

**APLIKASI BIOTEKNOLOGI REPRODUKSI PADA HEWAN TERNAK DALAM
RANGKA PENINGKATAN PRODUKSI DAN KUALITAS
(USE OF THE RECENT ANIMAL REPRODUCTION BIOTECHNOLOGY
FOR IMPROVEMENT OF ANIMAL PRODUCTION AND QUALITY)**

Arief Boediono

Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB
Graduate School of Veterinary Sciences, Yamaguchi University

Abstrak: Kemajuan bioteknologi di berbagai bidang sangat bermanfaat untuk meningkatkan kualitas maupun kuantitas dari suatu produk. Di bidang peternakan khususnya sapi, bioteknologi reproduksi mulai berkembang pesat tahun 1970-an. Teknologi Inseminasi Buatan (IB) berperan penting dalam rangka peningkatan mutu genetik dari segi pejantan. Sperma beku dapat diproduksi dan digunakan dalam jumlah banyak cukup dengan memelihara pejantan berkualitas baik di pusat-pusat IB. Teknologi Transfer Embryo (TE) yang diterapkan secara bersama dengan teknologi IB dapat mengoptimalkan sekaligus potensi dari sapi jantan dan betina berkualitas unggul. Kemajuan di bidang manipulasi mikro, khususnya pembelahan embrio dapat meningkatkan presentase kebuntingan hasil transfer embrio berkualitas unggul. Penentuan jenis kelamin embrio sebelum di transfer pada resipien sangat bermanfaat bila ditinjau dari segi ekonomi. Sapi jantan lebih menguntungkan untuk usaha produksi daging, sedangkan sapi betina lebih menguntungkan untuk usaha produksi susu. Untuk tujuan penentuan jenis kelamin embrio, biopsi dapat dilakukan pada tahap embrional dan selanjutnya embrio dapat langsung di transfer pada resipien atau disimpan dengan teknik pembekuan.

Abstract: Animal reproduction bio-technology in large animals has been developed rapidly since 1970s. An artificial insemination (AI) is the most important technique devised for the genetic improvement of animals. Using this technique, only a few highly selected males produce enough spermatozoa to inseminate thousands of female per year. Embryo Transfer (ET) has considerable impact on cattle breeding programs to increase the reproductive potential of superior males and females, and where the high commercial value of the resulting offspring has justified the expenses involved. The incorporation of micromanipulation technology, specially embryo bisection (embryo splitting), has allowed for increased pregnancy rate from specific donors. Embryo bisection, to propagate specific animals at a more rapid and efficient rate, is making dramatic progress in the field of embryo transfer in cattle. All sectors of the cattle industry derive economic benefit from the ability to determine the sex of calves before pregnancy is established. The biopsies (four to ten cells) from the cattle embryos can be used for sex determination. The sectioned embryos can be transferred directly to the recipient or frozen successfully.

1. PENDAHULUAN

Dalam rangka meneruskan keturunan suatu individu, secara alamiah diperlukan suatu proses perkawinan dimana jantan dan betina mutlak diperlukan. Jantan akan menghasilkan sel kelamin jantan (sperma) dan betina akan menghasilkan sel kelamin betina (sel telur). Pada hewan menyusui, proses pembuahan dan perkembangan selanjutnya terjadi di dalam tubuh induk sampai proses kelahiran (Boediono, 1994).

Program peningkatan produksi dan kualitas pada hewan ternak (dalam hal ini sapi) berjalan lambat bila proses reproduksi dilakukan secara alamiah. Dengan rekayasa bioteknologi reproduksi, proses reproduksi dapat dimaksimalkan antara lain dengan teknologi Inseminasi Buatan (IB), Transfer

