

## Identifikasi Mikroba dari Lendir Estrus dan Deteksi Kebuntingan Sapi Kawin Berulang di Sleman, Yogyakarta

### *Microbes Identification from Estrus Mucus and Pregnancy Detection of Repeat Breeding Cows in Sleman, Yogyakarta*

Surya Agus Prihatno<sup>1\*</sup>, Abdul Samik<sup>2</sup>, Dea Indriani Astuti<sup>3</sup>, Muhammad Agil<sup>4</sup>, Usamah Afiff<sup>5</sup>,  
Anriansyah Renggaman<sup>3</sup>, Dedi Rahmat Setiadi<sup>4</sup>, Yosua Kristian Adi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Reproduksi dan Obstetri, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

<sup>2</sup>Departemen Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya

<sup>3</sup>Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung

<sup>4</sup>Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University, Bogor

<sup>5</sup>Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University, Bogor

\*Email: [prihatno@ugm.ac.id](mailto:prihatno@ugm.ac.id)

Naskah diterima: 18 Juli 2021, direvisi: 10 November 2021, disetujui: 29 November 2021

#### Abstract

Repeat breeding is condition of cows that have normal or near normal estrous cycles but fail to become pregnant after several insemination. This study aims to identify the microbes in the cervical and vaginal mucus of beef cattle and dairy cows that experience repeat breeding and detected the pregnancy after the third or more artificial insemination. A total of 14 beef cattle and 6 dairy cows that experience repeat breeding in the cattle herd in the Yogyakarta region of Indonesia were used as samples in this study. Cervical and vaginal mucus samples were collected using plastic sheet when the cow was re-estrus. The samples were put into the 5 ml Brain Heart Infusion Broth for bacterial isolation and identification. Pregnancy examination was carried out on day 45 after artificial insemination using ultrasound method. Bacteria that could be isolated and identified from cervical mucus and vaginal mucus of beef cattle and dairy cows included *Bacillus* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas* sp. Some cows detected positive in pregnancy examination even though the bacteria were presence in the cervical and/or vaginal mucus. There was various composition of bacteria found in the cervical mucus and vaginal mucus, of beef cattle and dairy cows with repeat breeding in livestock groups in Yogyakarta. The presence of bacterial in the cervical and vaginal mucus during estrus was not always become the causes of failed pregnancy.

**Keywords:** bacteria; beef cow; dairy cow; mucus; USG

#### Abstrak

Kawin berulang adalah kondisi sapi betina yang memiliki siklus estrus normal atau mendekati normal tetapi gagal bunting setelah beberapa kali dilakukan inseminasi buatan (IB) atau perkawinan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba yang ada di lendir serviks dan vagina sapi potong dan sapi perah yang mengalami kawin berulang dan melakukan deteksi kebuntingan setelah IB ketiga atau lebih. Sampel dalam penelitian ini sebanyak 14 ekor sapi potong dan 6 ekor sapi perah yang mengalami kawin berulang di kelompok ternak yang ada di wilayah Sleman, Yogyakarta. Sampel lendir serviks dan vagina diambil dengan menggunakan plastik pelindung IB *gun* pada saat sapi estrus. Sampel dimasukkan ke dalam media *Brain Heart Infusion Broth* 5 ml untuk isolasi dan identifikasi bakteri. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan pada hari ke-45 pasca inseminasi buatan menggunakan metode USG. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis bakteri yang dapat diisolasi dan diidentifikasi dari lendir serviks dan lendir vagina sapi potong dan sapi perah

antara lain *Bacillus sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas sp.* Beberapa sapi terdeteksi bunting pada pemeriksaan kebuntingan meskipun terdapat bakteri pada lendir serviks dan/atau vagina. Terdapat berbagai komposisi bakteri yang ditemukan pada lendir serviks dan lendir vagina pada sapi potong dan sapi perah yang mengalami kawin berulang di kelompok ternak yang ada di wilayah Sleman, Yogyakarta. Penelitian ini menunjukkan bahwa adanya bakteri pada lendir serviks dan vagina saat estrus ternyata tidak selalu menjadi penyebab gagalnya kebuntingan.

