

PENGGUNAAN PROGESTERON SINTETIK PADA SAPI PERAH FRIES HOLLAND (FH) PENERIMA INSEMINASI BUATAN DAN DI EMBRIO SAPI MADURA

THE APPLICATION OF SYNTHETIC PROGESTERONE ON FRIES HOLLAND DAIRY CATTLE
AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION AND IN MADURA CATTLE EMBRYOS

Imam Mustofa¹⁾, Laba Mahaputra¹⁾, Pudji Srianto²⁾ dan Suzanita Utama¹⁾

¹⁾Laboratorium Kebidanan Veteriner Jurusan Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 INDONESIA, Telp. (031) 5992377 Fax : (031) 5035676, e-mail: vetunair@indo.net.id

²⁾Laboratorium Fisiologi Reproduksi Jurusan Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

ABSTRAK

Media Veteriner. 1999. 6(1): 7-10

Empat puluh ekor sapi perah Fries Holland betina sehat dan tidak bunting dibagi secara acak menjadi empat kelompok percobaan setelah menerima perlakuan penyerentakan berahi. Inseminasi buatan (IB) dilakukan 8-10 jam setelah berahi menggunakan semen beku sapi sejenis. Tiga kelompok pertama disuntik berturut-turut dengan 100, 150 dan 200 mg *medroxy progesterone acetate* (MPA) intramuskuler pada hari ke-3 setelah IB sedangkan satu kelompok lainnya disuntik plasebo sebagai kontrol. Transfer embrio dilakukan hari ke-7 setelah IB kontralateral terhadap keberadaan korpus luteum menggunakan embrio sapi Madura hasil pembuahan *in vitro* (*in vitro fertilization-IVF*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase kebuntingan pada kelompok perlakuan penyuntikan 100 dan 150 mg MPA sama, yaitu masing-masing 37,5%, sedangkan kelompok 200 mg MPA sebesar 55,6% dan kelompok kontrol 60% ($P>0,05$). Persentase kelahiran pada kelompok 100, 150, 200 mg MPA dan kelompok kontrol berturut-turut 25%, 37,5%, 55,6% dan 60% ($P>0,05$), masing-masing lahir tunggal anak sapi FH.

Kata-kata kunci : inseminasi buatan, transfer embrio, *medroxy progesterone acetate*

ABSTRACT

Media Veteriner. 1999. 6(1): 7-10

Forty healthy and non-pregnant Fries Holland dairy cows which had received oestrus synchronization were divided randomly into four experimental groups. Artificial inseminations (AI) were implemented 8-10 hours post estrous using frozen semen from the same breed. The first three groups were injected with 100, 150 and 200 mg medroxy progesterone acetate (MPA) i.m., respectively, three days post AI, while the other group was injected with placebo as control group. Madura cattle embryos were transferred contralaterally seven days post AI. The percentage of pregnancy in groups which had received 100 and 150 mg MPA was 37.5% and in group received 200 mg MPA and control was 55.6% and 60% ($P>0.05$), respectively. Calving percentages

of the 100, 150, 200 mg MPA and the control groups were 25, 37.5, 55.6 and 60% respectively ($P>0.05$). All birth gave single calve.

Key Words: Artificial insemination, embryo transfer, medroxy progesterone acetate.

PENDAHULUAN

Transfer embrio dan pembuahan *in vitro* (*in vitro fertilization-IVF*) memiliki beberapa kelebihan, antara lain dapat digunakan untuk penyebaran bibit unggul ternak dengan cara yang lebih cepat kepada masyarakat. Satu-satunya faktor sebagai kendala adalah mahalnnya penerapan teknologi tersebut di lapangan, berbeda dengan teknik IB yang telah masyarakat hingga tahap swadaya atau swadana. Persentase keberhasilannya yang masih rendah dibandingkan teknik IB tidak mengimbangi mahalnnya biaya preparat hormon untuk penyerentakan berahi. Oleh karena itu perlu diteliti kelayakan aplikasi TE hasil FIV pada sapi tujuh hari pasca IB dengan penyuntikan hormon progesteron eksogen.