Embrio (TE), pembekuan embrio dan manipulasi embrio. Tujuan utama dari teknik IB adalah memaksimalkan potensi pejantan berkualitas unggul. Sperma dari satu pejantan berkualitas unggul dapat digunakan untuk beberapa ratus bahkan ribu betina, meskipun sperma tersebut harus dikirim ke suatu tempat yang jauh. Perkembangan selanjutnya adalah teknologi TE dimana bukan hanya potensi dari jantan saja yang dioptimalkan, melainkan potensi betina berkualitas unggul juga dapat dimanfaatkan secara optimal (Cunningham, 1989). Pada proses reproduksi alamiah, kemampuan betina untuk bunting hanya sekali dalam 1 tahun (9 bulan bunting ditambah persiapan untuk bunting berikutnya) dan hanya mampu menghasilkan satu atau dua anak bila terjadi kembar. Dengan teknik TE, betina unggul tidak perlu bunting tetapi hanya

berfungsi menghasilkan embrio yang untuk selanjutnya bisa ditransfer (dititipkan) pada induk titipan (resipien) dengan kualitas yang tidak perlu terlalu bagus tetapi mempunyai kemampuan untuk bunting (McGuirk, 1989).

Kematian bukan lagi merupakan berakhirnya proses untuk meneruskan keturunan. Dengan teknik bayi tabung (*in vitro* fertilisasi; IVF), sel telur yang berada di dalam ovarium betina berkualitas unggul sesaat setelah mati dapat diproses secara *in vitro* (di luar tubuh) sampai tahap embrional. Selanjutnya embrio tersebut ditransfer pada resipien sampai dihasilkan anak. Produksi embrio dalam jumlah banyak (baik dengan teknik TE maupun bayi tabung) ternyata juga dapat menimbulkan masalah karena keterbatasan resipien yang siap menerima embrio. Untuk mengatasi masalah tersebut dikembangkan metode pembekuan embrio (Voelkel dan Hu, 1992).

Selain dari beberapa teknik tersebut di atas, potensi dari hasil yang ada masih dapat lebih dioptimalkan dengan teknologi manipulasi mikro (Saito dan Niemann, 1993).

Pada makalah ini akan dibicarakan beberapa aspek bioteknologi reproduksi pada hewan ternak yang melingkupi teknologi TE, bayi tabung, pembekuan embrio, manipulasi embrio dan penentuan jenis kelamin pada tahap embrional sebelum di transfer pada resipien.

1.1. Teknologi Transfer Embrio

Siklus berahi pada sapi umumnya terjadi selama 21 hari dimana pada setiap satu siklus berahi akan terjadi sekali ovulasi yang menghasilkan satu atau dua sel telur. Melalui proses pembuahan oleh sperma baik secara alamiah maupun IB akan dihasilkan satu atau dua anak sapi (pedet).

Superovulasi. Rekayasa untuk bisa menghasilkan lebih dari dua sel telur pada suatu proses ovulasi, dilakukan penyuntikan hormon (follicle stimulating hormone; FSH) yang berfungsi merangsang pematangan sel telur muda. Dengan teknik superovulasi, pada satu proses ovulasi rata-rata bisa dihasilkan 8-10 sel telur yang siap dibuahi oleh sperma (Tabel 4). Penyuntikan hormon untuk merangsang pematangan sel telur

muda dilakukan antara hari ke-9 dan ke-13 dari siklus berahi (hari ke-0 = saat sapi berahi). Teknik penyuntikan hormon bisa dilakukan dengan dua cara: (1) dosis tunggal (30 mg FSH) dimana hormon dicampur dengan polyvinylpyrrolidone (PVP) sebagai minyak yang bersifat membantu memperlambat penyerapan hormon oleh tubuh, dan (2) dosis majemuk (total 28 mg FSH) selama 4 hari, sehari dua kali dengan dosis sekali penyuntikan masing-masing 5 mg (hari-1), 4 mg (hari-2), 3 mg (hari-3) dan 2 mg (hari ke-4).