**Kata kunci:** bakteri; sapi potong; sapi perah; lendir; USG

## Pendahuluan

Upaya Pemerintah Indonesia untuk mencapai swasembada pangan nasional, khususnya daging dan susu sapi, masih terkendala sampai saat ini. Salah satu penyebabnya adalah masih tingginya angka gangguan reproduksi pada sapi, baik sapi potong maupun sapi perah, di tingkat peternakan rakyat. Gangguan reproduksi pada sapi potong menyebabkan kebuntingan tertunda sehingga populasi sapi potong tidak bertambah. Selain itu, pada sapi perah, gangguan reproduksi akan menghambat produksi susu. Masalah ini tentu saja merugikan bagi pemerintah dan peternak dari berbagai aspek. Sebagai contoh, pemerintah hingga saat ini masih harus mendatangkan daging dan susu sapi dari luar negeri untuk mencukupi kebutuhan dalam negeri, sedangkan bagi peternak, mereka harus menanggung kerugian ekonomi untuk biaya pemeliharaan dan pemeriksaan ternaknya selama tidak berproduksi.

Salah satu gangguan reproduksi pada sapi yang cukup tinggi di Indonesia adalah kawin berulang/ *repeat breeding*. Prevalensi kawin berulang pada sapi perah di D.I.Y. mencapai 29,4% (Prihatno *et al.*, 2013). Selain itu, Wijanarko dan Sumiarto (2014) melaporkan bahwa prevalensi kasus kawin berulang pada sapi potong di Kabupaten Grobogan mencapai 19%. Hal ini tentu mengkhawatirkan jika tidak segera dilakukan penanganan. Kawin berulang adalah kondisi di mana sapi betina yang telah melahirkan, memiliki siklus estrus normal atau mendekati normal, dan telah dikawinkan baik dengan IB atau kawin alami 2-3 kali atau lebih tetapi tidak terjadi kebuntingan (Amiridis *et al.*, 2009). Kegagalan kebuntingan akan menyebabkan *days open* atau waktu tanpa kebuntingan menjadi lebih panjang. Lamanya *days open* pada kondisi sapi normal kurang lebih 60-90 hari untuk sapi potong (Yulyanto *et al.*, 2014) dan 85 hari untuk sapi perah (Leksanawati,

2010). Kondisi ini memungkinkan seekor sapi dapat melahirkan satu kali dalam satu tahun. Kawin berulang utamanya disebabkan oleh dua hal, yaitu kegagalan fertilisasi dan kematian embrio dini (Gustafsson dan Emanuelson, 2002). Faktor yang dapat menyebabkan kedua hal tersebut antara lain defisiensi hormonal, kurangnya deteksi estrus, waktu inseminasi buatan yang tidak tepat, atau peningkatan mikroba di dalam uterus (Noakes *et al.*, 2016; Prihatno *et al.*, 2013).

Keberadaan mikroba pada saluran reproduksi tidak selalu menimbulkan gejala klinis sehingga sulit dideteksi dengan pemeriksaan luar. Adanya mikroba ini dapat menjadi salah satu penyebab terjadinya kawin berulang. Keberadaan mikroba hanya dapat didiagnosa dengan cara isolasi dan identifikasi di laboratorium. Mikroba di dalam uterus dapat dideteksi pada lendir yang keluar saat sapi sedang berahi atau estrus. Identifikasi jenis mikroba yang terdapat pada lendir serviks dan vagina sapi potong dan sapi perah yang mengalami kawin berulang di kelompok ternak yang ada di wilayah Sleman, Yogyakarta belum pernah dilaporkan sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba yang terdapat pada lendir serviks dan vagina sapi potong dan sapi perah yang mengalami kawin berulang dan mendeeteksi kebuntingan setelah dilakukannya IB ketiga atau lebih.

## Materi dan Metode

### Persetujuan Etik

Semua perlakuan terhadap hewan dan sampel dalam penelitian ini telah disusun sesuai dengan standar operasional penelitian ilmiah dan telah mendapatkan *Ethical Clearance* dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada dengan nomor 0148/EC-FKH/Int ./2019.

