KAJIAN PEMBERIAN *HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN* (hCG) PADA SAPI PERAH YANG TELAH DI SUPEROVULASI DENGAN *PREGNANT MARE SERUM GONADOTROPIN – MONOCLONAL ANTIBODY* (PMSG-MoAb) ANTI- PMSG

STUDY ON THE APPLICATION OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN (hCG) IN DAIRY COW SUPEROVULATED WITH PREGNANT MARE SERUM GONADOTROPIN – MONOCLONAL ANTIBODY (PMSG-MoAb) ANTI PMSG.

Iman Supriatna[1)], Tuty Laswardi Yusuf[1)], Bambang Purwantara[1)], Gozali Moekti[2)] dan Lies Parede Hernomoadi[2)]

[1)]**Bagian Reproduksi dan Kebidanan, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Jl. Lodaya II, Bogor 16151 INDONESIA**
[2)]**Balai Penelitian Veteriner Departemen Pertanian RI, Jl. R.E. Martadinata No.30, Bogor INDONESIA**

ABSTRAK

Media Veteriner. 1998. 5(2): 15-20

Percobaan ini dirancang untuk menentukan ada tidaknya peningkatan potensi biologik sinergis MoAb-hCG untuk meningkatkan produksi embrio. Donor sapi perah sebanyak 25 ekor dibagi dalam lima kelompok yaitu Kelompok Kontrol yang hanya disuperovulasi dengan 2.500 IU PMSG secara intramuskular (i.m.), dan Kelompok II, III, IV dan V yang selain masing-masing disuperovulasi dengan 2.500 IU PMSG juga mendapat MoAb secara intravena (i.v.), hCG i.v., MoAb-hCG i.v. dan MoAb i.v.-hCG i.m. Evaluasi data menggunakan Analisis Sidik Ragam dan dilanjutkan dengan uji BNJ. Hasil analisis data menunjukkan peningkatan panen embrio laik pindah per donor (P<0,01) baik pada pemberian MoAb i.v. (9,6), hCG i.v. (9,4), MoAb-hCG i.v. (11,2) maupun MoAb i.v.-hCG i.m. (9,6). Pada kontrol hanya menghasilkan 2,4 embrio laik pindah per donor. Pemberian gabungan kombinasi simultan MoAb-hCG tidak dapat meningkatkan lagi produksi embrio (P>0,05) dibandingkan dengan pemberian MoAb atau hCG saja.

Kata-kata kunci: MoAb, PMSG, hCG, superovulasi, donor, embrio

ABSTRACT

Media Veteriner. 1998. 5(2): 15-20

The research was planned to yield the biologic potential synergism of MoAb-hCG in increasing the embryo number. Twenty five dairy cows were divided into five groups. The Control Group was superovulated with 2,500 IU PMSG intramuscularly (i.m.), the remaining of the Group II, III, IV and V consecutively after being superovulated by 2,500 IU PMSG were treated with MoAb intravenously (i.v.), hCG i.v., MoAb-hCG i.v. and MoAb i.v-hCG i.m. Data evaluation were analyzed using ANOVA and LSD test. The result showed that there were increasing in number of transferable embryo per donor produced (P<0.01) after application with either MoAb i.v. (9.6), hCG i.v. (9.4). MoAb-hCG i.v. (11.2), or MoAb i.v.-hCG i.m. (9.6). The Control Group produced only 2.4 embryo per donor. The combined MoAb and hCG in one treatment were not able to increase the embryo yield (P>0.05).

Key words : MoAb, PMSG, hCG, superovulation, donor, embryo

PENDAHULUAN

PMSG merupakan hormon gonadotropin eksogen yang memiliki potensi biologik tinggi dalam merangsang ovaria sapi untuk tanggap dalam menghasilkan bentuk fungsional ovaria berupa folikel dan *corpus luteum* (CL). Pemberian PMSG untuk superovulasi pada sapi perah, memberikan hasil yang rendah dan bervariasi dalam peringkat ovulasi (*ovulation rate*) dan hasil panennya berupa embrio laik pindah (*transfer*) (Schmitz, 1986). Hasil panen embrio yang rendah diakibatkan oleh rangsangan lanjutan PMSG yang memiliki waktu paruh *(half life)* panjang yakni mencapai 123 jam sehingga walaupun pengaruh superovulasi PMSG telah tercapai pada hari kelima PMSG masih merangsang ovaria (Menzer dan Schams, 1979). Jika pengaruh superovulasi telah tercapai tidak lagi diperlukan rangsangan lanjutan (Dieleman *et al.* 1993).