Misalnya:

Berahi	hari ke-0
Superovulasi	hari ke-9
PGF _{2a} (Resipien)	hari ke-12
PGF _{2a} (Donor)	hari ke-13
IB	hari ke-15-16
Koleksi dan transfer embrio	hari ke-22-23

Koleksi Embrio. Induk donor yang telah mendapatkan perlakuan superovulasi dikawinkan dengan teknik IB. Embrio yang dihasilkan dari proses pembuahan sel telur oleh sperma dikoleksi pada hari ke-7 atau hari ke-8 setelah IB di mana embrio telah berkembang pada tahap blastosis. Sampai dekade tahun 1980-an, teknik koleksi embrio pada sapi dilakukan secara bedah. Karena teknik tersebut menanggung resiko dan biaya yang cukup besar, saat ini telah dikembangkan teknik koleksi embrio secara non bedah yaitu koleksi embrio secara irigasi (pembilasan rahim) yang dilakukan melalui vagina. Dengan teknik tersebut resiko dan biaya pelaksanaan bisa ditekan. Perolehan embrio yang layak untuk ditransfer rata-rata 6 embrio per donor (Yamamoto dkk, 1994). Dengan kata lain dalam satu siklus berahi sapi betina berkualitas unggul dapat menghasilkan 6 embrio yang layak untuk ditransfer pada resipien dengan harapan didapatkan pedet sesuai dengan kualitas dari induk donor.

1.2. Teknologi Bayi Tabung (IVF)

Secara alamiah sapi betina berkualitas unggul dapat menghasilkan rata-rata 5 ekor anak selama hidupnya. Jumlah tersebut dapat berkurang atau bahkan menjadi nol bila terjadi suatu kelainan pada organ saluran reproduksi atau kematian karena penyakit. Untuk menyelamatkan keturunan dari betina berkualitas unggul tersebut, embrio dapat diproduksi dengan cara aspirasi sel telur pada hewan tersebut selama masih hidup

Tabel 1. Perolehan embrio sapi hasil superovulasi.

Penyuntikan FSH (total dosis)	Dosis tunggal (30 mg)	Dosis majemuk (28 mg)
Jumlah Sapi	25	32
Jumlah korpus luteum (KL)	10.7 ± 7.3	12.3 ± 8.0
Jumlah sel telur/embrio	8.3 ± 5.4	10.1 ± 6.4
Jumlah embrio layak transfer	6.2 ± 3.8	5.8 ± 3.9
% perolehan embrio layak transfer	74.1 ^a (123/166)	57.3 ^b (110/192)
% sel telur tidak terbuahi	18.7 (31/166)	19.3 (37/192)

Rata-rata ± SD: ^{a,b} pada baris yang sama berbeda nyata (P<0.05)

Tabel 2. Perkembangan embrio sapi Holstein dan Japanese Black setelah pematangan, pembuahan dan kultur *in vitro*.

Jenis sapi	Juml. ovarium	Jumlah sel telur	Berkembang sampai tahap	
			2-8 sel (%)	blastosis (%)
Holstein	80	956	635 (66)	252 (26) ^a
Jap. Black	60	899	569 (63)	184 (20) ^b

^{a,b} pada kolom yang sama berbeda sangat nyata (P<0.01)

atau sesaat setelah mati (Boediono dkk. 1994)

Pematangan sel telur. Dari satu ovarium yang diperoleh di rumah potong hewan dapat diperoleh sekitar 10-15 sel telur, yang berarti sekitar 20-30 sel telur per sapi karena seekor sapi mempunyai dua buah ovarium. Sel telur hasil aspirasi dari hewan hidup atau sesaat setelah mati (dari rumah potong hewan) segera dikultur dalam media kultur sel (TCM-199) dan diinkubasi dalam CO₂ inkubator, 38.5°C (secara *in vitro*) selama 22 jam dengan harapan sel telur menjadi matang dan siap untuk dibuahi oleh sperma. TCM-199 adalah media kultur sel yang mengandung beberapa komponen yang diperlukan untuk kehidupan suatu sel.

