

MAJALAH



**KUMPULAN ALIH BAHASA DI
BIDANG PETERNAKAN DAN
KESEHATAN HEWAN**

**DISUSUN OLEH :
CECEP SASTRAWILUDIN, S.Pt
PARAMEDIK VETERINER MAHIR**

**EDISI 4
DESEMBER 2019**

MAJALAH

**KUMPULAN ALIH BAHASA DI
BIDANG PETERNAKAN DAN
KESEHATAN HEWAN**

EDISI 4

DESEMBER 2019

**CECEP SASTRAWILUDIN, S.Pt
PARAMEDIK VETERINER MAHIR**

DAFTAR ISI

No.	Judul	Halaman
1	Metode Baru Superovulasi untuk Sapi dengan Sekali Penyuntikan FSH dengan Alumunium Hydroxide Gel	1
2	Analisis Jenis Kelamin Embryo dan Kimera Kromosom Sex dengan Amplifikasi Isothermal Loop-Mediated pada Sapi dan Kerbau Rawa	15
3	Pengaruh Epidural Tunggal Ditambah Penyuntikan Intramusculer FSH Pada Respon Superovulasi Di Anatolian Black Cow	27
4	Pengaruh Bangsa dan Korpus Luteum Terhadap Keberhasilan Kebuntingan Pada Sapi Resipien / Sapi Penerima Embrio	34
5	Beberapa Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Berat Badan Lahir, Berat Sapih, dan Kenaikan Berat Badan Setiap Hari Pada Anak Sapi FH	43

METODE BARU SUPEROVULASI UNTUK SAPI DENGAN SEKALI PENYUNTIKAN FSH DENGAN ALUMINIUM HYDROXIDE GEL

Koji KIMURA¹⁾

1) Sekolah Pascasarjana Ilmu Lingkungan dan Kehidupan, Universitas Okayama, Okayama 700-8530, Jepang

Abstrak

Superovulation (SOV) adalah teknik yang diperlukan untuk menghasilkan sejumlah besar embrio untuk transfer embrio. Dalam metode konvensional, follicular stimulating hormone (FSH) diberikan kepada ternak donor dua kali sehari selama 3 hingga 4 hari. Karena metode ini membutuhkan kerja yang intensif dan stres pada ternak, sehingga diinginkan untuk memperbaiki metode ini. Kami sebelumnya mengembangkan metode SOV baru dan sederhana, di mana suntikan intramuskular dari dosis tunggal FSH dalam gel aluminium hidroksida (AH-gel) menginduksi pertumbuhan beberapa folikel, ovulasi dan produksi beberapa embrio. Di sini kami menunjukkan bahwa AH-gel dapat secara efisien menyerap FSH dan melepaskannya secara efektif pada BSA, protein interstisial utama. Ketika pemberian intramuskular tunggal dari campuran FSH dan AH-gel dilakukan pada sapi, hal tersebut menginduksi pertumbuhan banyak folikel, ovulasi dan produksi embrio. Namun, perlakuan tersebut menyebabkan indurasi lokasi penyuntikan di otot. Untuk mengurangi kerusakan otot, kami menyelidiki rute penyuntikan alternatif dan jumlah aluminium yang berbeda dalam gel. Dengan menyuntikkan FSH dalam AH-gel secara subkutan daripada intramuskular, jumlah aluminium dalam gel dapat dikurangi, sehingga mengurangi ukuran indurasi. Selain itu, penyuntikan FSH berulang dengan AH-gel tidak mempengaruhi respon superovulasi. Hasil ini menunjukkan bahwa sekali penyuntikan FSH dengan AH-gel adalah metode yang efektif, baru dan praktis untuk perlakuan SOV.

Key words: Aluminum hydroxide gel, Cattle, Embryo, Superovulation

Beberapa dekade yang lalu, metode transfer embrio (TE) digunakan pada sapi. Karena embrio yang dikoleksi dari betina dengan sifat ekonomis tinggi dapat dimanfaatkan, teknologi ini memfasilitasi seleksi betina. Namun, sapi hanya menghasilkan satu oosit per siklus estrus; oleh karena itu, jumlah embrio yang dapat dikoleksi dari individu yang secara genetik superior terbatas. Untuk memecahkan masalah ini, metode superovulasi (SOV) dikembangkan, yang meliputi rangsangan pertumbuhan banyak folikel dan produksi embrio melalui pemberian hormon gonadotropin.

Pada awal perkembangan TE, equine chorionic gonadotropin (eCG) digunakan untuk SOV [1-3]. Pada sapi, eCG memiliki waktu paruh 40 jam dan menetap dalam sirkulasi darah hingga 10 hari [4]. Hal ini menyebabkan stimulasi induksi ovarium yang berkepanjangan yang memicu profil endokrin abnormal dan penurunan kualitas embrio [5, 6]. Kemudian, eCG digantikan dengan follicular stimulating hormone (FSH) karena

ditemukan pada sapi lebih baik untuk merespon FSH dalam beberapa hal [7]. Karena waktu paruh FSH jauh lebih singkat (sekitar 5 jam) [8] dibandingkan dengan eCG, protokol SOV saat ini yang menggunakan FSH terdiri dari penyuntikan intramuskular dua kali sehari selama 3 hingga 4 hari [7, 9-11]. Metode ini membutuhkan banyak kerja dan menyebabkan stres pada sapi donor, yang menghasilkan respon superovulasi yang menurun [12] dan menghambat Luteinizing Hormone (LH) meningkat untuk ovulasi [13]. Oleh karena itu, ada kebutuhan untuk metode SOV yang sederhana. Kami melaporkan di sini, metode SOV baru yang menggunakan sekali penyuntikan FSH dengan gel aluminium hidroksida (AH-gel).

SOV pada Sapi dengan Jumlah Pengurangan atau Pemberian FSH Tunggal

Untuk perlakuan SOV pada sapi, yang lazim penyuntikan FSH diberikan dua kali sehari selama 3-4 hari dengan dosis menurun [10, 11, 14], karena waktu paruh FSH pendek pada ternak [8].

Pemberian FSH tunggal dengan agen yang memperlambat pelepasannya dapat digunakan sebagai pengganti beberapa penyuntikan. Sebagai contoh, ditunjukkan bahwa pencampuran FSH dengan polivinilpirolidon (PVP) memperlambat pelepasannya dan mempertahankan konsentrasinya dalam darah yang cukup tinggi untuk menginduksi perkembangan beberapa folikel [15-17]. Namun, sulit untuk melarutkan FSH secara homogen dalam larutan PVP karena viskositas PVP yang tinggi.

Hyaluronan, glikosaminoglikan yang didistribusikan secara luas di dalam tubuh, juga telah digunakan untuk memperlambat pelepasan FSH [18]. Secara khusus, menunjukkan bahwa pemberian FSH yang diencerkan dalam 2% hyaluronan menginduksi respon superovulasi. Namun, sulit untuk mencampur FSH dengan 2% hyaluronan karena seperti PVP, hyaluronan memiliki viskositas yang tinggi. Penggunaan konsentrasi hyaluronan yang lebih rendah dapat dilakukan untuk mempermudah pencampuran, tetapi campuran hanya mampu menginduksi SOV ketika diberikan dua kali pemberian terpisah setiap 48 jam sekali. [19].

Karakteristik AH-gel

Baru-baru ini, berbagai bahan kimia yang dapat menyerap makromolekul dan mencapai pelepasan berkelanjutan dari berbagai senyawa in vitro telah dikembangkan [20-23]. AH-gel banyak digunakan sebagai adjuvan. Ini biasanya disiapkan dengan menambahkan alkali ke larutan garam aluminium, sehingga menghasilkan oxyhydroxide aluminium ($\text{AlO}(\text{OH})\cdot n\text{H}_2\text{O}$) [24], yang lebih dikenal secara sederhana, meskipun salah, sebagai aluminium hidroksida.



Gambar. 1. AH-gel dalam ampul. Gel bersifat opalescent dan memiliki viskositas rendah.

AH-gel adalah opalescent (Gambar 1) dan memiliki viskositas rendah. AH-gel memiliki morfologi berserat (Gambar 2) memberikannya luas permukaan yang tinggi dan kemampuan tinggi untuk menyerap zat yang berbeda. Kekuatan pengikat utama AH-gel adalah elektrostatis. Jenis interaksi pengikatan lainnya termasuk ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik [25, 26]. Titik muatan nol (TMN) adalah 11,1, menghasilkan permukaan bermuatan positif pada pH netral [27].

Kemampuan Aluminium Hydroxide Gel (AH-gel) untuk Menyerap dan Melepaskan FSH

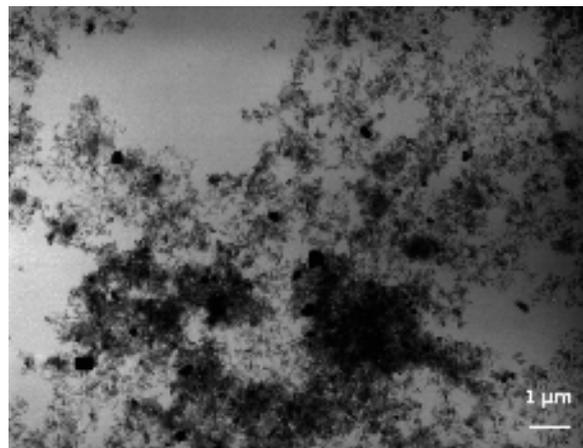
Pertama, kami menyelidiki kemampuan AH-gel untuk menyerap dan melepaskan FSH. Ini dilakukan dengan adanya bovine serum albumin (BSA), yang memfasilitasi pelepasan FSH (lihat di bawah). Porcine FSH (pFSH, 30 unit Armor (AU), Antrin-R10, Kawasaki Pharmaceutical, Jepang) dicampur dengan AH-gel (5 ml pada konsentrasi 3 mg aluminium (Al)/ml dalam saline, pH 7,4, Kyoritsu Pharmaceutical, Jepang), dan kemudian supernatan dipulihkan setelah sentrifugasi. Endapan disuspensikan dalam saline dengan 1% BSA (pH 7,4) dan diinkubasi selama 1 jam pada 37°C. Suspensi ini disentrifugasi lagi dan supernatan itu pulih. Konsentrasi pFSH dalam supernatan diukur dengan radioimmunoassay (RIA). AH-gel menyerap hampir semua pFSH (rata-rata 29,97 mg, 99,9%). Selanjutnya, 22,24 mg pFSH (74,2% dari FSH yang teradsorpsi) dilepaskan dari AH-gel dengan adanya BSA. Hasil ini menunjukkan bahwa AH-gel dapat secara efektif menyerap dan melepaskan pFSH pada BSA.

