



Respon Superovulasi Sapi Persilangan Belgian Blue dengan Metode yang Berbeda (Superovulation Responses of Belgian Blue Crossbred Cattle Treated with Different Superovulation Methods)

Fahrudin Darlian^{1,3}, Sri Wahjuningsih², Anny Rosmayanti³, Sepatria Jodiansyah³, Ludi Ahmad Jalaludin³, Yanyan Setiawan³, dan Trinil Susilawati^{2*}

¹Program Pasca Sarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

²Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

³Balai Embrio Ternak Cipelang, Bogor, Indonesia

ABSTRAK. Superovulasi merupakan suatu metode pemanfaatan induk betina unggul untuk menghasilkan embrio sebanyak-banyaknya untuk kegiatan transfer embrio. Tujuan penelitian ini membandingkan 2 teknik superovulasi yang berbeda pada sapi persilangan Belgian Blue. Penelitian dilakukan di Balai Embrio Ternak Cipelang Bogor dengan menggunakan 24 ekor sapi persilangan Belgian Blue dengan umur 2-3 tahun, masing-masing perlakuan 12 ekor. Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan dua perlakuan, P1 = Superovulasi menggunakan penyuntikan FSH selama 3 hari pada pagi dan sore (metode konvensional) dengan dosis 400 mg FSH dalam 20 ml pelarut dan P2 = Superovulasi menggunakan penyuntikan tunggal (satu kali) FSH dengan dosis 400 mg FSH dalam 3 ml pelarut. Parameter pada penelitian ini adalah Jumlah *Corpus luteum* (CL), respon rate, perolehan embrio, kualitas embrio, recovery rate, dan tingkat fertilisasi. Data yang diperoleh diuji dengan uji T tidak berpasangan. Hasil analisa data menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$) pada jumlah CL P1 : $8,42\pm 3,06$ dan P2 : $6,08\pm 4,74$; Respon rate P1 : 100% dan P2 : 75%; Total perolehan embrio P1 : $6,08\pm 2,64$ embrio dan P2 : $4,45\pm 4,01$ embrio; Embrio recovery rate P1 : $70,37\pm 9,18\%$ dan P2 : $61,33\pm 12,12\%$; Embrio Layak Transfer P1 : $3,83\pm 2,92$ embrio dan P2 : $2,73\pm 2,28$ embrio; dan berbeda nyata ($P<0,05$) pada rata-rata fertilisasi P1 : 79,10% dan P2 : 95,26%. Kesimpulan penelitian ini adalah teknik superovulasi penyuntikan tunggal FSH secara subkutan memberikan efek superovulasi dan menghasilkan embrio dengan jumlah dan kualitas yang tidak berbeda nyata dengan teknik superovulasi konvensional.

Kata kunci: Metode superovulasi, penyuntikan tunggal FSH, persilangan Belgian Blue, respon superovulasi

ABSTRACT. Superovulation is a technique for producing a large number of embryos for embryo transfer using a genetically superior female. The purpose of this research was to compare two alternative methods of superovulation in Belgian Blue crossbred cattle. The study used 24 Belgian Blue crossbred cattle aged 2-3 years, including 12 cows per treatment, at the National Livestock Embryo Center of Cipelang in Bogor. The research was done in an experimental setting using two different treatments, P1 = Superovulation using twice daily FSH injections for three days at a dose of 400 mg FSH dissolved in 20 ml of saline, and P2 = Superovulation using FSH single injections at a dose of 400 mg FSH dissolved in 3 ml of saline. The parameters in this study were the number of corpus luteum (CL), response rate, total number of embryo/ova collection, embryo quality, recovery rate, and fertilization rate. The data obtained were tested by unpaired T test. The results of data analysis showed results that were not significantly different ($P>0.05$) on the number of CL P1 : 8.42 ± 3.06 and P2 : 6.08 ± 4.74 ; Response rate P1 : 100% and P2 : 75%; Total number of embryos collection P1 : 6.08 ± 2.64 embryos and P2 : 4.45 ± 4.01 embryos; Embryo recovery rate P1 : $70.37\pm 9.18\%$ and P2 : $61.33\pm 12.12\%$; Transferable Embryos P1 : 3.83 ± 2.92 embryos and P2 : 2.73 ± 2.28 embryos; and significantly different ($P<0.05$) on fertilization rate P1 : 79.10% and P2 : 95.26%. The conclusion of this study show that the subcutaneous FSH single injection technique induces superovulation and produces embryos that are similar in number and quality to those produced by conventional superovulation techniques.

Keywords: Belgian Blue cross cattle, method of superovulation, subcutaneous FSH single injection, superovulation responses

PENDAHULUAN

Sapi Belgian Blue (BB) merupakan sapi introduksi baru yang memiliki ciri khas otot ganda. Keunggulan otot ganda ini diharapkan dapat digunakan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas daging sapi lokal Indonesia dengan melakukan persilangan (Agung *et al.*, 2016). Percepatan populasi sapi BB Cross dapat

dilakukan dengan memanfaatkan penerapan *multiple ovulation and embryo transfer* (MOET) melalui program superovulasi pada sapi persilangan BB. Superovulasi merupakan suatu metode untuk menumbuhkan, mengembangkan, dan mematangkan folikel sel telur serta memperbanyak jumlah ovulasi sel telur pada siklus estrus yang sama (Supriatna, 2018). Program superovulasi pada sapi digunakan untuk meningkatkan jumlah embrio yang digunakan untuk kegiatan transfer embrio (Hiraizumi *et al.*, 2015). Program transfer embrio melalui program superovulasi dapat dimanfaatkan untuk

*Email Korespondensi: tsusilawati@ub.ac.id

Diterima: 17 Maret 2021

Direvisi: 19 April 2021

Disetujui: 24 Agustus 2021

DOI: <https://doi.org/10.17969/agripet.v21i2.20407>

menghasilkan ternak dengan kualitas genetik unggul dalam jumlah yang banyak (Wahjuningsih *et al.*, 2019) dan waktu yang relatif singkat (Supriatna, 2018). Dengan penerapan bioteknologi ini diharapkan dapat digunakan untuk memperbanyak ternak unggul baik jantan maupun betina, khususnya ternak sapi BB di Indonesia.