Residu PMSG yang masih beredar di peredaran darah dan masih memiliki potensi biologis akan terus merangsang aktifitas ovaria sehingga menimbulkan *negative rebound effect* terhadap hipofisa yang berakibat pada penekanan sekresi *luteinizing hormone* (LH) (Yadav *et al.*, 1983). Ovaria yang terus terangsang disertai tidak adanya sekresi LH akan menghasilkan folikel-folikel yang gagal berovulasi (persisten). Dampak lanjutan dari masih beredarnya PMSG dalam sirkulasi darah adalah gangguan keseimbangan hormonal, gangguan ovulasi, gangguan pembuahan (*fertilisasi*) dan pengangkutan embrio di saluran telur (Greve *et al.*, 1984a,b).

Untuk mengatasi pengaruh negatif tersebut, antibodi monoklonal (MoAb) Anti-PMSG dapat digunakan untuk menghilangkan residu PMSG yang masih berfungsi, sehingga angka ovulasi dan hasil panen embrio dapat ditingkatkan. Agar hasilnya dapat maksimal, pemberian MoAb harus tepat waktu dalam program superovulasi dengan PMSG. Pemberian MoAb Anti-PMSG melalui suntikan pada donor 60 jam atau 72 jam setelah pemberian prostaglandin atau sesaat setelah inseminasi pertama atau kedua dapat meningkatkan hasil panen embrio (Dieleman *et al.*, 1993). Walaupun demikian, pengaruh superovulasi belum sempurna, karena masih terdapat folikel tetap pada waktu panen di D7 (*unovulatory follicle rate* 17,5 % - 18,6 %). Keberadaan folikel tetap dengan jumlah seperlima dari jumlah folikel yang terbentuk akibat tanggapan superovulasi, merupakan sumber oosit (ova) yang masih dapat dimanfaatkan untuk dijadikan embrio. Upaya lain yang pernah dilakukan untuk memicu terjadinya ovulasi folikel hasil superovulasi adalah penyuntikan hCG. Dari hasil penelitian terdahulu, sapi Bali yang menerima PMSG-hCG dapat menghasilkan CL lebih banyak bila dibandingkan dengan pemberian PMSG atau *folicle stimulating hormone* (FSH) saja (Yusuf, 1990). Sedangkan, penyuntikan hCG pada sapi Fries Holland (FH) yang disuperovulasi dengan PMSG dapat meningkatkan jumlah CL dan embrio hasil panen (Situmorang *et al.*, 1992).

Untuk mengatasi pengaruh negatif dari folikel persisten terhadap mutu embrio dan meningkatkan hasil panen melalui pemanfaatan total oosit yang terdapat di dalam folikel-folikel hasil rangsangan PMSG, perlu diuji selain pemberian MoAb atau hCG juga kombinasi MoAb-hCG agar seluruh folikel hasil superovulasi dengan PMSG dapat diovulasikan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji pengaruh sinergis pemberian MoAb-hCG agar potensi biologik superovulasi PMSG yang bermanfaat dalam peningkatan hasil panen embrio dapat dimanfaatkan secara maksimal.

BAHAN DAN METODE

Setelah dilakukan seleksi donor melalui pemeriksaan ginekologis, dipilih 25 ekor sapi donor yang dibagi dalam 5 kelompok yaitu Kelompok I sebagai Kontrol dan Kelompok II, III, IV dan V, masing-masing terdiri atas 5 ekor donor sapi perah FH. Setiap donor dari seluruh kelompok disuntik dengan 2.500 IU PMSG (Folligon®, Intervet International B.V., Holland) i.m. di sore hari pada D10 (D0 = fase estrus) dan pada D12 disuntik dengan 2,0 ml prostaglandin (15 mg luprostiol, $PGF_{2\alpha}$) (Prosolvin®, Intervet International B.V., Holland) i.m. dua kali pada waktu pagi dan sore hari.