## Koleksi Sampel

Sebanyak 14 ekor sapi potong dan 6 ekor sapi perah yang dipelihara di peternakan rakyat di wilayah Sleman, Yogyakarta, dengan kondisi dan kebersihan kandang yang cukup baik digunakan dalam penelitian ini. Kriteria sapi yang dipilih adalah sapi yang sehat, pernah beranak minimal satu kali, dan pernah dilakukan IB dua kali atau lebih. Sampel lendir serviks dan vagina diambil pada saat sapi sedang estrus. Lendir dikumpulkan menggunakan *plastic sheet IB gun* yang telah dilindungi dengan *sheet protector* untuk mencegah kontaminasi. *Plastic sheet IB gun* dan *sheet protector* dimasukkan ke dalam saluran reproduksi sapi betina hingga leher serviks kemudian *Plastic sheet IB gun* didorong hingga muncul sekitar 1-2 cm dari ujung *sheet protector*. Lendir dihisap menggunakan spuit yang ditempelkan pada *plastic sheet IB gun*. Cairan lendir serviks dikumpulkan terlebih dahulu kemudian lendir vagina dikumpulkan. Sebanyak kurang lebih 1 ml sampel lendir dari masing-masing bagian dimasukkan ke dalam media (5 ml *Brain Heart Infusion Broth/ BHIB*) yang terdapat pada tabung yang berbeda kemudian disimpan di dalam freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  sebelum dilakukan pemeriksaan mikroba di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Setelah pengambilan lendir maka dilanjutkan dengan IB.

## Pemeriksaan Mikroba

Metode identifikasi bakteri mengacu pada Jang *et al.* (1976), OIE (2015), dan SMI (2015). Isolasi mikroba dilakukan menggunakan media diferensial selektif (*MacConkey Agar*) dan media Plat Agar Darah. Identifikasi bakteri dilakukan dengan membandingkan karakteristik morfologi dan mikroskopis isolat serta uji biokemis.

## Deteksi Kebuntingan

Pemeriksaan kebuntingan dilakukan pada hari ke-45 pasca IB. Pemeriksaan dilakukan menggunakan metode Ultrasonografi (USG). Sebelum dilakukan pemeriksaan, sapi terlebih dahulu di-*restrain* menggunakan tali supaya

aman bagi operator dan sapi. Ultrasonografi yang digunakan bertipe *portable* dan probe yang digunakan bertipe *linear*. Frekuensi USG yang digunakan pada pemeriksaan ini adalah 5.0 MHz. Kebuntingan ditandai dengan adanya gambaran *anechoic* dari kantung kebuntingan dan *hypoechoic* dari fetus di dalam kantung kebuntingan.

## Analisis Hasil

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri serta hasil pemeriksaan kebuntingan dianalisis secara deskriptif. Data disajikan dalam bentuk Tabel dan histogram.

## Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan mikroba menunjukkan adanya variasi jenis bakteri yang dapat terisolasi dan teridentifikasi baik pada lendir serviks maupun lendir vagina sapi potong dan sapi perah yang mengalami kawin berulang di kelompok ternak di wilayah Sleman, Yogyakarta. Bakteri yang dapat terisolasi dan teridentifikasi antara lain *Bacillus sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas sp.*

Proporsi sapi potong yang pada lendir serviks dan/atau lendir vaginanya dapat terisolasi dan teridentifikasi bakteri cukup tinggi. Secara keseluruhan, 71% dari total jumlah sapi potong dapat diisolasi dan diidentifikasi bakteri pada lendir serviks dan/atau lendir vaginanya, sedangkan sebanyak 29% dari total jumlah sapi potong tidak ditemukan bakteri pada kedua sampel yaitu lendir serviks dan lendir vagina. Berdasarkan hasil tersebut, terdapat bakteri yang hanya terisolasi dan teridentifikasi pada sampel lendir serviks atau hanya pada sampel lendir vagina atau keduanya. Sebanyak 57% dari total sampel lendir serviks mengandung bakteri. Hasil yang sama (57%) juga ditemukan pada pemeriksaan sampel lendir vagina. Sedangkan dari total jumlah sapi potong, sebanyak 42,85% dapat terisolasi dan teridentifikasi bakteri baik pada lendir serviks maupun lendir vaginanya. Hasil pemeriksaan mikroba pada lendir serviks dan lendir vagina sapi potong dapat dilihat pada Tabel 1.