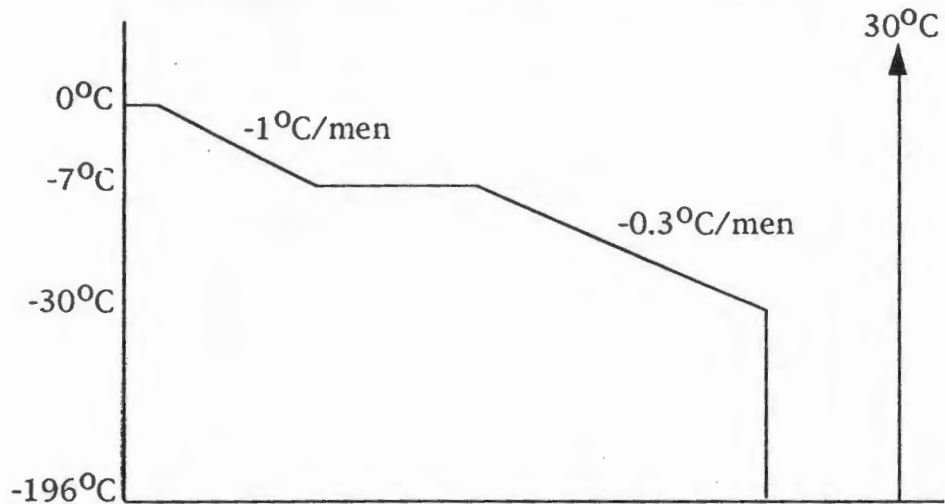
Pembuahan diluar tubuh. Proses pembuahan dilakukan secara *in vitro* (didalam CO₂ inkubator) selama 5 jam dengan menggunakan sperma beku dari pejantan berkualitas unggul. Sel telur yang telah dibuahi kemudian dikultur kembali di dalam CO₂ inkubator. Sesuai dengan perkembangan di dalam tubuh induk, embrio

akan berkembang mencapai tahap 8 sel pada hari ke-2, tahap morula (lebih dari 16 sel) pada hari ke-5 dan tahap blastosis (lebih dari 100 sel) pada hari ke-7. Sampai hari ke-9 perolehan blastosis yang layak untuk di transfer sekitar 20% dari jumlah sel telur hasil aspirasi (Tabel 2). Dengan kata lain, dari satu ovarium dapat dihasilkan dua blastosis yang berarti juga 4 blastosis dari satu sapi.

1.3. Pembekuan Embrio

Perolehan embrio hasil koleksi secara *in vivo* maupun *in vitro* atau hasil manipulasi embrio lebih dari normal dapat dimanfaatkan untuk waktu mendatang dengan cara pembekuan embrio. Pembekuan dalam hal ini adalah suatu proses penghentian untuk sementara kegiatan hidup dari sel tanpa mematikan fungsi sel, dimana proses hidup dapat berlanjut setelah pembekuan dihentikan. Metoda pembekuan embrio dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu (a) pembekuan secara bertahap dan (b) pembekuan secara cepat (vitifikasi). Media yang digunakan untuk pembekuan embrio

PROGRAM PEMBEKUAN DAN PENCAIRAN EMBRIO BEKU



Tabel 3. Kemampuan hidup embrio sapi setelah dibekukan dengan metode pembekuan bertahap menggunakan berbagai jenis media pembekuan.

Media pembekuan	Jumlah embrio	Setelah pencairan (%)		Presentase kebuntingan
		1 jam	24 jam	
PG	42	31 (74)	26 (62)	4/10 (40%)
EG	40	37 (93)	34 (85)	20/27 (74%)
DEG	42	31 (74)	28 (67)	3/10 (30%)
EME	44	38 (86)	32 (73)	10/21 (48%)

PG=propylene glycol; EG=ethylene glycol; DEG=diethylene glycol; EME=ethylene glycol monomethyl ether

adalah 1,6M propylene glycol, 1,8M ethylene glycol, 1,1M diethylene glycol atau 1,3M ethylene glycol monomethyl ether (Takagi dkk, 1993).

Embrio yang akan dibekukan ditempatkan dalam straw plastik 0,25 ml bersama media pembekuan. Dari suhu kamar, embrio dimasukkan ke dalam mesin pembekuan pada suhu 0°C selama 2 menit. Kemudian secara bertahap embrio didinginkan dari 0°C sampai -7°C dengan kecepatan -1°C/menit dan dipertahankan pada suhu tersebut selama 10 menit. Embrio kemudian didinginkan kembali secara bertahap dari -7°C sampai -30°C dengan kecepatan -0,3°C/menit. Selanjutnya embrio dimasukkan ke dalam tangki berisi nitrogen cair (LN₂) dengan suhu -196°C. Dengan teknik tersebut sekitar 71% embrio masih mempunyai potensi

untuk hidup secara *in vitro* (Takagi dkk, 1993). Apabila embrio beku tersebut secara langsung ditransfer pada resipien, persentase kebuntingan bisa mencapai 74% (Suzuki dkk, 1993).