Metode superovulasi konvensional pada sapi yang biasa dilakukan adalah dengan menyuntikkan hormon FSH selama 3-4 hari pada pagi dan sore hari dengan dosis menurun (Martins *et al.*, 2012). Pelaksanaan penyuntikan FSH dengan metode konvensional tersebut membutuhkan waktu dan tenaga yang banyak. Selain itu, penyuntikan FSH dua kali sehari juga dapat menimbulkan stress pada ternak donor yang memungkinkan dapat menurunkan respon superovulasi (Bo dan Mapletoft, 2020). Untuk itu, telah dilakukan berbagai penelitian dengan berbagai metode untuk mengurangi frekuensi penyuntikan pada kegiatan superovulasi. Salah satunya dengan metode superovulasi penyuntikan tunggal FSH secara subkutan. Hiraizumi *et al.* (2015) melaporkan penyuntikan FSH secara subkutan telah menghasilkan respon superovulasi yang baik pada sapi potong. Bo *et al.* (2018) juga melaporkan penyuntikan FSH secara subkutan pada leher dan pundak menghasilkan respon superovulasi yang baik pada sapi. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan metode penyuntikan tunggal FSH secara subkutan dengan metode superovulasi konvensional, dengan tujuan memicu superovulasi supaya terjadi ovulasi oosit yang banyak, untuk selanjutnya dilakukan fertilisasi, sehingga diperoleh embrio layak transfer pada sapi persilangan Belgian Blue.

MATERI DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2020 sampai Februari 2021 di Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang Bogor. Pengujian kualitas embrio dilaksanakan di Laboratorium Produksi Embrio BET Cipelang Bogor.

Materi Penelitian

Penelitian ini menggunakan 24 ekor sapi persilangan BB dewasa yang dibagi dalam 2 kelompok perlakuan dengan jumlah masing-masing 12 ekor. Ternak donor yang digunakan berumur 2-3 tahun dengan berat badan 475 - 535 kg, kondisi BCS 3,0 - 3,5 pada skala 5, dan kondisi berahi normal. Sapi kemudian dibagi secara acak menjadi dua kelompok perlakuan.

Pakan yang diberikan berupa rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) sebanyak 40 - 50 kg/ekor/hari, disuplementasi dengan konsentrat sebanyak 5 kg/ekor/hari. Konsentrat yang diberikan memiliki kandungan protein kasar 17,6 %, serat kasar 14,6% dan TDN 70,2% dan diberikan air minum secara *ad libitum*. Sapi dipelihara di kandang sistem *free stall* sehingga sapi donor bebas bergerak, makan dan minum.

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode experimental di lapangan dengan dua perlakuan yaitu P1 = metode superovulasi dengan penyuntikan FSH pagi dan sore selama 3 hari dengan dosis menurun secara intra muscular (IM) dan P2 = penyuntikan tunggal FSH secara Subkutan (SC).

Sinkronisasi Pra-Perlakuan

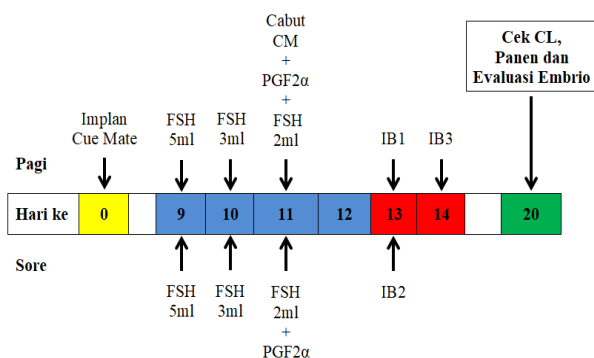
Perlakuan sinkronisasi pra-perlakuan bertujuan untuk mensinkronkan pertumbuhan gelombang folikel sebelum dilakukan penyuntikan FSH. Perlakuan ini dilakukan dengan pemasangan preparat progesterone intravaginal (Cue-Mate[®], mengandung 1,56 mg progesterone dalam dua pod silicon, Bioniche Animal Health (A/Asia) Pty.Ltd., Australia). Cue-Mate[®] dipasang dalam vagina selama 11 Hari pada P1 dan 6 hari pada P2. Perbedaan lama pemasangan Cue-Mate[®] mengikuti prosedur protocol superovulasi yang digunakan. Pemasangan Cue-Mate[®] menggunakan aplikator khusus yang diberi pelumas isotonik. Pada P2 saat pemasangan Cue-Mate[®] diikuti dengan penyuntikan hormon Progesteron (Potahormon[®], 6,25 mg progesteron per 20 ml; Pavet Animal Health Care; Perkasa Veterina; Indonesia) sebanyak 20 ml dan Hormon estrogen (Ovalumon[®], 20.000 IU Ethinyl estradiol per 20 ml; Pavet Animal Health Care; Perkasa Veterina; Indonesia) sebanyak 2 ml dilakukan secara intra muscular. Pemberian estradiol dan progesterone saat implant preparat progesteron bertujuan untuk memunculkan gelombang folikel baru tanpa harus memperhatikan siklus berahi (Bo dan Mapletoft, 2014).

