

SUPEROVULASI, PEMBEKUAN, PENCAIRAN DAN TRANSFER EMBRIO PADA SAPI

Oleh:

B. Tappa, E.T. Margawati, N. Mulyaningsih dan A. Soeksmanto

Pendahuluan

Keberhasilan pertama embrio transfer pada sapi telah dilaporkan oleh Wilet *et al* (1951). Sekitar dua dekade kemudian sejumlah peneliti mengulanginya, dan puncak keberhasilan dicapai oleh Rowson *et al.* (1969). Dalam tahun 1970-an teknologi transfer embrio telah menjadi komoditi yang ramai diperdagangkan secara komersial antar negara, setelah embrio berhasil dibekukan.

Di Indonesia, transfer embrio pertama kali dilakukan pada sapi-sapi resipien milik PT. Berdikari di Cicurug tahun 1984, menggunakan embrio beku yang didatangkan dari Amerika Serikat dengan tingkat keberhasilan sekitar 35% (Toelihere, 1987). Pada tahun-tahun berikutnya kegiatan serupa juga dilakukan di beberapa instansi pemerintah dan swasta, namun belum memberikan hasil yang memuaskan.

Dalam rangka meningkatkan keberhasilan penerapan teknologi transfer embrio sapi, Puslitbang Bioteknologi LIPI bekerjasama dengan PT. Rejo Sari Bumi, Unit Peternakan Tapos melakukan penelitian sekaligus aplikasi teknologi ini pada sapi potong dan sapi perah. Tujuan penelitian ini adalah : 1) mengetahui pengaruh pemberian prostaglandin F 2a dan hormon gonadotrophin terhadap superovulasi dan kualitas embrio, 2) ketahanan hidup embrio setelah pembekuan (freezing) dan pencairan (thawing), 3) persentase kebuntingan setelah transfer embrio segar maupun beku.

Bahan dan Cara Kerja

Sebanyak 4 ekor sapi betina jenis Brangus dan 6 ekor sapi jenis Hongarian (umur 5-7 tahun) yang dipelihara di Unit Peternakan Tapos, digunakan sebagai donor setelah melalui seleksi. Sapi-sapi donor disuperovulasi dengan menggunakan Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin (PMSG) - (Folligon; Intervet - Holland) sebanyak 3000 IU per ekor secara intramuskular di daerah pinggul pada hari ke 10 siklus estrus. Dua hari (48 jam) setelah pemberian PMSG, diberikan Prostaglandin analog (Prosolvin; Intervet - Holland) sebanyak 2 ml per ekor. Donor yang memperlihatkan gejala-gejala berahi ("standing heat"; diam sewaktu dinaiki betina lainnya) dikawinkan dengan pejantan yang sama sebanyak 3 kali yaitu sewaktu standing heat, 6 jam dan 12 jam setelah standing heat.

Koleksi embrio pada donor yang disuperovulasi dilakukan pada hari ke 7 setelah kawin dengan teknik tanpa operasi (dengan menggunakan kateter Foley). Sebelum koleksi, sapi donor dibersihkan bagian vulvanya dan dianestesi lokal pada pangkal ekornya dengan 2% Lidocain sebanyak 5 ml. Jumlah ovulasi ditentukan dengan menghitung corpus luteum (cl) pada ovarium dengan palpasi rektal.

Media koleksi yang digunakan adalah modifikasi Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (D PBS), (Whittingham, 1971) dengan menambahkan 1% Fetal Calf Serum (FCS) dan 100 IU penisilin G dan 50 µg streptomisin sulfat per ml. Hasil koleksi embrio dipindahkan ke cawan petri yang berisi media D PBS mengandung 20% FCS. Evaluasi embrio dilakukan dengan menggunakan stereo mikroskop dengan pembesaran 6,3 x. Embrio diklasifikasikan berdasarkan bentuk morfologi : terbaik, kurang baik dan jelek (Elsden *et al*, 1978). Hanya embrio-embrio yang berkualitas terbaik dan baik yang ditransfer ke resipien. Embrio yang tidak langsung ditransfer ke resipien dibekukan (freezing) dengan menggunakan gliserol sebagai bahan cryopreservation (Elsden & Seidel, 1985).

