

TEKNOLOGI TRANSFER EMBRIO

Koordinator : B. Tappa
Anggota : A. Soeksmanto
 E.M. Kaiin
 E.T. Margawati

PENDAHULUAN

Kelompok penelitian teknologi transfer embrio pada tahun anggaran 1992/1993 mempunyai 3 kegiatan yaitu : 1) melanjutkan penelitian transfer embrio pada sapi di Unit peternakan Tapos, 2) Ujicoba aplikasi transfer embrio pada sapi peternak di 5 desa Kabupaten Rejang Lebong, Bengkulu dan 3) Mikromanipulasi embrio mencit.

Kegiatan transfer embrio (TE) dimulai tahun 1989/1990 dengan tekanan pada sapi potong di Unit Peternakan Tapos dengan persentase keberhasilan 42-57% (Tappa, dkk., 1992). Sedangkan aplikasi TE pada sapi perah dimulai tahun 1991 dengan menggunakan sapi perah jenis Hongarian.

Pada hewan percobaan telah dilakukan kultur embrio mencit sebagai persiapan untuk melakukan penelitian mikromanipulasi embrio.

Tujuan penelitian ini adalah : 1) Untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon terhadap superovulasi dan kualitas embrio, 2) Mengetahui pengaruh tahap perkembangan embrio mencit, kondisi kultur dan media terhadap keberhasilan perkembangan embrio yang dikultur.

BAHAN DAN CARA KERJA

1. Transfer embrio sapi di Unit Peternakan Tapos

Sebanyak 6 ekor sapi Hongarian (umur \pm 5 tahun) dan 25 ekor resipien sapi Brangus yang dipelihara di Unit Peternakan Tapos, digunakan sebagai sapi donor dan resipien setelah melalui seleksi. Sapi-sapi donor disuperovulasi dengan penyuntikan hormon PMSG (Folligon, Intervet Holland) sebanyak 3000 IU secara intra muskular pada hari ke-10 siklus berahi. Dua hari setelah pemberian PMSG dilakukan penyuntikan Prostaglandin F 2 alpha (Prosolvlin, Intervet Holland)

sebanyak 15 mg secara intra muskular. 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 setelah "standing heat" dan 12 jam setelah "standing heat". Panen embrio dilakukan pada hari ke-7 setelah kawin dengan metode tanpa operasi dengan memakai kateter Foley dan larutan Dulbecco's Phospat Buffer Saline (DPBS) dengan menambahkan 1% Fetal Calf Serum (FCS). Embrio yang tertampung dari saringan diperiksa dan dievaluasi di bawah mikroskop berdasarkan bentuk morfologi : terbaik, baik, kurang baik dan jelek (Elsden *et al.*, 1978). Embrio kualitas terbaik dan baik dipindahkan ke larutan DPBS + 20% FCS dan disiapkan untuk ditransfer ke sapi-sapi resipien.

Transfer embrio ke sapi-sapi resipien dilakukan pada hari ke-7 setelah berahi dengan metode tanpa operasi menggunakan 0,25 ml "Cassou gun insemination". Setiap resipien menerima satu embrio kualitas terbaik atau baik dan ditanam pada posisi uterus yang mempunyai CL aktif.

Pemeriksaan pertama kebuntingan dilakukan pada hari ke-21 setelah transfer dengan melihat tanda-tanda berahi. Apabila tidak timbul berahi berarti bunting. Pemeriksaan kedua dilakukan setelah umur kebuntingan 2-3 bulan dengan palpasi rektal.

2. Uji coba aplikasi transfer embrio pada sapi peternak di Bengkulu

Cara kerja yang dilakukan sama dengan kegiatan transfer embrio di Unit Peternakan Tapos yaitu serangkaian kegiatan yang terdiri dari :

- a. Seleksi sapi donor dan resipien
- b. Penyerentakan berahi sapi donor dan sapi resipien
- c. Superovulasi
- d. Deteksi berahi dan inseminasi buatan/mengawinkan donor
- e. Koleksi dan transfer embrio
- f. Pemeriksaan kebuntingan

3. Mikromanipulasi embrio mencit

Penelitian ini menggunakan mencit strain Swiss Webster betina yang sudah dewasa seksual. Mencit dipelihara dalam kandang plastik dan ditempatkan di kandang hewan dengan pengaturan cahaya 12 jam terang (pukul 06.00-18.00) dan 12 jam gelap (pukul 18.00-06.00). Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*.

Superovulasi dilakukan terhadap mencit betina dengan penyuntikan hormon PMSG (Prosolvlin, Intervet Holland) sebanyak 5 IU/ekor secara intra peritoneal dan 48 jam kemudian disuntik dengan hormon hCG (Chorulon, Intervet Holland) dosis 5 IU/ekor secara intra peritoneal, kemudian disatukan dengan hewan jantan. Keesokan harinya adanya sumbat vagina, jika ada maka ditentukan sebagai hari kebuntingan ke-0. Koleksi embrio dilakukan pada hari ke-3 kebuntingan.