Kelompok I tidak mendapat MoAb Anti-PMSG dan hCG (Profasi®, Serono S.A., Switzerland), sedangkan Kelompok II, III, IV dan V mendapat perlakuan pada waktu inseminasi pertama masing-masing 2,5 ml MoAb i.v., 3.000 IU hCG i.v., gabungan 2,5 ml MoAb-3.000 IU hCG i.v., gabungan 2,5 ml MoAb i.v. dan 3.000 IU hCG i.m. Seluruh program superovulasi pada kelima kelompok donor dimulai pada hari ke-10 setelah estrus (D10) dan 48 jam kemudian (D12) mendapat penyuntikan $PGF_{2\alpha}$ pagi dan sore (Loneragan, 1981). Pada D14, seluruh donor akan memasuki fase estrus (D0 kembali) karena proses superovulasi yang ditimbulkan oleh PMSG. Inseminasi buatan (IB) dilakukan dua kali yaitu dipertengahan dan menjelang akhir fase estrus. IB pertama dilakukan pada D14 (=D0) disore hari dan yang kedua pada saat 12 jam kemudian setelah inseminasi pertama yaitu dipagi hari pada D15 (=D1). Semen yang dipakai dalam IB yaitu semen beku dengan satu dosis setiap kali melakukan IB. Kemasan semen beku berbentuk jerami plastik (*plastic ministraw*) dengan dosis 25 juta sperma /0,25 ml. Sebelum semen beku dipakai, semen beku tersebut dicairkan terlebih dulu pada suhu 34 °C selama 30 detik. Seminggu kemudian setelah donor diinseminasi yaitu pada D21(=D7), dilakukan panen embrio melalui pembilasan (*flushing*) menyeluruh setiap program. Setiap donor dibilas dengan menggunakan media *modified Dulbecco's phosphate buffered saline* atau MPBS (Seidel dan Seidel, 1991).

Keberhasilan pemberian gabungan MoAb dan hCG dalam menekan pengaruh negatif dan pemanfaatan oosit dari folikel-folikel hasil superovulasi PMSG dapat dilihat dari parameter-parameter tidak adanya folikel tetap dan meningkatnya jumlah CL, adanya peningkatan ovulasi, dan meningkatnya jumlah embrio per donor dan jumlah embrio laik pindah (meningkatnya hasil panen embrio).

Analisis data untuk mengetahui adanya pengaruh perlakuan dilakukan dengan menggunakan Analisis Sidik Ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) untuk mengetahui perlakuan yang terbaik (Steel dan Torrie 1993; Gomez dan Gomez 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keberhasilan upaya produksi embrio dalam program pindah embrio dengan metode superovulasi dapat dibuktikan dari hasil panennya dan kesehatan reproduksi donor setelah disuperovulasi. Peringkat keberhasilan produksi embrio ditentukan dari angka ovulasi (*ovulation rate*) dan hasil panen berupa jumlah embrio laik pindah yang tinggi. Sedangkan kesehatan reproduksi dan fertilitas donor ditentukan oleh rendahnya angka folikel tetap pada waktu panen (*unovulatory follicle rate*). Donor yang tidak memiliki folikel tetap tetapi CL, walaupun dengan CL yang banyak setelah penyuntikan dengan prostaglandin pada waktu panen embrio, akan segera kembali ke proses fisiologis siklus kelamin semula yang teratur dan siap untuk memproduksi embrio kembali.

