



RESPONS OVARIUM KELINCI LOKAL BUNTING SEMU YANG DIINDUKSI DENGAN KOPULASI TIRUAN

OVARIES RESPONSE OF PSEUDOPREGNANCY LOCAL RABBIT INDUCED WITH ARTIFICIAL COPULATION

Syafruddin, Bagus Setyawan, Mulyadi Adam, Roslizawaty, Tongku Nizwan Siregar*

Universitas Syiah Kuala, Darussalam, 23111 Banda Aceh

*Corresponding author: siregar@usk.ac.id

Naskah Diterima: 27 Juli 2021; Direvisi: 8 Juni 2022; Disetujui: 16 November 2022

Abstrak

Kelinci bunting semu diperlukan untuk kegiatan yang berkaitan dengan mekanisme endokrinologi, terapi, dan transplantasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui keberhasilan induksi bunting semu dengan metode kopulasi tiruan pada kelinci lokal. Penelitian ini menggunakan sembilan ekor kelinci betina lokal dan satu ekor kelinci jantan lokal, berumur 1–1,5 tahun, dan bobot badan 1,8–2,2 kg yang dibagi dalam tiga kelompok perlakuan ($n=3$), yakni, kelompok kelinci yang diinjeksi dengan 0,1 mL NaCl fisiologis dan tanpa perkawinan (K1, kontrol negatif), kelinci yang mendapat induksi dengan kopulasi tiruan (K2), dan kelinci yang mendapatkan injeksi 100 IU PMSG secara intramuskular dan dikawinkan dengan pejantan tiga hari kemudian dan diikuti dengan injeksi 75 IU hCG secara intravena (K3, kontrol positif). Hasil penelitian diamati jumlah dan ukuran folikel serta *korpus luteum* dengan pemeriksaan histologis menggunakan pewarnaan HE. Jumlah folikel pada kelompok K1; K2; dan K3 masing-masing adalah $5,9 \pm 1,45$; $0,63 \pm 0,35$; dan $2,06 \pm 1,50$ ($P < 0,05$). Pada kelompok K1, tidak terdapat kelinci yang ovulasi. Namun, pada kelompok K2 dan K3 seluruh kelinci berhasil ovulasi. Pada kelompok K2 dan K3 yang berhasil ovulasi, terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), yaitu jumlah korpus luteum pada K2 ($4,83 \pm 2,65$) dan pada K3 ($7,63 \pm 0,57$), sedangkan ukuran *korpus luteum* pada K2 adalah $0,68 \pm 0,20$ dan pada K3 adalah $1,38 \pm 0,16$ mm. Disimpulkan bahwa kopulasi tiruan dapat menginduksi bunting semu pada kelinci lokal.

Kata kunci: Bunting semu; Folikel; Kelinci lokal; Kopulasi tiruan; *Korpus luteum*

Abstract

Pseudo-pregnant rabbits are required for activities related to endocrinology, therapy, and transplantation mechanisms. This study aims to determine the success of pseudopregnancy induction with artificial copulation methods in local rabbits. In this study, 9 local female rabbits and 1 local male rabbit aged 1–1.5 years-old and 1.8–2.2 kg body weight were used, which were divided into three treatment groups ($n=3$). The rabbit in group K1 (negative control) were injected with 0.1 mL of physiological NaCl and were not mated. The rabbits in K2 were induced with artificial copulation by inserting a cotton bud of 1 cm into vagina at five o'clock in the morning, while the rabbits in K3 (positive control) received injection of 100 IU PMSG intramuscularly and mated with males three days post injection and then followed by injection of 75 IU hCG intravenously. The number and size of follicles and corpus luteum were determined by histological examination with HE staining. The number of follicles in the K1 group; K2; and K3 were 5.9 ± 1.45 ; 0.63 ± 0.35 ; and 2.06 ± 1.50 , respectively ($P < 0.05$). There was no ovulation observed at rabbit in K1 but all rabbits ovulated successfully in K2 and K3. The number of CL (4.83 ± 2.65 and 7.63 ± 0.57) and the size of CL (0.68 ± 0.20 and 1.38 ± 0.16 mm) were significantly difference ($P < 0.05$) in groups K2 and K3, respectively. It was concluded that artificial copulation could induce pseudopregnancy in local rabbits.