Cara protein mengikat AH-gel rumit. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa gaya tarik elektrostatis penting untuk adsorpsi protein oleh AH-gel [26, 27]. Sebagaimana disebutkan di atas, AH-gel memiliki titik muatan nol (TMN) adalah 11,1 [27, 28] dan dengan demikian memiliki muatan positif pada pH 7,4. Sebaliknya, pFSH memiliki titik isoelektrik (TIE) 4,5, memberikan muatan negatif pada pH 7,4 [29]. Oleh karena itu, AH-gel dapat menyerap protein ini melalui gaya elektrostatis pada pH 7,4. Selain itu, telah dilaporkan

bahwa protein yang teradsorpsi dapat dipindahkan dari gel oleh protein interstisial [30]. Dalam percobaan kami, pFSH teradsorpsi dirilis pada BSA in vitro. BSA adalah protein utama dari cairan interstisial sapi dan memiliki TIE 5,0 [29]. Dengan demikian, BSA juga bermuatan negatif pada pH 7,4 dengan demikian dapat teradsorpsi oleh AH-gel. Sifat BSA ini dapat menginduksi perpindahan pFSH teradsorpsi dari AH-gel baik secara in vitro maupun in vivo (Gambar 3).

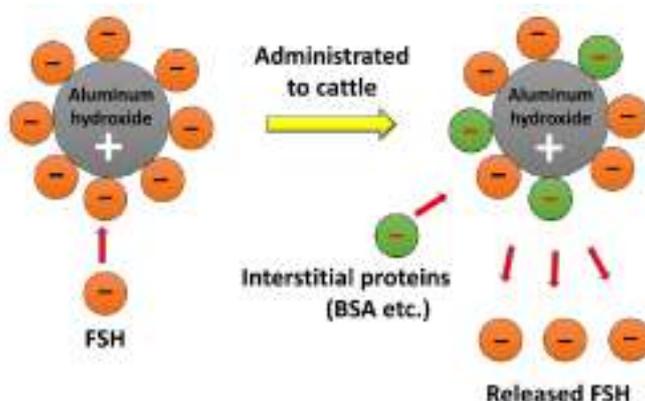
SOV dengan Pemberian FSH Tunggal dengan AH-gel untuk Sapi melalui Rute Intramuscular

Untuk mengevaluasi efek dari pemberian FSH tunggal dalam AH-gel, campuran pFSH (30 AU) dan AH-gel (5 ml, mengandung 3 mg Al / ml) diberikan secara intramuskular ke sapi Japanese Black pada hari ke 9-12 (estrus = hari ke-0). Sebagai kontrol, sapi diberi beberapa penyuntikan pFSH dua kali sehari selama 4 hari (5, 5, 4, 4, 3, 3, 2, dan 2 AU dalam saline). Jadwal penyuntikan pFSH ditunjukkan pada Gambar. 4. Pada 48 jam setelah inisiasi perlakuan, sapi diberikan 750 ug prostaglandin F2 α (PGF2 α) analog (cloprostenol) untuk menginduksi regresi corpus luteum (CL) dan merangsang estrus. Sapi diinseminasi dengan semen beku yang dicairkan pada 12 dan 24 jam setelah deteksi estrus. Tujuh hari setelah inseminasi buatan, embrio dikoleksi tanpa pembedahan, dihitung dan diklasifikasikan untuk menentukan jumlah embrio yang dapat ditransfer (grade 1 dan 2, menurut manual International Embryo Transfer Society [31]). Jumlah CL dan folikel besar (> 8 mm) juga diperkirakan dengan ultrasonografi. Tidak ada perbedaan signifikan yang ditemukan antara dua metode pemberian FSH untuk salah satu pengukuran (Tabel 1), menunjukkan bahwa SOV dengan pemberian FSH tunggal dalam AH-gel sebanding dengan metode pemberian multi konvensional.

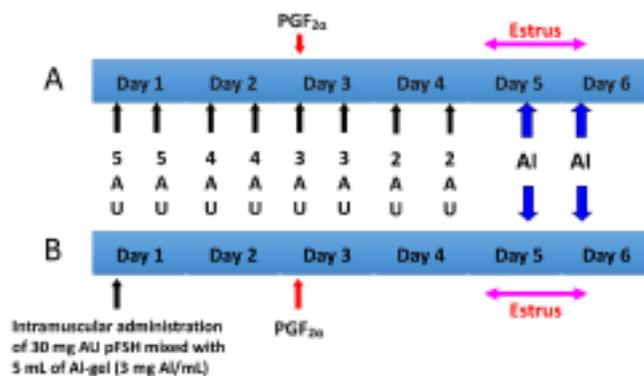


Gambar. 2. Microphotograph of AH-gel. Strukturnya berserat dan tidak membentuk kristal.

Waktu paruh FSH dalam tubuh relatif singkat. Karena penting untuk menjaga konsentrasi FSH tinggi untuk menginduksi pertumbuhan banyak folikuler untuk keberhasilan SOV, dua kali pemberian FSH per hari selama 3-4 hari biasanya diperlukan untuk keberhasilan SOV pada sapi. Yang penting, itu menunjukkan bahwa pemberian FSH tunggal yang dilarutkan dalam salin tidak menginduksi pertumbuhan banyak folikel pada sapi [17].



Gambar. 3. Diagram skematik cara adsorpsi FSH ke AH-gel dan pelepasannya. Pada pH fisiologis (7,4), gel bermuatan positif. Karena FSH bermuatan negatif pada pH ini, maka akan teradsorpsi ke gel. Di hadapan BSA, yang juga bermuatan negatif pada pH ini (baik in vivo dan in vitro), FSH teradsorpsi diganti dan dilepaskan.



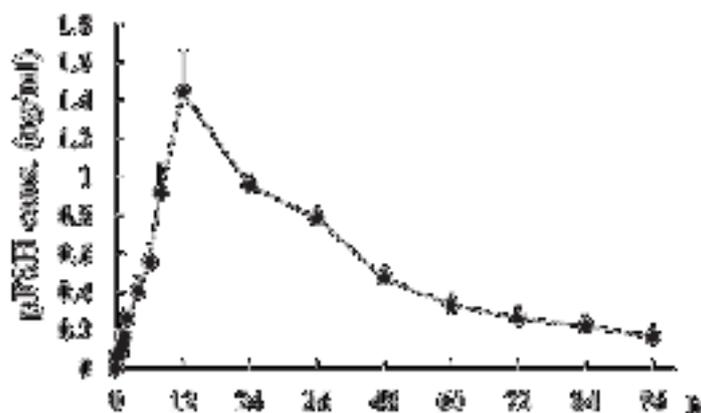
Gambar. 4. Jadwal administrasi pFSH. Metode untuk beberapa administrasi FSH (A) dan satu administrasi FSH dengan AH-gel (B) ditampilkan.

Setelah pemberian intramuskular FSH tunggal dalam AH-gel, FSH pertama kali terdeteksi dalam darah pada 2 jam, memuncak setelah 12 jam dan masih terdeteksi setelah 3 hari (Gambar 5). Hasil ini menunjukkan bahwa AH-gel merilis FSH secara bertahap in vivo serta in vitro. Oleh karena itu, respon ovarium dan koleksi embrio dari dua perlakuan FSH tidak berbeda secara signifikan (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan respon ovarium dan produksi embrio antara metode administrasi multi konvensional dan pemberian intramuskular tunggal pFSH dalam AH-gel yang diberikan pada sapi hitam Jepang.

Treatment	No. of				
	Cows treated	CLs	Large follicles	Eggs recovered	Transferable embryos
AH-gel	15	11.0 ± 1.4	3.7 ± 0.8	11.1 ± 2.5	9.1 ± 2.3
Multiple	15	11.7 ± 1.8	4.0 ± 0.3	9.3 ± 1.7	8.0 ± 1.8

Karena AH-gel adalah zat eksogen, sangat penting untuk menentukan apakah itu dihilangkan dari tubuh atau terakumulasi dalam tubuh, dan apakah itu merusak jaringan di tempat penyuntikan. Pada kelinci, ketika AH-gel diberikan sebagai adjuvant untuk vaksin, gel cepat diserap dan dihilangkan dalam urin [32, 33]. Namun telah disarankan bahwa jika AH-gel tidak cepat dieliminasi dari tempat penyuntikan, sisa AH-gel menginduksi lesi seperti granuloma, akumulasi lesi makrofag, atau macrophagic myofasciitis [34-37]. Pada sapi yang diberikan AH-gel intramuskular, lokasi penyuntikan ditandai oleh munculnya granuloma benda asing, makrofag, sel-sel raksasa benda asing dan monosit (Gambar 6).

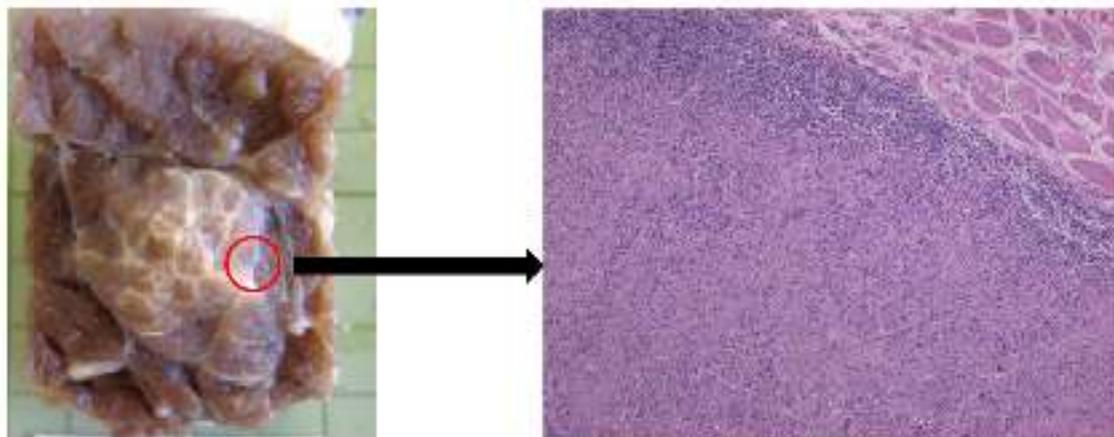


Gambar. 5. Perubahan konsentrasi FSH plasma pada sapi setelah pemberian FSH intramuskular tunggal dengan AH-gel. Nilai ditampilkan sebagai sarana ± standard errors of the means (SEM).

