

WIDYA BIOLOGI

DIAMETER OOSIT KELINCI (*Lepus sp.*) SETELAH DIBERI PAKAN KOMERSIAL DISUPLEMENTASI MINYAK HATI IKAN KOD**(DIAMETER RABBIT OOSIT (*Lepus sp.*) AFTER COMMERCIAL FEED DISUPPLEMENTATION OF KOD FISH)**

Ni Gusti Ayu Manik Ermayanti¹, Gusti Ayu Sugi Wahyuni¹, I Gusti Ayu Manik Widhyastini²

¹Progran Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Udayana Denpasar, Bali

²Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Nusa Bangsa Bogor, Jawa Barat

Email: manikermayanti@unud.ac.id

ABSTRACT

Kod liver oil as a source of polyunsaturated fatty acids has very diverse and complex benefits, including for the health of reproductive organs. This study aims to determine the diameter of a rabbit oocyte after being fed commercial feed supplemented with kod liver oil. The experimental design used was a Completely Randomized Design with four feed treatments, namely commercial feed without cod liver oil supplementation (P0) as a control, commercial feed supplemented with cod liver oil 3% (P1), commercial feed supplemented kod liver oil 4, 5% (P2), and commercial feed supplemented with cod liver oil 6% (P3). Each treatment consisted of ten rabbits as replicates and the treatment was given from rabbits aged 4 months to 6 months. At the end of the treatment, the rabbit was dissected and then the ovarian histological preparation was made. The parameters observed were oocyte diameter in primary, secondary, tertiary follicles and preovulatory follicles. The data obtained were analyzed with ANOVA, if significantly different, further tested by DMRT. The results showed that supplementation of cod liver oil with different levels in commercial feed significantly affected ($P < 0.05$) the diameter of rabbit oocytes. It can be concluded that supplementation of cod liver oil at 4.5% in commercial feed can increase rabbit oocyte diameter.

Keywords: *Kod liver oil, unsaturated fatty acids, ovaries, oocytes, rabbits*

ABSTRAK

Minyak hati ikan kod sebagai sumber asam lemak tidak jenuh ganda mempunyai manfaat yang sangat beragam dan kompleks, di antaranya untuk kesehatan organ reproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui diameter oosit kelinci setelah diberi pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan pakan, yaitu pakan komersial tanpa suplementasi minyak hati ikan kod (P0) sebagai kontrol, pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod 3% (P1), pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod 4,5% (P2), dan pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod 6% (P3). Masing-masing perlakuan terdiri atas sepuluh ekor kelinci sebagai ulangan dan perlakuan diberikan mulai kelinci berumur 4 bulan sampai umur 6 bulan. Akhir perlakuan, kelinci dibedah dan selanjutnya dibuat preparat

WIDYA BIOLOGI

histologi ovarium. Parameter yang diamati adalah diameter oosit pada folikel primer, sekunder, tersier dan folikel praovulasi. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA, jika berbeda nyata diuji lanjut dengan DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suplementasi minyak hati ikan kod dengan taraf yang berbeda pada pakan komersial berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap diameter oosit kelinci. Dapat disimpulkan bahwa suplementasi minyak hati ikan kod pada taraf 4,5% pada pakan komersial mampu meningkatkan diameter oosit kelinci.

Kata kunci: minyak hati ikan kod, asam lemak tidak jenuh, ovarium, oosit, kelinci

PENDAHULUAN

Konsumsi daging dari tahun ke tahun menunjukkan kecenderungan yang terus meningkat. Untuk pemenuhan kebutuhan pangan pokok asal hewan (ternak), maka kelinci lokal mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan sebagai usaha peternakan. Namun, masih ada kendala yang dihadapi dalam usaha peningkatan produktivitas ternak kelinci, di antaranya adalah adanya gangguan reproduksi. Adanya gangguan reproduksi dapat menurunkan fertilitas hewan. Fertilitas adalah faktor penting untuk berhasilnya fertilisasi. Ada kecenderungan bahwa rendahnya fertilitas berhubungan dengan defisiensi nutrisi.