Sapi betina dapat mengandung lebih dari satu fetus dalam sekali masa kebuntingan dengan meningkatkan kapasitas uterus sampai lebih dari tiga fetus per kornua uteri (Echternkamp, 1992). Seike *et al.* (1989) dapat menghasilkan 143,3% pedet dibandingkan jumlah induknya. Namun, kebuntingan kembar yang paling menguntungkan dalam program transfer embrio adalah kembar dua, yakni satu embrio pada masing-masing kornua uterinya (Elock *et al.* 1990). Untuk menghasilkan kebuntingan kembar dibutuhkan korpus luteum sejumlah kembarnya yang akan menjaga kemandapan uterus selama kehidupan intrauterin. Rangsangan pembentukan korpus luteum lebih dari satu dengan superovulasi menggunakan preparat *pregnant mare serum gonadotropin* (PMSG) ternyata menghasilkan angka kebuntingan yang rendah karena tingginya kadar estradiol-17 β dalam serum hingga hari ke-14 setelah berahi (Mustofa, 1995). Untuk meningkatkan penerimaan uterus terhadap embrio yang ditransferkan dapat dilakukan penyuntikan preparat progesteron eksogen (Geisert *et al.* 1991). Pemberian hormon progesteron pada sapi perah agar terjadi peningkatan kadar progesteron dalam darah dapat dilakukan pada hari

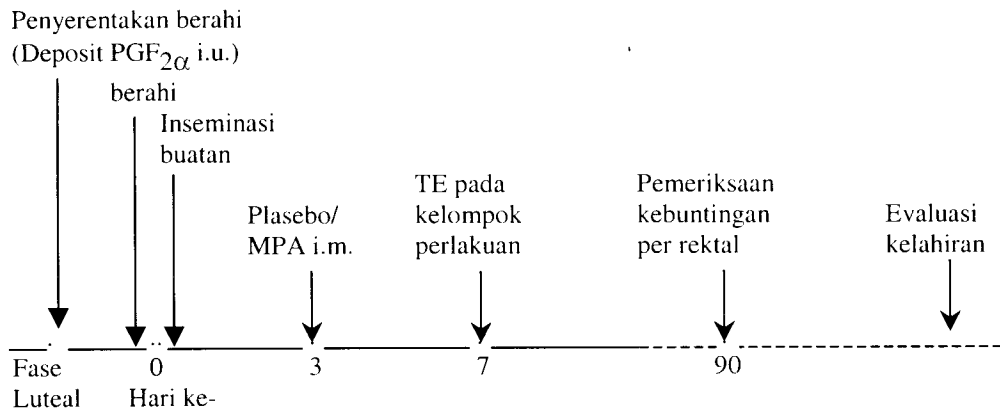
ketiga siklus berahi karena secara fisiologis mulai hari ketiga setelah berahi hormon progesteron dari korpus luteum mulai dihasilkan.

Penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh MPA, yang selama ini secara luas dipakai pada wanita sebagai preparat kontraseptif yang harganya cukup murah, terhadap peningkatan angka kebuntingan dan kelahiran pada sapi perah FH penerima inseminasi dengan semen beku pejantan sapi FH dan embrio sapi Madura.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Empat puluh ekor sapi perah FH sehat, tidak bunting, pernah beranak sekali dan dalam fase luteal mendapat pe-



Gambar 1. Gambaran skematis jadwal pelaksanaan penelitian

nyerentakan berahi dengan pemberian 7,5 mg prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α} Glandin, TAD, Germany) intrauterin. Inseminasi buatan (IB) dilakukan menggunakan semen beku dari pejantan sapi FH (Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang) pada saat 8-10 jam setelah munculnya tanda-tanda berahi.

Metode

Menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan, Kelompok kontrol disuntik plasebo (larutan garam fisiologis) sebanyak 2 ml intramuskuler dan tiga Kelompok perlakuan yang mendapatkan suntikan MPA (*Depo Provera, Upjohn, USA*) intramuskuler pada hari ketiga setelah IB dengan dosis berturut-turut 100, 150 dan 200 mg.