Superovulasi

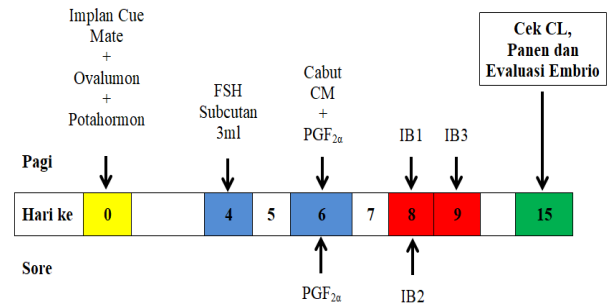
Superovulasi pada kedua perlakuan menggunakan preparat hormon FSH (Folltropin V[®], terdiri dari 400 mg NIH-FSH-P1 dan 20 ml pelarut Bacteriostatic natrium klorida, Vetoquinol USA, Inc., USA), masing-masing sebanyak 400 mg. Hormon FSH pada P1 dilarutkan dalam 20 ml pelarut dan pada P2 dilarutkan dalam 3 ml pelarut.

Penyuntikan hormon FSH pada P1 dimulai pada hari ke 9 setelah pemasangan Cue-Mate, penyuntikan dilakukan pada pagi dan sore selama 3 hari dengan dosis menurun secara intra muskular (5:5, 3:3, 2:2 ml) dengan dosis sebanyak 400 mg FSH yang dilarutkan dalam 20 ml pelarut. Penyuntikan hormon FSH pada P2 dimulai pada hari ke 4 setelah pemasangan Cue-Mate, penyuntikan dilakukan sekali secara subkutan dengan dosis sebanyak 400 mg FSH yang dilarutkan dalam 3 ml pelarut. Penyuntikan FSH dimulai pada saat munculnya gelombang folikel. Menurut Bo dan Mapletoft (2014), pemberian stimulasi FSH pada metode superovulasi konvensional dilakukan pada gelombang folikel kedua yang terjadi pada hari ke 8-12 setelah berahi (pemasangan Cue-Mate), sedangkan pada metode penyuntikan tunggal FSH secara subkutan munculnya gelombang folikel pada hari ke-4 karena adanya sinkronisasi pra perlakuan dengan penambahan estrogen dan progesterone intra muscular pada saat pemasangan Cue-Mate.

Penyuntikan hormon Prostaglandin $F_{2\alpha}$ (Prostavet C[®], 5 mg etiproston per 2 ml; Virbac Animal Health, Prancis) sebanyak 2 ml secara intra muscular pada saat pelepasan Cue-Mate pada hari ke 2 setelah penyuntikan FSH yang pertama pada kedua kelompok perlakuan. Penyuntikan hormon Prostaglandin $F_{2\alpha}$ dilakukan sebanyak 2 kali pada pagi dan sore hari. Inseminasi Buatan dilakukan sebanyak 3 kali dengan interval 8-12 jam menggunakan semen beku sapi Belgian Blue (Belgian Blue Grup, Belgia) dimulai pada hari ke 2 setelah pelepasan Cue-Mate dan penyuntikan hormon Prostaglandin $F_{2\alpha}$. Inseminasi Buatan (IB) yang dilakukan dengan metode rektovaginal yaitu dengan memasukkan tangan ke dalam rektum untuk memanipulasi servik (Susilawati, 2011). Panen Embrio (Flushing) dilakukan pada hari ke-7 setelah IB yang pertama.



Gambar 1. Perlakuan superovulasi pada P1 penyuntikan FSH pagi dan sore selama 3 hari berturut-turut dengan dosis menurun secara intra muscular.



Gambar 2. Perlakuan superovulasi pada P2 dengan penyuntikan tunggal FSH secara subkutan.

Panen Embrio

Panen embrio dilakukan pada hari ke 7 setelah dilakukan IB yang pertama dengan metode *non-surgical* melalui transervikal. Panen embrio dilakukan dengan cara melakukan pembilasan pada uterus sebanyak 3 kali yaitu pada uterus kanan, kiri dan *body* secara bergantian, masing-masing sebanyak 500 ml larutan laktat ringer yang disuplementasi dengan 1% *bovine serum* (Sigma-Aldrich, USA) dan antibiotik penisilin-streptomisin 100 IU/ml (Sigma-Aldrich, USA) menggunakan *two way folley catheter* (FHK Fujihira, Jepang) dengan ukuran 18FR, sehingga pada setiap ekor diperoleh sebanyak 1.500 ml cairan hasil pembilasan uterus yang terbagi dalam 3 botol penampung. Cairan media hasil pembilasan uterus ditampung dalam botol penampung. Kemudian hasil pembilasan uterus akan dilakukan evaluasi embrio di laboratorium. Setelah proses pembilasan selesai kemudian diberikan larutan Iodine povidone 2% sebanyak 50 ml secara intra vaginal untuk mencegah terjadinya infeksi. Selanjutnya sapi diberikan Prostaglandin $F_{2\alpha}$ untuk meluruhkan CL agar tidak terjadinya kebuntingan dan mempercepat masa pemulihan reproduksi.