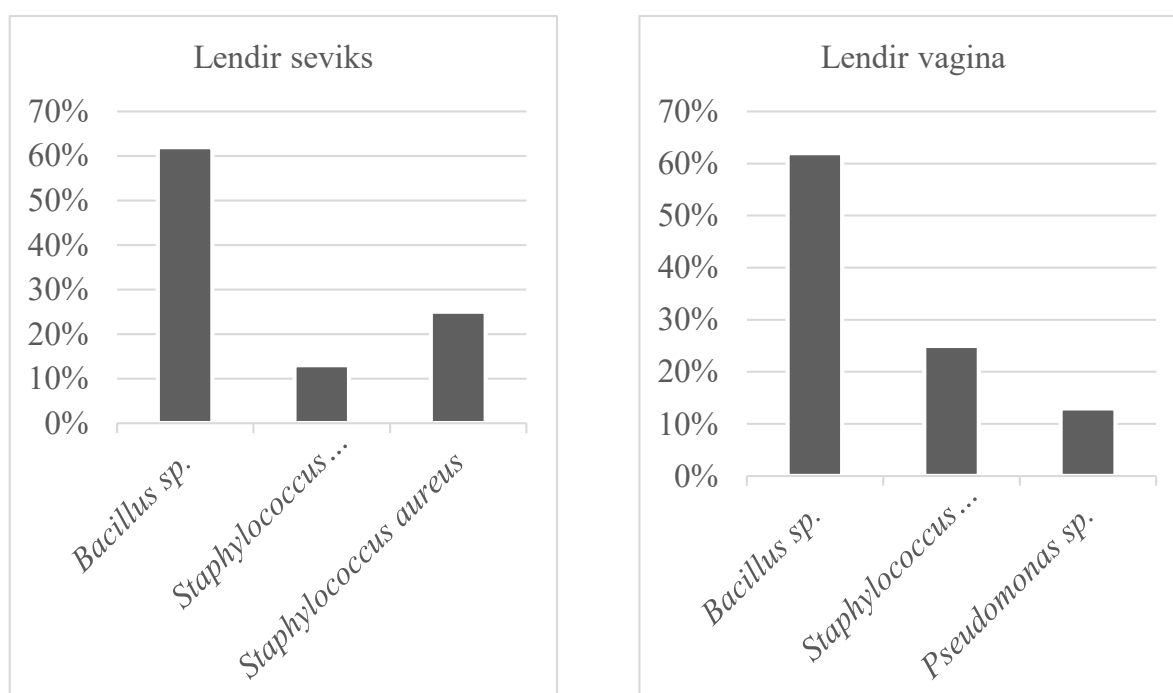
Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri pada lendir serviks dan lendir vagina sapi potong yang mengalami kawin berulang di wilayah Sleman, Yogyakarta.

No. Sapi potong	Jenis bakteri		Pemeriksaan kebuntingan
	Lendir serviks	Lendir vagina	
1	<i>Bacillus sp.</i>	-	Bunting
2	-	-	Bunting
3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Tidak
4	<i>Bacillus sp.</i>	-	Bunting
5	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Tidak
6	-	-	Bunting
7	-	-	Tidak
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Bunting
9	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Tidak
10	-	-	Bunting
11	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	Tidak
12	-	<i>Pseudomonas sp.</i>	Tidak
13	-	<i>Bacillus sp.</i>	Tidak
14	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Tidak

Terdapat empat jenis bakteri yang dapat diidentifikasi dari sampel lendir serviks dan vagina sapi potong yaitu *Bacillus sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas sp.* Tiga dari empat bakteri ditemukan pada sampel lendir serviks yaitu *Bacillus sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus aureus* dengan persentase masing-masing 62%, 13%, dan 25%. Hasil yang

sedikit berbeda diperoleh pada pemeriksaan mikroba lendir vagina. Ada tiga jenis bakteri yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi yaitu *Bacillus sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Pseudomonas sp.* dengan persentase masing-masing 62%, 25%, dan 13% (Gambar 1).