SOV dengan Pemberian FSH Tunggal dengan AH-gel untuk Sapi melalui Rute Subkutan

Seperti disebutkan di atas, lesi terjadi di tempat pemberian intramuskular dari campuran FSH dan AH-gel. Penyuntikan daging sapi dengan vaksin, antibiotik, dan hormon menyebabkan lesi yang memerlukan pemotongan, devaluasi pemotongan, dan ketidakpuasan konsumen karena kekerasan daging [38, 39], yang mengakibatkan kerugian ekonomi dalam produksi daging [40]. Dengan demikian, banyak upaya telah dilakukan untuk menghindari pembentukan lesi tersebut termasuk mitigasi mereka dengan pemberian subkutan [40-42]. Khususnya beberapa laporan menunjukkan bahwa penyuntikan antibiotik, vaksin, hormon, dan vitamin subkutan secara efektif meredakan pembentukan lesi [40-42].

Oleh karena itu, kami berhipotesis bahwa dengan pemberian FSH secara subkutan dalam AH-gel, jumlah AH-gel dapat dikurangi, sehingga mengurangi ukuran lesi.



Gambar. 6. Lesi terjadi di tempat pemberian FSH intramuskular dengan AH-gel. Contoh granuloma benda asing yang terbentuk di situs administrasi (kiri). Akumulasi makrofag, sel raksasa benda asing, dan monosit yang diamati di situs administrasi (kanan).

FSH dalam AH-gel diberikan secara subkutan dalam dosis tunggal di pangkal leher. Jumlah embrio transferable terkoleksi relatif tinggi dengan konsentrasi AI 3 dan 0,3 mg/ml, tetapi menurun secara signifikan ketika konsentrasi AI adalah 0,15 mg/ml (Tabel 2). Namun, semua sapi induksi meningkat pada tempat injeksi. Ukuran induksi meningkat dengan meningkatnya konsentrasi AI dan menurun seiring waktu (Tabel 3). Temuan serupa dilaporkan untuk monyet yang disuntik dengan vaksin yang mengandung AI [36].

Tabel 2. Pengaruh berbagai konsentrasi AI dari AH-gel pada respon superovulasi pada sapi setelah pemberian subkutan tunggal pFSH

AI conc. (mg/ml)	No. of			
	Cows	CLs	Recovered eggs	Transferrable embryos
3	6	10.7 ± 2.9	7.5 ± 2.9	4.8 ± 1.6 ^a
0.3	6	11.7 ± 3.8	9.3 ± 2.9	4.8 ± 1.6 ^a
0.15	6	9.7 ± 3.7	6.7 ± 2.9	1.2 ± 0.5 ^b

Nilai dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama berbeda secara signifikan ($P < 0,05$).

Kami juga meneliti efek dari berbagai volume AH-gel pada respon superovulasi dan ukuran induksi di tempat penyuntikan, sambil menjaga jumlah total AI konstan. Total konten AI dalam satu penyuntikan ditetapkan sebesar 1,5 mg dalam percobaan ini. Mengubah volume gel tetapi menjaga jumlah total AI konstan pada 1,5 mg memiliki sedikit efek pada respon superovulasi (jumlah CL dan ovum yang dikoleksi), meskipun jumlah embrio transferable menurun ketika 1 ml gel digunakan, meskipun Penurunan ini tidak

signifikan (Tabel 4). Ukuran indurasi ditunjukkan pada Tabel 5. Hubungan antara hari setelah pemberian dan volume gel tidak signifikan secara statistik. Ukuran indurasi menurun seiring waktu dan penurunan volume gel (Tabel 5). Pada 5 hari pasca perlakuan, ketika 1 ml dari 1,5 mg Al/ml AH-gel digunakan, ukuran indurasi secara signifikan lebih kecil daripada yang terjadi dengan 5 ml AH-gel dengan 0,3 mg Al/ml. Meskipun ukuran indurasi secara signifikan menurun dengan waktu ketika 5 ml dari 0,3 mg Al/ml gel digunakan, hal tersebut tidak secara signifikan berubah dengan waktu di dua kelompok lainnya. Setelah pemberian subkutan, indurasi kecil (sekitar 15 mm) terdeteksi pada permukaan otot (Gambar 7), tetapi tidak pada otot seperti pada kasus pemberian intramuskular (Gambar 6, foto kiri). Hasil ini menunjukkan bahwa indurasi pada tempat penyuntikan berada di permukaan otot dan ukurannya dipengaruhi oleh volume AH-gel yang diberikan.



Gambar. 7. Lesi terjadi di tempat pemberian FSH subkutan dengan AH-gel. Contoh indurasi (terletak di tengah foto sebagai jaringan coklat-kuning) yang diamati pada permukaan otot di pangkal leher.

Tabel 3. Pengaruh berbagai konsentrasi Al dari AH-gel pada ukuran indurasi setelah pemberian subkutan tunggal pFSH Ukuran indurasi (mm)

Al conc (mg/ml)	No. of cows	Size of induration (mm)					
		5 days ^a		10 days ^a		20 days ^a	
		Length	Width	Length	Width	Length	Width
0.3	6	84.4 ± 9.8 ^{xy}	32.2 ± 8.0 ^l	73.2 ± 7.4 ^{xyz}	30.8 ± 6.8 ^{kl}	64.6 ± 5.4 ^{xy}	17.6 ± 2.0 ^{lm}
0.5	6	36.7 ± 7.0 ^z	21.2 ± 1.7	42.4 ± 3.8 ^{yz}	12.0 ± 2.1 ^{lm}	29.8 ± 4.0 ^z	11.5 ± 2.4 ^{lm}
1.5	6	35.2 ± 7.8 ^{yz}	18.0 ± 5.3 ^l	21.8 ± 7.4 ^{xyz}	6.2 ± 3.2 ^{lmn}	12.0 ± 5.4 ^{yz}	6.2 ± 2.6 ^{lmn}

* Hari setelah memulai pengobatan FSH. a, b Nilai-nilai dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama sangat berbeda (P <0,05). x, y Nilai panjang dengan superskrip berbeda dalam baris yang sama sangat berbeda (P <0,05). l, m Nilai lebar dengan superskrip berbeda dalam baris yang sama sangat berbeda (P <0,05).

Setelah pemberian FSH subkutan dalam AH-gel, konsentrasi FSH dalam darah meningkat secara bertahap dan memuncak pada 8-12 jam, dan masih terdeteksi pada 96 jam (Gambar 8). Rata-rata $9,0 \pm 3,8$ embrio transferable dikoleksi, sedangkan transferable embrio yang dikoleksi setelah pemberian intramuskular dari campuran yang sama (Tabel 6). Pelepasan hormon ke dalam sirkulasi darah lebih lambat dengan pemberian subkutan daripada pemberian intramuskular [43-45]. Dengan demikian, konsentrasi AH-gel yang lebih rendah dapat mempertahankan FSH dan melepaskannya secara bertahap. Di sisi lain, dalam kasus pemberian intramuskular, AH-gel dengan konsentrasi aluminium yang lebih rendah membebaskan FSH dengan cepat.

Tabel 4. Pengaruh berbagai volume AH-gel dengan konten AI total konstan pada respon superovulatori oleh pemberian subkutan tunggal pFSH pada sapi AH gel

AH gel			No. of			
AI conc. (mg/ml)	x	Volume (ml)	Cows	CLs	Recovered eggs	Transferrable embryos
0.3	x	5	6	8.5 ± 4.9	7.5 ± 4.4	5.8 ± 3.5
0.5	x	3	6	10.7 ± 2.9	7.5 ± 2.9	6.2 ± 2.9
1.5	x	1	6	10.5 ± 4.1	6.0 ± 2.7	2.8 ± 1.3

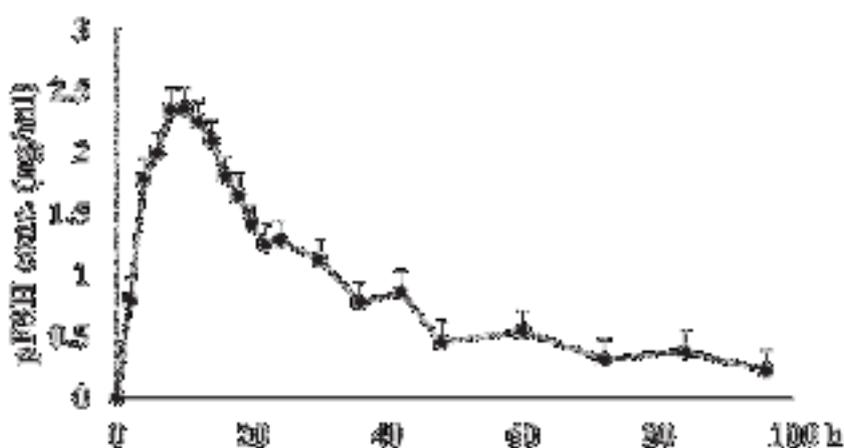
Tabel 5. Pengaruh berbagai volume AH-gel dengan konten AI total konstan pada ukuran indurasi setelah pemberian subkutan tunggal pFSH pada sapi Ukuran indurasi (mm)

AI conc. (mg/ml)	Volume (ml)	No. of cows	Sizes of induration (mm)					
			5 days *		10 days *		20 days *	
			Length	Width	Length	Width	Length	Width
0.3	5	6	45.5 ± 5.2^{ab}	19.3 ± 3.7^{ab}	41.0 ± 5.2^{ab}	12.8 ± 1.3^{ab}	31.8 ± 1.2^y	11.9 ± 1.0^{ab}
0.5	3	6	59.7 ± 3.4^{ab}	12.3 ± 1.4^{ab}	30.5 ± 2.6	10.7 ± 1.4	26.7 ± 2.2	9.2 ± 1.7
1.5	1	6	28.0 ± 2.3^b	10.0 ± 1.8^b	29.8 ± 2.9	12.3 ± 2.6	25.5 ± 1.5	10.0 ± 1.2

* Hari setelah memulai pengobatan FSH. a, b Nilai-nilai dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama sangat berbeda ($P < 0,05$). x, y Nilai panjang dengan superskrip berbeda dalam baris yang sama sangat berbeda ($P < 0,05$). l, m Nilai lebar dengan superskrip berbeda dalam baris yang sama sangat berbeda ($P < 0,05$).

