya intensitas estrus. Berdasarkan hasil dari pemodelan diagnosis RB pada sapi aceh menunjukkan bahwa penyebab utama RB pada sapi aceh adalah infeksi bakteri pada uterus yang kemungkinan mengakibatkan sapi tersebut mengalami stres yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah. Selain itu, RB pada sapi aceh juga dipengaruhi oleh ketidakseimbangan nutrisi dan hormonal yang mengakibatkan intensitas estrus menjadi rendah.

“Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal JK, Saxena A, Singh V. 2015. Study on metabolic profile of repeat breeder, postpartum anestrous and normal cyclic Sahiwal cows. *Indian J. Anim. Reprod.*, 36(1): 53-55.
- Ahamed R, Tasnim M, Halim MdA, Sarkar M, Islam MdS, Morshed M. 2018. A comparative study on reproductive hormones of repeat breeding and synchronized repeat breeding dairy cows under Bathan rearing system at Baghabari Milk Shed Areas In Bangladesh. *IOSR J. Agricult. Vet. Sci.*, 11(11-II): 55-60.
- Ahmed ME, Ahmed FO, Frah EAM, Elfaki I. 2017. Blood biochemical profile of Sudanese crossbred repeat breeder cows. *African J. Biotechnol.* 16(8): 366-70.
- Akhtar MS, Farooq AA, Lodhi LA, Muhammad SA, Ayaz MM, Lashari MH, Murtaza S, Hussain I, Irshad M, Maqbool HM, Raza MA. 2014. Studies on serum macro and micro minerals status in repeat breeder and normal cyclic Nili-Ravi buffaloes and their treatment strategies. *African J. Biotechnol.*, 13(10):1143-1146.
- Altun S, Çomaklı S, Kapakin KAT, Cengiz M. 2018. Investigation of pathological lesions and fetal losses in slaughtered cattle. *Alinteri J. Agricult. Sci.* 33(2): 177-182.
- Arthur GH, David EN, Pearson H. 2018. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8<sup>th</sup> ed. Bailliere Tindall, London.
- Ata A, Türütoglu H, Kale M, Gülay MS, Pehlivanoglu F. 2010. Microbial flora of normal and abnormal cervical mucous discharge associated with reproductive performance of cows and heifers in estrus. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, 23(8): 1007-1012.
- Ayam VBS, Awasthi MK, Khan JR, Poyam MR. 2017. Luteal deficiency: An important cause of conception failure in Sahiwal cattle. *Indian J. Anim. Reprod.*, 38(1): 45-46.
- Azizunnesa S, Joy D, Faruk MO. 2011. Isolation and identification of uterine microorganisms in postpartum dairy cows. *Bangladesh J. Microbiol.*, 28(1): 19-23.
- Bage R, Gustafsson H, Forsber M, Larsson B, Rodriguez-Martinez H. 1997. Suprabasal progesterone levels in repeat breeder heifers during the pro-and oestrous period. *Theriogenology*, 47(1): 141.
- Barui A, Batabyal S, Ghosh S, Saha D, Chattopadhyay S. 2015. Plasma mineral profiles and hormonal activities of normal cycling and repeat breeding crossbred cows: A comparative study. *Vet. World*, 8(1): 42-45.
- Bhat FA, Bhattacharyya HK, Hussain SA. 2014. White side test: A simple and rapid test for evaluation of nonspecific bacterial genital infections of repeat breeding cattle. *Vet. Res. Forum*, 5(3): 177-180.
- Chatuphonprasert W, Jarukamjorn K, Ellinger I. 2018. Physiology and pathophysiology of steroid biosynthesis, transport and metabolism in the human placenta. *Front. Pharmacol.* 9(1027): 1-29.
- Cummins SB, Lonergan P, Evans AC, Butler ST. 2012. Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: II. Ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *J. Dairy Sci.*, 95: 3698-3710.
- Das S, Bandopadhyaya SK, Basu S, Ghosh BB, Dattagupta R. 2002. Blood mineral profile of normal cyclic and repeat breeder crossbred cows under rural condition. *Indian J. Anim. Reprod.*, 23:167-169.
- Dolezel R, Palenik T, Cech S, Kohoutova L, Vyskocil M. 2010. Bacterial contamination of the uterus in cows with various clinical types of metritis and endometritis and use of hydrogen peroxide for intrauterine treatment. *Vet. Med.* 55(10): 504-511.