Evaluasi Embrio

Cairan hasil pembilasan uterus pada masing-masing botol penampung sebanyak 500 ml difiltrasi menggunakan filter embrio berdiameter 75 μm (Agtech inc., USA) disisakan sekitar 10 ml, hal tersebut dilakukan untuk memudahkan dalam proses pencarian embrio. Hasil filtrasi dipindahkan ke dalam cawan petri bergaris 100x100x10 mm (Falcon, USA) untuk selanjutnya dilakukan pencarian embrio dengan menggunakan mikroskop stereo (Olympus SZ61, Jepang) dengan perbesaran 50-100 kali. Embrio yang diperoleh dikoleksi dalam cawan petri bulat 35x10 mm (Falcon, USA) untuk selanjutnya dilakukan evaluasi embrio. Evaluasi embrio merupakan penilaian kualitatif terhadap fase dan kualitas

embrio yang diperoleh disesuaikan dengan standar yang berlaku. Penilaian kualitas embrio merujuk pada standar yang ditetapkan oleh *International Embryo Transfer Society* (2010) berdasarkan fase perkembangan dan kualitas embrio. Fase perkembangan dinilai dengan skor 1-9 (Fase 1: *Unfertilized*; Fase 2: Embrio dengan 2 s/d 12 sel; Fase 3: *Early Morulla*; Fase 4: *Morulla*; Fase 5: *Early Blastocysts*; Fase 6: *Blastocysts*; Fase 7: *Expanded Blastocysts*; Fase 8: *Hatched Blastocysts*; Fase 9: *Expanded Hatched Blastocysts*) dan penilaian kualitas embrio dengan skor 1-4 (Kualitas 1: *Excellent or Good*; Kualitas 2: *Fair*; Kualitas 3: *Poor*; Kualitas 4: *Dead or degenerating*). Kategori embrio layak transfer (LT) adalah embrio dengan perkembangan minimal mencapai fase 4 (*morula*) dengan kualitas 1 (excellent) dan 2 (fair). Embrio degenerasi (DG) dan Oosit tidak terfertilisasi (UF) merupakan embrio yang tidak layak transfer. Embrio degenerasi (DG) adalah embrio yang sel-sel blastomernya hancur atau mengalami kerusakan lebih dari 75%. Oosite terfertilisasi adalah embrio yang minimal memiliki dua sel blastomer. Oosit tidak terfertilisasi (UF) jika tidak teramati adanya tanda-tanda pembelahan.

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Jumlah *Corpus Luteum* (CL)

Jumlah CL yang terdapat di ovarium kanan dan kiri merupakan efek dari perlakuan superovulasi. Penghitungan jumlah CL pada penelitian ini dilakukan dengan metode palpasi rektal (Jodiansyah *et al.*, 2013).

Tingkat Respon (*Respon Rate*)

Tingkat respon dihitung dengan membandingkan jumlah ternak yang memberikan respon superovulasi terhadap total ternak yang diberikan superovulasi. Sapi yang disuperovulasi dianggap memberikan respon apabila terdapat CL lebih dari sama dengan 3 (Hussein *et al.*, 2014).

$$\text{Respon Rate} = \frac{\text{Jumlah sapi yang respon}}{\text{Jumlah sapi yang disuperovulasi}} \times 100\%$$

Total Perolehan Embrio

Jumlah total perolehan embrio dihitung berdasarkan total embrio yang diperoleh pada saat proses pencarian embrio (Jodiansyah *et al.*, 2013).

Kualitas Embrio

Penilaian kualitas embrio dikelompokkan dalam 3 kelompok yaitu embrio layak transfer (LT), embrio degerasi (DG), dan oosit tidak terfertilisasi (UF). Penilaian kualitas embrio didasarkan pada standar yang ditetapkan oleh *International Embryo Transfer Society* (2010).

Recovery Rate (RR)

Recovery rate merupakan perbandingan jumlah total perolehan embrio dengan jumlah CL yang terdapat di ovarium (Jodiansyah *et al.*, 2013).

$$\text{Recovery Rate} = \frac{\text{Jumlah total perolehan embrio}}{\text{Jumlah total Corpus Luteum (CL)}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data hasil penelitian berupa rata-rata jumlah *Corpus Luteum* (CL), *respon rate*, total perolehan embrio, kualitas dan kuantitas embrio, serta *recovery rate* diuji menggunakan *independent-sample t-test* dengan software statistik (IBM SPSS statistic version 26 for windows).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah *Corpus Luteum* dan Respon Superovulasi

Corpus luteum (CL) terbentuk dari folikel yang telah pecah dan mengovulasikan sel telur (Supriatna, 2018), sehingga jumlah CL yang terbentuk menggambarkan jumlah sel telur yang diovulasikan yang merupakan efek dari superovulasi. Penghitungan jumlah CL dilakukan dengan palpasi rektal pada ovarium kanan dan kiri. Jumlah CL pada metode superovulasi P2 secara statistik memberikan hasil yang berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) dibandingkan P1, data tersaji pada Tabel 1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode penyuntikan tunggal FSH secara subkutan memberikan efek superovulasi yang ditunjukkan dengan jumlah CL yang terbentuk lebih dari 3 (Jodiansyah *et al.*, 2013). Metode superovulasi pada P2 memberikan hasil yang tidak berbeda dengan metode konvensional. Efek respon superovulasi tersebut timbul karena adanya pelambatan proses absorpsi FSH yang terjebak dalam lemak subkutan. Diduga lemak subkutan tersebut mampu menghambat penyerapan FSH yang menyebabkan FSH bertahan lama dalam darah sehingga mampu memberikan pengaruh superstimulasi pada pertumbuhan folikel. Hiraizumi *et al.* (2015) menyampaikan bahwa penyuntikan tunggal FSH secara subkutan

memungkinkan penyerapan FSH lebih lambat dari pada penyuntikan intra muskular. Hormon FSH merupakan hormon dari golongan glikoprotein yang bersifat hidrofilik yang tidak larut dalam lemak (Jiang *et al.*, 2012). Hal tersebut menyebabkan hormon FSH lebih lama diserap ke

dalam peredaran darah karena terhambat oleh jaringan lemak subkutan. Hiraizumi *et al.* (2015) melaporkan penyuntikan tunggal FSH secara subkutan menghasilkan respon superovulasi yang baik pada sapi potong.