Embrio dikoleksi dengan cara pencucian uterus mencit yang telah dimatikan secara dislokasi leher. Pencucian uterus dilakukan menggunakan media M2 segar dengan syringe 1 ml. Pengamatan dan perhitungan jumlah embrio dilakukan di bawah mikroskop ste-reo. Sebelum dikultur, embrio dicuci sebanyak dua kali dalam media M16 kemudian dikultur dalam titik media M16 dalam cawan petri dan ditutup dengan minyak parafin. Cawan yang berisi media dan embrio dikultur dalam inkubator CO₂ (5% CO₂) dengan temperatur 37 ° C. Pengamatan dilakukan pada waktu 24 samapi dengan 72 jam sesudah dikultur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Transfer embrio pada sapi

Penyerentakan berahi

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dari 6 ekor yang disuntik hormon, semuanya respon dengan gejala berahi dapat dilihat secara jelas yaitu diam sewaktu dinaiki oleh betina lainnya, keluarnya lendir transparan melalui vulva dan terjadi pembengkakan vulva serta berwarna kemerahan dalam waktu yang bersamaan 70-96 jam setelah penyuntikan PGF 2

alpha. Penyuntikan PGF 2 alpha menunjukkan bahwa sapi Hongarian memberikan respon yang cukup baik terhadap penyerentakan berahi. Hasil ini hampir sama dengan yang dilakukan pada sapi daging jenis Brangus (Tappa, dkk., 1992).

Superovulasi

Hasil jumlah ovulasi dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil pada tabel tersebut, terlihat bahwa dari 6 ekor yang disuntik hormon, 5 ekor respon terhadap superovulasi dengan rata-rata 3,6 CL per ekor (kisaran 2-5). Hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian terdahulu dan pada sapi daging jenis Brangus rata-rata 12,3 CL per ekor (kisaran 9-40) (Tappa, dkk., 1992).

Koleksi dan evaluasi embrio

Jumlah embrio yang dikoleksi dari 5 ekor donor sebanyak 16 dengan tingkat perkembangan tahap morula dan blastosis (Tabel 2). Dari data tersebut terlihat bahwa dari 6 ekor donor, 3 ekor donor berhasil dikoleksi embrio dengan baik (75-200%), dari 1 ekor hanya dikoleksi 2 embrio, 1 ekor tidak ditemukan embrio dan 1 ekor tidak respon terhadap superovulasi. Kualitas embrio yang dikoleksi adalah terbaik dan baik. Tahap-tahap perkembangan embrio yang dikoleksi sesuai dengan yang diperkirakan karena embrio yang dikoleksi pada umur 7 hari setelah kawin sudah berada dalam saluran uterus.

Tabel 1. Jumlah ovulasi berdasarkan jumlah corpus luteum (CL)

No. Donor	Banyaknya CL		Jumlah
	ovarium kanan	ovarium kiri	
HG 0033	2	3	5
HG 0055	2	3	5
HG 0052	3	1	4
HG 101	2	0	2
HG 095	2	0	0
HG 044	Tidak respon		
Jumlah	11	7	18
Rata-rata	2,2	1,4	3,6

Tabel 2. Hasil koleksi dan perkembangan embrio

No. Donor	Jumlah CL	Jumlah embrio yang dikoleksi (%)	Perkembangan embrio		Kualitas Embrio
			Morula	Blastosis	
HG 0033	5	10 (200)	-	10	Terbaik
HG 0055	5	1 (20)	-	1	Baik
HG 0052	4	3 (75)	-	3	Baik
HG 101	2	2 (100)	2	-	Terbaik
HG 095	2	0 (0)	-	-	-

Transfer embrio

Transfer embrio ke resipien dilakukan pada umur 7 hari setelah berahi. Sebanyak 13 ekor resipien dari 25 ekor yang diserentakkan berahinya digunakan pada kegiatan transfer embrio kali ini. Embrio ditempatkan pada uterus yang mempunyai ovarium dalam keadaan CL aktif (Tabel 3.).

3. Mikromanipulasi embrio menciit

Hasil koleksi embrio pada hari kebuntingan ke-3 dapat dilihat pada Tabel 4. Dari 4 ekor induk donor yang respon terhadap superovulasi, berhasil dikoleksi sebanyak 151 embrio. Jumlah embrio yang hidup sebanyak 113 dan yang mengalami degenerasi sebanyak 38 embrio. Dari tabel ini juga terlihat bahwa jumlah embrio hasil koleksi tidak terlalu penting tetapi kualitas embrio dan jumlah embrio hidup yang dapat terkoleksi lebih berperan untuk mendapatkan hasil kultur yang lebih baik.

Tahap perkembangan embrio hidup yang dikoleksi adalah kompak morula sampai hatched blastosis (Tabel 5.). Sebanyak 105 embrio dikultur dalam media M16 di dalam inkubator CO₂ (5% CO₂, 37^o C) selama 24 jam diperoleh hasil seperti terlihat pada Tabel 6. Embrio yang berhasil tumbuh sebanyak 87,6% dan sisanya mengalami degenerasi.

