Penampilan Reproduksi Kerbau Post Partum pada Berbagai Level GnRH yang disinkronisasi dengan PGF_{2α}

YENDRALIZA¹, B.P. ZESPIN², Z. UDIN² dan JASWANDI²

¹Laboratorium Biologi Reproduksi Ternak Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau Jl. HR Soebrantas KM 15 Panam, Pekanbaru 28293, Indonesia ²Laboratorium Fisiologi Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Andalas Kampus Limau Manis Padang 25163, West Sumatera, Indonesia Coresponden Author: lizafapet@gmail.com

(Diterima 9 April 2012; disetujui 4 Juni 2012)

ABSTRACT

YENDRALIZA, B.P. ZESPIN, Z. UDIN, dan JASWANDI. 2012. Post-partum reproductive appearance of buffalo at various levels of GnRH and synchronized with PGF_{2n}. JITV 17(2): 107-111.

A study of reproductive performance of buffalo treated with levels of GnRH was conducted on twenty buffaloes of Kampar. The animals were divided into five groups. Group 1 received 200 μ g GnRH, the second group received 250 μ g GnRH, the third group received 300 μ g GnRH, the fourth group received 350 μ g GnRH and the fifth group received 400 μ g GnRH. Each group also received 12.5 μ g PGF_{2 α} at days 7 following GnRH injection. Sign of estrus was observed 9 days after GnRH injection. Statistical analysis was performed based on completely randomized design. Results showed that the injection of 300 μ g of GnRH that was followed by 12,5 μ g of PGF_{2 α} was able to show obvious sign of post-partum oestrus, with sign of estrus appeared at oestrus rate of 27.8 hours, following PGF_{2 α} injection, with 100% of pregnancy rate and 100% of calving rate.

Key Words: Estrus, Pregnancy Rate, Calving Rate

ABSTRAK

Yendraliza, B.P. Zespin, Z. Udin dan Jaswandi. 2012. Penampilan reproduksi kerbau post partum pada berbagai level GnRH yang disinkronisasi dengan $PGF_{2\alpha}$. *JITV* 17(2): 107-111.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari level dosis GnRH yang tepat terhadap kecepatan munculnya estrus dan angka kebuntingan serta angka kelahiran pada ternak kerbau pascapartus. Penelitian ini menggunakan 20 ternak kerbau pascapartus yang dibagi dalam lima kelompok. Kelompok pertama menggunakan 200 μ g GnRH (Fertagyl®, Intervet International). Kelompok kedua menggunakan 250 μ g GnRH, kelompok ketiga menggunakan 300 μ g GnRH, kelompok keempat menggunakan 350 μ g GnRH dan kelompok yang kelima menggunakan 400 μ g GnRH. Semua kelompok kerbau tersebut mendapat 12,5 μ g PGF_{2 α} pada hari ketujuh setelah injeksi GnRH. Pengamatan di lakukan pada hari kesembilan setelah injeksi GnRH. Data yang didapatkan dianalisa dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan level dosis GnRH yang disinkronisasi dengan PGF_{2 α} dapat memperjelas tampilan estrus pada kerbau. Pemberian 300 μ g GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF_{2 α} mampu memperlihatkan tanda estrus yang jelas pada ternak kerbau pascapartus dengan kecepatan estrus 27,8 jam, setelah penyuntikan PGF_{2 α}, dengan angka kebuntingan 100% dan angka kelahiran 100%.

Kata Kunci: Estrus, Angka Kebuntingan, Angka Kelahiran

PENDAHULUAN

Kerbau merupakan salah satu ternak ruminansia yang berkontribusi dalam penyediaan kebutuhan protein hewani bagi manusia. Produktivitas ternak kerbau sepertinya cenderung mengalami penurunan dari tahun ke tahun. Data BPS Riau (2011) memperlihatkan peningkatan jumlah ternak kerbau namun tidak signifikan. Hal ini terlihat dari tahun 2007 populasi kerbau di Provinsi Riau berkisar 56.309 ekor dan pada tahun 2010 hanya 51.697 ekor. Sumber data yang sama

menunjukkan populasi ternak kerbau di Kabupaten Kampar tidak meningkat secara signifikan yaitu 22.548 pada tahun 2007 dan 24.785 pada tahun 2010.