Keywords: Artificial copulation; Corpora lutea; Follicles; Local rabbits; Pseudopregnancy

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v16i1.21834>

PENDAHULUAN

Kelinci memiliki kemampuan untuk berkembang biak secara cepat (Saratsi et al., 2002). Setiap ternak betina harus menghasilkan ovum yang subur dan diovulasikan pada waktu yang tepat (Lebas et al., 1986). Kelinci termasuk golongan hewan ovulator yang diinduksi dan dapat mengalami ovulasi akibat terjadinya perkawinan. Ovulasi yang terjadi disebabkan adanya kedekatan dengan betina lain, sehingga akan menghasilkan pseudopregnancy (bunting semu) (Brown, 2002).

Bunting semu adalah kondisi patologis yang ditandai dengan akumulasi cairan aseptik dalam lumen uterus dengan *korpus luteum* fungsional yang menetap, derajat distensi abdomen yang bervariasi, dan berhentinya aktivitas siklus estrus. Kondisi bunting semu belum seluruhnya dipahami dengan baik. Teknologi ultrasonografi (USG) merupakan teknologi yang dapat mendiagnosis bunting semu berdasarkan adanya cairan di dalam uterus tanpa adanya fetus dan plasenta (Almubarak et al., 2018).

Bunting semu pada kelinci diantaranya disebabkan oleh perkawinan steril, suntikan LH, atau rangsangan akibat satu kelinci betina menunggangi yang lain. Dalam siklus estrus normal, jika kelinci betina tidak berhasil bunting maka korpus luteum akan mengalami regresi. Namun pada kondisi bunting semu, korpus luteum akan tetap ada dan terus melepaskan hormon progesteron yang bertanggung jawab atas pemeliharaan kebuntingan. Bunting semu pada kelinci umumnya berlangsung selama 16–18 hari, sekresi progesteron yang terjadi secara terus menerus akan menyebabkan perubahan fisik dan perilaku yang sesuai dengan kebuntingan normal. Di bawah pengaruh hormonal progesteron, uterus dan kelenjar susu mulai membesar sebagai persiapan untuk kebuntingan dan laktasi. Menjelang akhir bunting semu, kelinci mulai mencabut rambut yang digunakan untuk tempat partus (Carter et al., 2016).

Kelinci bunting semu diperlukan untuk kegiatan yang berkaitan dengan mekanisme endokrinologi, terapi, dan transplantasi. Beberapa peneliti telah melaporkan penggunaan kelinci bunting semu untuk mempelajari endokrinologi reproduksi (Dugre et al., 1989), terapi endometriosis (Yuan et al., 2010), dan transplantasi ovarium sebagai sumber oosit (Sumarmin et al., 2008). Hal ini dapat dilakukan karena sejak awal kebuntingan, kelenjar yang terdapat pada endometrium uterus kelinci akan aktif menghasilkan dan mengeluarkan sekret ke dalam lumen uterus sebagai cadangan nutrisi untuk embrio menjelang terjadinya implantasi (Colby, 1986). Sekret yang dihasilkan dapat menjadi sumber nutrisi untuk ovarium yang ditransplantasikan pada kelinci bunting semu (Sumarmin et al., 2008).

Beberapa metode telah dikembangkan untuk induksi bunting semu, yakni induksi ovulasi dengan injeksi hCG (Abd-Elkareem, 2017), GnRH (Viudes-de-Castro et al., 2007), PMSG dan hCG (Schlegel et al., 1988), dan metode stimulasi fisik (Sumarmin et al., 2008). Metode stimulasi fisik atau kopulasi tiruan merupakan metode yang lebih sederhana dan ekonomis. Untuk mengukur metode keberhasilan induksi bunting semu dapat dilakukan dengan mengetahui respons ovarium kelinci (Cervantes et al., 2015). Sampai saat ini, belum terdapat laporan respons ovarium kelinci lokal hasil induksi bunting semu dengan kopulasi tiruan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui keberhasilan induksi bunting semu dengan metode kopulasi tiruan pada kelinci lokal.