Sebagai adjuvant, AH-gel ditunjukkan untuk meningkatkan penyerapan antigen oleh sel-sel yang menghadirkan antigen in vitro [46], dan memiliki efek langsung pada sifat aksesori dari monosit manusia dengan cara interleukin-4-dependent [47]. Hasil ini meningkatkan kemungkinan bahwa pengulangan perlakuan SOV menggunakan AH-gel akhirnya dapat menginduksi respon kekebalan terhadap FSH, yang dapat mengganggu respon FSH yang diinginkan. Namun, untuk alasan yang tidak jelas, respon SOV menggunakan AH-gel tidak berkurang setelah pemberian berturut-turut (Tabel 7), menunjukkan bahwa donor bernilai tinggi dapat digunakan berulang kali. Dengan pemberian multiple pFSH untuk SOV pada sapi secara konvensional, perlakuan berulang tidak mempengaruhi jumlah embrio yang dikoleksi atau respon ovarium [48]. Homologi urutan

asam amino FSH di antara spesies mungkin penting. Sebagai contoh, pFSH tidak diharapkan untuk menghasilkan respon imun pada sapi sebagai urutan asam amino dari babi dan FSH sapi adalah 96,9% identik dalam subunit α [49, 50] dan 88,1% identik dalam subunit β [51, 52] . Selain itu, AH-gel tampaknya tidak menjadi imunogen yang kuat karena pada kelinci yang divaksin oleh FSH ovin, titer dari antiserum FSH ovin lebih rendah ketika AH-gel digunakan sebagai pembawa daripada ketika ajuvan lengkap Freund digunakan [53]. Bersama-sama, temuan ini menunjukkan bahwa pFSH dalam AH-gel untuk SOV tidak menginduksi respon imun yang penting, dan akibatnya, respon ovarium tampaknya tidak berkurang.



Gambar. 8. Perubahan konsentrasi FSH plasma pada sapi setelah pemberian FSH subkutan tunggal dengan AH-gel. Nilai ditampilkan sebagai sarana \pm SEM.

Tabel 6. Respon superovulasi dari pemberian FSH tunggal dalam AH-gel oleh rute subkutan atau intramuskular

Administration route	No. of			
	Cows	CLs	Recovered eggs	Transferrable embryos
Subcutaneous	4	17.7 \pm 5.2	11.0 \pm 4.0 ^a	9.0 \pm 3.8 ^a
Intramuscular	4	2.7 \pm 2.7	0 ^b	0 ^b

a, b Nilai-nilai dengan superskrip berbeda dalam kolom yang sama sangat berbeda (P <0,05).

Tabel 7. Pengaruh pemberian FSH tunggal secara berulang pada AH-gel pada respon superovulasi pada sapi

SOV period	No. of		
	CLs	Eggs recovered	Transferable embryos
1	15.1 ± 2.7	11.2 ± 2.1	6.8 ± 1.9
2	14.0 ± 1.9	11.4 ± 1.9	5.6 ± 2.1
3	10.6 ± 1.5	8.1 ± 1.9	4.1 ± 0.9
4	12.6 ± 1.9	9.6 ± 2.3	6.1 ± 2.5

Penerapan Pemberian FSH Tunggal dalam AH-gel untuk Spesies Mamalia Lainnya

Pemberian FSH tunggal dalam AH-gel juga efektif untuk SOV pada spesies mamalia lainnya. Untuk SOV kelinci, FSH umumnya digunakan untuk pertumbuhan folikel [54, 55]. Satu kali pemberian FSH dalam PVP telah digunakan untuk menginduksi SOV pada kelinci [56, 57]. Kami sebelumnya menggunakan AH-gel sebagai adsorben FSH untuk SOV pada kelinci [58]. Kami menemukan bahwa jumlah total dan ovum yang dibuahi yang dikoleksi pada kelinci yang diperlakukan dengan FSH dalam AH-gel serupa dengan beberapa suntikan FSH dan secara signifikan lebih besar daripada jumlah yang diperoleh dari satu suntikan FSH dengan PVP.

Selain itu, efek pemberian FSH dalam AH-gel pada berbagai perkembangan folikel dan induksi berat ovarium telah diteliti pada tikus betina dewasa secara *in vivo* [59]. Berat ovarium tikus yang diberikan satu kali penyuntikan FSH dalam AH-gel secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang diberikan beberapa kali penyuntikan dari hormon terlarut dalam salin [60]. Oleh karena itu, kami berharap bahwa satu kali penyuntikan FSH dalam AH-gel akan berguna untuk SOV dari berbagai spesies mamalia.

Kesimpulan

Kami telah mengembangkan satu metode pemberian FSH menggunakan AH-gel untuk SOV pada sapi. Melalui pemberian subkutan, kita dapat mengurangi jumlah total AI dalam gel, meminimalkan kerusakan pada lokasi penyuntikan. Metode ini tidak hanya sederhana dan mudah digunakan, tetapi juga dapat mengurangi stres pada ternak.

Ucapan terima kasih

Kami berterima kasih kepada Dr Matsuyama dan Mrs Suzuki atas dukungan teknis luar biasa mereka. Kami juga sangat berterima kasih kepada semua staf peternakan di Institute of Livestock and Grassland Science. Penelitian ini sebagian didukung oleh hibah dari Proyek Penelitian untuk Memanfaatkan Teknologi Maju MAFF (04-1676).

Daftar Pustaka

1. Hafez ES, Sugie T, Gordon I. Superovulation and related phenomena in the beef cow. I. Superovulatory responses following PMS and HCG injections. *J Reprod Fertil* 1963; 5: 359–379. [Medline] [CrossRef]
2. Hafez ES, Sugie T, Hunt WL. Superovulation and related phenomena in the beef cow. II. Effect of oestrogen administration on production of ova. *J Reprod Fertil* 1963; 5: 381–388. [Medline] [CrossRef]
3. Edelman R, Wasserman SS, Bodison SA, Perry JG, O'Donnoghue M, DeTolla LJ. Phase II safety and immunogenicity study of type F botulinum toxoid in adult volunteers. *Vaccine* 2003; 21: 4335–4347. [Medline] [CrossRef]
4. Murphy BD, Martinuk SD. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr Rev* 1991; 12: 27–44. [Medline] [CrossRef]
5. Jensen AM, Greve T, Madej A, Edqvist LE. Endocrine profiles and embryo quality in the PMSG-PGF2alpha treated cow. *Theriogenology* 1982; 18: 33–44. [Medline] [CrossRef]
6. Moor RM, Kruip TAM, Green D. Intraovarian Control of Folliculogenesis - Limits to Superovulation. *Theriogenology* 1984; 21: 103–116. [CrossRef]
7. Monniaux D, Chupin D, Saumande J. Superovulatory Responses of Cattle. *Theriogenology* 1983; 19: 55–81. [CrossRef]
8. Demoustier MM, Beckers JF, Van Der Zwalm P, Closset J, Gillard JL, Ectors F. Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology* 1988; 30: 379–386. [Medline] [CrossRef]
9. Looney CR, Bondioli KR, Hill KG, Massey JM. Superovulation of Donor Cows with Bovine Follicle-Stimulating-Hormone (Bfsh) Produced by Recombinant DNA Technology. *Theriogenology* 1988; 29: 271. [CrossRef]
10. Hasler JF, McCauley AD, Schemerhorn EC, Foote RH. Superovulatory responses of Holstein cows. *Theriogenology* 1983; 19: 83–99. [CrossRef]
11. Herrler A, Elsaesser F, Parvizi N, Niemann H. Superovulation of dairy cows with purified FSH supplemented with defined amounts of LH. *Theriogenology* 1991; 35: 633–643. [Medline] [CrossRef]
12. Edwards LM, Rahe CH, Griffin JL, Wolfe DF, Marple DN, Cummins KA, Pitchett JF. Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated Hereford heifers. *Theriogenology* 1987; 28: 291–299. [Medline] [CrossRef]
13. Stoebel DP, Moberg GP. Repeated acute stress during the follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers. *J Dairy Sci* 1982; 65: 92–96. [Medline] [CrossRef]
14. Wubishet A, Graves CN, Spahr SL, Kesler DJ. Continuous subcutaneous infusion of follicle-stimulating hormone as a method of superovulating dairy cows. *Theriogenology* 1986; 25: 809–812. [CrossRef]
15. Smith LE Jr, Sitton GD, Vincent CK. Limited injections of follicle stimulating hormone for multiple births in beef cattle. *J Anim Sci* 1973; 37: 523–527. [Medline]
16. Yamamoto M, Ooe M, Kawaguchi M, Suzuki T. Superovulation in the cow with a single intramuscular injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 1994; 41: 747–755. [Medline] [CrossRef]
17. Takedomi T, Aoyagi Y, Konishi M, Kishi H, Taya K, Watanabe G, Sasamoto S. Superovulation of Holstein heifers by a single subcutaneous injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology* 1995; 43: 1259–1268. [Medline] [CrossRef]
18. Tribulo A, Rogan D, Tribulo H, Tribulo R, Alasino RV, Beltramo D, Bianco I, Mapletoft RJ, Bó GA. Superstimulation of ovarian follicular development in beef cattle with a single intramuscular injection of Follitropin-V. *Anim Reprod Sci* 2011; 129: 7–13. [Medline] [CrossRef]
19. Tribulo A, Rogan D, Tribulo H, Tribulo R, Mapletoft RJ, Bó GA. Superovulation of beef cattle with a split-single intramuscular administration of Follitropin-V in two concentrations of hyaluronan. *Theriogenology* 2012; 77: 1679–1685. [Medline] [CrossRef]
20. Mannhalter JW, Neychev HO, Zlabinger GJ, Ahmad R, Eibl MM. Modulation of the human immune response by the non-toxic and non-pyrogenic adjuvant aluminium hydroxide: effect on antigen uptake and antigen presentation. *Clin Exp Immunol* 1985; 61: 143–151. [Medline]
21. Peppas NA, Sahlin JJ. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. *Biomaterials* 1996; 17: 1553–1561. [Medline] [CrossRef]