Minyak ikan adalah sumber asam lemak tidak jenuh ganda rantai panjang (*PUFA/Polyunsaturated Fatty Acid*). PUFA tidak dapat disintesis oleh tubuh sehingga merupakan asam lemak esensial dari sudut nutrisi. PUFA sangat diperlukan untuk berbagai proses

fisiologis di dalam tubuh hewan sehingga n-3 PUFA asam α -linolenat (DHA dan EPA) perlu disediakan dalam pakan (Wathes *et al.*, 2007). Minyak ikan sebagai sumber PUFA mempunyai manfaat yang sangat beragam dan kompleks. Kandungan EPA dan DHA pada minyak ikan merupakan nutrisi yang baik bagi kesehatan. Palmquist dan Condrad (1978) menyatakan jika asupan lemak esensial tidak mencukupi maka hewan tidak akan tumbuh, timbul kelainan-kelainan, kemampuan reproduksi menurun, daya tahan terhadap stress menurun dan terjadi gangguan transport lipid. Oleh karena itu, minyak ikan dapat digunakan sebagai pakan tambahan pada pakan komersial untuk kelinci betina lokal.

Hasil penelitian yang melaporkan manfaat minyak ikan terhadap performa reproduksi jantan dan betina telah banyak dilakukan dan didapatkan hasil yang sangat bervariasi, antara lain Ermayanti *et al.* (2016) melaporkan suplementasi

WIDYA BIOLOGI

minyak hati ikan kod taraf 4,5% dapat meningkatkan kadar testosteron dan kualitas spermatozoa kauda epididimis kelinci lokal. Maldjian *et al.* (2005) melaporkan penambahan minyak ikan 3% untuk ransum harian babi dapat meningkatkan jumlah sperma dalam ejakulasi. Robinson *et al.* (2002) melaporkan sapi yang diberi pakan mengandung n-3 dapat meningkatkan konsentrasi estradiol pada fase folikular.

Dietary polyunsaturated fatty acid (PUFAs) dikenal untuk memediasi berbagai tindakan dalam jaringan reproduksi termasuk efek pada fluiditas membran, kaskade sinyal seluler intra-sel dan kerentanan terhadap cedera oksidatif (Wathes *et al.*, 2007). Asam lemak pada pakan tidak hanya merubah komposisi asam lemak pada plasma darah tetapi juga pada jaringan reproduksi, yaitu pada cairan folikel, sel kumulus dan oosit (Ferguson dan Leese, 1999; Zeron *et al.*, 2002; Bilby *et al.*, 2006; Childs *et al.*, 2008; Fouladi-Nashta *et al.*, 2009; Wonnacott *et al.*, 2010), yang secara langsung dapat mempengaruhi kemampuan oosit untuk berkembang dan fertil lebih lanjut (Armstrong *et al.*, 1990; Burke *et al.*, 1997; Petit *et al.*, 2001; Wonnacott *et al.*, 2010).

Ovarium merupakan organ reproduksi utama pada betina karena berfungsi untuk menghasilkan sel telur (oosit) dan hormon (estrogen dan progesteron). Pada awal folikulogenesis, oosit primer pada folikel primordial sampai oosit pada folikel praovulasi akan meningkat ukurannya. Setiap ovulasi maka oosit primer pada folikel praovulasi akan menyelesaikan meiosis I menjadi oosit sekunder. Pada maturasi oosit secara *in vitro* maka oosit yang digunakan adalah oosit yang telah mencapai diameter yang lebih besar karena memiliki kemampuan penuh untuk dapat menyelesaikan meiosis dan dapat mencapai maturasi inti sampai tahap metafase II. Berdasarkan hal itu, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui histologi ovarium : diameter oosit kelinci setelah diberi pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod.