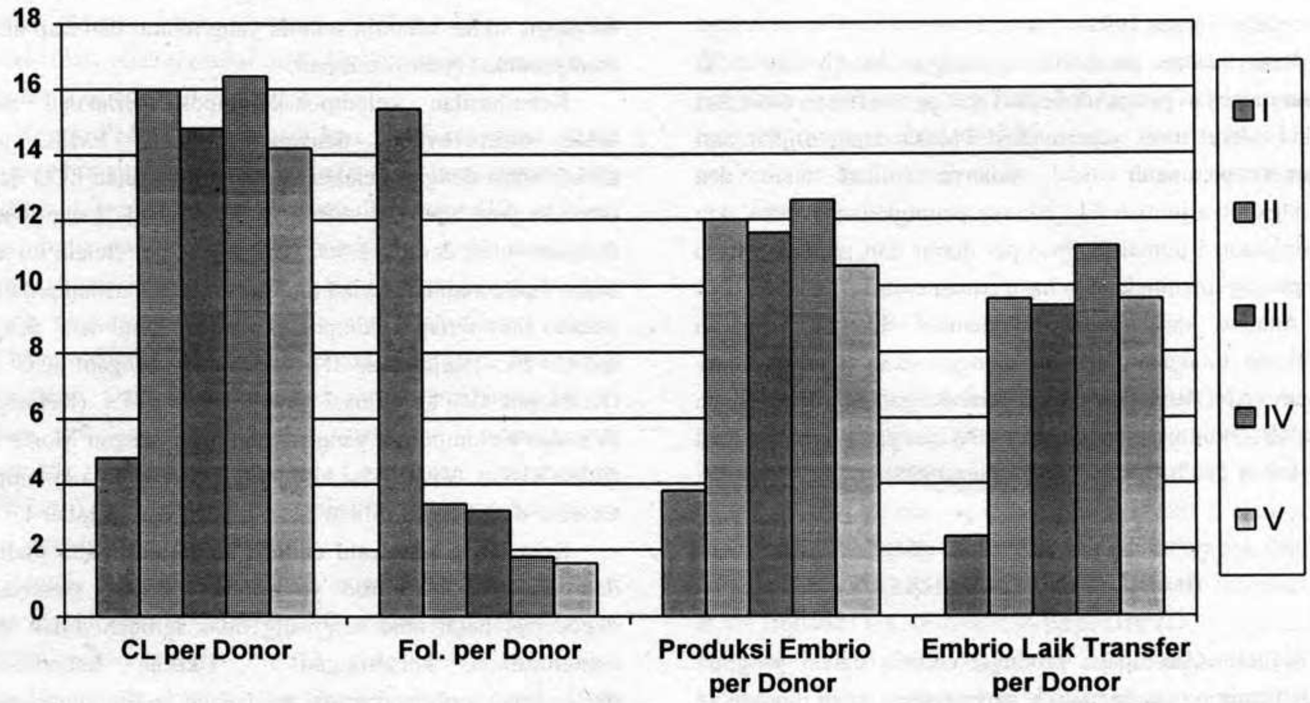
Keberhasilan kelompok-kelompok perlakuan yang selain disuperovulasi dengan 2.500 IU PMSG juga dikombinasi dengan pemberian MoAb dan atau hCG dapat dibandingkan dengan Kelompok Kontrol yang hanya disuperovulasi dengan 2.500 IU PMSG saja. Selain itu juga dapat diperbandingkan dan ditentukan keberhasilan produksi embrio dari setiap kelompok perlakuan kombinasi dengan MoAb i.v. (Kelompok II), kombinasi dengan hCG i.v. (Kelompok III), kombinasi MoAb dan hCG i.v. (Kelompok IV), dan Kelompok V yang dikombinasi dengan MoAb i.v. dan hCG i.m. Visualisasi komparatif dari kelima kelompok tersebut diatas dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Kelaikan pindah satu embrio tergantung pada stadium dan mutunya. Embrio yang terkebelakang (*retarded*), degenerasi berat atau ova yang tidak terbuahi tidak akan menghasilkan kebuntingan. Ukuran keberhasilan pemindahan embrio dinyatakan dengan angka kebuntingan (*pregnancy rate*). Semakin tinggi angka kebuntingan, maka dinilai semakin berhasil. Keberhasilan kebuntingan ditentukan oleh faktor stadium dan mutu embrio, bukan oleh jumlahnya. Embrio yang memiliki stadium D7 dan mutu baik, akan memiliki daya hidup (viabilitas) yang tinggi. Bila ditunjang dengan kondisi uterus resipien maka embrio akan mampu berkembang lebih baik sehingga resipien dapat menjadi bunting (Betteridge *et al.*, 1980).