Embrio sapi Madura didapatkan dari hasil IVF di Laboratorium Fertilisasi *In Vitro* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga menggunakan oosit sapi Madura dari ovarium hasil ikutan Rumah Potong Hewan Pegirikan, Kotamadya Surabaya dan sperma asal semen beku sapi Madura

produksi Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang. Transfer embrio dilakukan hari ke-7 setelah resipien diinseminasi. Embrio stadium morula akhir atau blastosis dini dalam media transfer (*modified Dulbecco's phosphate buffered saline, MDPBS, Gibco, USA + 20% bovine calf serum, BCS, Sigma, USA*) di cawan petri dihisap ke dalam batang (*straw*) bening (*French straw, IMV, France*) ukuran mini (0,25 ml) dengan urutan : media-udara-media+embrio+media-udara-media. Selanjutnya batang tersebut dimasukkan ke dalam alat IB (*Cassou insemination gun*) ukuran mini dan ditutup dengan penutup plastik. Secara rekto-vaginal dengan sedikit menarik kornua uteri ke arah posterior, embrio ditempatkan pada apeks kornua uteri kontralateral terhadap keberadaan korpus luteum. Masing-masing hewan menerima satu embrio bermutu sangat baik (*excellent*) atau dua embrio kualitas baik (*good*).

Secara skematis jadwal pelaksanaan penelitian disajikan dalam Gambar 1.

Peubah yang diamati adalah angka kebuntingan dan kelahiran. Peringkat kebuntingan ditentukan melalui pemeriksaan klinik palpasi per rektal 3 bulan setelah IB. Data yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan persentase kebuntingan, kelahiran kembar (FH+Madura) dan kelahiran anak sapi Madura antara kelompok yang di IB dan dilanjutkan dengan TE pada saat tujuh hari pasca inseminasi terhadap kelompok yang hanya di IB saja. Analisis data menggunakan uji Ki-kuadrat pada tingkat kepercayaan 5% (Steel dan Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari empat puluh ekor sapi perah yang digunakan, masing-masing dua ekor pada kelompok perlakuan 100 dan 150 mg MPA, serta satu ekor dari kelompok 200 mg MPA dijual oleh pemiliknya sebelum evaluasi dapat dilakukan.

ketiga siklus berahi karena secara fisiologis mulai hari ketiga setelah berahi hormon progesteron dari korpus luteum mulai dihasilkan.

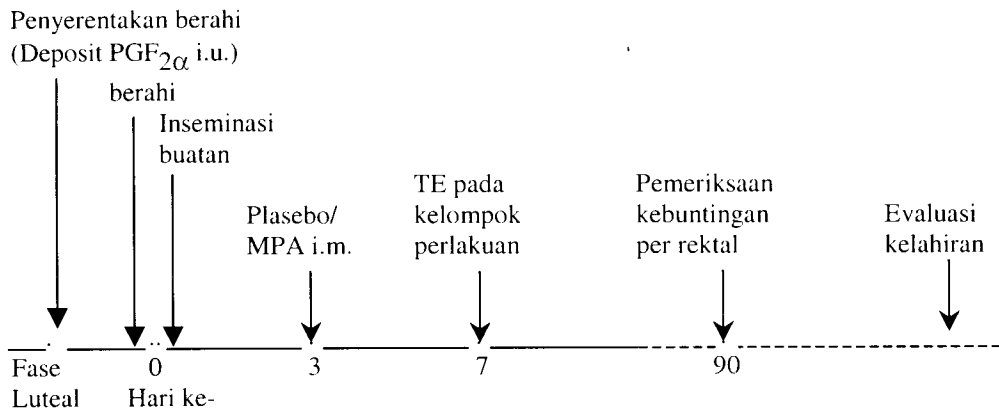
Penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh MPA, yang selama ini secara luas dipakai pada wanita sebagai preparat kontraseptif yang harganya cukup murah, terhadap peningkatan angka kebuntingan dan kelahiran pada sapi perah FH penerima inseminasi dengan semen beku pejantan sapi FH dan embrio sapi Madura.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Empat puluh ekor sapi perah FH sehat, tidak bunting, pernah beranak sekali dan dalam fase luteal mendapat pe-