Seiring dengan kemajuan bioteknologi, telah dikembangkan teknik pembekuan embrio tanpa menggunakan mesin pembekuan embrio; untuk selanjutnya kita sebut metode pembekuan cepat (vitrikasi). Embrio yang akan dibekukan langsung dimasukkan ke dalam nitrogen cair dengan suhu -196°C. Untuk mencegah kerusakan sel akibat perlakuan pembekuan yang sangat cepat dengan perbedaan suhu yang sangat tinggi (suhu kamar dan -196°C) diperlukan media pembekuan dengan konsentrasi yang lebih pekat (4 kali) dari pada media pembekuan yang digunakan pada proses pembekuan secara bertahap.

Tabel 4. Kemampuan hidup embrio sapi setelah dibekukan.

Perlakuan	Jumlah embrio	Setelah pencairan (%)	
		1 jam	24 jam
1	20	16 (80)	10 (50)
2	20	13 (65)	8 (40)
3	20	8 (40)	2 (10)

Tabel 5. Kembar identik hasil pembelahan embrio sapi

Tahap embrio	Presentase kebuntingan	Pedet lahir (%)		
		Tunggal	Kembar	Total
Morula	24/77 (31)	4/20(20)	16/20(80)	24/20(120)
Blastosis awal	5/13 (38)	1/5 (20)	4/5 (80)	6/6 (100)
Blastosis	10/22 (45)	4/9 (44)	5/9 (56)	13/9 (144)
Total	39/122(35)	9/34(26)	25/34(74)	43/34(126)

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Saha dkk (1994), membuktikan bahwa kemampuan embrio tumbuh setelah dibekukan dengan metode tersebut sedikit lebih rendah dari metode sebelumnya (50%). Dengan cara dan teknik yang baik embrio dapat dibekukan dan disimpan dalam nitrogen cair (suhu -196°C) sampai puluhan tahun untuk kemudian dapat dimanfaatkan kembali bila diperlukan.

1.4. Manipulasi Embrio

Upaya untuk memaksimalkan potensi yang telah ada dapat dilakukan dengan rekayasa embrio secara mikro. Rekayasa embrio tersebut dilakukan di luar tubuh induk pada berbagai tahap perkembangan untuk selanjutnya dapat dikultur secara *in vitro* sampai layak untuk ditransfer pada resipien (Gray dkk, 1991).

Pembelahan embrio. Satu embrio yang dihasilkan dari tetua unggul (betina dan jantan berkualitas unggul) dapat dibelah menjadi dua yang mampu untuk berkembang normal dan menghasilkan pedet dengan kualitas yang sama (kembar identik). Pembelahan dilakukan pada tahap perkembangan awal embrio sebelum terjadi spesifikasi fungsi sel. Proses pembelahan mikro dilakukan dibawah mikroskop dengan menggunakan peralatan mikro. Orientasi yang paling penting dalam melakukan pembelahan embrio adalah letak sel massa (ICM=inner cell mass) di mana masing-masing embrio hasil pembelahan harus mempunyai setengah dari sel tersebut. Hal

ini sangat penting karena sel massa akan berkembang pada perkembangan selanjutnya menjadi embrio dan fetus. Dengan penerapan teknologi pembelahan embrio, persentase pedet yang bisa dilahirkan bisa mencapai 126% (Tabel 5)).

1.5. Penentuan Jenis Kelamin Tahap Embrional

Ditinjau dari segi ekonomi, peternakan sapi pedaging lebih mengutamakan sapi jantan dari pada sapi betina karena pertumbuhan yang lebih baik; dan sebaliknya peternakan sapi penghasil susu lebih mengutamakan betina dari pada jantan karena air susu hanya dihasilkan oleh sapi betina. Penentuan jenis kelamin dapat dilakukan pada tahap embrio sebelum embrio tersebut di transfer pada resipien. Teknik tersebut dilakukan dengan cara mengambil sebagian kecil sel dari embrio (biopsi) secara bedah mikro untuk selanjutnya dilakukan analisa jenis kelamin. Diperlukan waktu sekitar 4 jam untuk menentukan jenis kelamin dari suatu embrio dengan tingkat kebenaran mencapai 98% (Itagaki dkk, 1993).