METODE DAN BAHAN

Hewan

Hewan yang digunakan adalah 40 ekor kelinci betina lokal yang berumur 4 bulan dengan rata-rata berat badan 2000.60 – 2100.15 g. Kelinci diperoleh dari Desa Riang Gede, Kabupaten Tabanan, Bali. Hewan dipelihara dalam kandang sistem baterai individual yang

WIDYA BIOLOGI

berukuran 45x30x40 cm dan disusun bertingkat dengan ketinggian 75 cm di atas permukaan tanah. Mereka dipelihara di bawah siklus cahaya-kegelapan yang terkendali (12 jam cahaya; 12 h kegelapan). Temperatur udara dalam kandang 27,05⁰C dan kelembaban udara dalam kandang 75,40%

Pakan

Pakan yang digunakan adalah pellet pakan komersial kelinci yang diproduksi oleh P.T. Japfa Comfeed Indonesia. Bahan penyusun pakan komersial adalah jagung kuning, dedak, bungkil kedelai, molases, dan minyak sawit. Minyak hati ikan kod diproduksi oleh P.T. Merck Tbk, Jakarta. Pakan diberikan secara ad libitum.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan empat perlakuan pakan, yaitu pakan komersial tanpa suplementasi minyak hati ikan kod (P0) sebagai kontrol, pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod 3% (P1), pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod 4,5% (P2), dan pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod 6% (P3). Masing-masing perlakuan terdiri atas sepuluh ekor kelinci sebagai ulangan

dan perlakuan diberikan mulai kelinci berumur 4 bulan sampai umur 6 bulan

Histologi Ovarium

Pada akhir penelitian, semua kelinci dibunuh selanjutnya dibedah. Setelah dibedah ovarium kiri diambil untuk dibuat preparat histologi ovarium dengan menggunakan metode parafin dan pewarnaan Haematoxylin-Eosin. Pengamatan histologi ovarium dilakukan dengan menggunakan okuler mikrometer kalibrasi. Diameter oosit yang diukur adalah oosit pada folikel primer, sekunder, tersier dan folikel praovulasi.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan *Analysis of Variance (ANOVA)* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diukur. Apabila hasil yang didapat berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test (DMRT)* pada taraf kepercayaan 5% untuk mengetahui letak perbedaan pengaruh antar perlakuan.

HASIL

Hasil analisis statistik diameter oosit kelinci lokal setelah diberi pakan

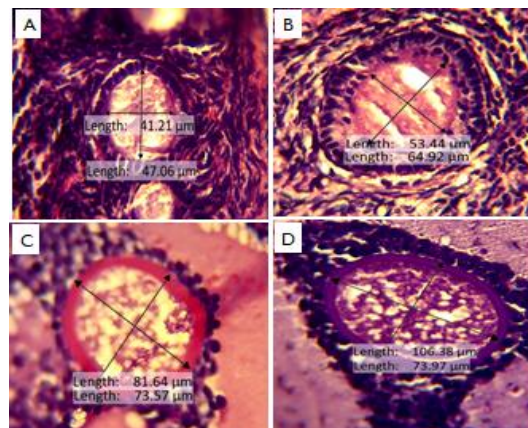
WIDYA BIOLOGI

komersial disuplementasi minyak hati ikan kod dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Diameter oosit pada kelinci lokal setelah diberi pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod

Perlakuan	Diameter oosit			
	Folikel primer	Folikel Sekunder	Folikel tersier	Folikel praovulasi
P0	23.30a	25.25a	40.41 a	70.00a
P1	23.32a	25.26a	40.42a	70.02a
P2	44.15b	50,48b	80.61b	93.18b
P3	44.13b	50.47b	80.60b	93.16b

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$). P0=kontrol (0%) P1=3%, P2=4,5%, P3=6%



Gambar 1. Diameter oosit pada kelinci setelah diberi pakan komersial disuplementasi minyak hati ikan kod 4,5%. Oosit pada folikel primer (A), oosit pada folikel sekunder (B), oosit pada folikel tersier (C), oosit pada folikel praovulasi (D). (H dan E X40).