22. Yewey GL, Duysen EG, Cox SM, Dunn RL. Delivery of proteins from a controlled release injectable implant. *Pharm Biotechnol* 1997; 10: 93–117. [Medline] [CrossRef]
23. Sharma S, Nijdam AJ, Sinha PM, Walczak RJ, Liu X, Cheng MM, Ferrari M. Controlled-release microchips. *Expert Opin Drug Deliv* 2006; 3: 379–394. [Medline] [CrossRef]
24. Shirodkar S, Hutchinson RL, Perry DL, White JL, Hem SL. Aluminum compounds used as adjuvants in vaccines. *Pharm Res* 1990; 7: 1282–1288. [Medline] [CrossRef]
25. al-Shakhshir RH, Regnier FE, White JL, Hem SL. Contribution of electrostatic and hydrophobic interactions to the adsorption of proteins by aluminium-containing adjuvants. *Vaccine* 1995; 13: 41–44. [Medline] [CrossRef]
26. Chang MF, White JL, Nail SL, Hem SL. Role of the electrostatic attractive force in the adsorption of proteins by aluminum hydroxide adjuvant. *PDA J Pharm Sci Technol* 1997; 51: 25–29. [Medline]
27. al-Shakhshir R, Regnier F, White JL, Hem SL. Effect of protein adsorption on the surface charge characteristics of aluminium-containing adjuvants. *Vaccine* 1994; 12: 472–474. [Medline] [CrossRef]
28. Hem SL, White JL. Structure and properties of aluminum-containing adjuvants. *Pharm Biotechnol* 1995; 6: 249–276. [Medline] [CrossRef]
29. Bhow AS. *Handbook of proteins*. Birmingham, Alabama: A&M Publications; 2001.
30. Heimlich JM, Regnier FE, White JL, Hem SL. The in vitro displacement of adsorbed model antigens from aluminium-containing adjuvants by interstitial proteins. *Vaccine* 1999; 17: 2873–2881. [Medline] [CrossRef]
31. Stringfellow DA, Seidel SM. *Manual of the International Embryo Transfer Society : a procedural guide and general information for the use of embryo transfer technology emphasizing sanitary procedures*. International Embryo Transfer Society; 1998.
32. Flarend RE, Hem SL, White JL, Elmore D, Suckow MA, Rudy AC, Dandashli EA. In vivo absorption of aluminium-containing vaccine adjuvants using 26Al. *Vaccine* 1997; 15: 1314–1318. [Medline] [CrossRef]
33. Hem SL. Elimination of aluminum adjuvants. *Vaccine* 2002; 20(Suppl 3): S40–S43. [Medline] [CrossRef]
34. Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, Belec L, Moretto P, Dreyfus PA, Pellissier JF, Chariot P, Authier FJ. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001; 124: 1821–1831. [Medline] [CrossRef]
35. Valtulini S, Macchi C, Ballanti P, Cherel Y, Laval A, Theaker JM, Bak M, Ferretti E, Morvan H. Aluminium hydroxide-induced granulomas in pigs. *Vaccine* 2005; 23: 3999–4004. [Medline] [CrossRef]
36. Verdier F, Burnett R, Michelet-Habchi C, Moretto P, Fievet-Groyne F, Sauzeat E. Aluminium assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminium containing vaccines in the Cynomolgus monkey. *Vaccine* 2005; 23: 1359–1367. [Medline] [CrossRef]
37. Israeli E, Agmon-Levin N, Blank M, Shoenfeld Y. Macrophagic myofasciitis a vaccine (alum) autoimmune-related disease. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011; 41: 163–168. [Medline] [CrossRef]
38. George MH, Morgan JB, Glock RD, Tatum JD, Schmidt GR, Sofos JN, Cowman GL, Smith GC. Injection-site lesions: incidence, tissue histology, collagen concentration, and muscle tenderness in beef rounds. *J Anim Sci* 1995; 73: 3510–3518. [Medline]
39. George MH, Cowman GL, Tatum JD, Smith GC. Incidence and sensory evaluation of injection-site lesions in beef top sirloin butts. *J Anim Sci* 1996; 74: 2095–2103. [Medline]
40. Van Donkersgoed J, Dubeski PL, Aalhus JL, VanderKop M, Dixon S, Starr WN. The effect of vaccines and antimicrobials on the formation of injection site lesions in subprimals of experimentally injected beef calves. *Can Vet J* 1999; 40: 245–251. [Medline]
41. Van Donkersgoed J, Dubeski PL, VanderKop M, Aalhus JL, Bygrove S, Starr WN. The effect of animal health products on the formation of injection site lesions in subprimals of experimentally injected beef calves. *Can Vet J* 2000; 41: 617–622. [Medline]
42. Colazo MG, Martínez MF, Kastelic JP, Maplettof RJ. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 2002; 72: 47–62. [Medline] [CrossRef]
43. Burrows GE, Griffin DD, Pippin A, Harris K. A comparison of the various routes of administration of erythromycin in cattle. *J Vet Pharmacol Ther* 1989; 12: 289–295. [Medline] [CrossRef]

44. Bo GA, Hockley DK, Nasser LF, Mapletoft RJ. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Follitropin-V in beef cattle. *Theriogenology* 1994; 42: 963–975. [Medline] [CrossRef]
45. Knox RV, Tudor KW, Rodriguez-Zas SL, Robb JA. Effect of subcutaneous vs intramuscular administration of P.G. 600 on estrual and ovulatory responses of prepubertal gilts. *J Anim Sci* 2000; 78: 1732–1737. [Medline]
46. Baylor NW, Egan W, Richman P. Aluminum salts in vaccines—US perspective. *Vaccine* 2002; 20(Suppl 3): S18–S23. [Medline] [CrossRef]
47. Ulanova M, Tarkowski A, Hahn-Zoric M, Hanson LA. The Common vaccine adjuvant aluminum hydroxide up-regulates accessory properties of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism. *Infect Immun* 2001; 69: 1151–1159. [Medline] [CrossRef]
48. Lubbadah WF, Graves CN, Spahr SL. Effect of repeated superovulation on ovulatory response of dairy cows. *J Anim Sci* 1980; 50: 124–127. [Medline]
49. Goodwin RG, Moncman CL, Rottman FM, Nilson JH. Characterization and nucleotide sequence of the gene for the common alpha subunit of the bovine pituitary glycoprotein hormones. *Nucleic Acids Res* 1983; 11: 6873–6882. [Medline] [CrossRef]
50. Kato Y, Ezashi T, Hirai T, Kato T. The gene for the common alpha subunit of porcine pituitary glycoprotein hormone. *J Mol Endocrinol* 1991; 7: 27–34. [Medline] [CrossRef]
51. Maurer RA, Beck A. Isolation and nucleotide sequence analysis of a cloned cDNA encoding the beta-subunit of bovine follicle-stimulating hormone. *DNA* 1986; 5: 363–369. [Medline] [CrossRef]
52. Kato Y. Cloning and DNA sequence analysis of the cDNA for the precursor of porcine follicle stimulating hormone (FSH) beta subunit. *Mol Cell Endocrinol* 1988; 55: 107–112. [Medline] [CrossRef]
53. Westhoff WE, Slootstra JW, Puijk WC, Kuperus D, Flinterman JF, Schaaper WM, Oonk HB, Meloen RH. Detection of epitopes on follicle-stimulating hormone and FSH-antiserum-induced suppression of bioactivity of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. *J Reprod Immunol* 1996; 30: 133–149. [Medline] [CrossRef]
54. Treloar AF, Schabdach DG, Sansing S, Keller LS. Superovulation of New Zealand white rabbits by continuous infusion of follicle-stimulating hormone, using a microosmotic pump. *Lab Anim Sci* 1997; 47: 313–316. [Medline]
55. Kauffman RD, Schmidt PM, Rall WF, Hoeg JM. Superovulation of rabbits with FSH alters in vivo development of vitrified morulae. *Theriogenology* 1998; 50: 1081–1092. [Medline] [CrossRef]
56. Hirabayashi M, Hirao M, Takahashi R, Kimura K, Hirasawa K, Ueda M, Hochi S. Production of transgenic rabbits using centrifuged pronuclear zygotes. *J Vet Med Sci* 2000; 62: 1047–1052. [Medline] [CrossRef]
57. Mehaisen GMK, Viudes-de-Castro MP, Vicente JS, Lavara R. In vitro and in vivo viability of vitrified and non-vitrified embryos derived from eCG and FSH treatment in rabbit does. *Theriogenology* 2006; 65: 1279–1291. [Medline] [CrossRef]
58. Hashimoto S, Kimura K, Kuramochi T, Aoyagi K, Hirako M, Kawaguchi M, Iwata H, Hirao M, Kitada K, Hirasawa K, Ueda M. Responsiveness of rabbits to superovulation treatment by a single injection of follicle-stimulating hormone with aluminum hydroxide gel. *Mol Reprod Dev* 2007; 74: 1208–1212. [Medline] [CrossRef]
59. Steelman SL, Pohley FM. Assay of the follicle stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. *Endocrinology* 1953; 53: 604–616. [Medline] [CrossRef]
60. Kimura K, Hirako M, Iwata H, Aoki M, Kawaguchi M, Seki M. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. *Theriogenology* 2007; 68: 633–639. [Medline] [CrossRef]