produksi Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang. Transfer embrio dilakukan hari ke-7 setelah resipien diinseminasi. Embrio stadium morula akhir atau blastosis dini dalam media transfer (*modified Dulbecco's phosphate buffered saline, MDPBS, Gibco, USA + 20% bovine calf serum, BCS, Sigma, USA*) di cawan petri dihisap ke dalam batang (*straw*) bening (*French straw, IMV, France*) ukuran mini (0,25 ml) dengan urutan : media-udara-media+embrio+media-udara-media. Selanjutnya batang tersebut dimasukkan ke dalam alat IB (*Cassou insemination gun*) ukuran mini dan ditutup dengan penutup plastik. Secara rekto-vaginal dengan sedikit menarik kornua uteri ke arah posterior, embrio ditempatkan pada apeks kornua uteri kontralateral terhadap keberadaan korpus luteum. Masing-masing hewan menerima satu embrio bermutu sangat baik (*excellent*) atau dua embrio kualitas baik (*good*).



Gambar 1. Gambaran skematis jadwal pelaksanaan penelitian

nyerentakan berahi dengan pemberian 7,5 mg prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α} Glandin, TAD, Germany) intrauterin. Inseminasi buatan (IB) dilakukan menggunakan semen beku dari pejantan sapi FH (Balai Inseminasi Buatan Singosari, Malang) pada saat 8-10 jam setelah munculnya tanda-tanda berahi.

Metode

Menggunakan rancangan acak lengkap dengan empat perlakuan, Kelompok kontrol disuntik plasebo (larutan garam fisiologis) sebanyak 2 ml intramuskuler dan tiga Kelompok perlakuan yang mendapatkan suntikan MPA (*Depo Provera, Upjohn, USA*) intramuskuler pada hari ketiga setelah IB dengan dosis berturut-turut 100, 150 dan 200 mg.

Embrio sapi Madura didapatkan dari hasil IVF di Laboratorium Fertilisasi *In Vitro* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga menggunakan oosit sapi Madura dari ovarium hasil ikutan Rumah Potong Hewan Pegirikan, Kotamadya Surabaya dan sperma asal semen beku sapi Madura

Secara skematis jadwal pelaksanaan penelitian disajikan dalam Gambar 1.

Peubah yang diamati adalah angka kebuntingan dan kelahiran. Peringkat kebuntingan ditentukan melalui pemeriksaan klinik palpasi per rektal 3 bulan setelah IB. Data yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan persentase kebuntingan, kelahiran kembar (FH+Madura) dan kelahiran anak sapi Madura antara kelompok yang di IB dan dilanjutkan dengan TE pada saat tujuh hari pasca inseminasi terhadap kelompok yang hanya di IB saja. Analisis data menggunakan uji Ki-kuadrat pada tingkat kepercayaan 5% (Steel dan Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari empat puluh ekor sapi perah yang digunakan, masing-masing dua ekor pada kelompok perlakuan 100 dan 150 mg MPA, serta satu ekor dari kelompok 200 mg MPA dijual oleh pemiliknya sebelum evaluasi dapat dilakukan.

Pada penelitian ini embrio sapi Madura hasil IVF dimasukkan ke dalam uterus resipien pada hari ketujuh setelah IB. Dengan demikian, bila hasil IB juga menghasilkan embrio maka pada saat tersebut di dalam uterus sapi resipien terdapat dua jenis embrio, yaitu embrio sapi FH hasil IB dan embrio sapi Madura hasil TE.

Hasil pemeriksaan kebuntingan yang dilakukan dengan cara palpasi per rektal 90 hari setelah IB dan data kelahiran yang terjadi pada sapi-sapi penelitian disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Peringkat kebuntingan dan kelahiran pada sapi penelitian setelah perlakuan

Kelompok	Jumlah	Angka	Angka Kelahiran	
			Perlakuan	Resipien (ekor)
0 mg	10	6 (60,0)	6 (60,0)	0
100 mg	8	3 (37,5)	2 (25,0)	0
150 mg	8	3 (37,5)	2 (25,0)	0
200 mg	9	5 (55,6)	5 (55,6)	0

Pada penelitian kombinasi IB dan TE ini sapi-sapi resipien yang tidak bunting jelas disebabkan oleh kegagalan pembuahan (hasil IB) atau kematian embrio dini (hasil IB maupun TE). Pada sapi yang sistem reproduksinya normal, angka pembuahan mencapai 85-95%, sehingga kerugian akibat kegagalan pembuahan dapat mencapai 15%, sedangkan kerugian akibat kematian embrio dini bisa mencapai 25% (Hafez, 1993). Pada saat implantasi, endometrium sedang berada dibawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum. Pengaruh progesteron dimulai 3-5 hari setelah ovulasi dan mencapai puncaknya pada hari ke 15-17 (Mahaputra *et al.*, 1990).