2. DISKUSI

Ditinjau dari segi manfaat, kemajuan dalam bidang bioteknologi reproduksi sangat berguna untuk meningkatkan produktifitas dan kualitas dari hewan ternak. Sudah terbukti bahwa teknik IB sangat berperan dalam rangka peningkatkan mutu genetik dari segi pejantan. Peternak tidak perlu memelihara pejantan karena biaya yang

cukup besar dan kualitas yang mungkin kurang baik. Cukup beberapa pejantan berkualitas unggul dipelihara secara baik di pusat-pusat IB dan selanjutnya sperma beku yang dihasilkan disebarluaskan sesuai dengan kebutuhan. Pelaksanaan teknik IB hendaknya dilaksanakan secara baik dan benar dengan pencatatan (recording) yang baik. Hal ini penting untuk mencegah satu pejantan mengawini anak dari generasi ke generasi secara terus menerus yang dapat mengakibatkan kemunduran kualitas ternak, misalnya tingkat kematian yang tinggi.

Dengan teknik superovulasi dan koleksi embrio secara non bedah, keunggulan dari tetua tidak hanya diperoleh dari induk jantan tetapi juga dari induk betina. Dari segi ekonomi, peternak akan mengalami kerugian bila harus memelihara betina berkualitas unggul selama proses kebuntingan sampai kelahiran pedet. Selama proses kebuntingan (sekitar 280 hari), siklus berahi dari betina akan terhenti sampai kelahiran pedet. Hal ini berarti selama masa tersebut hanya satu atau dua pedet (bila bunting kembar) dihasilkan melalui proses reproduksi secara alamiah. Keberadaan betina berkualitas unggul dapat dimanfaatkan khusus hanya untuk memproduksi sel telur yang selanjutnya dilakukan pembuahan menggunakan sperma dari pejantan berkualitas unggul menggunakan teknik IB. Tugas memelihara kebuntingan dapat dibebankan pada betina lain (sebagai resipien) yang tidak perlu mempunyai kualitas unggul tetapi mempunyai alat reproduksi normal sehingga mampu memelihara kebuntingan secara baik sampai dihasilkan pedet dengan kualitas unggul sesuai dengan kedua tetuanya (jantan dan betina berkualitas unggul).

Dengan kemajuan bioteknologi reproduksi terputusnya jalur keturunan sapi dengan kualitas yang baik sebagai akibat dari kelainan saluran reproduksi atau kematian dapat diselamatkan dengan teknik pembuahan di luar tubuh (bayi tabung).

Pembelahan embrio bukan bertujuan hanya untuk mendapatkan dua keturunan yang sama dari satu embrio, lebih dari itu bisa digunakan untuk seleksi genetik lebih akurat. Setengah bagian dari embrio hasil pembelahan di transfer lebih dulu pada resipien untuk diketahui kemampuan atau kualitas genetiknya setelah lahir, dimana kawan kembarnya disimpan dengan teknik

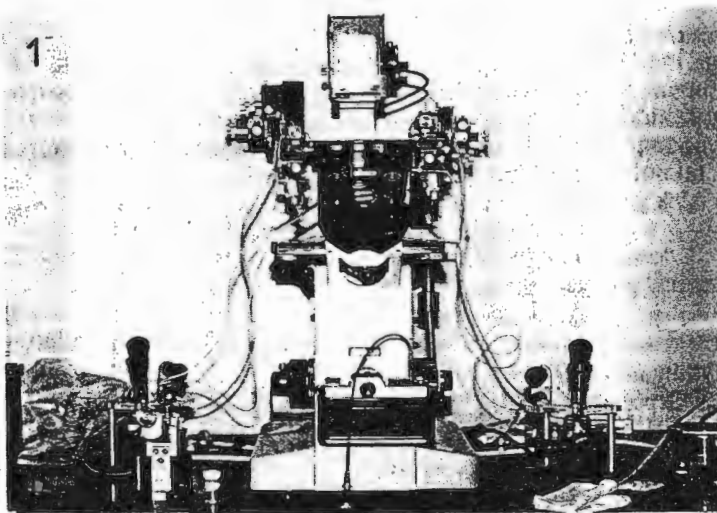
pembekuan embrio. Apabila sudah terbukti jelas mutu dari kawan kembar yang terdahulu di transfer, maka kawan kembar lainnya juga bisa ditransfer kemudian untuk didapatkan sapi dengan kualitas yang sama. Dan sebaliknya tidak perlu ditransfer bila ternyata kualitas genetik kawan kembarnya kurang baik.