Tabel 1. Peringkat Keberhasilan secara Komparatif dari Kelima Kelompok yang Disuperovulasi 2.500 IU PMSG dengan atau tanpa Kombinasi Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Corpus Luteum Per Donor (n)	Folikel Per Donor (n)	Produksi Embrio Per Donor (n)	Embrio Laik Pindah Per Donor (n)
Tanpa MoAb-hCG (I)	4,8	15,4	3,8	2,4[b]
MoAb i.v. (II)	16,0	3,4	12,0	9,6[a]
HCG i.v. (III)	14,8	3,2	11,6	9,4[a]
MoAb-hCG i.v. (IV)	16,4	1,8	12,6	11,2[a]
MoAb i.v.-hCG i.m. (V)	14,2	1,6	10,6	9,6[a]

Angka dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama berbeda nyata ($P<0,01$)



Gambar 1. Histogram Perbandingan Keberhasilan Kelima Kelompok Donor Yang Disuperovulasi 2.500 IU PMSG Dengan Atau Tanpa Kombinasi Perlakuan MoAb-hCG

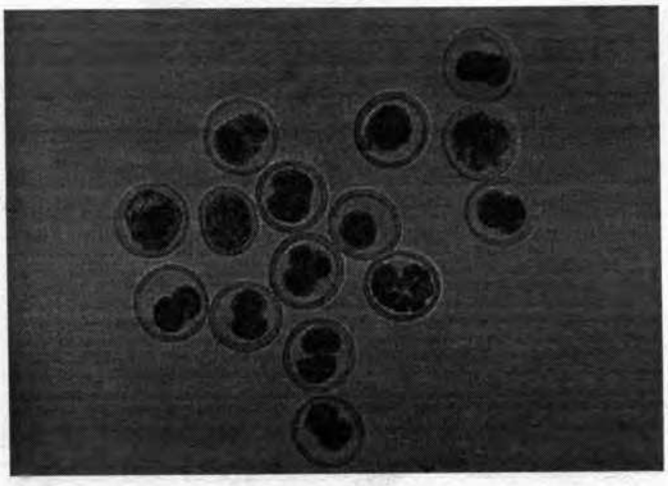
Perbandingan embrio laik pindah tersaji pada Tabel 3. Perbandingan embrio laik pindah Kelompok II, III, IV dan V masing-masing 73,8 %, 75,8 %, 84,8 % dan 85,7 %. Embrio laik pindah keempat kelompok tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (P>0,05), tetapi berbeda nyata bila dibandingkan dengan Kelompok Kontrol yang perbandingannya sebesar 54,5 % (P<0,05). Kelompok Kontrol yang disuperovulasi dengan PMSG saja masih menghasilkan embrio yang tidak laik pindah cukup tinggi yaitu 45,5 %. Perbandingan tidak laik pindah yang tinggi ini disebabkan karena masih adanya residu PMSG yang menyebabkan pengaruh negatif pada hasil panen embrio. Sedangkan pada kelompok perlakuan yang menerima MoAb dan atau hCG, *negative rebound effect* dari PMSG telah teratasi dengan pemberian MoAb dan atau hCG.

Tabel 3. Perbandingan Jumlah Embrio yang Laik Pindah dan Tidak Laik Pindah, dari Kelima Kelompok Program Superovulasi 2.500 IU PMSG yang Berbeda dalam Perlakuan Kombinasi Pemberian MoAb dan hCG