MATERIAL DAN METODE

Hewan percobaan yang digunakan adalah sembilan ekor kelinci betina lokal dan satu ekor kelinci jantan lokal, berumur 1–1,5 tahun, dan bobot badan 1,8–2,2 kg. Hewan percobaan dibagi dalam tiga kelompok perlakuan ($n=3$), yakni, kelompok kelinci yang diinjeksi dengan 0,1 mL NaCl fisiologis dan tanpa perkawinan (K1, kontrol negatif), kelinci yang mendapat induksi dengan kopulasi tiruan dengan memasukan *cotton bud* sepanjang 1 cm ke dalam vagina kelinci pada pukul lima pagi (K2, kopulasi tiruan) sesuai dengan anjuran Sumarmin et al. (2008), kelinci yang mendapatkan injeksi 100 IU PMSG (Folligon, BV Boxmer, Holland) secara intramuscular dan dikawinkan dengan pejantan tiga hari kemudian dan diikuti dengan injeksi 75 IU hCG pada hari yang sama (Chorulon, BV Boxmer, Holland) secara intravena (K3, kontrol positif) sesuai petunjuk Schlegel et al. (1988).

Prosedur Penelitian

Pada hari ke-8 setelah perlakuan, seluruh kelinci dikorbankan dengan cara menyembelih. Kedua ovarium diambil dan dibuat preparat histologi untuk dihitung dan diukur jumlah folikel serta *korpus luteum*. Hari ke-0 adalah hari injeksi NaCl fisiologis pada K1, hari induksi kopulasi pada K2, hari perkawinan dan injeksi hCG pada K3.

Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan untuk menganalisis stadium perkembangan folikel. Spesimen ovarium yang mengandung folikel dan *korpus luteum* akan dipotong secara membujur, lalu difiksasi dengan larutan BNF 10%. Selanjutnya dilakukan proses pembuatan preparat histologi dan diwarnai dengan Hematoksilin-Eosin (HE) menurut Kiernan (1990).

Proses Deparafinisasi Jaringan (*Embedding*)

Masing-masing spesimen ovarium yang mengandung folikel dan korpus luteum dipotong secara membujur. Irisan penampang folikel dan *korpus luteum* dimasukkan ke dalam *tissue cassette*, dilakukan proses pembuatan sediaan histologi yang dimulai dengan proses dehidrasi. Dehidrasi dilakukan untuk penghilangan air dari dalam jaringan dengan merendam secara berurutan di dalam larutan alkohol bertingkat dengan konsentrasi 70, 80, 90, 95, absolut I, absolut II, dan absolut III (%) masing-masing selama 90 menit, sedangkan pada alkohol absolut dengan waktu 30 menit pada suhu kamar. Jaringan yang terdehidrasi dengan baik akan memperlihatkan warna jaringan lebih tua dan mengeras. Selanjutnya dilakukan proses *clearing* (penjernihan).

Penjernihan bertujuan menghilangkan sisa bahan atau air yang mungkin masih terdapat dalam jaringan yaitu dengan larutan xilol I, xilol II, xilol III, sehingga mampu menjernihkan dan mengisi sempurna bagian-bagian jaringan yang terambil airnya. Masing-masing xilol membutuhkan waktu selama 45 menit pada suhu kamar. *Clearing* yang baik akan memperlihatkan jaringan tembus pandang atau bening. Setelah proses penjernihan selesai, proses infiltrasi yang bertujuan untuk menggantikan celah yang terisi xilol dengan parafin yaitu dengan cara merendam jaringan menggunakan larutan campuran xilol dan parafin, dilanjutkan ke dalam larutan parafin I, parafin II, dan parafin III masing-masing selama 45 menit pada suhu 60 °C. Selanjutnya jaringan dibenamkan di dalam parafin cair, lalu didinginkan pada suhu kamar sehingga menjadi blok parafin.