Teknologi pembekuan sperma dan embrio (baik embrio utuh maupun hasil pembelahan) sangat bermanfaat dalam rangka penyebaran sapi dengan kualitas yang baik. Sapi adalah termasuk hewan ternak besar yang tidak mudah untuk dipindahkan dari satu tempat ke tempat lain. Dengan teknik pembekuan, sperma yang berasal dari pejantan berkualitas unggul atau bahkan embrio hasil pembuahan jantan dan betina berkualitas unggul dapat dengan mudah disebarkan ke seluruh pelosok daerah sehingga perkembangan populasi sapi dengan tingkat produksi dan kualitas tinggi dapat ditingkatkan secara nyata.

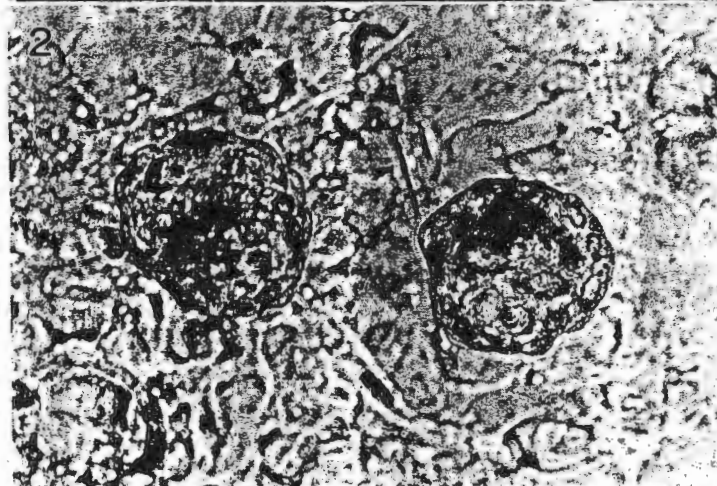
3. KESIMPULAN

Dalam rangka peningkatan tingkat produksi dan kualitas hewan ternak khususnya sapi, beberapa teknologi hasil perkembangan pengetahuan bioteknologi reproduksi yang bisa diterapkan adalah:

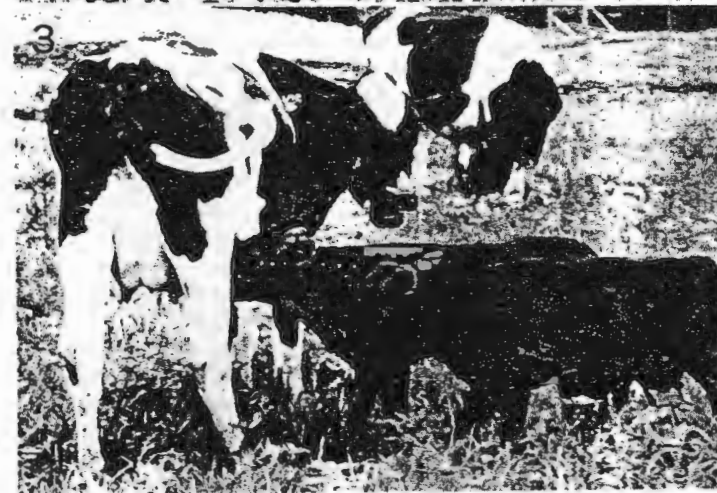
- Teknologi inseminasi buatan (IB), mampu memanfaatkan secara maksimal potensi dari sapi pejantan berkualitas unggul.
- Teknologi transfer embrio (TE), yang diterapkan secara bersama dengan teknik IB dapat mengoptimalkan sekaligus potensi dari sapi betina dan jantan berkualitas unggul.
- Teknologi bayi tabung (IVF), dapat menyelamatkan keturunan dari sapi betina berkualitas unggul yang mati karena suatu penyakit. Lebih dari itu dapat memanfaatkan limbah rumah potong hewan dalam hal ini ovarium dari hewan yang dipotong sehingga dihasilkan anak sapi.
- Teknologi manipulasi mikro melalui bedah mikro dapat melipatgandakan kuantitas dari embrio yang mempunyai kualitas unggul (kembar identik) dan dapat meningkatkan persentase kebuntingan lebih dari 100%.