- Ferraz PA, Loiola MVG, Rodrigues AS, Lima MCC, de Bittencourt TCB, Filho ALR. 2017. The effect of the intensity of estrus expression on the follicular diameter and fertility of Nelore cows managed under a FTAI program. *Ciência Anim. Brasileira, Goiânia*, 18:1-9.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 2007. *Bailey and Scotts' Diagnostic Microbiology*. 12<sup>th</sup> ed. Elsevier, USA.

- Galvão KN, Flaminio MJBF, Brittin SB, Sper R, Fraga M, Caixeta L. 2010. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 93: 2926-2937.
- Gani MO, Amin MM, Alam MGS, Kayesh MEH, Karim MR, Samad MA, Islam MR. 2008. Bacterial flora associated with repeat breeding and uterine infections in dairy cows. *Bangladesh J. Vet. Med.* 6(1): 79-86.
- Guzel S, Tanriverdi M. 2014. Comparison of serum leptin, glucose, total cholesterol and total protein levels in fertile and repeat breeder cows. *Rev. Brasileira de Zootec.*, 43(12): 643-647.
- Hafizuddin, Siregar TN, Akmal M, Melia J, Husnurrizal, Armansyah T. 2012. Comparison of oestrous intensity between prostaglandin f2 alfa synchronized and the natural oestrous ones among Aceh cattle. *J. Kedokt. Hewan*, 6(2): 81-83.
- Hasan MdA, Al-Mamun A, Uddin ASmA, Hassan MdZ, Hasan M, Rahman MdH. 2015. Investigation into gynecopathological disorders and identification of associated bacteria from the genital organs of cows in Dinajpur, Bangladesh. *J. Adv. Vet. Anim. Res.*, 2(2): 165-169.
- Heidarpour M, Mohri M, Fallah-Rad AH, Shahreza FD, Mohammadi M. 2012. Acute-phase protein concentration and metabolic status affect the outcome of treatment in cows with clinical and subclinical endometritis. *Vet. Record*, 171:219-223.
- Jeon SJ, Vieira-Neto A, Gobikrushanth M, Daetz R, Mingoti RD, Parize ACB, de Freitas SL, da Costa ANL, Bicalho RC, Lima S, Jeong KC, Galvão KN. 2015. Uterine microbiota progression from calving until establishment of metritis in dairy cows. *Appl. Environm. Microbiol.*, 81(18): 6324-6332.
- Kune P, Najamudin. 2002. Respons estrus sapi potong akibat pemberian progesteron, prostaglandin F2 alfa dan estradiol benzoat dalam kegiatan sinkronisasi estrus pada sapi potong. *J. Agroland*, 9(4):380-4.
- Mann GM, Lamming GE. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 34(3-4): 269-274.
- Mardiansyah, Yuliani E, Prasetyo S. 2006. Respon tingkah laku birahi, service per conception, non-return rate, conception rate pada sapi bali dara dan induk yang disinkronisasi birahi dengan hormon progesteron. *J. Ilmu Teknol. Pet. Indonesia*, 2(1): 134-143.
- Meyer MD, Hansen PJ, Thatcher WW, Drost M, Badinga L, Roberts RM, Li J, Ott TL, Bazer FW. 1995. Extension of corpus luteum lifespan and reduction of uterine secretion of prostaglandin F2 alpha of cows in response to recombinant interferon tau. *J. Dairy Sci.*, 78: 1921-1931.
- Modi LC, Suthar BN, Chaudhari CF, Chaudhari NF, Nakhshi HC, Modi F. 2013. Trace minerals profile of blood serum and estrual mucus in repeat breeder Kankrej cows. *Vet. World*, 6(3): 143-6.
- Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA, Doherty ML. 2006. Nutrition and fertility in dairy cows. *Irish Vet. J.* 60: 15-20.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 2003. *Biokimia Harper*. 2003. 25<sup>th</sup> ed. Buku Kedokteran EGC Press, Jakarta.
- Nath BK, Das BC, Bari MS, Rahman MA. 2014. Prevalence and risk factors of repeat breeding in commercial dairy farms of Chittagong District of Bangladesh. *Int. J. Nat. Sci.*, 4(1): 21-27.
- Pascottini OB, Hostens M, Dini P, Vandepitte J, Ducatelle R, Opsomer G. 2016. Comparison between cytology and histopathology to evaluate subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 86: 1550-1556.
- Pérez-Marín CC, España F. 2007. Oestrus expression and ovarian function in repeat breeder cows, monitored by ultrasonography and progesterone assay. *Reprod. Dom. Anim.* 42: 449-456.