Pemotongan (*Sectioning*)

Jaringan blok parafin yang telah siap untuk disayat dimasukkan ke penjepit (*block holder*) mikrotom, dilakukan penyayatan secara longitudinal setebal 3 µm menggunakan *rotary microtome*. Dilakukan sayatan serial, dipindahkan ke atas permukaan air dengan suhu 38–40 °C penangas air. Irisan yang telah terentang sempurna diambil dengan *objek glass* sediaan yang diolesi albumin gliserin, dikeringkan dengan alat pengering sediaan pada suhu 38–40 °C. Selanjutnya, kaca objek sediaan yang sudah ada jaringan disimpan dalam inkubator pada suhu 38–40 °C untuk penyempurnaan penempelan dengan posisi horizontal selama 24 jam.

Pewarnaan (*Staining*)

Sayatan pada kaca objek sediaan yang telah menempel dengan baik dan diberi label disusun dalam rak sediaan, kemudian dilakukan perendaman dengan xilol sebanyak dua tahapan (deparafinisasi), dengan waktu masing-masing lima menit. Selanjutnya dilakukan proses rehidrasi secara bertingkat dengan beragam persentase alkohol (absolut I, absolut II, 95, 90, 80, dan 70%) masing-masing selama lima menit, sediaan direndam dalam air mengalir sampai benar-benar bersih, dan dibilas dengan air destilasi. Sediaan yang telah jernih siap untuk dilakukan pewarnaan HE (Kiernan, 1990). Proses selanjutnya adalah penghilangan air dengan menggunakan alkohol bertingkat dengan konsentrasi 70, 80, 90, 95, absolut I, dan absolut II (%). Proses penjernihan menggunakan xilol sebanyak tiga kali perendaman, dengan waktu masing-masing selama lima menit. Sediaan histologi selanjutnya ditutupi dengan gelas penutup yang diberi perekat entellan.

Tipe-tipe folikel digolongkan berdasarkan perbedaan-perbedaan yang terlihat dari histomorfologi yang teramati, yaitu folikel primer, sekunder, dan tersier. Jumlah folikel dihitung

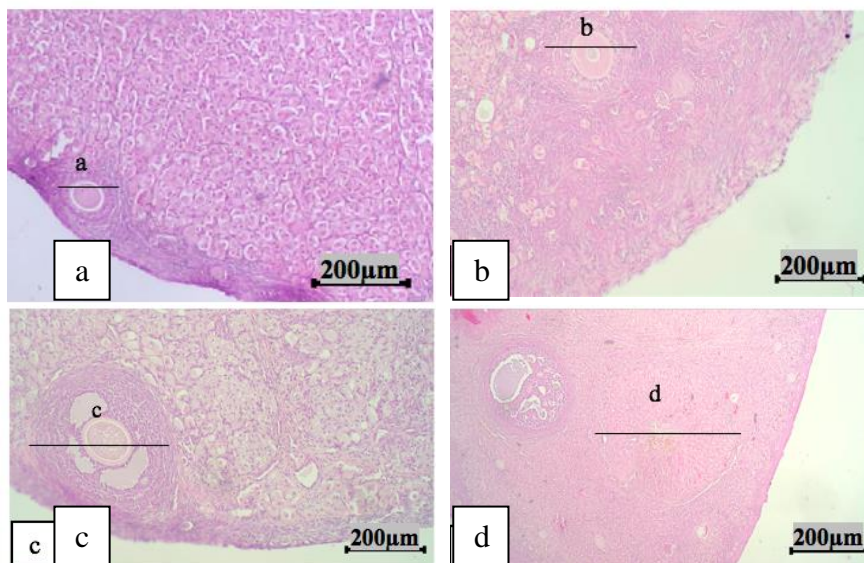
dari berbagai tahap folikulogenesis. Perhitungan jumlah folikel dan *korpus luteum* dilakukan pada 45 sayatan ovarium yang berasal dari sayatan serial dengan interval 5. Masing-masing sayatan diambil lima luas lapang pandang, kemudian dihitung rata-ratanya. Folikel primer ditandai dengan adanya perubahan bentuk dari satu lapis sel pregranulosa berbentuk pipih menjadi sel granulosa berbentuk kuboid. Folikel sekunder ditandai dengan terbentuknya dua atau lebih lapisan sel-sel granulosa dan terbentuknya sebuah membran (zona pelusida) yang mengelilingi oosit. Folikel tersier (folikel antral) ditandai dengan terbentuknya lebih dari lima lapis sel granulosa yang mengelilingi oosit, antrum folikuli semakin meluas, sel teka eksterna menyusun diri mengitari folikel, dan sel yang mengitari zona pelusida mulai membentuk korona radiata (Cushman et al., 2002).