Pemeriksaan kebuntingan pada sapi potong menunjukkan hasil positif sebanyak 43% dan hasil negatif sebanyak 57%. Sebanyak 50% dari



Gambar 1. Proporsi bakteri yang dapat terisolasi dan teridentifikasi dari sampel lendir serviks dan lendir vagina sapi potong yang mengalami kawin berulang di wilayah Sleman, Yogyakarta.

hasil positif pada pemeriksaan kebuntingan sapi potong ditemukan bakteri pada lendir serviks dan/atau lendir vaginanya dan sebanyak 50% lainnya tidak terdapat bakteri pada lendir serviks dan lendir vaginanya. Sebanyak 88% dari hasil negatif pada pemeriksaan kebuntingan sapi potong ditemukan bakteri pada lendir serviks dan/atau lendir vaginanya dan sebanyak 12% lainnya tidak terdapat bakteri pada lendir serviks dan lendir vaginanya (Tabel 1).

Hasil serupa diperoleh dari pemeriksaan bakteri pada lendir serviks dan lendir vagina sapi perah. Secara keseluruhan, 67% dari total jumlah sapi perah terisolasi dan teridentifikasi bakteri pada lendir serviks dan/atau lendir vaginanya. Sama dengan pemeriksaan bakteri pada sampel lendir serviks dan lendir vagina sapi potong, pada sampel lendir serviks dan lendir vagina sapi perah terdapat bakteri yang terisolasi dan teridentifikasi hanya dari sampel lendir serviks atau hanya dari sampel lendir vagina atau keduanya. Berdasarkan hasil pemeriksaan, sebanyak 33% dari total sampel lendir serviks dan sebanyak 50% dari total sampel lendir vagina terdapat bakteri. Bakteri yang sama dapat diidentifikasi pada lendir serviks dan lendir vagina dari satu ekor sapi perah. Sementara itu, dua ekor sapi perah atau sebanyak 33% dari total sapi perah tidak terdapat bakteri pada sampel lendir serviks dan lendir vaginanya. Data pemeriksaan bakteri pada lendir serviks dan lendir vagina sapi perah dapat dilihat pada Tabel 2.

Berbeda dengan sapi potong, hanya terdapat tiga jenis bakteri yang dapat diidentifikasi pada sampel lendir sapi perah yaitu *Bacillus sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus aureus*. Dua dari tiga bakteri diidentifikasi dari

sampel lendir serviks yaitu *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* dengan persentase masing-masing 50%. Hasil yang sedikit berbeda diperoleh pada pemeriksaan bakteri pada lendir vagina. Terdapat tiga jenis bakteri yang dapat diidentifikasi yaitu *Bacillus sp.*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus aureus* dengan persentase yang sama yaitu 33% (Gambar 2).

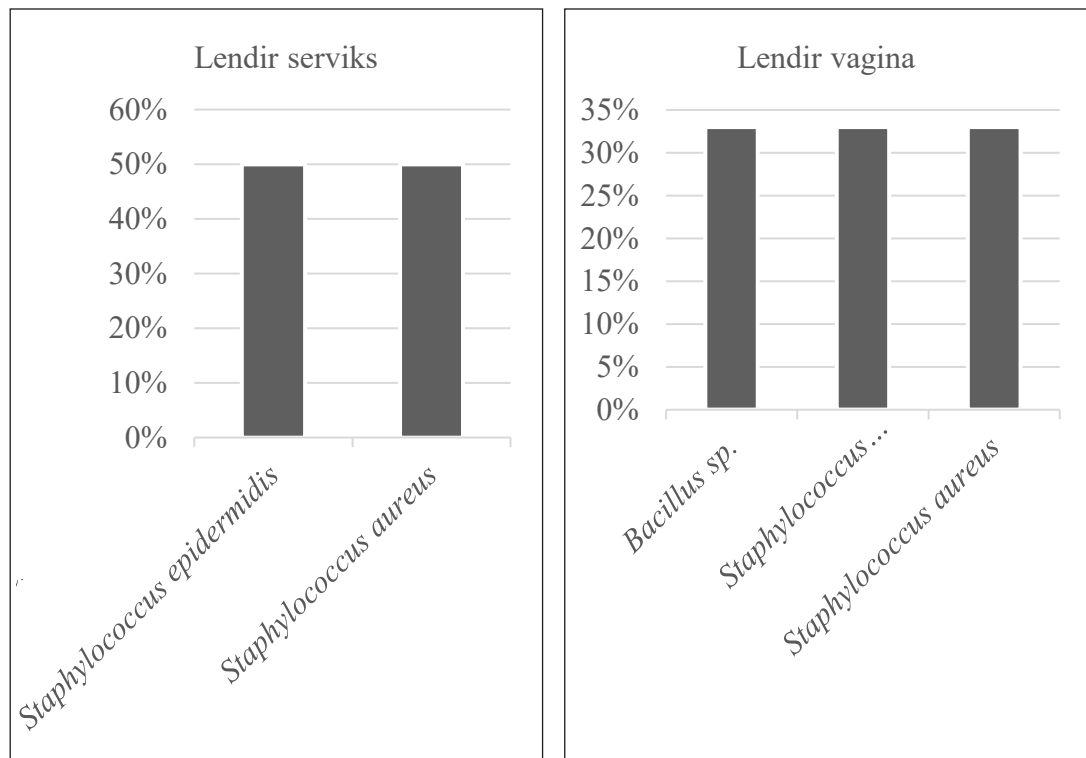
Pemeriksaan kebuntingan pada sapi perah menunjukkan hasil positif sebanyak 33% dan hasil negatif sebanyak 67%. Seluruh sapi perah (100%) yang menunjukkan hasil positif pada pemeriksaan kebuntingan terdapat bakteri pada lendir serviks dan/atau lendir vaginanya. Sebanyak 50% dari hasil negatif pada pemeriksaan kebuntingan terdapat bakteri pada lendir serviks dan/atau vaginanya dan sebanyak 50% lainnya tidak terdapat bakteri pada lendir serviks dan lendir vaginanya (Tabel 2).