Berdasarkan hasil pengamatan yang tercantum pada Tabel 1 tampak bahwa suplementasi minyak hati ikan kod pada pakan komersial kelinci menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) pada rerata diameter oosit. Uji lanjut juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan pakan. Kelinci yang mendapat perlakuan

pakan P1 tidak berbeda nyata dengan kelinci P0 (kontrol), kelinci yang mendapat perlakuan pakan P2 dan P3 berbeda nyata dengan kelinci P0 (kontrol) sedangkan kelinci P2 dan P3 tidak berbeda nyata. Rerata diameter oosit yang tertinggi terdapat pada kelinci P2. Hal ini menunjukkan bahwa suplementasi minyak hati ikan kod pada

WIDYA BIOLOGI

perlakuan P2 yaitu taraf 4,5% paling berpengaruh terhadap peningkatan rerata diameter oosit.

PEMBAHASAN

Secara umum, kelinci betina mencapai pubertas (yaitu siap menerima jantan dan ovulasi) sekitar usia 14 minggu (Hulot *et al.*, 1982; Rommers *et al.*, 2001), meskipun usia pada saat kawin pertama tergantung pada jenis kelinci (Harkness *et al.*, 2010). Jenis kelinci lokal Bali adalah kelinci tipe kecil dan mencapai dewasa kelamin pada umur 4 bulan. Dewasa kelamin lebih dahulu terjadi sebelum dewasa tubuh terjadi oleh sebab itu ternak betina tidak dikawinkan pada waktu munculnya tanda-tanda pubertas yang pertama karena tidak menguntungkan bagi pertumbuhan dirinya dan pertumbuhan anak dikandungnya (Feradis, 2010). Sistem pemberian makan yang berbeda akan mempengaruhi kinerja reproduksi pada kelinci (Rommers *et al.*, 2001) dan beberapa penelitian merekomendasikan bahwa kelinci siap dikawinkan ketika kelinci betina telah mencapai 75% dari berat badan dewasanya (Gosalves *et al.*, 1994).

Ovarium kelinci adalah organ ovoid kecil, terletak di rongga panggul lateral kanan dan kiri. Permukaan ovarium

kelinci ditutupi oleh satu lapisan epitel. Ovarium dibagi menjadi bagian medula (dalam) dan korteks (luar) yang terdiri atas folikel-folikel (Zitny *et al.*, 2004). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Kowalska dan Bielanski (2007) membuktikan suplementasi minyak ikan 4% pada pakan kelinci NZW muda selama 90 hari dapat menghasilkan berat badan akhir yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Ermayanti *et al.* (2019) suplementasi minyak ikan taraf 4,5% dapat meningkatkan berat badan kelinci lokal betina. Oleh karena itu, dengan meningkatnya berat badan kelinci maka akan diikuti oleh perkembangan organ-organ reproduksinya. Menurut Hadley (1992) hewan menjelang dewasa akan diikuti oleh lonjakan hormon estrogen yang memacu pertumbuhan dan perkembangan organ-organ reproduksi, di antaranya adalah ovarium. Penelitian pada reproduksi jantan membuktikan bahwa DHA memegang peranan penting dalam perkembangan dan pematangan testis (Ayala *et al.*, 1977). Adibmoradi *et al.* (2012) menyatakan anak kambing yang diberi suplementasi minyak ikan taraf 2% dapat meningkatkan pertumbuhan testis (lingkar, volume, panjang dan lebar testis).