- Perez-Marin CC, Moreno LM, Calero GV. 2012. Clinical Approach to the Repeat Breeder Cow Syndrome. In *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine*. Dr. Carlos C. Perez-Marin (Ed.), University of Cordoba, Spain.
- Prihatno SA, Kusumawati A, Karja NWK, Sumiarto B. 2013. Blood biochemical profile in repeat breeding dairy cows. *J. Kedokt. Hewan*, 7(1): 29-31.
- Prihatno SA, Kusumawati A, Karja NWK, Sumiarto B. 2013. Prevalence and risk factors of repeat breeding in dairy cows at the farmer level. *J. Vet.*, 14(4): 452-461.
- Roelofs J, López-Gatius F, Hunter RH, van Eerdenburg FJ, Hanzen CH. 2010. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*, 74(3): 327-344.
- Sabasthin A, Kumar VG, Nandi S, Murthy VC. 2012. Blood haematological and biochemical parameters in normal cycling, pregnant and repeat breeding buffaloes (*Bubalus bubalis*) maintained in isothermic and isonutritional conditions. *Asian Pacific J. Reprod.* 1(2): 117-119.
- Saili T, Ali B, Achmad SA, Muh R, Rahim A. 2009. Sinkronisasi birahi melalui hormon agen luteolitik untuk meningkatkan efisiensi reproduksi sapi Bali dan PO di Sulawesi Tenggara. *J. Fak. Pertanian*, 3: 81-83.
- Saraswat CS, Purohit GN. 2016. Repeat breeding: Incidence, risk factors and diagnosis in buffaloes. *Asian Pacific J. Reprod.*, 5(2): 87-95.



- Siregar TN, Wajdi F, Akmal M, Fahrimal Y, Adam M, Panjaitan B, Sutriana A, Daud R, Armansyah T, Meutia N. 2017. Embryonic death incident due to heat stress and effect of therapy with gonadotrophin releasing hormone (GnRH) in Aceh cattle. *Vet. Zootech.*, 75(97):70-74.
- Siregar, T.N., H. Hamdan, G. Riady, B. Panjaitan, D. Aliza, E.F. Pratiwi, T. Darianto, and H. Husnurrisal. 2015. Efficacy of two estrus synchronization methods in Indonesian aceh cattle. *Int. J. Vet. Sci.* 4(2): 87-91.
- Sonmez M, Demirci E, Turk G, Gur S. 2005. Effect of season on some fertility parameters of diary and beef cows in Elazig Province. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 29:821-828.
- Sood P, Zachut M, Dube H, Moallem U. 2015. Behavioral and hormonal pattern of repeat breeder cows around estrus. *Reproduction*, 149: 545-554.
- Thasmi CN, Siregar TN, Wahyuni S, Aliza D, Hamdan H, Panjaitan B, Asmilia N, Husnurrijal H. 2016. Estrus performance and steroid level of repeat breeding aceh cattle synchronized with Pgf2 $\alpha$ . *Veterinaria*, 66(1): 36-41.
- Wagener K, Gabler C, Drillich M. 2017. A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 94: 21-30.
- Wang, M-L, Liu M-J, Xu J, An L-G, Wang J-F, Zhu Y-H. 2018. Uterine microbiota of dairy cows with clinical and subclinical endometritis. *Front. Microbiol.*, 9(2691): 1-11.
- Widayati DT, Bintara S, Natawihardja I, Maharani D. 2018. Blood biochemical profile in fertile and repeat breeder ongole cross breed cows. *Pakistan J. Biol. Sci.*, 21(4): 166-170.
- Wodaje HB, Mekuria TA. 2016. Risk factors of repeat breeding in dairy cattle. *Adv. Biol. Res.*, 10(4): 213-221.
- Wolfenson D. 2006. Factors associated with low progesterone concentrations and their relation to low fertility of lactating dairy cows. *Israel J. Vet. Med.*, 61(2): 76-85.
- Yanuartono A, Nururrozi, Soedarmanto, Indarjulianto, Purnamaningsih H. 2016. Peran makromineral pada reproduksi ruminansia. *J. Sain Vet.*, 34(2): 155-165.
- Yilmaz O, Kuyucuoglu Y, Sevimli A, Yazici E, Uçar M. 2012. Uterine microbiology and histopathology in repeat breeder anatolian water buffaloes: An abattoir study. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Dergisi*, 18(5): 791-798.
- Yusuf M, Rahim L, Asja MA, Wahyudi A. 2012. The incidence of repeat breeding in dairy cows under tropical condition. *Med. Pet.*, 35(1): 28-31.