Periode kehidupan embrio yang kritis adalah pada stadium akhir blastosis dan adanya ketidakseimbangan hormon estrogen-progesteron pada periode ini akan menyebabkan kematian embrio. Penurunan kemampuan korpus luteum menghasilkan progesteron juga dapat diikuti kematian embrio atau fetus (Hardjopranjoto, 1996). Penyuntikan MPA dalam penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan penerimaan uterus terhadap embrio dan mencegah kematian embrio dini. Preparat ini mempunyai daya kerja yang lebih kuat dan apabila disuntikkan intramuskuler dalam bentuk suspensi mempunyai daya kerja yang lebih lama dibandingkan progesteron natural. Pada hewan, MPA menyebabkan perkembangan glandular endometrium, mempertahankan kebuntingan, menunda partus, menghambat ovulasi dan menekan siklus berahi.

Persentase kebuntingan seluruh perlakuan tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa penyuntikan preparat progesteron sintesis MPA tiga hari setelah inseminasi dapat mempertahankan kehidupan intrauterin embrio meskipun resipien diberi perlakuan transfer embrio pada sa-

at tujuh hari setelah inseminasi. Dosis 200 mg MPA menghasilkan persentase kebuntingan yang paling mendekati persentase kebuntingan hasil IB.

Mahaputra *et al.* (1997) melaporkan bahwa embrio sapi Madura hasil IVF stadium morula dan blastosis segar yang tergolong klasifikasi bagus sekali atau bagus yang ditransferkan tujuh hari pascaberahi (tanpa didahului IB) kepada sapi resipien FH akan menghasilkan angka kebuntingan sebesar 38,5%. Sedangkan angka kebuntingan transfer embrio segar sapi Madura hasil IVF pada resipien sapi Madura sebesar 33,3% (Mahaputra *et al.* 1996).

Dari 17 ekor sapi resipien yang bunting, satu ekor induk dari kelompok perlakuan penerima 100 mg MPA mengalami abortus pada umur kebuntingan lima bulan dan persentase kelahiran antar kelompok tidak berbeda nyata ($P>0,05$). Dosis 200 mg MPA mampu mempertahankan ke-

buntingan dan menghasilkan persentase kelahiran yang paling mendekati persentase kelahiran hasil IB.

Semua resipien ternyata melahirkan anak sapi FH yang berarti bahwa embrio sapi Madura hasil IVF yang ditransfer pada uterus resipien sapi FH mengalami kematian embrio dini atau mengalami kegagalan implantasi meskipun embrio yang ditransfer sudah memsuki fase morula akhir atau blastosis dini dengan mutu bagus sekali atau bagus. Kegagalan ini mungkin disebabkan oleh dua hal. Pertama, kondisi uterus yang tidak memungkinkan terjadinya kebuntingan kembar karena kurang memadainya kadar progesteron dalam darah sehingga daya terima uterus tidak memadai. Meskipun telah diadakan penyuntikan preparat progesteron sintetik yang daya kerjanya lebih kuat dan lebih lama dibandingkan progesteron alami, namun belum dipastikan berapa dosis MPA yang tepat untuk mempertahankan kebuntingan kembar pada ternak sapi. Kebutuhan progesteron untuk mempertahankan kehidupan intrauterin lebih tinggi pada kebuntingan kembar. Secara normal, pada kebuntingan kembar fraternal kadar progesteron darah pada saat 21 hari setelah inseminasi sebesar 5-5,5 ng/ml, sedangkan pada kebuntingan tunggal sebesar 2,5-3 ng/ml (Mahaputra, 1993; Srianto, 1995). Kedua, media transfer dinilai kurang serasi untuk kehidupan embrio selanjutnya di dalam uterus. Media yang digunakan untuk transfer embrio ke dalam uterus resipien adalah *modified Dulbecco's phosphate buffered saline* (MDPBS, Gibco, USA) dengan 20% *bovine calf serum* (BCS, Sigma, USA).