Analisis Data

Data mengenai jumlah dan ukuran folikel dan *korpus luteum* dinyatakan dalam rata-rata \pm SD dan dianalisis dengan analisis varian satu arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL

Penelitian ini diidentifikasi berbagai tingkat perkembangan folikel hasil induksi setiap kelompok, yaitu pada folikel primer, sekunder, dan tersier seperti yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Berbagai tingkat perkembangan folikel pada ovarium kelinci: folikel primer (a), folikel sekunder (b), folikel tersier (c), *korpus luteum* (d). Bar= 200 µm. Perbesaran 10x

Secara keseluruhan, semua stadium folikel dihitung. Namun, untuk analisis data statistika hanya dimasukkan folikel yang berukuran $>0,4$ mm. Hasil penelitian jumlah folikel $>0,4$ mm pada hari ke-8 perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), dengan jumlah terbanyak terdapat pada kelompok K1. Jumlah folikel kelompok K1; K2; dan K3 masing-masing, yaitu $5,9 \pm 1,45$; $0,63 \pm 0,35$; dan $2,06 \pm 1,50$ seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah dan diameter folikel dan *korpus luteum* (CL) pada kelinci lokal yang diinduksi bunting semu

Parameter	K1 (NaCl fisiologis)	K2 (Kopulasi tiruan)	K3 (PMSG, hCG, kawin)
Jumlah folikel $>0,4$ mm pada hari ke-8	$5,9 \pm 1,45^a$	$0,63 \pm 0,35^b$	$2,06 \pm 1,50^b$
Proporsi kelinci yang ovulasi	0/3	3/3	3/3
Jumlah CL pada hari ke-8	0	$4,83 \pm 2,65^a$	$7,63 \pm 0,57^b$
Diameter CL pada hari ke-8 (mm)	-	$0,68 \pm 0,20^a$	$1,38 \pm 0,16^b$

Keterangan: a, b Superkskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, hanya folikel tersier yang dihitung jumlahnya. Ukuran folikel tersier yang diperoleh pada penelitian ini minimal 0,4 mm. Cervantes et al. (2015) memperoleh pengaruh perlakuan induksi ovulasi pada kelinci terhadap folikel yang berukuran di atas 1,5 mm. Rone et al. (1993) memperoleh ukuran folikel pada kelinci estrus berkisar antara 0,95–1,42 mm. Diameter folikel pada penelitian relatif lebih kecil, kemungkinan disebabkan oleh perbedaan breed kelinci dan waktu pengukuran. Rone et al. (1993) melakukan penelitian pada kelinci New Zealand White dan pemeriksaan dilakukan pada saat kelinci estrus, sedangkan penelitian ini menggunakan kelinci lokal yang diukur folikelnya pada hari-8 setelah induksi ovulasi. Diduga, kelinci dengan bobot badan yang lebih tinggi secara genetik akan memiliki ovarium dan folikel yang lebih besar. Terkait pemanfaatan lanjutan penelitian ini, untuk transplantasi ovarium pada kelinci bunting semu idealnya dilakukan pada hari ke-8. Oleh karena itu, diperlukan evaluasi keberhasilan induksi bunting semu sebelum atau sesaat sebelum dilakukan transplantasi ovarium.