Kawin berulang adalah kondisi sapi yang gagal bunting setelah beberapa kali inseminasi meskipun masih ada beberapa perdebatan di antara peneliti mengenai jumlah inseminasi (Levine, 1999). Patel *et al.* (2007) melaporkan bahwa kejadian kawin berulang pada sapi lebih tinggi dibandingkan dengan kerbau. Namun, faktor risiko kawin berulang serupa, yaitu termasuk paritas, penyakit peri-parturient, musim, ukuran kawanan, produksi susu, dan kesuburan yang buruk (Saraswat dan Purohit, 2016). Setelah periode post partum, infeksi bakteri sering terjadi pada sapi. Hal ini dapat menyebabkan endometritis klinis dan subklinis (Sheldon *et al.*, 2009). Janowski *et al.* (2013) melaporkan bahwa ada korelasi yang signifikan antara endometritis subklinis dan kawin berulang. Salah satu metode yang paling sering digunakan

Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri pada lendir serviks dan lendir vagina sapi perah yang mengalami kawin berulang di wilayah Sleman, Yogyakarta.

No. Sapi perah	Jenis bakteri		Pemeriksaan kebuntingan
	Lendir serviks	Lendir vagina	
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bunting
2	-	<i>Bacillus sp.</i>	Tidak
3	-	-	Tidak
4	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bunting
5	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	Tidak
6	-	-	Tidak





Gambar 2. Proporsi bakteri yang dapat terisolasi dan teridentifikasi dari sampel lendir serviks dan lendir vagina sapi perah yang mengalami kawin berulang di wilayah Sleman, Yogyakarta.

untuk mendeteksi endometritis subklinis pada sapi adalah diagnosis sitologi dari sekresi endometrium, atau biopsi uterus (Kasimanickam *et al.*, 2004; Barlund *et al.*, 2008). Hasil serupa dengan penelitian ini dilaporkan oleh Al-Dori *et al.* (2020) yang menemukan beberapa jenis bakteri dari sekret vagina saat estrus pada sapi yang mengalami kawin berulang. Bakteri tersebut antara lain *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* dan *Staphylococcus epidermidis*, *E. Coli*, *Klebsiella*, dan *Proteus*, dengan proporsi yang paling banyak diisolasi adalah *Staphylococcus aureus* (Al-Dori *et al.*, 2020). Namun, pada penelitian ini juga dapat diidentifikasi *Bacillus sp.* dari lendir serviks dan *Pseudomonas sp.* dari lendir vagina sapi yang mengalami kawin berulang dengan *Bacillus sp.* adalah bakteri yang paling banyak terisolasi dan teridentifikasi. Identifikasi *Bacillus sp.* dan *Pseudomonas sp.* juga pernah dilaporkan oleh Gani *et al.* (2008) dari sampel biopsi uterus sapi yang mengalami kawin berulang. Giannattasio-Ferraz *et al.* (2019) menjelaskan bahwa bakteri utama yang ada di antara mikrobiota vagina adalah *Aeribacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteroides*, dan *Ruminococcus*. Anggota genus *Bacillus* serta *Streptococcus* dan *Enterococcus*