WIDYA BIOLOGI

Oogenesis bertujuan untuk menghasilkan oosit matur yang terjadi pada korteks ovarium. Oosit matur ditandai dengan terdapatnya PB, sel kumulus yang tersebar, dan stadium perkembangan meiosis II. Folikel, oosit, dan spermatozoa mengandung sejumlah besar PUFA (Homa dan Brown, 1992). Terutama, komposisi biokimia cairan folikel menentukan lingkungan mikro folikel untuk pertumbuhan dan maturasi oosit (Khalil *et al.*, 2013). Fouladi-Nashta *et al.* (2009) telah melaporkan bahwa komposisi asam lemak pada sel granulosa dapat diubah oleh pakan atau suplementasi dalam medium kultur dan memiliki pengaruh terhadap maturasi oosit dan PUFA mengatur berbagai fungsi reproduksi pada mamalia (Wathes *et al.*, 2007). Kualitas oosit dan embrio dapat ditingkatkan berdasarkan jenis dan rasio komposisi asam lemak (Wonnacott *et al.*, 2010).

Pada penelitian ini, kelompok P2 menghasilkan diameter oosit rata-rata tertinggi dibandingkan dengan kelompok P0, P1 dan P3. Diameter oosit kelompok P2 adalah 44,14 μm (dalam folikel primer), 59,18 μm (dalam folikel sekunder), 77,61 μm (dalam folikel tersier), dan 90,18 μm (dalam folikel praovulasi). Massanyi *et al.* (2000)

melaporkan diameter oosit kelinci adalah 25-30 μm pada folikel primordial, 40-60 μm dalam folikel tumbuh dan 80-90 μm dalam folikel Graaf. Sedangkan dari hasil penelitian Zitny *et al.* (2004) diameter oosit dari folikel primordial ke folikel de Graaf adalah 23,3 - 95,7 μm .

Salah satu faktor yang menentukan kualitas oosit in vitro adalah diameter oosit (Arlotto *et al.*, 1996). Oosit yang telah mencapai diameter lebih besar dilaporkan memiliki kemampuan penuh untuk menyelesaikan meiosis I, oosit yang berasal dari folikel yang lebih besar memiliki peluang lebih besar untuk mencapai metafase II daripada oosit yang berasal dari folikel berdiameter lebih kecil. Ini terbukti dalam penelitian yang menggunakan oosit domba (Lonergan *et al.*, 1994) dan oosit ternak yang berasal dari folikel antrumik kecil memiliki kemampuan rendah untuk mengalami kerusakan vesikel germinal (GVBD) dan metafase I (Pavlok *et al.*, 1992). Lonergan *et al.* (1994) menyatakan bahwa diameter oosit memiliki hubungan yang kuat dengan kualitas oosit yang dihasilkan. Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa diameter oosit berbanding lurus dengan diameter folikel karena keduanya meningkatkan kemampuan pengembangan oosit pada

WIDYA BIOLOGI

sapi (Gandolfi *et al.*, 1997). Jadi, kelinci yang memiliki diameter oosit besar juga terdapat dalam folikel berdiameter besar. Folikel berdiameter besar menunjukkan kelinci sebagai estrus dan siap dikawinkan. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa asam lemak makanan dapat menyebabkan stimulasi aktivitas folikel ovarium (Abayasekara dan Wathes, 1919). Setelah folikel mencapai ukuran ovulasi, mereka mengeluarkan estrogen dalam jumlah yang meningkat dan kelinci menunjukkan penerimaan seksual untuk jangka waktu tertentu. Ketika folikel-folikel itu merosot, sekresi estrogen menurun dan kelinci betina menjadi tidak reseptif (Harcout-Brown, 2002). Robinson *et al.* (2002) melaporkan memberi makan ternak yang mengandung n-3 dapat meningkatkan konsentrasi estradiol dalam fase folikuler. Pada folikel (pembentukan folikel), jumlah telur akan menghasilkan kadar estrogen yang tinggi sehingga terjadi periode estrus. Ketika betina estrus dan diestrous dibandingkan, tampak bahwa hewan estrus memiliki folikel yang lebih besar (diameter \geq 1,5 mm), tingkat atresia yang lebih rendah dan konsentrasi E2, E1 dan P yang lebih tinggi dalam cairan folikel. Perbedaan antara wanita estrus

dan diestrous hanya ditemukan pada kelompok folikel terbesar dalam penelitian ini. Kehadiran folikel-folikel besar yang sehat ini tampaknya terkait dengan berat cairan folikel yang lebih tinggi dan konsentrasi steroid yang lebih kuat (Lefevre dan Caillol, 1978).