Proses reproduksi pada ternak kerbau sangat lambat, ditandai dengan lambatnya pubertas dan panjangnya calving interval serta adanya kasus silent heat (PAUL dan PRAKASH, 2005). Semua itu dipengaruhi oleh gizi, lingkungan dan manajemen (NANDA et al., 2003). Lambatnya proses reproduksi di Kabupaten Kampar kemungkinan disebabkan jumlah pejantan yang selalu berkurang dari tahun ke tahun akibat adanya

pemotongan untuk upacara keagamaan maupun upacara adat (YENDRALIZA, 2009).

Salah satu cara meningkatkan jumlah populasi ternak kerbau adalah dengan menggalakkan inseminasi buatan (IB) (BARUSELLI, 2001). Pelaksanaan IB membutuhkan deteksi estrus yang tepat. Tanda-tanda yang jelas dapat dimunculkan sinkronisasi (PURSLEY et al., 1995). Berbagai protokol sinkronisasi telah dicobakan pada sapi dan kerbau. Salah satu protokol yang digunakan dalam sinkronisasi adalah GnRH dan $PGF_{2\alpha}$. Beberapa penelitian yang dilakukan pada kerbau di luar menggunakan GnRH dan PGF_{2a} sebagai metode sinkronisasi adalah pada kerbau Mediterania (BERBER et al., 2002), kerbau Mesir (BARTOLOMEU et al., 2002) dan kerbau Itali (NEGLIA et al., 2003). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui level GnRH yang tepat untuk merangsang pertumbuhan folikel pada kerbau sehingga dapat yang disinkronisasi dengan pemberian 12,5 mg $PGF_{2\alpha}$.

MATERI DAN METODE

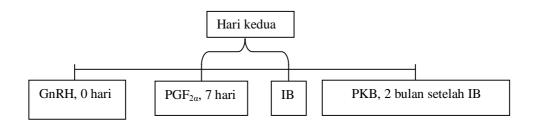
Penelitian menggunakan 20 ekor kerbau lumpur betina yang sudah pernah beranak 1-3 kali, berusia 3-6 tahun, mempunyai bobot badan 225-335 kg. Kerbau betina yang digunakan berasal dari peternakan rakyat Desa Salo, Kecamatan Salo di Kabupaten Kampar, Riau. Kerbau betina diseleksi berdasarkan kesehatan reproduksi, tidak mengalami gangguan saluran reproduksi, tidak sedang bunting dan minimal satu bulan *post-partum*. Kerbau-kerbau tersebut mempunyai aktivitas ovarium dan kondisi uterus yang normal berdasarkan hasil diagnosa melalui palpasi rektal yang dilakukan oleh dokter hewan dan petugas pemeriksa kebuntingan dari Dinas Peternakan Kabupaten Kampar. Kerbau-kerbau yang digunakan dalam penelitian di kandangkan pada kandang koloni milik Balitbang

Kampar pada malam hari dan dilepaskan pada pagi hari di lapangan rumput yang ada di sekitar kandang. Ternak hanya mendapatkan makanan dari rumput alam yang ada di sekitar kandang tanpa ada pakan tambahan.

Kerbau betina yang digunakan dibagi dalam lima kelompok. Kelompok pertama di berikan GnRH (Fertagyl®, Intervet International, Eropa) pada hari pertama penelitian sebanyak 200 μ g. kelompok kedua diberikan GnRH dengan dosis 250 μ g. Kelompok ketiga diberikan 300 μ g. Kelompok keempat diberikan GnRH dengan dosis 350 μ g. Kelompok kelima diberikan GnRH dengan dosis 400 μ g. Pemberian GnRH dilakukan secara intramuskuler (i.m.). PGF_{2 α} (Noroprost® Noorbrok, Northern Ireland) diberikan pada hari ketujuh kepada semua kelompok penelitian sebanyak 12,5 mg secara intramuskuler (Gambar 1).

Pengamatan estrus dilakukan pada hari kedua setelah pemberian $PGF_{2\alpha}$. Kerbau-kerbau yang menunjukkan respon estrus yang ditandai dengan perubahan tingkah laku dari tenang menjadi gelisah, keluarnya lendir dari vulva serta adanya perubahan vulva seperti bengkak dan vulva berwarna merah. Inseminasi dilakukan 18 jam setelah ciri-ciri estrus terlihat menggunakan gun IB untuk kerbau. Volume semen yang digunakan adalah 0,5 ml dengan konsentrasi sperma 50 juta. Semen beku yang digunakan berasal dari Balai Inseminasi Buatan Daerah (BIBD) Banjarmasin. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan 40 hari setelah IB dilakukan dengan cara palpasi rektal.