Folikel tersier merupakan perkembangan lanjut dari folikel sekunder yang ditandai dengan terjadinya pemisahan antara teka interna dan teka eksterna, selanjutnya muncul rongga-rongga (antrum) di dalam lapisan sel-sel granulosa. Rongga tersebut terbentuk karena pertumbuhan yang cepat dari sel-sel granulosa yang berada di sebelah luar tetapi tidak diikuti oleh pertumbuhan yang cepat juga dari sel-sel granulosa yang berada di lapisan dalam. Dengan bertambahnya jumlah antrum sesuai dengan pertumbuhan folikel, maka semakin lama pembatas antara antrum menjadi semakin menghilang dan hanya tersisa satu antrum tetapi dengan ukuran yang sangat besar (Partodihardjo, 1980).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah folikel >0,4 mm pada hari ke-8 terbanyak terdapat pada kelompok K1. Hal ini berbeda dari laporan Cervantes et al. (2015), bahwa tidak ada perbedaan jumlah folikel berukuran >1,5 mm pada semua perlakuan induksi ovulasi. Penurunan jumlah folikel tersier pada K2 dan K3 pada penelitian ini, diduga efek dari perlakuan induksi yang menyebabkan folikel tersier mengalami ovulasi. Hal ini didukung dari jumlah CL yang menunjukkan pada K1 tidak ada yang ovulasi, sedangkan pada K2 dan K3 menunjukkan adanya ovulasi. Pendapat ini didukung oleh Kranzfelder et al. (1984), bahwa kelinci akan kehilangan folikel besar setelah ovulasi.

Meskipun tidak signifikan, jumlah folikel tersier pada K3 relatif lebih banyak dibanding K2 dengan jumlah masing-masing adalah $2,06 \pm 1,50$ dan $0,63 \pm 0,35$. Hasil ini didukung oleh Siregar et al. (2020) yang melaporkan jumlah folikel tersier lebih banyak pada tikus yang diinduksi dengan PMSG dan hCG. Hormon hCG diduga mampu meningkatkan transformasi folikel sekunder menjadi folikel tersier karena pada folikel sekunder sudah terdapat reseptor untuk hormon LH (Zoheir et al., 2017).

Seluruh kelinci pada kelompok induksi K2 dan K3 menunjukkan ovulasi yang ditandai dengan terbentuknya *korpus luteum*. Oleh karena kesulitan dalam mengetahui keberadaan dan ukuran *korpus luteum* dengan observasi visual maka dalam penelitian ini keberadaan dan pengukuran *korpus luteum* dilakukan secara mikroskopis. *Korpus luteum* ditandai dengan perubahan struktural, seluler, dan molekuler yang ekstensif pada folikel praovulasi yang menyebabkan ovulasi dan pembentukan *korpus luteum*. *Korpus luteum* baru berkembang dari sel-sel yang tetap berada di dinding folikel setelah ovulasi, tetapi akhirnya terdiri atas beberapa jenis sel yang khas termasuk steroidogenik luteal (sel kecil dan besar yang masing-masing berasal dari sel teka dan granulosa) dan sel non-steroidogenik (Kfir et al., 2018).

Tidak terjadinya ovulasi pada K1 (kontrol negatif) menunjukkan pola perlakuan penempatan kelinci pada kandang individual sudah tepat. Cervantes et al. (2015) melaporkan terjadinya ovulasi pada kelompok kelinci kontrol negatif akibat terjadinya ovulasi spontan karena interaksi antar kelinci betina. Terjadinya ovulasi pada K2 yang diinduksi dengan kopulasi tiruan sesuai dengan hasil yang diperoleh Sumarmin et al. (2008) yang berhasil menginduksi bunting semu kelinci New Zealand White dengan prosedur yang sama. Kopulasi tiruan diduga memiliki mekanisme yang sama dengan perkawinan yang menyebabkan peristiwa sekuensial di dalam hipotalamus yang diikuti dengan pelepasan LH surge. LH surge selanjutnya memicu terjadinya