Analisis Jenis Kelamin Embryo dan Kimera Kromosom Sex dengan Amplifikasi Isothermal Loop-Mediated pada Sapi dan Kerbau Rawa

Hiroki HIRAYAMA¹⁾, Soichi KAGEYAMA¹⁾, Satoru MORIYASU¹⁾, Ken SAWAI²⁾ dan Akira MINAMIHASHI¹⁾

1) Kelompok Bioteknologi Hewan, Pusat Penelitian Hewan, Hokkaido Research Organization, Hokkaido 081-0038, Jepang

2) Departemen Ilmu Hewan, Fakultas Pertanian, Universitas Iwate, Iwate 020-8550, Jepang

Abstrak

Pada ternak domestik dari keluarga Bovidae, seleksi jenis kelamin pada keturunannya telah diminta untuk kemudahan produksi susu / daging sapi dan pembiakan ternak. Pengembangan teknik transfer embrio tanpa pembedahan dan metode seleksi jenis kelamin embrio preimplantasi menjadi memungkinkan dilakukan. Seleksi jenis kelamin berdasarkan deteksi urutan DNA spesifik kromosom Y dianggap sebagai metode yang paling andal hingga saat ini. PCR memungkinkan amplifikasi urutan target dari sejumlah kecil blastomer. Namun, itu membutuhkan keterampilan teknis dan memakan waktu. Selanjutnya, PCR memiliki risiko positif palsu karena kontaminasi DNA selama penanganan produk PCR dalam prosedur PCR duplikat dan / atau elektroforesis. Oleh karena itu, untuk embrio sexing menjadi banyak digunakan dalam industri transfer embrio ternak, metode seleksi jenis kelamin yang sederhana, cepat dan tepat perlu dikembangkan. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) adalah metode amplifikasi DNA baru, dan reaksi dilakukan di bawah kondisi isothermal (kisaran, 60-65 °C) menggunakan DNA polymerase dengan aktivitas perpindahan untai. Ketika DNA target diamplifikasi oleh LAMP, endapan putih yang berasal dari magnesium pirofosfat (produk samping reaksi LAMP) diamati. Perlu dicatat bahwa LAMP tidak memerlukan reagen khusus atau elektroforesis untuk mendeteksi DNA yang diperkuat. Ulasan ini menjelaskan pengembangan dan penerapan metode seleksi jenis kelamin embrio menggunakan LAMP pada sapi dan kerbau rawa.

Kata kunci : Sapi, amplifikasi DNA, Embrio, LAMPU, Sexing

Dewasa ini, dengan penyebaran teknologi untuk transfer embrio dan manipulasi embrio, memungkinkan untuk menghasilkan ternak domestik yang berasal dari embrio yang didiagnosis sifat genetiknya. Beberapa peneliti telah mencoba untuk menganalisis polimorfisme genetik pada embrio preimplantasi, dan salah satu sifat yang telah menjadi banyak perhatian adalah seleksi jenis kelamin keturunan. Pada ternak domestik dari keluarga Bovidae, Seleksi jenis kelamin pada keturunannya telah diminta untuk kemudahan produksi susu / daging sapi dan pembiakan hewan.

Transfer embrio ganda memungkinkan kembar pada sapi. Kembar dapat terjadi, dalam banyak kasus, meningkatkan pendapatan dari seekor sapi. Prediksi jenis kelamin

pada embrio preimplantasi berguna untuk mencegah freemartin pada kembar heteroseksual. Selanjutnya, teknologi diagnosis genetik dengan kepekaan tinggi untuk embrio sexing berlaku untuk pemeriksaan jenis kelamin kromosom kimera pada kembar betina heteroseksual. Ulasan ini menjelaskan pengembangan dan penerapan metode seleksi jenis kelamin embrio menggunakan teknik amplifikasi DNA isothermal.

Embryo Sexing

Pada sapi, analisis sitogenetika awalnya dilakukan untuk mengidentifikasi jenis kelamin trofoblas biopsi embrio dari hari ke-12 hingga 15 [1], embrio terbelah [2, 3] dan biopsi embrio dari hari ke 6 sampai 7 [4, 5]. Faktor pembatas dengan teknik ini adalah jumlah sel relatif dalam fase metafase. Williams [6] melaporkan metode sexing embrio pada tikus dengan pemeriksaan enzim X-link, glukosa 6-fosfat dehidrogenase (G6PD), yang memungkinkan prediksi jenis kelamin tanpa biopsi embrio. Metode ini didasarkan pada temuan bahwa embrio betina memiliki dua kromosom X dan kedua kromosom X tampaknya berpotensi aktif pada embrio awal [7]. Embryo sexing dengan antigen histocompatibility-Y (H-Y), yang hadir dalam sel jantan, juga dipelajari secara intensif pada tikus [8]. Metode sexing non-invasif ini juga dicoba pada ternak. Iwata dkk. [9] menunjukkan bahwa aktivitas G6PD tinggi pada betina dibandingkan dengan jantan pada tahap embrio morula. Deteksi immunofluorescent [10] dan penghambatan pembentukan blastocoel [11] menggunakan antibodi H-Y dilakukan pada embrio. Namun, reproduktifitas dan reliabilitas dari metode non-invasif ini tidak cukup untuk aplikasi praktis.

Identifikasi sekuens DNA spesifik kromosom Y memungkinkan untuk mengembangkan teknik biologi molekuler untuk jenis kelamin embrio yang dapat diandalkan. Fluoresensi in situ hibridisasi (FISH) dengan probe DNA untuk kromosom-Y digunakan untuk membedakan antara sel jantan dan betina [12]. Sampai saat ini, metode akurat dan cepat menggunakan FISH telah dilaporkan; Namun, diperlukan proses yang rumit [13]. Prosedur embrio sexing berdasarkan amplifikasi DNA spesifik kromosom Y juga telah dilaporkan pada beberapa spesies (manusia, Handyside dkk. [14]; tikus, Bradbury dkk. [15]; babi, Pomp et al. [16]; domba, Harpreet et al. [17]) sejak polymerase chain reaction (PCR) dibuat [18]. Secara khusus, PCR menggunakan urutan berulang yang sangat tinggi pada kromosom Y memungkinkan untuk memperkuat urutan target dari sejumlah kecil blastomer [14, 19, 20]. Pada ternak, Herr dkk. [21] melaporkan prediksi jenis kelamin yang akurat dari pedet dengan embrio sexing berdasarkan PCR. Dibandingkan dengan metode sebelumnya, PCR menawarkan juga keuntungan yang tak ternilai karena sangat cepat. Fakta ini memungkinkan embrio sexing untuk ditransfer ke resipien tanpa pembekuan

embrio. Namun, PCR bukan teknologi yang mudah digunakan untuk embrio sexing di bidang produksi, karena kontrol suhu yang ketat diperlukan untuk primer annealing dan sintesis DNA. Selanjutnya, elektroforesis untuk memvisualisasikan produk yang diperkuat sangat memakan waktu dan menciptakan risiko positif palsu karena kontaminasi DNA. Oleh karena itu, pengembangan prosedur seleksi jenis kelamin embrio yang lebih cepat dan sederhana dari itu dengan PCR sekarang diperlukan untuk penyebaran teknologi pemilihan jenis kelamin.