Peubah yang diukur adalah kecepatan munculnya estrus {jarak antara penyuntikan $PGF_{2\alpha}$ sampai munculnya estrus yang ditandai dengan tampaknya lendir yang nyata (jam)}, lama estrus {interval waktu antara penampakan estrus pertama kali dengan berakhirnya estrus yang ditandai dengan tidak adanya lendir menggelantung di bibir vulva (jam)}, persentase estrus, angka kebuntingan dengan melihat jumlah betina yang bunting dibagi jumlah betina yang diinseminasi



Gambar 1. Skema pemberian GnRH dan $PGF_{2\alpha},$ IB dan PKB

dikali 100% serta angka kelahiran. Keragaman semua data yang dikumpulkan serta pengaruh perlakuan dianalisa menggunakan sidik ragam sesuai dengan rancangan acak lengkap (RAL) (STEEL dan TORRIE, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase estrus

Kombinasi level dosis GnRH dari 200 µg, 250 µg, 300 µg, 350 µg dan 400 µg disinkronisasi dengan 12,5 mg $PGF_{2\alpha}$ pada 20 ekor kerbau lumpur betina memberikan 100% estrus (Tabel 1). Hal ini ditandai dengan munculnya ciri-ciri estrus yang jelas ditandai dengan perubahan warna vulva menjadi merah dan bengkak, keluar lendir dari vulva dan perubahan tingkah laku yang saling diam dinaiki. Pemberian dosis GnRH yang berbeda pada 20 ekor kerbau yang pernah melahirkan membuat siklus ovarium kerbau dalam keadaan sama, sehingga respon kerbau betina yang disinkronisasi dengan $PGF_{2\alpha}$ dapat memberikan pengaruh yang optimal dalam memunculkan estrus. Pendapat ini diperkuat oleh GORDON et al. (1996) yang menyatakan GnRH akan menstimulasi FSH untuk merangsang pertumbuhan folikel dan merangsang LH untuk ovulasi serta pembentukan corpus luteum sehingga PGF_{2α} dapat merespon dengan baik.

Respon penelitian ini sejalan dengan METWELLY et al. (2001) yang menyatakan kombinasi pemberian GnRH dan $PGF_{2\alpha}$ pada kerbau dara dan kerbau dewasa dapat memunculkan 100% berahi. IRIKURA et al. (2003) juga melaporkan hal yang sama bahwa pemberian GnRH- $PGF_{2\alpha}$ -GnRH memberikan 100% estrus pada kerbau dara. Respon kombinasi level dosis GnRH yang disinkronisasi dengan $PGF_{2\alpha}$ pada kerbau Kampar berbeda dengan ZAIN et al. (2001) yang melakukan kombinasi GnRH dengan $PGF_{2\alpha}$ pada kerbau pluripara di Mesir yang hanya mampu memunculkan 31,3% estrus. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh jenis kerbau yang digunakan berbeda, merek dagang

GnRH dan $PGF_{2\alpha}$ yang digunakan berbeda serta lingkungan penelitian yang berbeda (NANDA *et al.*, 2003).

Kecepatan estrus

Kecepatan estrus kerbau pascapartum pada level dosis GnRH yang berbeda disinkronisasi dengan $PGF_{2\alpha}$ di sajikan pada Tabel 1. Peningkatan dosis GnRH memberikan hasil yang optimal pada dosis 300 µg GnRH setelah disinkronisasi dengan $PGF_{2\alpha}$ pada hari ke-7 mempercepat munculnya estrus pada kerbau Kampar jika dibandingkan dengan penggunaan dosis GnRH 200 µg dan 250 µg. Sementara itu, dosis 350 µg dan 400 µg GnRH memberikan kecepatan estrus yang sama dengan penggunaan dosis 300 µg GnRH.

Penambahan GnRH selama siklus estrus akan menyebabkan folikel dominan regresi atau ovulasi dan munculnya gelombang baru pertumbuhan folikel (PURSLEY et~al., 1995; KOHRAM et~al., 1998). Pendapat ini sejalan dengan MOREIRA et~al. (2000) menyatakan bahwa penggunaan $PGF_{2\alpha}$ 7 hari setelah penyuntikan GnRH akan meregresikan CL dan langsung memunculkan estrus. Pernyataan ini diperkuat oleh NOAKES et~al. (2001) bahwa penambahan GnRH akan merangsang pertumbuhan folikel sehingga memperjelas estrus setelah penggunaan $PGF_{2\alpha}$.