SESIMPULAN

Suplementasi minyak hati ikan kod 4,5% pada pakan komersial mampu meningkatkan diameter oosit pada kelinci lokal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, yang telah menyediakan dana untuk penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Udayana yang telah memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

Abayasekara, R. and D.C. Wathes. 1999. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Literature*

WIDYA BIOLOGI

- Review in Prostaglandins Leukotriened and Essential Fatty Acids*, 61(5):275-87.
- Adibmoradi, M., M.H. Najafi, S. Zeinoaldini, M. Ganjkanlou and A.R. Yousefi. 2012. Effect of Dietary Soybean oil and Fish Oil Supplementation on Blood Metabolites and Testis Development of Male Growing Kids. *Egyptian journal of sheep & goat Science*, 7 (1):19-25.
- Arlotto, T, J.L. Schwartcz, and N.L. First. 1996. Aspect follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology*, 45:943-956.
- Armstrong, J.D., E.A. Goodall, F.J. Gordon, D.A. Rice, and W.J. McCaughey. 1990. The effect of levels of concentrate offered and inclusion of maize gluten or fish meal in the concentrate on reproductive performance and blood parameter of dairy cow. *Anim Prod*, 50: 1-10.
- Ayala, S., R.R. Brenner and C.G. Duman. 1978. Effect of polyunsaturated fatty acids of the α -linoleic series on the development of rats testicles. *Lipid*, 12(12):1017-1024.
- Bilby, T.R., J. Block, B.C. do Amaral, O. Sa Filho, F.T. Silvestre, P.J. Hansen, C.R. Staples, and W.W. Thatcher. 2006. Effect of Dietary Unsaturated Fatty Acid on Oocyte Quality and Follicular Development in Lactating Dairy Cows in Summer. *J. Dairy Sci.* 89:3891-3903.
- Burke, J.M., C.R. Staples, C.A. Risco, R.L.D.L. Sota, and W.W. Thatcher. 1997. Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive performance of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 80:3386-3398.
- Childs, S., A.A. Hennessy, J.M. Sreenan, D.C. Wathes, Z. Cheng, C. Stanton, M.G. Diskin, and D.A. Kenny. 2008. Effect of level of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on systemic and tissue fatty acid concentrations and on selected reproductive variables in cattle. *Theriogenology*, 70:595-611.
- Ermayanti, N.G.A.M., I.G.L Oka, I.G Mahardika and I.P Suyadnya. 2016. Free testosterone level and quality of cauda epididymis sperm of local rabbit that given commercial feed supplemented by cod fish liver oil. *International Journal of College and University*, 3:1-12.
- Feradis. 2010. *Reproduksi Ternak*. Alfabeta Bandung.
- Ferguson, E.M. and H.J. Leese. 1999. Triglyceride content of bovine oocytes and early embryos. *Journal of Reproduction and Fertility*. 116: 373-378.
- Fouladi-Nashta, A.A., K.E. Wonnacott, C.G. Gutierrez, J.G. Gong, K.D. Sinclair, P.C. Garnsworthy, and R. Webb. 2009. Oocyte quality in lactating dairy cows fed on high levels of n-3 and n-6 fatty acids. *Reproduction*, 138:771-781.
- Gandolfi, F.A., M. Luciano, S. Modina, A. Ponzini, P. Pocar, D.T. Armstrong and A. Lauria. 1997.