Transfer embrio ke sapi-sapi resipien dilakukan pada hari ke 7 setelah berahi dengan teknik tanpa operasi (dengan menggunakan 0,25 ml cassov gun insemination). Setiap resipien menerima satu embrio kualitas terbaik dan baik. Embrio beku yang telah disimpan selama 3 bulan, sebelum ditransfer dilakukan pencairan (thawing) terlebih dahulu dengan metoda 4 tahap, menggunakan bahan pencuci yang terdiri dari PBS, FCS,

gliserine dan sukrosa. Pemeriksaan pertama kebuntingan dilakukan pada hari ke 21 dengan melihat tanda-tanda berahi. Apabila timbul berahi lagi, berarti tidak bunting. Pemeriksaan kedua dilakukan setelah umur kebuntingan 2 bulan dengan palpasi rektal.

Hasil dan Pembahasan

Penyerentakan berahi

Hasil penyerentakan berahi sapi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penyerentakan berahi sapi donor

Kegiatan	Jumlah Sapi (ekor)	Pemberian PG I "heat standing"	Pemberian PG II "heat standing"
I	2	berahi	berahi
II	3	berahi	berahi
III	3	berahi	berahi
IV	2	berahi	berahi
V	2	berahi	berahi

Keterangan : Tahap I dan II sapi Brangus
Tahap III, IV dan V sapi Hongarian

Hasil tersebut di atas memperlihatkan bahwa respon prostaglandin-F_{2a} terhadap berahi sapi-sapi Brangus cukup tinggi. Umumnya berahi timbul rata-rata 70 - 96 jam setelah pemberian hormon tersebut. Hasil ini cukup tinggi apabila dibandingkan dengan hasil sinkronisasi yang dikerjakan di PT. Berdikari Cicurug sekitar 54,6% (Toelihere, 1987).

Superovulasi

Hasil superovulasi yang dipertelakan dalam Tabel 2. memperlihatkan rata-rata jumlah ovulasi (berdasarkan jumlah corpus luteum, cl.) sebanyak

8,4 (kisaran antara 2 - 25). Rata-rata jumlah embrio yang dikoleksi sebanyak 7,4 (kisaran 2,5 - 29,5) per ekor. Respon sapi terhadap pemberian hormon PMSG cukup tinggi terutama pada sapi jenis Brangus, apabila hal ini dibandingkan dengan hasil koleksi pada sapi jenis Brahmaan yang sekitar 10,0 embrio (Halley *et al*, 1979) dan sapi tipe potong lainnya yang rata-rata 9,5 embrio (Schneider *et al*, 1980).

Tabel 2. Hasil superovulasi, jumlah embrio yang dikoleksi dan persentase koleksi sapi donor Brangus dan Hongarian

Kegiatan	Jml. sapi (ekor)	Juml. ovulasi (rata-rata)	Juml. telur/embrio yang dikoleksi	% koleksi
I	2	18 (8,5)	15 (7,5)	78,9
II	3*)	50 (25)	49 (29,5)	98,0
III	3*)	4 (2)	5 (2,5)	125,0
IV	2	15 (7,5)	11 (5,5)	73,3
V	2	13 (6,5)	9 (4,5)	69,2
Total	12	101 (8,4)	89 (7,4)	88,1

Keterangan : *) 1 ekor tidak dikoleksi
 Kegiatan I dan II sapi Brangus
 Kegiatan III, IV dan V sapi Hongarian

Klasifikasi perkembangan dan kualitas embrio dapat dilihat pada Tabel 3. dan Tabel 4.

Berdasarkan klasifikasi perkembangan embrio, embrio tahap morula dan blastosis paling banyak ditemukan. Hal ini sama dengan perhitungan Seidel (1981) bahwa umur kebuntingan 4-5 hari (3-4 hari setelah ovulasi embrio bergerak masuk ke dalam uterus dan pada hari ke 6-7 perkembangan embrio mencapai blastosis di dalam uterus. Sel telur yang tidak dibuahi dan degenerasi ditemukan pada kegiatan II yang memberikan respon superovulasi cukup tinggi. Sedangkan sapi-sapi yang memberikan superovulasi rendah tidak ditemukan sel telur yang tidak dibuahi dan degenerasi.

Tabel 3. Klasifikasi perkembangan embrio

Kegiatan	Jumlah telur/embrio yang dikoleksi	Perkembangan embrio			Tidak dibuahi	Degenerasi
		morl.	blast.	blast.		
I	15	7	2	6	-	-
II	49	22	2	4	6	15
III	5	5	-	-	-	-
IV	11	10	1	-	-	-
V	9	7	2	-	-	-
Total	89	51	7	10	6	15

Tabel 4. Kualitas perkembangan embrio

Kegiatan	Jumlah telur/embrio yang dikoleksi	Kualitas embrio			
		Terbaik	Baik	Sedang	Jelek
I	15	8	7	-	-
II	49	9	6	13	21
III	5	4	1	-	-
IV	11	11	-	-	-
V	9	6	3	-	-
Total	89	38	17	13	21

Transfer embrio

Hasil transfer embrio sapi Brangus, Hongarian dan embrio beku dapat dilihat pada Tabel 5,8, dan 7.