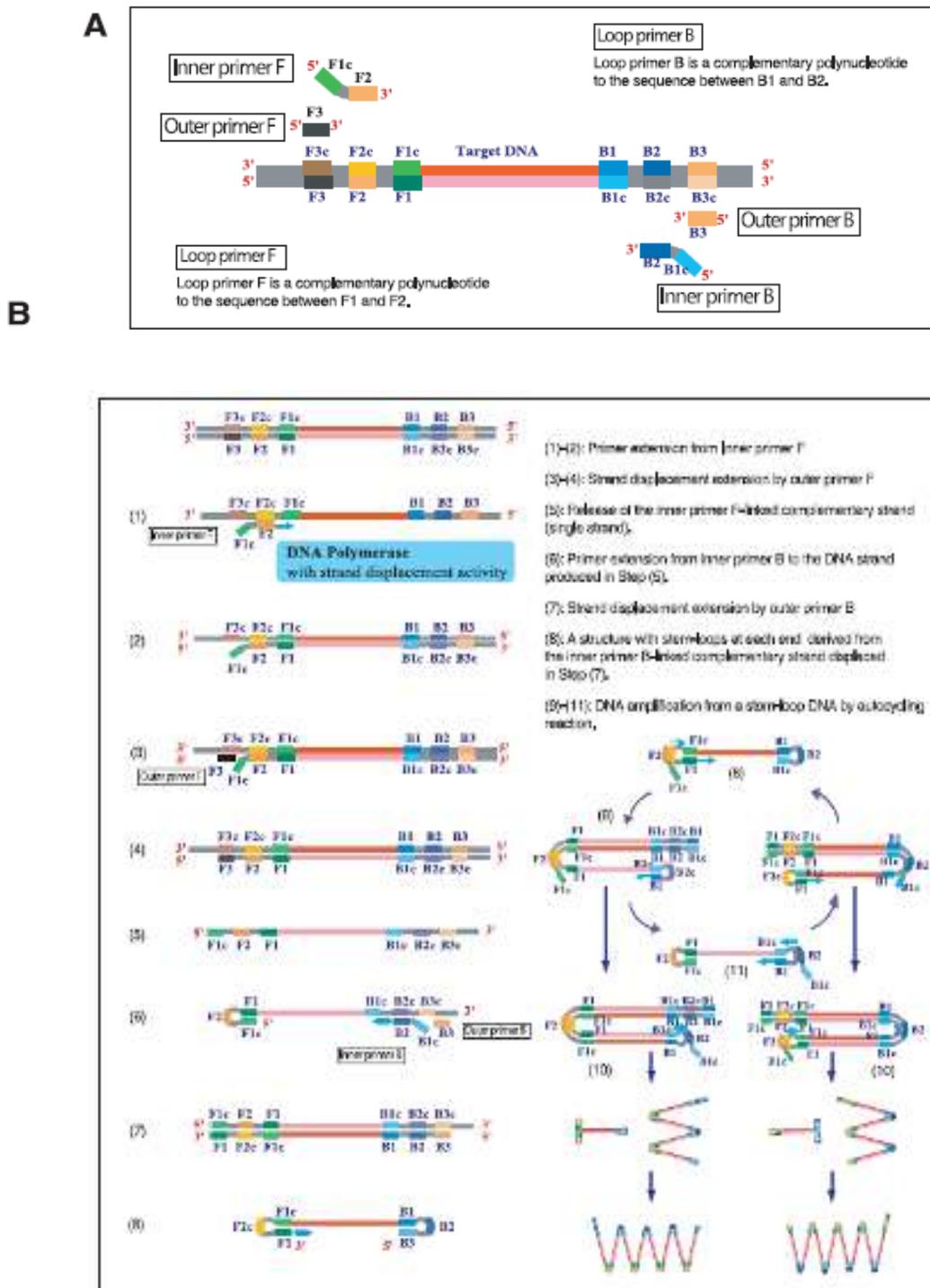
Loop-Mediated Isotermal Amplifikasi

Berbeda dengan PCR di mana urutan DNA target diperkuat oleh perubahan suhu antara sekitar 50 dan 95 °C, metode amplifikasi DNA isotermal telah dikembangkan baru-baru ini. Loop-Mediated Isotermal Amplifikasi (LAMP) adalah metode amplifikasi DNA yang dapat memperkuat urutan DNA tertentu dalam kisaran 60-65 °C [22]. DNA polymerase, dengan aktivitas perpindahan untai tinggi, memungkinkan auto-cycling pemindahan untai DNA synthesis dalam kondisi isotermal. LAMP menggunakan seperangkat empat primer spesifik (disebut set primer luar dan dalam) yang mengenali total enam urutan yang berbeda pada DNA target (Gambar 1A). Selanjutnya, set primer tambahan (disebut primer loop) digunakan untuk mempercepat reaksi LAMP [23]. Sebuah primer dalam memulai sintesis DNA primer, dan selanjutnya pemindahan untai DNA oleh primer luar melepaskan DNA berantai tunggal yang berasal dari primer bagian dalam (Gambar 1B). Langkah-langkah awal menghasilkan struktur DNA stem-loop, yang merupakan struktur DNA khas dalam LAMP, dan kemudian sejumlah besar DNA diamplifikasi dari DNA stem-loop oleh reaksi autocycling. Dalam kasus tercepat, LAMP dapat memperkuat urutan target dalam waktu sekitar 15 menit. Selanjutnya, amplifikasi DNA oleh LAMP dapat dideteksi dengan pengukuran kekeruhan larutan reaksi, karena endapan putih magnesium pirofosfat (produk samping sintesis DNA) dihasilkan ketika urutan target berhasil diperkuat [24]. Oleh karena itu, LAMP tidak membutuhkan elektroforesis untuk mendeteksi produk DNA yang diperkuat. Sifat-sifat ini menunjukkan bahwa LAMP akan cocok untuk aplikasi analisis DNA di lapangan dibandingkan dengan PCR.

Sexing Embrio Sapi (*Bos taurus*) Menggunakan LAMP

Kageyama dkk. [20] menemukan sekuens DNA berulang yang menunjukkan S4 yang spesifik untuk ternak jantan. Kami mengembangkan alat sexing embrio sapi dengan menggabungkan urutan S4 dengan LAMP sebagai kasus pertama penggunaan komersial LAMP (Gbr. 2) [25]. Kit sexing embrio berisi dua jenis pereaksi untuk mendeteksi urutan S4

dan 1.715 urutan satelit DNA [25] dari blastomer yang dibiopsi. Deteksi urutan 1.715 DNA memungkinkan untuk mengkonfirmasi tidak adanya blastomer dalam tabung pengumpulan sampel, dan dengan demikian penilaian palsu dari sampel (ditentukan untuk menjadi betina) dikecualikan. Kit sexing embrio memiliki sensitivitas tinggi dan dapat secara akurat menentukan jenis kelamin embrio dari beberapa blastomer (Tabel 1).



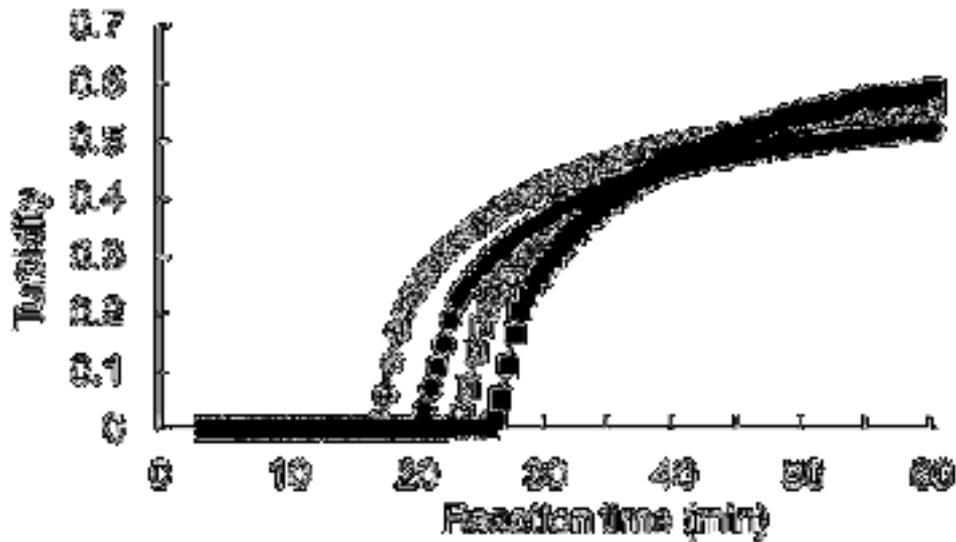
Gambar 1. Prinsip-prinsip amplifikasi DNA oleh LAMP. (A) Desain primer. (B) Prinsip dasar.

Aplikasi di lapangan dari sexing embrio berbasis LAMP telah dicoba [25]. Sebanyak 113 embrio in vivo menjadi sasaran sexing embrio berbasis LAMP; dengan nilai masing-masing 58 (51%) embrio sebagai jantan dan 55 (49%) embrio sebagai betina. Sebanyak 61 embrio segar disexing, 23 embrio sebagai jantan dan 38 embrio sebagai betina, ditransfer ke ternak betina resipien (satu embrio per resipien). Tigapuluh lima ekor (57%) dari ternak resipien didiagnosa bunting, dan 33 ekor ternak reipien melahirkan 12 ekor pedet jantan dan 21 ekor pedet betina, semua sesuai dengan prediksi jenis kelamin.



Gambar. 2. Bovine embryo sexing kit dengan LAMP (A) dan deteksi amplifikasi DNA oleh kekeruhan campuran reaksi (B). Tabung reaksi pada sisi kiri di panel B menunjukkan endapan putih magnesium pirofosfat yang dihasilkan oleh reaksi LAMP.

Kit sexing embrio memperkuat urutan target dalam waktu 40 menit pada suhu 65 °C (Gambar 3). Pengukuran kekeruhan titik akhir dan pemantauan kekeruhan waktu sebenarnya adalah teknik yang mudah digunakan untuk mendeteksi amplifikasi DNA. Selanjutnya, produk DNA yang diperkuat tidak dikeluarkan dari tabung reaksi dalam metode ini, yang membantu mencegah kontaminasi dan menilai jenis kelamin dengan cepat. Meskipun metode sexing berdasarkan PCR tanpa elektroforesis telah dikembangkan [27, 29, 34], metode ini memerlukan transilluminator ultraviolet dan peralatan reaksi yang mahal untuk siklus termal yang cepat. Melakukan reaksi LAMP dan mengukur kekeruhan yang dihasilkan sangat sederhana. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa sexing embrio berbasis LAMP cocok untuk aplikasi lapangan.



Gambar. 3. Real-time monitoring amplifikasi DNA menggunakan kekeruhan campuran reaksi LAMP. Absorbansi campuran reaksi pada 650 nm diukur setiap 30 detik untuk deteksi kekeruhan. Reaksi malespecific menggunakan DNA diekstrak dari single blastomere (●) dan S4 (3000 copy) plasmid DNA (○) sebagai template. Reaksi umum malefemale menggunakan DNA diekstraksi dari satu blastomere (■) dan 1.715 satelit urutan (3×10^5 salinan) plasmid DNA (□) sebagai template.

Sexing Embrio Kerbau Rawa (*Bubalus bubalis*) Menggunakan LAMP

Kerbau rawa merupakan ternak alternatif untuk daerah tropis yang beriklim lembab panas, dan telah dternakkan untuk produksi susu terutama di Eropa. Sexing embrio pada kerbau (*Bubalus bubalis*), yang termasuk dalam genus yang berbeda dalam famili Bovidae, juga telah dipelajari seperti pada sapi [35, 36]. Kami menunjukkan bahwa LAMP memiliki banyak keuntungan dalam aplikasi sexing embrio pada sapi. Namun, prosedur yang digunakan untuk mendeteksi urutan kromosom Y spesifik pada sapi, S4 [20], tidak berlaku untuk kerbau rawa, mungkin karena variasi genetik antara genus ini.

Urutan kromosom Y sapi, BRY, telah diidentifikasi sebagai urutan berulang dan dilaporkan digunakan pada domba, kambing, dan rusa [37, 38]. Pada kerbau rawa, Appa Rao dan Totey [39] melaporkan urutan homolog BRY.1 (BuRY.I) dan mengembangkan prosedur PCR untuk sexing embrio menggunakan primer spesifik untuk BuRY.I. BRY.2 adalah fragmen yang lebih besar dari 3,7 kb, yang diisolasi sebagai urutan spesifik jantan termasuk wilayah homolog ke BRY.1 [38]. Kami mengidentifikasi sekuens parsial dari homolog BRY.2 pada kerbau rawa dan kerbau lumpur yang berasal dari daerah yang berbeda dari BuRY.I dan menunjuk mereka masing-masing sBuRY.2 dan rBuRY.2 [40]. BuRY.2 sangat cocok untuk kerbau rawa dan kerbau sungai, meskipun fakta bahwa spesies ini memiliki kariotipe yang berbeda (tipe rawa, $2n = 48$; tipe lumpur, $2n = 50$) dan memiliki diferensiasi genetik yang signifikan [41, 42]. Oleh karena itu, penulis menyimpulkan bahwa urutan seperti BRY dalam keluarga Bovidae tetap stabil.