Tabel 1. Rataan respon superovulasi pada metode superovulasi yang berbeda

| Uraian | Perlakuan metode superovulasi | | P |
|-------------------------------|-------------------------------|---------------|-------|
| | P1 n = 12 | P2 n = 12 | |
| Corpus luteum (buah) | 8,42 ± 3,01 | 6,08 ± 4,74 | 0,166 |
| Ternak respon (ekor) | 12 | 9 | |
| Respon rate (%) | 100 | 75 | 0,070 |
| Total koleksi embrio (embrio) | 6,08 ± 2,64 | 4,45 ± 4,01 | 0,065 |
| Recovery Rate (%) | 70,37 ± 9,18 | 61,33 ± 12,12 | 0,055 |

Keterangan: P1 = metode superovulasi penyuntikan FSH pagi dan sore selama tiga hari berturut-turut secara intra muskular dengan dosis menurun; P2 = penyuntikan tunggal FSH secara subkutan.

Hormon FSH memiliki waktu paruh biologis sekitar 5 jam atau kurang sehingga harus diberikan dua kali sehari untuk menginduksi superovulasi (Bo dan Mapletoft, 2014). Menurut Kimura (2017) waktu paruh biologis FSH yang relatif cepat, membutuhkan penyuntikan FSH dua kali sehari selama 3-4 hari untuk mempertahankan level FSH dalam darah tetap tinggi sehingga superovulasi dapat berhasil pada sapi potong. Perlakuan penyuntikan tunggal FSH secara subkutan (P2) memberikan respon superovulasi yang setara dengan metode superovulasi konvensional. Hal tersebut diduga karena keberadaan FSH dalam darah mampu bertahan lama karena proses penyerapan FSH yang lambat. Menurut Bo dan Mapletoft (2020) tingkat keberadaan FSH dalam darah harus dipertahankan minimal 72 jam untuk memberikan efek superstimulasi, sehingga pertumbuhan folikel akan berlanjut sampai pada ukuran tertentu dan mampu untuk berovulasi. Berdasarkan penelitian Hiraizumi *et al.* (2015) penyuntikan tunggal FSH via subkutan mampu mempertahankan kadar FSH dalam darah sampai 79 jam sehingga efek superovulasi dapat terjadi.

Penyuntikan FSH pada P1 dimulai pada hari ke-9 sesuai protokol superovulasi konvensional. Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan diketahui hari ke 8 sampai 12 setelah berahi merupakan perkiraan munculnya gelombang folikel yang kedua dan kelompok folikel baru berkembang pada hari tersebut. Namun demikian munculnya gelombang folikel kedua pada sapi yang memiliki siklus dua gelombang folikel dan tiga gelombang folikel tidak sama. Memulai stimulasi lebih cepat atau lebih lambat satu hari dibandingkan dengan

stimulasi pada hari munculnya gelombang folikel akan menurunkan efek superovulasi secara signifikan (Bo dan Mapletoft, 2014). Penyuntikan FSH pada P2 dilakukan pada hari ke 4 setelah implan preparat progesteron. Penyuntikan tersebut dapat dilakukan lebih awal karena adanya pemberian estradiol dan progesterone yang diinjeksi secara intra muscular pada saat implan preparat progesterone (Cue-Mate). Menurut Bo dan Mapletoft (2014) pemberian estradiol dan progesterone saat implant preparat progesteron bertujuan untuk memunculkan gelombang folikel baru tanpa harus memperhatikan siklus berahi. Pemberian estradiol dapat menekan pelepasan FSH dan menginduksi terjadinya atresi folikel. Pada saat metabolisme estradiol telah terjadi, FSH akan melonjak dan gelombang folikel baru akan muncul sekitar 4 hari setelah perlakuan. Perlakuan ini memungkinkan kelompok folikel yang berukuran 3-5 mm akan tumbuh secara bersamaan. Folikel dengan ukuran 3-5 mm merupakan folikel yang sangat sensitive terhadap perlakuan pemberian FSH untuk tujuan superovulasi. Bo dan Mapletoft (2014) menyatakan bahwa waktu yang tepat untuk dilakukan superovulasi ketika folikel berukuran 3-4 mm. Berdasarkan uraian di atas perlakuan sinkronisasi pra-perlakuan pada P2 lebih tepat dalam memprediksi kapan awal mulainya stimulasi FSH, sehingga respon superovulasi lebih mudah diprediksi. Menurut Hussein *et al.* (2014) respon ovarium sapi donor berhubungan erat dengan jumlah folikel yang sensitif terhadap gonadotropin yang diberikan pada saat awal perlakuan superovulasi dimulai.

Secara deskriptif jumlah CL pada P2 lebih kecil dari pada P1. Perbedaan tersebut diduga

karena pengaruh ketebalan lemak subkutan dan dosis FSH yang terlalu tinggi. Diduga beberapa sapi donor pada P2 memiliki ketebalan lemak subkutan yang tipis, sehingga lemak subkutan tidak mampu menahan FSH lebih lama. Menurut Bo dan Mapletoft (2020) kurangnya respon pada metode superovulasi secara subkutan disebabkan penyerapan dan pembersihan FSH dalam darah yang terlalu cepat mengakibatkan over dosis LH (kandungan LH 20% dalam sediaan FSH). Hal tersebut menyebabkan luteinisasi dan atresi folikel bukannya menstimulasi folikel, sehingga *respon rate* juga berkurang. Bo *et al.* (2018) melaporkan kadar FSH yang tinggi akan menurunkan respon superovulasi, donor yang diberikan FSH 300 mg memberikan respon yang lebih rendah dibandingkan yang diberikan FSH 200 mg. Namun demikian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar FSH dalam darah pada sapi persilangan Belgian Blue saat dilakukan superovulasi.