KESIMPULAN

Transfer embrio kontralateral terhadap keberadaan korpus luteum pada sapi FH tujuh hari pasca inseminasi dengan penyuntikan hormon progesteron sintetik MPA tiga hari setelah inseminasi, menghasilkan persentase kebuntingan dan kelahiran yang tidak berbeda nyata dibandingkan hasil inseminasi. Transfer embrio sapi Madura hasil pembuahan *in vitro* pada sapi FH pada saat tujuh hari pasca inseminasi secara kontralateral dengan penyuntikan hormon progesteron sintetik sampai dengan dosis 200 mg MPA tiga hari setelah inseminasi, gagal menghasilkan kelahiran anak sapi Madura.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Bapak Suprpto, Bapak Ali Cheko dan Bu Rukmini atas pinjaman sapi-sapinya. Ucapan yang sama juga disampaikan kepada Pemimpin Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Terapan/ Ditbinlitabmas Ditjen Dikti Depdikbud dan Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.

DAFTAR PUSTAKA

- Echterkamp, S.E., 1992. Fetal development in cattle with multiple ovulations. *J. Anim. Sci.*, 70(8): 2309-2321.
- Elcock, H.L., R.D. Baker and H.W. Leipold, 1990. Growth of the early bovine fetus. *Zentralbl-Veterinarmed-(A)*, 37(4): 279-299.
- Geisert, R.D., T.C. Fox, G.L. Morgan, M.E. Wells, R.P. Wettemann and M.T. Zavy. 1991. Survival of bovine embryos transferred to progesterone treated asynchronous recipients. *J. Reprod. Fert.*, 92(2): 475-482.
- Hafez, E.S.E. 1993. Folliculogenesis, egg maturation and ovulation; transport and survival of gametes; fertilization. In: *Reproduction in Farm Animals*. Hafez Edition Ed. 6. Lea and Febiger Philadelphia. USA.
- Hardjopranjoto, S. 1996. *Ilmu Kemajiran Pada Ternak*. Airlangga University Pers, Surabaya.
- Mahaputra, L., 1993. *Ilmu Kebidanan Veteriner I*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Mahaputra, L., M. Hariadi, and S. Hardjopranjoto, 1990. Radioimmunoassay of milk progesterone to monitor reproductive performance in small holder dairy herds in Indonesia. *Proc. The Final Research Coordination Meeting. International Atomic Energy Agency (IAEA)*.
- Mahaputra, L., A. Hinting, S. Utama, P. Srianto, I. Mustofa. 1996. Teknik pembuatan embrio beku, kembar identik dan viabilitasnya, dalam upaya merintis pembangunan bank embrio sapi perah. Laporan HB II/4. DP3M. DIKTI.
- Mahaputra, L., A. Hinting, S. Utama, P. Srianto, I. Mustofa. 1997. Teknik pembuatan embrio beku, kembar identik dan viabilitasnya, dalam upaya merintis pembangunan bank embrio sapi perah. Laporan HB II/5. DP3M. DIKTI.
- Mustofa, I., 1995. Pengaruh penyuntikan PMSG dan waktu penyuntikan hCG yang berbeda terhadap profil estrogen serum dan beberapa variabel reproduksi pada sapi perah. Tesis, Program Pascasarjana Unair.
- Seike, N., M. Teranishi, S. Yamada, R. Takakura, Y. Nagao and H. Kanagawa, 1989. Increase in calf production by the transfer of bisecting bovine embryos. *Nippon-Juigaku-Zasshi.*, 51(6): 1193-1199.
- Srianto, P., 1995. Profil progesteron serum pada induksi kebuntingan kembar pada sapi perah menggunakan hormon PMSG. Tesis, Program Pascasarjana Unair.
- Steel, G.D. dan J.H. Torrie, 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Ed. ke-1. Terjemahan Bambang Sumantri. Gramedia, Jakarta.