Kecepatan estrus kerbau pascapartum di Kabupaten Kampar pada level dosis GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF $_{2\alpha}$ berturut-turut dalam jam adalah 52 ± 6 ; $53,88 \pm 5,1$; $27,8 \pm 2,5$; $28,8 \pm 0,5$ dan $30 \pm 1,9$ sejalan dengan Berber *et al.* (2002) yang melaporkan bahwa penggunaan satu dosis GnRH dapat memperbaiki siklus berahi pada kerbau dan penggunaan dua dosis GnRH akan mempercepat munculnya estrus pada kerbau bila dikombinasikan dengan PGF $_{2\alpha}$. Senada dengan laporan Neglia *et al.* (2003) dan Paul dan Prakash (2005) yang melaporkan bahwa kombinasi penggunaan GnRH dan PGF $_{2\alpha}$ akan mempercepat munculnya berahi pada kerbau.

Tabel 1. Level dosis GnRH yang berbeda terhadap kecepatan estrus dan lama estrus kerbau di Kabupaten Kampar

Dosis GnRH (µg)	Jumlah kerbau (ekor)	Kecepatan estrus (jam)	Lama estrus (jam)	Persentase estrus (%)	Angka kebuntingan (%)	Angka kelahiran (%)
200	4	$52,00^{a} \pm 6,0$	$10,4^{a}\pm 1,1$	100	50	50
250	4	$53,88^{a} \pm 5,1$	$10,0^{a} \pm 1,0$	100	75	75
300	4	$27,80^{b} \pm 2,5$	$16,6^{b} \pm 2,9$	100	100	100
350	4	$28,80^{b} \pm 0,5$	$15,6^b\pm1,0$	100	100	100
400	4	$30,00^{b} \pm 1,9$	$18,0^b \pm 2,6$	100	100	100

Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunnjukkan berbeda sangat nyata (P < 0,01)

Kecepatan estrus kerbau betina di Kabupaten Kampar pada level dosis GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF_{2a} berbeda dengan hasil penelitian yang dilaporkan ALAM *et al.* (1987) pada sapi perah bahwa dosis GnRH yang digunakan untuk memunculkan estrus pada sapi perah pascapartus adalah 100-200 µg dengan angka kebuntingan 76%. Perbedaan ini disebabkan oleh jenis *breed*, lingkungan, nutrisi dan *body condition score* (BCS) dari ternak juga berbeda (NANDA *et al.*, 2003).

Lama estrus

Dosis GnRH yang berbeda yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF_{2α} memberikan lama estrus yang berbeda pada masing-masing kerbau (Tabel 1). Level 300 µg GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg $PGF_{2\alpha}$ menghasilkan estrus yang lebih lama (16,6 \pm 2,9 jam) dibandingkan dengan penggunaan 200 µg (10,4 ± 1,1 jam) dan 250 µg (10 \pm 1 jam) GnRH dengan 12,5 mg PGF_{2 α}. Namun penggunaan 350 µg (15,6 ± 1 jam) dan 400 µg (18 ± 2,6 jam) GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg $PGF_{2\alpha}$ tidak memberikan lama estrus yang berbeda dengan penggunaan 300 µg GnRH. Kondisi ini memperlihatkan bahwa peningkatan dosis **GnRH** disinkronisasikan yang dengan menghasilkan lama estrus yang berbeda.

Perbedaan lama estrus pada kerbau lumpur betina ini kemungkinan disebabkan oleh berbedanya jumlah dosis GnRH yang diberikan akan mempengaruhi lama kerja dari $PGF_{2\alpha}$ (IRIKURA *et al.* 2003). BARUSELLI *et al.* (2003) melaporkan bahwa dengan penggunaan GnRH pada kerbau sungai akan menghasilkan folikel dominan dengan diameter 9 mm pada hari ketujuh setelah injeksi. NOAKES *et al.* (2001) menegaskan bahwa dengan penambahan GnRH dari luar akan mengaktifkan gelombang folikel sehingga pematangan sumbu hipothalamus dan hipofisa akan lebih lama.