Penghitungan tingkat respon superovulasi (*respon rate*) dari perlakuan superovulasi dilakukan dengan cara membandingkan ternak donor yang memberikan respon superovulasi dengan semua ternak yang diberikan perlakuan superovulasi (Jodiansyah *et al.*, 2013). *Respon rate* dari kedua perlakuan pada penelitian ini secara statistik memberikan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$), data tersaji pada Tabel 1. Secara deskriptif nilai *respon rate* pada P2 lebih kecil dari pada P1. Nilai *respon rate* pada kedua perlakuan memberikan hasil yang baik terlihat dari nilainya yang masih diatas 70%. Menurut Supriatna (2018) *respon rate* yang baik diatas 70%.

Umur ternak donor dalam penelitian ini relatif seragam yaitu pada umur 2-3 tahun dan dipelihara pada kondisi serta manajemen pemeliharaan yang relatif sama. Hardiyanto *et al.* (2016) menyatakan ternak donor yang memberikan hasil yang optimal dalam produksi embrio pada umur 3-4 tahun. Perlakuan superovulasi pada penelitian ini menggunakan hormon FSH yang sama pada kedua kelompok perlakuan, dengan dosis 400 mg FSH. Diduga hal tersebut yang menyebabkan respon superovulasi pada seluruh kelompok memberikan hasil yang tidak berbeda. Hussein *et al.* (2014) menyatakan bahwa respon ternak donor terhadap perlakuan superovulasi tergantung pada ras, umur dan kondisi umum, jenis hormon, iklim, nutrisi dan lingkungan.

Perolehan Embrio dan *Recovery Rate*

Perolehan embrio merupakan perolehan total embrio yang didapat pada saat pencarian embrio. Perolehan rata-rata jumlah total embrio pada P2 memberikan hasil yang berbeda tidak nyata ($P<0,05$) terhadap P1, data tersaji pada Tabel 1. Perolehan embrio sangat dipengaruhi oleh banyaknya sel telur yang matang dan diovulasikan yang merupakan pengaruh dari perlakuan superovulasi yang diberikan. Perlakuan metode superovulasi pada P1 dan P2 menghasilkan tingkat ovulasi yang tidak berbeda, hal tersebut terlihat dari jumlah CL yang dihasilkan pada kedua perlakuan yang tidak berbeda. Keberhasilan superovulasi sangat dipengaruhi metode superovulasi (Bo dan Mapletoft, 2020). Hiraizumi *et al.* (2015) melaporkan superovulasi dengan teknik penyuntikan FSH secara subkutan memberikan hasil yang sama dengan metode konvensional.

Secara deskriptif rata-rata jumlah total perolehan embrio pada P1 lebih kecil dari pada P2. Jumlah total embrio yang diperoleh dipengaruhi oleh teknik superovulasi, populasi folikel saat dimulai superstimulasi, dan kondisi organ reproduksi. Teknik superovulasi memberikan pengaruh terhadap keberhasilan superovulasi. Keberhasilan superovulasi dari hormon FSH terhadap folikel-folikel target dari superovulasi memengaruhi perolehan total embrio (Jodiansyah *et al.*, 2013). Populasi folikel saat dimulai superovulasi sangat memengaruhi keberhasilan superovulasi (Bo dan Mapletoft, 2020) yang berakibat terhadap perolehan embrio. Ternak donor dengan populasi folikel yang sedikit pada saat dilakukan superovulasi akan memperoleh embrio dengan jumlah yang sedikit, begitu juga sebaliknya. Kemungkinan juga populasi folikel pada kelompok P2 bangsa persilangan BB-SIM dengan metode penyuntikan tunggal FSH secara subkutan lebih rendah dibandingkan kelompok yang lain, sehingga embrio yang perolehan juga lebih sedikit.

Recovery rate (RR) merupakan perbandingan jumlah embrio yang diperoleh dengan jumlah *corpus luteum* (CL) yang terbentuk sebagai efek dari superovulasi. Nilai RR secara statistik pada kedua perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$), data tersaji pada Tabel 1. Secara deskriptif nilai RR pada P1 lebih kecil dari pada P2.

Recovery rate dipengaruhi oleh teknik *flushing* dan ketepatan penempatan *folley catheter* saat *flushing* (Wiley, 2017). Pada penelitian ini teknik *flushing* yang digunakan adalah teknik

flushing tanpa pembedahan (*non-surgical*). Ketepatan penempatan *folley catheter* juga berpengaruh terhadap keberhasilan panen embrio dan akan meningkatkan *recovery rate*. Penempatan *folley catheter* yang semakin mendekati ujung *cornua uteri* akan meningkatkan jumlah embrio yang terkoleksi (Wiley, 2017). Penempatan *folley catheter* tersebut tergantung dari lokasi keberadaan embrio. Menurut Supriatna (2018) lokasi embrio pada saat *flushing* 10% berada di *tuba falopii*, 70% berada di *apex cornua uteri* dan 20% di dekat *bifurkatio uteri*. Nilai RR pada kedua kelompok penelitian ini masih tergolong baik. Nilai *recovery rate* dengan metode *non-surgical* pada penelitian Wiley (2017) berkisar antara 49% sampai dengan 92%. Menurut Supriatna (2018) nilai *recovery rate* berkisar antara 40-80%.