Tabel 3. Transfer embrio ke resipien

No. Resipien	Jumlah embrio yang di-transfer	Tahap perkembangan/ kualitas embrio	Posisi penempatan embrio di uterus		Keadaan bunting
			kanan	kiri	
BG 0064	1	Blastosis/Terbaik	1	-	-
BG 0396	1	Blastosis/Terbaik	-	1	+
BG 0441	1	Blastosis/Terbaik	1	-	+
BG 0398	1	Blastosis/Terbaik	-	1	+
BG 0358	1	Blastosis/Terbaik	-	1	-
BG 0053	2	Blastosis/Terbaik	-	2	-
BG 0198	1	Blastosis/Terbaik	-	1	-
BG 0032	1	Blastosis/Terbaik	1	-	-
BG 0036	1	Blastosis/Terbaik	-	1	+
BG 0013	1	Blastosis/Baik	1	-	-
BG 0312	1	Blastosis/Baik	1	-	+
BG 0353	1	Morula/Terbaik	1	-	-
BG 0235	1	Morula/Terbaik	1	-	-

Keterangan : Dari 5 ekor resipien yang bunting, sampai dengan Maret 1993 telah lahir 2 ekor anak

2. Uji aplikasi transfer embrio di Bengkulu

Sebanyak 5 ekor sapi bangsa Simental dipakai sebagai donor dan 25 ekor sapi Brahman Cross, Bali, peranakan Ongole sebagai resipien. Dari 5 ekor sapi donor, diperoleh 2 ekor sapi yang memberikan respon superovulasi dan 1 ekor berhasil dilakukan koleksi dengan memperoleh sebanyak 5 embrio tahap morula. Kelima embrio tersebut kemudian ditransfer ke 5 ekor resipien yang telah disinkronisasi berahi sebelumnya. Pada pemeriksaan kebuntingan pertama, diperoleh 2 ekor resipien bunting, tetapi setelah pemeriksaan kebuntingan kedua ternyata sapi-sapi tersebut mengalami aborsi.

Tabel 4. Embrio hasil koleksi dan evaluasi

No. induk	Jumlah embrio terkoleksi	Jumlah embrio hidup	Jumlah embrio degenerasi
1	31	31	0
2	24	24	0
3	65	33	32
4	31	25	6
Jumlah	151	113	38

Tabel 5. Tahap perkembangan embrio hasil koleksi

Tahap perkembangan	Jumlah
kompak morula dan blastosis awal	95
blastosis	7
expanded blastosis	6
hatched blastosis	5
Jumlah	113

Tabel 6. Pertumbuhan embrio hasil kultur selama 24 jam

Jumlah embrio yang dikultur	Embrio hasil kultur pada tahap perkembangan			
	blastosis	expanded bl.	hatched bl.	degenerasi
105	21(20%)	63(60%)	8(7,6%)	13(12,4%)

Keterangan : bl. : blastosis

KESIMPULAN

Ternak sapi perah jenis Hongarian memberikan respon yang cukup baik terhadap sinkronisasi berahi dan superovulasi setelah penyuntikan hormon. Jumlah corpora lutea diperkirakan hampir sama dengan jumlah embrio yang diperoleh, ada juga yang lebih banyak dari yang diperkirakan. Tahap perkembangan embrio yang ditemukan adalah morula dan blastosis dengan kualitas embrio terbaik dan baik.

Uji coba aplikasi transfer embrio pada sapi peternak di Bengkulu belum berhasil (sapi mengalami abortus) karena adanya berbagai kendala seperti kondisi sapi peternak yang kurang baik, pemeliharaan sesudah transfer/kebuntingan yang kurang sempurna, lokasi peternak yang berjauhan, dan lain-lain. Oleh karena itu diperlukan penyuluhan yang intensif untuk lebih memperkenalkan kegiatan transfer embrio.

Kultur embrio telah dapat dilakukan dengan menggunakan embrio mencit sehingga diperoleh embrio yang mengalami perkembangan dari tahap sebelumnya sebesar 87,6%. Hasil ini diharapkan dapat mendukung kegiatan selanjutnya menggunakan embrio sapi sebagai bahan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Elsden, R.P., L.D. Nelson dan G.E. Seidel. 1978. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenologi* 9 : 17.
- Elsden, R.P. dan G.E. Seidel. 1985. Procedures for Recovery, Bisection, Freezing and Transfer of Bovine Embryos. Animal Reproduction Laboratory, Colorado State Univ. Fort Collins, Colorado 80523.
- Hafez, E.S.E. 1970. Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Hogan, B., F. Costantini dan E. Lacy. 1986. Manipulating the Mouse Embryo : A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory. New York.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1984. Principle and Procedure of Statistics. 2nd Ed. Mc. Graw-Hill, Company, Inc. New York.
- Sudjana, M.A. 1985. Disain dan Analisis Eksperimen. Tarsito. Bandung.
- Tappa, B., E.T. Margawati, N. Mulyaningsih, A. Soeksmanto dan M. Suecha. 1992. Respon sinkronisasi, superovulasi dan transfer embrio segar dan embrio beku setelah kriopreservasi pada sapi daging. Proceeding Seminar Hasil Litbang Bioteknologi. Bogor 11-12 Pebruari 1992.
-