Persentase kebuntingan

Perbedaan dosis GnRH yang berbeda yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF $_{2\alpha}$ memberikan angka kebuntingan yang berbeda pada kerbau betina di Kabupaten Kampar (Tabel 1). Perbedaan angka kebuntingan pada masing-masing kelompok kerbau yang menggunakan dosis GnRH yang berbeda yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF $_{2\alpha}$, berkaitan dengan ciri-ciri estrus yang muncul juga berbeda. Perubahan vulva seperti keluarnya lendir pada level dosis 200 µg dan 250 µg GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF $_{2\alpha}$ tidak sejelas pada level dosis 300 µg, 350 µg dan 400 µg GnRH. Hal ini sesuai dengan IRIKURA *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa berbedanya jumlah dosis GnRH yang diberikan akan mempengaruhi lama kerja dari PGF $_{2\alpha}$ dalam melisis corpus luteum.

Persentase kebuntingan yang berbeda pada masingmasing level GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF $_{2\alpha}$ kemungkinan disebabkan oleh deposisi semen pada saat IB juga berbeda (JAINUDEEN *et al.*, 2000). Level 200 µg GnRH dan 250 µg GnRH, semen di deposisikan pada cincin servik 2 dan pada level 300 µg, 350 µg dan 400 µg GnRH, semen dideposisikan pada cincin servik 4. Pendapat ini memperkuat IRIKURA *et al.* (2003) bahwa angka kebuntingan dipengaruhi oleh deposisi semen saat di IB.

Angka kelahiran

Peningkatan dosis GnRH yang disinkronisasi dengan $PGF_{2\alpha}$ pada kerbau pascapartum menghasilkan angka kelahiran yang berbeda (Tabel 1). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh angka kebuntingan yang berbeda walaupun tanda estrus yang terlihat sama serta penggunaan semen dan inseminator juga sama. Namun bila angka kelahiran dihitung berdasarkan jumlah ternak yang bunting maka angka kelahirannya tidak berbeda.

Angka kelahiran dalam penelitian ini lebih tinggi daripada laporan BARUSELLI (2001) yang mengatakan bahwa angka kelahiran pada kerbau di Mesir menghasilkan angka kelahiran 48,8% pada musim gugur tapi di luar musim gugur, Baruselli hanya mendapatkan angka kelahiran 6,9%. NEGLIA et al. (2001) melaporkan bahwa calving rate pada kerbau yang menggunakan protocol sinkronisasi prostaglandin hanya menghasilkan 43,4%. Penelitian yang sama dilakukannya kembali pada inseminasi pertama menghasilkan 45,8% angka kelahiran. Selanjutnya NEGLIA et al. (2003) melaporkan bahwa inseminasi yang dilakukan dalam kondisi anestrus menghasilkan 36% angka kelahiran. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh jenis kerbau, protokol yang digunakan dan metode inseminasi yang digunakan berbeda. NANDA et al. (2003) menyatakan bahwa musim, dosis sperma yang diguna serta lingkungan yang digunakan juga dapat menghasilkan angka kelahiran yang berbeda.

KESIMPULAN

Peningkatan dosis GnRH memberikan hasil yang optimal pada dosis 300 μg GnRH yang disinkronisasi dengan 12,5 mg PGF_{2 α}. Pemberian dosis yang lebih tinggi tidak memberikan hasil yang signifikan. Untuk efisiensi penggunaan hormon disarankan untuk menggunakan 300 μg GnRH pada sinkronisasi menggunakan 12,5 mg PGF_{2 α}.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada DP2M atas dana Hibah Doktor dengan nomor kontrak 486/SP2H/PP/DP2M/VI/2010 tanggal 11 Juni 2010 dan Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah melakukan pelatihan penulisan Jurnal Ilmiah Terakreditasi Nasional pada tanggal 29-30 Juli 2011 di Hotel Pangeran, Pekanbaru.