ovulasi yang terjadi sekitar 11–12 jam setelah perkawinan (Bakker & Baum, 2000; Centeno et al., 2004). Pada K3, keberhasilan menginduksi bunting semu dengan hCG sudah dilaporkan Abd-Elkareem (2017) yang ditandai dengan peningkatan imunolokalisasi reseptor progesteron pada uterus kelinci yang diinduksi. Pada kelompok K2 dan K3 yang berhasil ovulasi, terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), yaitu jumlah *korpus luteum* pada K2 ($4,83 \pm 2,65$) dan pada K3 ($7,63 \pm 0,57$), dan ukuran *korpus luteum* pada K2 adalah $0,68 \pm 0,20$ dan pada K3 yakni $1,38 \pm 0,16$ mm). Meskipun demikian, jumlah dan ukuran *korpus luteum* lebih baik pada kelompok induksi PMSG, hCG, dan perkawinan. Peningkatan jumlah dan ukuran *korpus luteum* pada K3 kemungkinan karena pengaruh pemberian PMSG. Hormon PMSG berfungsi menstimulasi pertumbuhan banyak folikel. Jumlah folikel yang banyak akan menyebabkan jumlah ovulasi yang lebih banyak pula. Kopulasi tiruan hanya berfungsi menstimulasi sekresi LH yang bertanggungjawab untuk ovulasi. Perbedaan jumlah *korpus luteum* ini sesuai dengan konsentrasi progesteron yang lebih tinggi pada K3 dibandingkan pada K2 yakni $5,720 \pm 0,23$ dan $0,991 \pm 0,23$ ng/mL (*data belum dipublikasikan*). Tjitosumirat (2009) melaporkan bahwa konsentrasi progesteron dapat digunakan untuk memprediksi jumlah ovulasi pada hewan ruminansia kecil.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kopulasi tiruan dapat menginduksi bunting semu pada kelinci lokal. Perlu dilakukan metode lain yang lebih baik untuk induksi bunting semu pada kelinci sehingga diperoleh data jumlah dan ukuran *korpus luteum* yang setara dengan kelinci bunting.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih tim penulis sampaikan kepada Deputy Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan, Kemenristek/BRIN dan Rektor Universitas Syiah Kuala atas kepercayaannya memfasilitasi kegiatan ini dalam Hibah Penelitian Disertasi Doktor Tahun Anggaran 2021.

REFERENSI

- Abd-Elkareem, M. D. (2017). Morphological, histological and immunohistochemical study of the rabbit uterus during pseudopregnancy. *Journal of Cytology & Histology*, 1(8), 1-7. doi: 10.4172/2157-7099.1000443
- Almubarak, A. M., Abass, N. A. E., Badawi, M. E., Ibrahim, M. T., Elfadil, A. A., & Abdelghafar, R. M. (2018). Pseudopregnancy in goats: Sonographic prevalence and associated risk factors in Khartoum State, Sudan. *Veterinary World*, 4(11), 525-529. doi: 10.14202/vetworld.2018.525-529.
- Bakker, J., & Baum, M. J. (2000). Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 21(3), 220-262.
- Brown, F. H. (2002). *Textbook of rabbit medicine*. United Kingdom: Butterworth-Heinemann
- Carter, C. L., Adams, J. K., Czarra, J. A., & Coan, P. N. (2016). An incidence of pseudopregnancy associated with the social enrichment of rabbits (*Oryctolagus cuniculi*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 1(55), 98-99.
- Centeno M. L., Luo, J., Lindstrom, J. M., Caba, M., & Pau, K. Y. F. (2004). Expression of alpha 4 and alpha 7 nicotinic receptors in the brainstem of female rabbits after coitus. *Brain Research*, 1012(1-2), 1-12.
- Cervantes, M. P., Palomino, J. M., & Adams, G. P. (2015). In vivo imaging in the rabbit as a model for the study of ovulation-inducing factors. *Laboratory Animals*, 49(1), 1-9. doi: 10.1177/0023677214547406.
- Colby, E. D. (1986). The rabbit. In D. A. Morrow (Eds.), *Current therapy in theriogenology 2* (pp. 79-85). Philadelphia, USA. W. B. Saunders Co.
- Cushman, R. A., Wahl, C. M., & Fortune, J. E. (2002). Bovine ovarian cortical pieces grafted to chick embryonic membranes: A model for studies on the activation of primordial follicles. *Human Reproduction*, 17(1), 48-54. doi: 10.1093/humrep/17.1.48.