Tabel 5. Hasil transfer embrio sapi Brangus

Kegiatan	Jumlah recipien	Jumlah embrio yang ditransfer	Posisi penempatan Embrio di uterus		Keadaan bunting
			kanan	kiri	
I	4	4	1	3	1 ekor bunting 1 ekor abortus
II	3	3	1	2	1 ekor bunting
Total	7	7	2	5	3 (42,9%)

Pemeriksaan kebuntingan pada sapi-sapi resipien dilakukan secara palpasi rektal pada umur kebuntingan dua bulan setelah ditransfer. Dari 7 ekor resipien ternyata 3 ekor bunting (42,9%). Dari 3 ekor tersebut, satu diantaranya mengalami abortus pada umur 1,5 bulan.

Tabel 6. Hasil transfer embrio sapi Hongarian ke sapi Brangus

Kegiatan	Jumlah recipien	Jumlah embrio yang ditransfer	Posisi penempatan Embrio di uterus		Keadaan bunting
			kanan	kiri	
III	5	5	4	1	belum diketahui *)
IV	4	4	2	2	belum diketahui *)
V	5	5	4	1	belum diketahui *)

) Pemeriksaan kebuntingan akan dilakukan setelah berumur 3 bulan

Data hasil transfer embrio sapi Brangus di atas menunjukkan bahwa 3 ekor resipien yang bunting menerima embrio kualitas terbaik, sedangkan sisanya menerima embrio kualitas baik sehingga tidak terjadi kebuntingan. Hasil transfer embrio sebesar 42,9% cukup tinggi jika dibandingkan dengan hasil yang dicapai oleh Tim di PT. Berdikari Cicurug (35%). Walaupun masih rendah bila dibandingkan dengan kebuntingan yang sudah dicapai di negara-negara maju sekitar 60% (Bettridge, 1977).

Tabel 7. Hasil transfer embrio beku sapi Brangus

Jumlah resipien	Jumlah embrio yang dicairkan	Jumlah embrio yang dapat ditransfer	Keadaan bunting
7	15	7 (46,7%)	4 (57,1%)

Dari 37 embrio yang disimpan selama 3 bulan dalam larutan nitrogen cair, diambil sebanyak 15 embrio untuk dicairkan. Dari 15 embrio yang dicairkan, 7 embrio (46,7%) dapat ditransfer ke 7 resipien dan berhasil bunting 4 ekor (57,1%). Kegiatan transfer embrio beku ini merupakan yang pertama kali di Indonesia, dimana prosesnya mulai dari koleksi, evaluasi, pembekuan, pencairan dan transfer, dengan memberikan hasil sebesar 57,1%.

Pustaka

- Bettridge, K.J. 1977. Embryo Transfer in Farm Animals. A Review of Techniques and applications. Agriculture, Canada, Monograph, 16.
- Elsden, R.P., Nelson, L.D. and Seidel, G.E. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. Theriogenology, 9 (1) : 17 - 26.
- Elsden, R.P. and Seidel, G.E. 1985. Procedures for recovery, bisection, freezing and transfer of bovine embryo. Animal reproduction laboratory, Colorado State University Fort Collins, Colorado 80523.

- Halley, S.M., Rhodes, R.C., Mc.Kellar, L.D. and Randel, R.D. 1979. Successful superovulation, non surgical collection and transfer of embryo from Brahman cows. *Theriogenology*, 12 (2) : 97 - 108.
- Rowson, L.E.A., Moor, R.M. and Lawson, R.A.S. 1969. Fertility following egg transfer in the cow : Effect of method, medium and synchronization of estrus. *J. Reprod. Fertil.*, 18 : 517 - 523.
- Schneider, H.J., Castleberry, R.S. and Griffin, J.L. 1980. Commercial aspect of bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 13 (1) : 74 - 85.
- Toelihere, M.R. 1987. Present status and prospects for embryo transfer in animal production in Indonesia. Technical Meeting on embryo transfer and animal production. Summary Report, Jakarta, Indonesia, February 23 - 24, page 25 - 32.
- Whittingham, D.G. 1971. Survival of mouse embryo after freezing and thawing. *Nature*, 233 : 125 - 126.