WIDYA BIOLOGI

- The in vitro developmental competence of bovine oocytes can be related to the morphology of the ovary. *Theriogenology*, 48(7):1153-1160.
- Hadley, M.E. 1992. *Endocrinology*. 3rded. Prentice Hall inc. Ney Jersey, New York.
- Harcourt-Brown, F. 2002. Textbook of rabbit medicine, Elsevier Health Sciences, Oxford.
- Harkness, J.E., P.V. Turner, S. VandeWoude, and C.L. Wheler. 2010. Biology and medicine of rabbits and rodents. 5th edition, Wiley-Blackwell, Iowa.
- Homa, S.T. and C.A. Brown. 1992. Changes in linoleic acid during follicular development and inhibition of spontaneous breakdown of germinal vesicles in cumulus: free bovine oocytes. *J. repro. Fertil*, 94:153-160.
- Hulot, F., J.C. Mariana, and F. Lebas. 1982. L'établissement de la puberté chez la lapine (Folliculogenèse et ovulation). Effet du rationnement alimentaire, *Repro. Nutr. Develop.*, 22(3):439-453.
- Khalil, A. A. Syngelaki, N. Maiz, Y. Zinevich, K.H. Nicolaides. 2013. Maternal age and adverse pregnancy outcome: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 42(6):613-4.
- Kowalska, D. and P. Bielanski. 2007. Effect of dietary fish oil supplement on rearing performance of young rabbits and quality of their meat. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 57(3):63-66.
- Lefèvre, B. and M. Caillol. 1978. Relationship of oestrous behaviour with follicular growth and sex steroid concentration in the follicular fluid in the domestic rabbit. *Ann. Biol. Anim. Biophys. Bioch.* 18(6), 1435–1441.
- Lonergan, P., H. Sharif, P. Monaghan, H. Wahid, M. Gallagher, and L. Gordon. 1992. Effect of size on bovine oocytes morphology and embryos yield following maturation, fertilization and culture in vitro. *Theriogenology*, 54:1420-1429.
- Maldjian, A., F. Pizzi, T. Gliozzi, S. Cerolini, P. Penny and R. Noble. 2005. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Theriogenology*, 63(2):411–421.
- Palmquist, D.L. and H.R. Conrad. 1978. High at ration for dairy cows. Effect on feed intake, milk and fat production and plasma metabolites. *J. Dairy Sci.*, 61:890-901.
- Petit, H.V., R.J. Dewhurst, J.G. Proulx, M. Khalid, W. Haresign and H. Twagiramungu. 2001. Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *Can J. Anim Sci.*, 81:263-271.
- Pavlok, A.A., Lucas-Hahn, and H. Nieman. 1992. Fertilization and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Mol. Reprod. and Develop.*, 31:63-67.
- Robinson, R.S., P.G.A Pushpakumara, Z. Cheng, A.R. Peters, D.R.A.

WIDYA BIOLOGI

- Abayasekara and D.C. Wathes. 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*, 124:119-131.
- Rommers, J.M., R. Meijerhof, J.P.T.M. Noordhuizen, and B. Kemp. 2001. Effect of different feeding levels during rearing and age at first insemination on body development, body composition, and puberty characteristics of rabbits does. *World Rabbit Sci.*, 9(3):101-108.
- Wathes, D.C., Robert and R. John. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *J. Animal Reproduction*, 77(20):190-201.
- Wonnacott, K.E., W.Y. Kwong, J. Hughes, A.M. Salter, R.G. Lea, P.C. Garnsworthy, and K.D. Sinclair. 2010. Dietary omega-3 and-6 polyunsaturated fatty acids affect the composition and development of sheep granulosa cells, oocytes and embryos. *Reproduction*, 139:57-69.
- Zeron, Y., D. Sklan, and A. Arav. 2002. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. *Molecular Reproduction and Development*, 61:271-278.
- Zitny, J., P. Massanyi, A. Trakovicka, J. Rafaj, and R. Toman. 2004. Quantification of the ovarian follicular growth in rabbits. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 48:37-40.