merupakan bakteri yang paling sering diisolasi dari intrauterin dan dianggap sebagai patogen oportunistik atau potensial (Wagener dan Drillich, 2018; Werner *et al.*, 2012; Westermann *et al.*, 2010). Teori sebelumnya menyatakan bahwa selama kebuntingan uterus bersifat steril dan dapat terkontaminasi oleh bakteri post partum (Schoenmakers *et al.*, 2019; Appiah *et al.*, 2020). Adanya bakteri pada lendir serviks dan lendir vagina dapat menyebabkan invasi menuju uterus, karena salah satu jalur masuknya bakteri ke dalam saluran reproduksi adalah dari vagina (Appiah *et al.*, 2020). Namun, dalam penelitian ini kami menemukan bahwa sapi masih bisa bunting ketika terdapat bakteri pada lendir serviks dan/atau lendir vagina. Temuan ini didukung oleh bukti terbaru dari laporan Human Microbiome Project yang menyatakan bahwa rahim tidaklah steril, tetapi memiliki kolonisasi bakteri tertentu di endometrium (Moreno *et al.*, 2017; Pelzer *et al.*, 2017; Baker *et al.*, 2018). Beberapa penelitian juga melaporkan bahwa keragaman dan hubungan filogenetik komunitas mikroba yang beragam di vagina hingga saat berkembang biak juga dapat menghasilkan kebuntingan yang baik pada sapi (Serrano *et al.*, 2019; Ault *et al.*, 2019).

## Kesimpulan

Terdapat empat jenis bakteri dengan komposisi yang berbeda yang dapat ditemukan pada lendir serviks dan lendir vagina sapi potong dan sapi perah yang mengalami kawin berulang di wilayah Sleman, Yogyakarta. Kebuntingan dapat terjadi pada sapi potong dan sapi perah yang mengalami kawin berulang yang pada lendir serviks dan/atau lendir vaginanya ditemukan bakteri saat estrus. Peranan bakteri pada saluran reproduksi sapi masih perlu diteliti lebih lanjut.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Gadjah Mada yang telah mendanai sepenuhnya penelitian ini melalui Kerjasama Penelitian Indonesia - WCU (*World Class University*) Grant tahun 2019 dengan Nomor: 639/UN1/DITLIT/DIT-LIT/LT/2019.

## Daftar Pustaka

- Al-Dori, O. A., Ismaeel, M. A. and Noumy, B. S. (2020). Bacterial infection causes of subclinical endometriosis associated with repeated conception failure in cattle. *Eurasia. J. Biosci.* 14: 6267-6274.
- Amiridis, G. S., Tsiligianni, T. H., Dovolou, E., Rekkas, C., Vouzas, D. and Menegatos, I. (2009). Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. *Theriogenology.* 72: 542-548.
- Appiah, M. O., Wang, J. and Lu, W. (2020). Microflora in the Reproductive Tract of Cattle: A Review. *Agriculture.* 10: 232.
- Ault, T. B., Clemmons, B. A., Reese, S. T., Dantas, F. G., Franco, G. A., Smith, T. P., Edwards, J. L., Myer, P. R. and Pohler, K. G. (2019). Uterine and vaginal bacterial community diversity prior to artificial insemination between pregnant and nonpregnant postpartum cows. *J. Anim. Sci.* 97: 4298-4304.
- Baker, J. M., Chase, D. M. and Herbst-Kralovetz, M. M. (2018). Uterine microbiota: Residents, tourists, or invaders? *Front. Immunol.* 9: 208.
- Barlund, C. S., Carruthers, T. D., Waldner, C. L. and Palmer, C. W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology.* 69: 714-723.
- Gani, M. O., Amin, M. M., Alam, M. G. S., Kayesh, M. E. H., Karim, M. R., Samad, M. A. and Islam, M. R. (2008). Bacterial flora associated with repeat breeding and uterine infections in dairy cows. *Bangl. J. Vet. Med.* 6(1): 79-86.
- Giannattasio-Ferraz, S., Laguardia-Nascimento, M., Gasparini, M. R., Leite, L. R., Araujo, F. M. G., de Matos Salim, A. C., de Oliveira, A. P., Nicoli, J. R., de Oliveira, G. C. and da Fonseca, F. G. (2019). A common vaginal microbiota composition among breeds of *Bos taurus indicus* (Gyr and Nellore). *Braz. J. Microbiol.* 50: 1115-1124.
- Gustafsson, H. and Emanuelson, U. (2002). Characterisation of the Repeat Breeding Syndrome in Swedish Dairy Cattle. *Acta. Vet. Scand.* 43(2): 115-125.
- Jang, S. S., Biberstein, E. L. and Hirsh, D. C. (1976). A Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Microbiology. Davis (US), Univ California Pr.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. E., Foster, R. A., Gartley, C. L., Leslie, K. E., Walton, J. S. and Johnson, W. H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of sub clinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 62: 9-23.
- Moreno, I. and Franasiak, J. M. (2017). Endometrial microbiota—new player in town. *Fertil. Steril.* 108: 32-39.
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J. and England, G. C. W. (2016). Veterinary Reproduction and Obstetrics. 9th ed. Elsevier Sci, Edinburgh London.
- Patel, S. B., Hadiya, K. K. and Chavan, D. B. (2007). Incidence of reproductive disorders in cattle and buffaloes in Kaira district of Gujrat. *Indian J. Field Vet.* 3: 15-17.