Gambar 1.
Mikroskop yang di-
lengkapi dengan alat
manipulasi mikro.



Gambar 2.
Embrio kembar identik
berasal dari embrio tung-
gal yang dibelah secara
mikro.



Gambar 3. Kembar
identik pedet jenis pe-
daging yang dilahirkan
dari induk jenis sapi
penghasil susu. Embrio
dihasilkan dengan tek-
nologi bayi tabung, di-
mana sel telur (berasal
dari sapi jenis pedaging
yang telah dipotong di
rumah potong hewan)
dibuahi di luar tubuh
induk menggunakan
sperma beku dari jenis
sapi yang sama. Kem-
bar identik dihasilkan
dengan teknologi pem-
belahan mikro dan se-
lanjutnya di transfer pa-
da induk titipan (resi-
pien) dari sapi jenis
penghasil susu.

- Teknologi pembekuan embrio di mana embrio sebagai calon individu yang siap tumbuh dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama namun masih mempunyai kemampuan untuk berkembang. Dengan teknologi ini pula dapat dikembangkan bank genetik.

Daftar Pustaka

- [1] Boediono A., Kebuntingan tanpa peran sperma. *Kompas* 22 September 1993.
- [2] Boediono A, Takagi M, Saha S and Suzuki T., Influence of Day-0 and Day-7 superovulated cow serum during development of bovine oocytes *in vitro*. *Reprod Fertil Dev.* 6:261-264, 1994.
- [3] Cunningham EP., The genetic improvement of cattle in developing countries. *Theriogenology* 31:17-28, 1989.
- [4] Gray KR, Bondioli KR and Betts Cl., The commercial application of embryo splitting in beef cattle. *Theriogenology* 35:37-44, 1991.
- [5] Itagaki Y, Sato S, Shitanaka Y, Kudo T, Yamaguchi Y and Sutou S.. Sexing of bovine embryos with male-specific repetitive DNA by polymerase chain reaction: sexing of bovine embryos and production of calves with predicted sex. *J Reprod Dev* 39:65-72, 1993.
- [6] McGuirk B., The relevance of MOET programs to developing countries. *Theriogenology* 31:29-40, 1989.
- [7] Saha S, Takagi M, Boediono A and Suzuki T., Direct rehydration of *in vitro* fertilized bovine embryos after vitrifications. *Vet Rec* 134:276-277, 1994.
- [8] Saito S and Niemann H., *In vitro* and *in vivo* survival of bovine demi-embryos following simplified bisection and transfer of one or two halves per recipient. *J Reprod Dev* 39:251-258, 1993.
- [9] Suzuki T, Takagi M, Yamamoto M, Boediono A, Saha S, Sakakibara H and Oe M., Pregnancy rate and survival in culture of *in vitro* fertilized bovine embryos frozen in various cryoprotectants and thawed using a one-step system. *Theriogenology* 40:651-659, 1993.
- [10] Takagi M, Boediono A, Saha S and Suzuki T., Survival rate of frozen-thawed bovine IVF embryos in relation to exposure time using various cryoprotectants. *Cryobiology* 30:306-312 1993.
- [11] Voelkel SA and Hu YX., Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos. *Theriogenology* 37:23-37 1992.
- [12] Yamamoto M, Ooe M, Kawaguchi M and Suzuki T., Superovulation in the cow with a single intramuscular injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 41:747-755, 1994.