- Dugre, F. J., Lambert, R. D., Belanger, A., Fortier, M. A., & Caron, S. (1989). Local effect of the rabbit embryo-foetus on uterine progesterone and pregnenolone levels. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2(64), 251-255. doi: 10.1016/0303-7207(89)90152-4.
- Kfir, S., Basavaraja, R., Wigoda, N., Ben-Dor, S., Orr, I., & Meidan, R. (2018). Genomic profiling of bovine corpus luteum maturation. *Public Library of Science*, 3(13), 1-19. doi: 10.1371/journal.pone.0194456.
- Kiernan, J. A. (1990). *Histological and histochemical methods: Theory and practice*. England: Pergamon.
- Kranzfelder, D., Korr, H., Mestwerdt, W., & Schultze, B. M. (1984). Follicle growth in the ovary of the rabbit after ovulation-inducing application of human chorionic gonadotropin. *Cell Tissue Research*, 238(3), 611- 620. doi: 10.1007/BF00219879.
- Lebas, F., Coudert, P., Rouvier, R., & Rochambeau, H. D. (1986). *The rabbit (husbandry, health, and production)*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of The United Nation.
- Partodihardjo, S. (1980). *Ilmu reproduksi hewan*. Jakarta: Mutiara Press.
- Rone, J. D., Halvorson, L. M., & Goodman, A. L. (1993). Ovarian angiogenesis in rabbits: Endotheliotrophic chemoattractant activity from isolated follicles and dispersed granulose cells. *Journal of Reproduction and Fertility*, 97(2), 359-365. doi: 10.1530/jrf.0.0970359.
- Saratsi, A., Tsiligianni Th., Besenfelder, U., Anastasiadis, A., Vainas, E., & Brem, G. (2002). Induction of multiple ovulation in rabbits using PMSG and hCG. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 53(3), 228-236. doi: 10.12681/jhvms.15377
- Schlegel, W., Kruger, S., Daniels, D., Fischer, B., Schneider, H. P. G., & Beier, H. M. (1988). Studies on prostaglandin metabolism in corpora lutea of rabbits during pregnancy and pseudopregnancy. *Journals of Reproduction & Fertility*, 1(83), 365-370. doi: 10.1530/jrf.0.0830365.
- Siregar, I. K., Siregar, T. N., Akmal, M. Wahyuni, S., Nazaruddin, & Hafizuddin. (2020). Efek pemberian ekstrak pituitary sapi terhadap peningkatan jumlah folikel ovarium dan konsentrasi estradiol pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Livestock and Animal Research*, 18(2), 171-189, doi: 10.20961/lar.v18i2.42956.
- Sumarmin, R., Winarto, A., Yusuf T. L., & Boediono, A. (2008). Viabilitas oosit domba pascatransplantasi ovarium domba intrauterin pada kelinci bunting semu. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 11(1), 25-30.
- Tjitosumirat, T. (2009). Studi hubungan konsentrasi hormon progesterone dengan jumlah corpus luteum pada kambing. *A Scientific Journal for The Application of Isotopes and Radiation*, 5(1), 43-53. doi: 10.17146/jair.2009.5.1.524.
- Viudes-de-Castro, M. P., Lavara, R., Marco-Jimenez, F., Cortell, C., & Vicente, J. S. (2007). Ovulation induced by mucosa vaginal absorption of buserelin and triptorelin in rabbit. *Theriogenology*, 7(68), 1031-1036. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.08.004.
- Yuan, P., Huang, Y., Wu, H., Teng, Z., Zhang, J., & Xin, X. (2010). Induction of a local pseudo-pregnancy via levonorgestrel-loaded microspheres for the treatment of endometriosis in a rabbit model. *Human Reproduction*, 2(25), 462-469. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.08.004.
- Zoheir, K. M. A., Harisa, G. I., Allam, A. A., Yang, L., Li, X., Liang, A., ... Harrath, A. H. (2017). Effect of alpha lipoic acid on in vitro development of bovine secondary preantral follicles. *Theriogenology*, 15(88), 124-130. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.09.013.