DAFTAR PUSTAKA

- ALAM, M.G.S. and H. DOBSON. 1987. Pituitary response to a challenge test of GnRH and oestradiol benzoate in postpartum and regulary cycle dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 14:1-9.
- BPS. RIAU. 2011. Kampar Dalam Angka. Badan Pusat Statistik, Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan, Provinsi Riau, Pekanbaru.
- BARILE, V.L. 2005. Reproductive efficiency in female buffalo. *In*: Buffalo Production and Research. BORGHESE, A. (Ed.). REU Tech. Series 67. FAO-Rome. pp. 77-107.
- BARUSELLI, P.S., E.H. MADUREIRA, V.H. BARNABE, R.C. BARNABE, J.A. VISINTIN, C.A. OLIVEIRA and R. AMARA. 1999. Estudo da dinamica follicular em bufalas submetidas a sincronizacao da ovulacao para inseminacao artificial em tempo fixo. *Arq. Fac. Vet. UFRGS.* 27: 210.
- Baruselli, P.S. 2001. Control of follicular development applied to reproduction biotechnologies in buffalo. Altii 1 Conggresso Nazionale sull'Allevamentodel Buffalo, Eboli, Italy, 3-5 Ottobre, 2001. pp. 128-146.
- Berber, R.C. De A., E.H. Madureira and P.S. Baruselli, 2002. Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed-timed insemination in buffalo (Bubalus bubalis). *Theriogenology* 57: 1421-1430.
- BARTOLOMEU, C.C., A.J.M. DEL REI., E.H. MADUREIRA, A.J. SOUZA, A.O. SILVA and P.S. BARUSELLI. 2002. Timed insemination using synchronization of ovulation in buffaloes using CIDR-B, CRESTAR and Ovsynch. *Anim. Breed.* (Abstr). 70: 332.
- GORDON, P.J., A.R. PETERS, S.J. WARD and M.J. WARREN. 1996. The use of prostaglandin in combination with a GnRH agonist in controlling the timing of ovulation in dairy cows. *Reproduction* 24: 164-168.
- IRIKURA, C.R., J.C.P. FERREIRA, I. MARTIN, L.U. CIMENES, E. OBA and A.M. JORGE. 2003. Follicular dynamics in buffalo heifers (*Bubalus bubalis*) using the GnRH-PGF2α-GnRH protocol. *Buffalo J.* 3: 323-327.
- JAINUDEEN, M.R., H. WAHID and E.S.E. HAFEZ. 2000. Ovulation induction, embryo production and transfer in HAFEZ, E.S.E. (Ed.). Reproduction in farm animals. 8th ed Lea & Febiger, Philadelphia. pp. 405-409.

- METWELLY, K.K. 2001. Postpartum anestrus in buffalo cows; cause and treatment. Proc. sixth. Sci. Congr. Egypt. Soc. Cattle Disease. Assiut. University, Egypt. pp. 259-267.
- MOREIRA, F., R.L. DE LA SOTA, T. DIAZ and W.W. THATCHER. 2000. Effect of day of estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses of dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78: 1568-1576.
- NANDA, A.S., P.S. BRAR and S. PRABHAKAR. 2003. Enhancing reproductive performance in dairy buffalo; major constrain and achievement. Proc. of the sixth International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants Vol. 61, Crieff. Scotland UK. pp. 27-36.
- Neglia, G., D. Midea, V.C. Di Brienza, N. Rossi and L. Zicarelli. 2001. Associazione del Grien alle prostaglandine nella inseminazione artificial della bufala Mediterranea Italiana (Grien associated with prostaglandin in artificial insemination of Mediterranean Italian buffalo cows). Altii 1 Conggresso Nazionale sull'Allevamento del Buffalo, Eboli, Italy, 3-5 Ottobre 2011. pp. 337-340.
- Neglia, G., B. Gasparrini, R.D. Palo, C.D. Rosa, L. Zicarelli and G. Campanile. 2003. Comparison of pregnany rates with two oestrus synchronization protocols in Italian Mediterranean buffalo cows. *Theriogenology* 60: 125-33.
- NOAKES, D.E., T.J. PARKINSON and G.C.W. ENGLAND. 2001. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8th ed. Baillier Tindall, London.
- Paul, V. and B.S. Prakash. 2005. Efficacy of the ovsynch protocol for synchronization og ovulation and fixed time artificial insemination in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 64: 1049-1060.
- Perera, B.M.A.O. 2010. Reprodctive cyles of buffalo. *Anim. Reprod. Sci.* 121: 189-300.
- STEEL, R.G.D. and J.H. TORRIE. 1991. Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill Book Co. Inc. New York.
- YENDRALIZA. 2009. Potensi dan prospek pengembangan ternak kerbau dalam rangka optimalisasi pemanfaatan sumber daya lokal di Kabupaten Kampar. Pros. Peternakan Berkelanjutan: Potensi Sumber Daya Lokal. Fakultas Peternakan, Universitas Padjajaran, Bandung.
- ZAIN, A.E., A.K.H. ABDEL-RAZEK and M.M. ANWAR. 2001. Effect of combined using of GnRH and PGF2α on ooestrus synchronization and pregnancy rate in buffalocow. *Assiut. Vet. Med. J.* 45: 89.