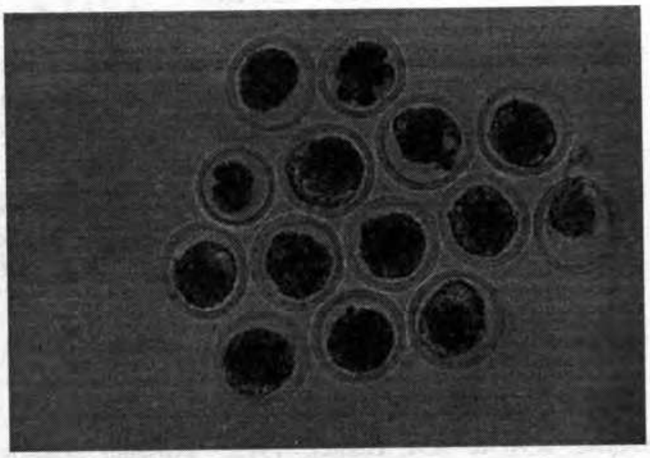
Kelompok	Jumlah Donor (ekor)	Kualitas Embrio Tidak Laik Pindah n (%)	Kualitas Embrio Laik Pindah				Jumlah (n)
			A, n (%)	B, n (%)	C, n (%)	Jumlah, n (%)	
I	5	10(45,5)	3(13,6)[b]	4(18,2)	5(22,7)	12(54,5)[b]	22
II	5	17(26,1)	15(23,1)[ab]	17(26,1)	16(24,6)	48(73,8)[a]	65
III	5	15(24,2)	13(20,9)[ab]	18(29,1)	16(25,8)	47(75,8)[a]	62
IV	5	10(15,2)	23(34,8)[a]	19(28,8)	14(21,2)	56(84,8)[a]	66
V	5	8(14,3)	20(35,7)[a]	18(32,1)	10(17,8)	48(85,7)[a]	56

Angka dengan huruf superskrip yang berbeda dalam kolom yang sama, berbeda nyata (P<0,05)

Menurut Elsden dan Seidel (1985), angka kebuntingan hasil pindah embrio tanpa bedah embrio beku masih di bawah 50 %. Seidel dan Seidel (1991) mendapatkan angka kebuntingan resipien yang dipindah dengan embrio segar mutu laik pindah sebesar 60 % dan dengan embrio beku hasilnya menurun sekitar 15-25 %. Hasil pindah embrio beku akan mencapai angka kebuntingan sekitar 75-85 % dari hasil yang dicapai oleh pindah embrio segar mutu laik pindah. Hanya embrio dengan mutu tinggi (A atau B) yang cocok untuk dibekukan (kriopreservasi) yang berarti sekitar 15 % embrio laik pindah (mutu C) harus sesegera mungkin dipindah ke resipien tanpa dibekukan terlebih dulu atau dibuang. Jumlah embrio yang tidak dapat dipindahkan (dibuang) dari hasil panen Kelompok Kontrol yang disuperovulasi dengan PMSG cukup tinggi yaitu 45,5 %. Pemberian tambahan MoAb, hCG, atau gabungan kombinasi MoAb-hCG dapat meningkatkan perbandingan mutu embrio laik pindah hasil panen sehingga jumlah embrio yang tidak laik pindah menurun seperti yang tampak pada Kelompok II 26,1 %, Kelompok III sebesar 24,2 %, Kelompok IV sebesar 15,2 % dan Kelompok V sebesar 14,3 % (Tabel 2). Perbandingan mutu embrio hasil panen antara program superovulasi 2.500 IU PMSG, tanpa pemberian MoAb maupun hCG pada Kontrol dengan program superovulasi 2.500 IU PMSG yang dikombinasikan dengan penyuntikan MoAb sesaat setelah inseminasi pertama pada Kelompok II tersaji pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Foto Mikroskopik Embrio-Embrio Hasil Panen dari Donor Sapi Perah FH Kelompok Kontrol yang Disuperovulasi Hanya dengan 2.500 IU PMSG (Pembesaran 10x10)



Gambar 3. Foto Mikroskopik Embrio-Embrio Hasil Panen dari Donor Sapi Perah FH yang Disuperovulasi dengan 2.500 IU PMSG dan Mendapat 2,5 ml MoAb Anti-PMSG i.v. Sesaat Setelah Inseminasi Buatan yang Pertama (10x10)