- Pelzer, E., Gomez-Arango, L. F., Barrett, H. L. and Nitert, M. D. (2017). Maternal health and the placental microbiome. *Placenta*. 54: 30-37.
- Prihatno, S. A., Kusumawati, A., Karja, W. K. and Sumiarto, B. (2013). Prevalence and Risk Factors for Repeat Breeding in Dairy Cattle at Farmer Level. *Jurnal Veteriner*. 14(4): 452-461.
- Saraswat, C. S. and Purohit, G. N. (2016). Repeat breeding: Incidence, risk factors and diagnosis in buffaloes. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 5(2): 87-95.
- Schoenmakers, S., Steegers-Theunissen, R. and Faas, M. (2019). The matter of the reproductive microbiome. *Obst. Med*. 12: 107-115.
- Serrano, M. G., Parikh, H. I., Brooks, J. P., Edwards, D. J., Arodz, T. J., Edupuganti, L., Huang, B., Girerd, P. H., Bokhari, Y. A. and Bradley, S. P. (2019). Racioethnic diversity in the dynamics of the vaginal microbiome during pregnancy. *Nat. Med*. 25: 1001-1011.
- Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G. and Schuberth, H. J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reprod*. 81(6): 1025-1032.
- S.MIs. UK Standards for Microbiology Investigation [SMIs]. (2015). Identification of *Pasteurella* species and morphologically similar organism. Public Health England. 3: 1-28.
- Wagener, K. and Drillich, M. (2018). Pathogenesis of uterine diseases in dairy cattle and implications for fertility. *Anim. Reprod*. 15(Suppl.1): 879-885.
- Werner, A., Suthar, V., Plöntzke, J. and Heuwieser, W. (2012). Relationship between bacteriological findings in the second and fourth weeks postpartum and uterine infection in dairy cows considering bacteriological results. *J. Dairy Sci*. 95: 7105-7114.
- Westermann, S., Drillich, M., Kaufmann, T. B., Madoz, L. V. and Heuwieser, W. (2010). A clinical approach to determine false positive findings of clinical endometritis by vaginoscopy by the use of uterine bacteriology and cytology in dairy cows. *Theriogenology*. 74: 1248-1255.
- Wijanarko, I. and Sumiarto, B. (2014). Prevalence and Factors Causing Repeat Breeding in Beef Cattle in Grobogan Regency. Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- World Organisation for Animal Health [OIE]. (2015). Fowl cholera. OIE Terrestrial Manual. 239: 1-10.
- Yulyanto, C. A., Trinil, S. and Ihsan, M. N. (2014). Reproductive performance of Ongole and Limousin cattle in Sawoo District, Ponorogo Regency and Tugu District, Trenggalek Regency. *JIIP*. 24: 49-57.



## **INDEK PENULIS**



## **INDEK SUBYEK**