Kuantitas dan Kualitas Embrio

Kualitas embrio yang diperoleh diketahui dari jumlah embrio layak transfer dan embrio tidak layak transfer. Keberhasilan produksi embrio sangat ditentukan oleh jumlah embrio layak transfer yang diperoleh. Embrio yang berkualitas baik adalah embrio yang memiliki morfologi dan fase perkembangan sesuai dengan waktu perkembangannya. *Flushing* embrio dilakukan pada hari ke-7 setelah IB yang pertama, sehingga diharapkan embrio yang diperoleh merupakan embrio yang berkembang sesuai dengan fase perkembangan embrio hari ke-7. Embrio layak transfer merupakan embrio yang memiliki fase

perkembangan *morulla* sampai dengan *expand blastocyst* dengan kualitas *excellent/good* dan *fair*. Embrio tidak layak transfer adalah embrio yang tidak berkembang atau *degeneratif* (DG) dan oosit yang tidak terbuahi atau *unfertilized* (UF).

Rataan embrio layak transfer pada kedua perlakuan secara statistik memberikan hasil yang berbeda tidak nyata ($P>0,05$), data tersaji pada Tabel 2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode superovulasi penyuntikan tunggal FSH secara subkutan memberikan hasil yang tidak berbeda dengan metode konvensional. Namun demikian jumlah embrio layak transfer pada kedua perlakuan cukup rendah. Menurut Cismeci dan Guller (2018) produksi embrio akan memenuhi nilai ekonomis apabila rataan embrio layak transfer yang diperoleh ≥ 5 . Rendahnya perolehan rataan embrio layak transfer diduga karena adanya efek hiperstimulasi. Bo dan Mapletoft (2020) menyampaikan hiperstimulasi pada program superovulasi akan menurunkan jumlah dan kualitas embrio yang diperoleh. Pada penelitian ini efek hiperstimulasi dapat terlihat dari persentase embrio degeneratif yang cukup tinggi, pada P1 rataan embrio DG 1,33 embrio (21,88% dari total embrio) dan P2 rataan embrio DG 1,45 embrio (32,58% dari total embrio). Menurut Supriatna (2018) maksimal persentase embrio DG dari total embrio sebesar 20%. Namun demikian perlu adanya penelitian lanjutan terhadap level FSH yang tepat untuk superovulasi pada sapi persilangan Belgian Blue.

Tabel 2. Rataan kuantitas dan kualitas embrio pada metode superovulasi yang berbeda

| Uraian | Perlakuan metode superovulasi | | P |
|---|-------------------------------|----------------------------|-------|
| | P1 n = 12 | P2 n = 11 | |
| Total koleksi ova/embrio (embrio) | 6,08 ± 2,64 | 4,45 ± 4,01 | 0,065 |
| Embrio layak transfer (LT) (embrio) | 3,83 ± 2,92 | 2,73 ± 2,28 | 0,326 |
| Embrio degenerasi (DG) (embrio) | 1,33 ± 2,10 | 1,45 ± 2,25 | 0,849 |
| Oosit tidak terfertilisasi (UF) (oosit) | 0,92 ± 0,90 ^a | 0,27 ± 0,47 ^b | 0,046 |
| Proporsi embrio layak transfer (%) | 58,89 ± 39,29 | 70,16 ± 40,57 | 0,339 |
| Tingkat fertilisasi (%) | 79,10 ± 27,63 ^a | 95,26 ± 10,23 ^b | 0,042 |

Keterangan: P1 = metode superovulasi penyuntikan FSH pagi dan sore selama tiga hari berturut-turut secara intra muskular dengan dosis menurun; P2 = penyuntikan tunggal FSH secara subkutan. Notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P<0,05$).

Proporsi embrio layak transfer secara deskriptif pada P2 lebih baik dari pada P1. Hal tersebut didukung oleh tingkat fertilisasi yang secara statistik lebih baik pada P2 dari pada P1 ($P<0,05$), data tersaji pada Tabel 2. Tingkat fertilisasi menjadi tolok ukur keberhasilan program superovulasi karena berpengaruh terhadap kualitas embrio yang diperoleh. Tingkat fertilisasi yang tinggi akan meningkatkan proporsi

embrio layak transfer. Tingginya tingkat fertilisasi diduga disebabkan adanya sinkronisasi pra perlakuan yang berpengaruh terhadap sinkronisasi ovulasi. Tingkat ovulasi yang lebih seragam akan meningkatkan tingkat fertilisasi. Metode sinkronisasi pra perlakuan dengan penambahan estradiol dan progesteron intra muskular pada P2 memengaruhi keseragaman ovulasi. Menurut Bo dan Mapletoft (2014) pemberian estradiol dan

progesteron saat implan preparat progesteron akan memunculkan gelombang folikel baru, hal tersebut menyebabkan perkembangan folikel lebih seragam yang berpengaruh terhadap keseragaman ovulasi, sehingga tingkat fertilisasi dan kualitas embrio tentunya akan meningkat.

Penelitian ini menunjukkan bahwa metode superovulasi dengan penyuntikan tunggal FSH secara subkutan mampu memberikan efek superovulasi dan menghasilkan respon superovulasi, total perolehan embrio dan embrio layak transfer yang tidak berbeda dengan metode konvensional. Protokol metode superovulasi konvensional dapat disederhanakan menjadi metode penyuntikan tunggal FSH secara subkutan dengan hasil yang tidak berbeda. Penggunaan protokol ini berdampak pada penghematan waktu pelaksanaan superovulasi, tenaga kerja, pengurangan frekuensi *handling* ternak dan penyuntikan yang dapat menurunkan tingkat stress pada sapi donor (Imron *et al.*, 2016). Metode ini secara teknis mudah dilakukan sehingga dapat diterapkan secara luas di lapangan.