KESIMPULAN

Produksi embrio pada ternak sapi perah FH yang disuperovulasi dengan 2.500 IU PMSG memberikan hasil panen yang rendah. Pemberian MoAb dan atau hCG dapat meningkatkan produksi embrio pada sapi FH yang disuperovulasi dengan PMSG. Penyuntikan MoAb atau hCG saja secara i.v. akan meningkatkan hasil panen masing-masing sebesar 9,6 dan 9,4 embrio laik pindah per donor. Penyuntikan kombinasi simultan MoAb-hCG sapi FH yang disuperovulasi dengan PMSG dan memberikan pengaruh yang tidak berbeda dengan pemberian tunggal hanya dengan MoAb atau hCG saja tidak membuktikan adanya sinergisme kerja antara MoAb dengan hCG dalam peningkatan produksi embrio.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Proyek Peningkatan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat, Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah memberi dukungan dana untuk melakukan riset ini dengan Kontrak Nomor 03/P2 IPT/DPPM/97/PHB II/5/V/97 tanggal 20 Mei 1997.

DAFTAR PUSTAKA

Betteridge, K.J., M.D. Eaglesome, G.C.B. Randall and D. Mitchell. 1980. Collection Description and Transfer of Embryo from Cattle 10-16 day after Oestrus. *J. Reprod. Fertil.*, 79: 205-206.

Dieleman, S.J., M.M. Bevers, P.L.A.M. Vos and F.A.M. de Loos. 1993. PMSG/anti-PMSG in Cattle. A Simple and Efficient Superovulatory Treatment. *Theriogenology*, 39: 25-41.

Elsden, R.P., L.D. Nelson and G.E. Seidel Jr. 1978. Superovulation Cows with FSH and PMSG. *Theriogenology*, 9: 17-26.

Gomez, K.A. & A.A. Gomez. 1995. Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian. Ed. Ke-2. Terjemahan : Endang Sjamsuddin dan Justika S. Baharsjah. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.

Greve, T., H. Callesen and P. Hyttel. 1984a. Characterization of Plasma LH-profiles in Superovulated Dairy Cows. *Theriogenology*, 21: 237.

________________________. 1984b. Plasma Progesterone Profiles and Embryo Quality in Superovulated Cows. *Theriogenology*, 21: 38.

Loneragan, J. 1982. Preparation and Treatment of Donors. *In* Shelton, J.N., Trounson, A.O., Moore, N.W. and James, J.W. (eds). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Papers of a Symposium. Australian Society for Reproductive Biology. Canberra, Australia.

Menzer, C.H. and D. Schams. 1979. Radioimmunoassay for PMSG and its Application to *in vivo* Studies. *J. Reprod. Fertil.*, 55 : 339-345.

Seidel, G.E. Yr. and S.M. Seidel. 1991. Training Manual for Embryo Transfer in Cattle. Animal Reproduction Laboratory. Colorado State University. Fort Collins, USA.

Schmitz, M.E. 1986. Der Einfluss Gonadotropin Hormone auf den Stimulationserfolg bei Superovulierten Kuehen. Ph.D. Dissertation, Justus-Liebig-Universitaet Giessen.

Situmorang, P., A. Lubis, E. Triwulanningsih, B. Tiesnamurti dan I.G. Putu. 1993. Peningkatan Produksi Ternak Ruminansia melalui Teknologi Embrio Transfer (ET). Laporan Hasil Penelitian Balitnak P4N, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.

Steel, R.G.D. and J.H.Torrie. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistik. Terjemahan Bambang Sumantri. Gramedia. Jakarta.

Yadav, M.C., K.E. Leslie and J.S. Walton. 1983. The Timing of the Preovulatory Surge of LH and Embryo Production in Superovulated Cows. *Theriogenology*, 19: 50.

Yusuf, T.L. 1990. Pengaruh $PGF_{2\alpha}$ dan Gonadotropin terhadap Aktivitas Estrus dan Superovulasi dalam Rangkaian Kegiatan Transfer Embrio pada Sapi Fries Holland, Bali dan Peranakan Ongole. Disertasi. Fakultas Pascasarjana, IPB.