KESIMPULAN

Perlakuan teknik superovulasi dengan penyuntikan tunggal FSH secara subkutan pada sapi persilangan BB dapat memberikan efek superovulasi dan menghasilkan embrio dengan jumlah dan kualitas yang tidak berbeda nyata dengan teknik superovulasi konvensional.

SARAN

Perlu adanya penelitian lanjutan terhadap kadar FSH yang tepat pada sapi persilangan Belgian Blue, lama retensi FSH dalam darah pada teknik superovulasi penyuntikan tunggal secara subkutan dan ketebalan lemak subkutan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didukung oleh beasiswa dari Kementerian Pertanian Republik Indonesia tahun 2019-2021. Kami juga menyampaikan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada pimpinan dan staf Balai Embrio Ternak Cipelang Bogor yang telah izin dan memfasilitasi terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Agung, P.P., Said, S., Sudiro, A., 2016. Myostatin gene analysis in the first generation of the

belgian blue cattle in Indonesia. *JITAA*. 41(1):13-20. <https://doi.org/10.14710/jitaa.41.1.13-20>.

- Bó, G.A., Mapletoft, R.J., 2020. Superstimulation of ovarian follicles in cattle: Gonadotropin treatment protocols and FSH profiles. *Theriogenology*. 150: 353-359. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2020.02.001
- Bo, G.A., Rogan, D.R., Mapletoft, R.J., 2018. Pursuit of a method for single administration of pFSH for superstimulation in cattle: what we have learned. *Theriogenology*. 112: 26-33.
- Bó, G.A., R.J. Mapletoft. 2014. Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology* 81: 38-48. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.09.020
- Cizmeci, S.U., Guller, M., 2018. Superovulation in Cows: A Review. *Inter J. Vet. Sci.* 7(2): 65-68.
- Hardiyanto, D., Sumantri, C., Zamanti, D., 2016. Kualitas embrio pada sapi simmental dan limousin dengan kadar protein pakan berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 04(2): 319-324.
- Hiraizumi, S., Nishinomiya, H., Oikawa, T., Sakagami, N., Sano, F., Nishino, O., Kurahara, T., Nishimoto, N., Ishiyama, O., Hasegawa, Y., Hashiyada, Y., 2015. Superovulatory response in japanese black cows receiving a single subcutaneous porcine follicle stimulating hormone treatment or six intramuscular treatments over three days. *Theriogenology* 83: 466-473. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.09.012.
- Hussein, M.M., Abdel-Aziz, R.L., Abdel-Wahab, A., El-Said, H., 2014. Preliminary study of factors affecting the superovulatory response of high producing dairy cows superstimulated regardless of the stage of estrous cycle in Egypt. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci.* 3: 286-292. DOI: 10.1016/j.bjbas.2014.11.002.
- IETS., 2010. Manual of The International Embryo Transfer Society. Edisi ke 4. Stringfellow DA dan MD. Givens, editor. Champaign (IL): International Embryo Transfer Society.

- Imron, M., Supriatna, I., Amrozi., 2016. Respons superovulasi sapi peranakan ongole terhadap penyuntikan tunggal follicle stimulating hormone ke dalam ruang epidural. *J. Veteriner*. 17(1): 78-87. DOI: 10.19087/Jveteriner.2016.17.1.78
- Jiang, X., Liu, H., Chen, X., Chen, P., Fischer, D., Sriraman, V., Yu, H.N., Arkininstall, S., He, X., 2012. Structure of follicle-stimulating hormone in complex with the entire ectodomain of its receptor. *PNAS*. 109(31): 12491-12496
- Jodiansyah, S., Imron, M., Sumantri, C., 2013. Tingkat respon superovulasi dan produksi embrio in vivo dengan sinkronisasi CIDR. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 1(3): 184-190.
- Kimura, K., 2016. Superovulation with a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel: a novel superovulation method for cattle. *J. Reprod. Dev.* 62(5): 423-429. DOI: 10.1262/jrd.2016-066.
- Mapletoft, R., Bó, G., 2012. The evolution of improved and simplified superovulation protocols in cattle. *Reprod Fertil Dev.* 24: 278-283. DOI: 10.1071/RD11919.
- Martins, C.M., Rodrigues, C.A., Vieira, L.M., Mapletoft, R.J., Bó, G.A., Sá Filho, M.F., Baruselli, P.S. 2012. The effect of timing of the induction of ovulation on embryo production in superstimulated lactating holstein cows undergoing fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*. 78(5): 974-980. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.05.007.
- Supriatna, I., 2018. Transfer Embrio pada Ternak Sapi. *Bogor: Seameo Biotrop*. ISBN: 978-979-8275-58-6.
- Susilawati, T., 2011. Spermatology. Malang: *Universitas Brawijaya Press*. ISBN: 978-602-8960-04-5.
- Wahjuningsih, S., Susilawati, T., Suyadi, Ihsan, M.N., Busono, W., Isnaini, N., Yekti, A.P.A., 2019. Teknologi Reproduksi Ternak. Malang: *Universitas Brawijaya Press*. ISBN : 978-602-432-843-6.
- Wiley, C.E., 2017. Methods to enhance embryo quality and recovery rates in superovulated beef cows. *Tesis. Iowa State University*. <https://lib.dr.iastate.edu/etd/15642>.