Tabel 1. Sensitivitas dan akurasi dari embrio berbasis embrio pada ternak

No. of blastomeres used for assay	No. of embryos examined	No. (%) with satellite sequence detected	No. (%) correctly determined
1	15	12 (80)	9 (75)
2	28	26 (93)	23 (88)
3	16	13 (81)	13 (100)
4	16	16 (100)	16 (100)
5	17	17 (100)	17 (100)

Jantan-spesifik (sBuRY.2) dan jantan-betina umum (12S rRNA) kedua DNA terdeteksi oleh LAMP [40]. Reaksi LAMP hanya membutuhkan sekitar 45 menit, dan total waktu yang diperlukan untuk sexing embrio, termasuk ekstraksi DNA, adalah sekitar 1 jam. Prosedur ini memungkinkan untuk menentukan jenis kelamin dalam waktu singkat dibandingkan dengan prosedur berbasis PCR [35, 39]. Prosedur sexing embrio berbasis LAMP menunjukkan kepekaan dan akurasi yang cukup ketika blastomer embrio transfer interspesies (NT) direkonstruksi dengan inti kerbau rawa dan oosit sapi. Jenis kelamin yang ditentukan dari blastomer berhubungan dengan jenis kelamin sel donor nuklear yang digunakan untuk NT ketika analisis dilakukan menggunakan 4 atau 5 blastomer sebagai pola baku.

Penerapan LAMP untuk sexing embrio ditunjukkan pada hewan domestik selain ternak. Kami percaya bahwa prosedur ini akan meningkatkan efisiensi produksi hewan dan memajukan pembiakan ternak.

Analisis Kimera Kromosom Sex Pada Kembar Heteroseksual Betina dengan LAMP

Sapi freemartin merupakan sapi steril bawaan, yang terjadi karena pembentukan koneksi vaskular antara fetus kembar heteroseksual selama perkembangan plasenta [43]. Telah dilaporkan bahwa freemartin menunjukkan kimera kromosom sex pada leukosit perifer [44, 45], dan sapi dengan kimera kromosom sex disajikan perkembangan abnormal dari saluran reproduksi dan respon ovarium yang buruk terhadap pemberian gonadotropin [46, 47]. Faktanya, sekitar 90% dari sapi dara yang berasal dari kebuntingan kembar heteroseksual tidak subur [48]. Pedet ini dijual untuk daging dan pemeliharaan lebih lanjut. Namun, jika ternak tersebut tidak dikenali sejak dini, itu bisa membuang-buang waktu untuk

membesarkan ternak tersebut sebagai ternak pengganti. Sisa saudara kembar betina (sekitar 10%) bukan freemartin. Jika semua saudara kembar betina dijual, mereka mewakili hilangnya materi genetik yang penting. Metode diagnosis dini untuk freemartin telah diminta untuk mencegah kerugian ini.

Tabel 2. Cytogenetic dan analisis DNA kimera kromosom dalam darah perifer

Number	Animal		Sex chromosome analysis			DNA analysis	
	Age (weeks)	Vaginal length (cm)	60 XX	60 XY	(XY %)	PCR	LAMP
1	1	5	10	8	(44)	Chimera	Chimera
2	1	6	12	13	(52)	Chimera	Chimera
3	1	6	147	53	(27)	Chimera	Chimera
4	5	7.5	167	33	(17)	Chimera	Chimera
5	2	8	154	46	(23)	Chimera	Chimera
6	1	9	74	186	(72)	Chimera	Chimera
7	3	9	37	10	(21)	Chimera	Chimera
8	2	9	171	29	(15)	Chimera	Chimera
9	10	10	161	39	(20)	Chimera	Chimera
10	1	11.5	153	32	(17)	Chimera	Chimera
11	1	9	200	0	(0)	Normal	Normal
12	3	9.5	200	0	(0)	Normal	Normal
13	3	12	200	0	(0)	Normal	Normal
14	2	NE	200	0	(0)	Normal	Normal

NE, not examined.

Sampai saat ini, banyak metode diagnostik freemartin yang telah dikembangkan, misalnya, pengukuran panjang vagina [49], kariotipe [44, 45] dan amplifikasi DNA spesifik jantan [50-53]. Metode amplifikasi DNA spesifik-jantan berdasarkan PCR secara khusus telah digunakan untuk analisis kimera kromosom sex pada leukosit perifer karena sensitivitas dan kecepatannya yang tinggi.

Sebagian besar (sekitar 80%) freemartin akan diidentifikasi dengan benar ketika tes vagina digunakan [49, 54]. Oleh karena itu telah diusulkan bahwa freemartin yang jelas diidentifikasi dengan menggunakan uji panjang vagina dan bahwa sisa pedet yang dipertanyakan secara klinis dibedakan secara sitogenetika [55]. Miyake dkk. [49] melaporkan bahwa karyotyping memungkinkan deteksi kimera kromosom sex pada sapi yang genitalia eksternal hampir normal dalam penampilan. Namun, karyotyping memakan waktu, dan sulit untuk menentukan keberadaan jumlah leukosit XY rendah kurang dari 1%. Sebaliknya, analisis kimera kromosom dengan PCR menguat sensitivitas tinggi DNA spesifik jantan pada leukosit perifer, sedangkan populasi XY leukosit hingga XX leukosit tidak dapat diperkirakan. Laporan sebelumnya telah menunjukkan bahwa amplifikasi PCR dari sekuens

berulang kromosom-Y-spesifik memungkinkan deteksi 0,1-0,05% darah jantan dalam darah betina [50, 53].

Analisis kimera kromosom di mana urutan kromosom-Y-spesifik yang sangat berulang diperkuat oleh LAMP, juga mendeteksi keberadaan leukosit 0,01% XY dalam darah betina. Hasilnya menunjukkan bahwa prosedur ini mampu mendeteksi ke tingkat leukosit XY 1/10000 dan memiliki sensitivitas yang sama atau lebih tinggi daripada prosedur berbasis PCR. Keakuratan analisis kimera kromosom sex dengan LAMP diverifikasi dengan sampel dari betina kembar heteroseksual (Tabel 2). Dari semua pedet yang diperiksa, tidak ada kontradiksi dari hasil analisis karyotyping, PCR dan LAMP. Sampai saat ini, telah dikonfirmasi bahwa empat ekor sapi non-chimeric menunjukkan estrus dan melahirkan setelah IB.

Kesimpulan

Baru-baru ini, penggunaan semen yang diseleksi jenis kelamin telah menyebar paling cepat dalam manajemen reproduksi sapi perah. Di sisi lain, embrio sexing adalah teknik penting dalam pembiakan hewan berdasarkan produksi pejantan dan induk yang dipilih secara genetik. Ulasan ini menjelaskan bahwa LAMP sangat berguna untuk diagnosis DNA menggunakan sejumlah kecil pola baku di lapangan. Kami mengira bahwa LAMP membuat manajemen peternakan lebih efisien melalui penyebaran diagnosis DNA seperti embrio sexing dan analisis kimera kromosom sex.

Ucapan Terima Kasih

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Komunitas untuk Reproduksi dan Pengembangan (SRD) karena menganugerahkan Penghargaan Investigator Muda SRD 2012 kepada penulis pertama dari makalah ini. Penulis yang berterima kasih kepada Prof Y Takahashi (Universitas Hokkaido), Prof S Katagiri (Universitas Rakuno Gakuen) dan Prof M Sakaguchi (Universitas Kitasato) untuk pengawasan dan dukungan mereka yang sangat baik.

Daftar Pustaka

1. Hare WCD, Mitchel ID, Betteridge KJ, Eaglesome MD, Randall GCB. Sexing twoweek old bovine embryos by chromosomal analysis prior to surgical transfer: preliminary methods and results. *Theriogenology* 1976; 5: 243–253.
2. Picard L, King WA, Betteridge KJ. Cytological studies of bovine half-embryos. *Theriogenology* 1984; 21: 252.
3. Seike N, Utaka K, Kanagawa H. Production and development of calves from sexedbisected bovine embryos. *Jpn J Vet Res* 1990; 38: 1–9. [Medline]
4. Schneider U, Hahn J. Bovine embryo transfer in germany. *Theriogenology* 1979; 11: 63–80.

5. Singh EL, Hare WCD. The feasibility of sexing bovine morula stage embryos prior to embryo transfer. *Theriogenology* 1980; 14: 421–427.
6. Williams TJ. A technique for sexing mouse embryos by a visual colorimetric assay of the X-linked enzyme, glucose 6-phosphate dehydrogenase. *Theriogenology* 1986; 25:733–739. [Medline]
7. Epstein CJ. Mammalian oocytes: X chromosome activity. *Science* 1969; 163: 1078–1079. [Medline]
8. Wachtel SS. H-Y antigen in the study of sex determination and control of sex ratio. *Theriogenology* 1984; 21: 18–28.
9. Iwata H, Kimura K, Hashimoto S, Ohta M, Tominaga K, Minami N. Role of G6PD activity on sex ratio and developmental competence of bovine embryos under oxidative stress. *J Reprod Dev* 2002; 48: 447–453.
10. White KL, Anderson GB, Bondurant RH. Expression of a male-specific factor on various stages of preimplantation bovine embryos. *Biol Reprod* 1987; 37: 867–873. [Medline]
11. Avery B, Schmidt M. Sex determination of bovine embryos using H-Y antibodies. *Acta Vet Scand* 1989; 30: 155–164. [Medline]
12. Cotinot C, Kirszenbaum M, Leonard M, Gianquinto L, Vaiman M. Isolation of bovine Y-derived sequence: potential use in embryo sexing. *Genomics* 1991; 10: 646–653. [Medline]
13. Kobayashi J, Nagayama H, Uchida H, Oikawa T, Numabe T, Takada N, Sasada H, Sato E. Selection of sexed bovine embryos using rapid fluorescence in situ hybridisation. *Vet Rec* 2004; 154: 789–791. [Medline]
14. Handyside AH, Pattinson JK, Penketh RJ, Delhanty JD, Winston RM, Tuddenham EG. Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. *Lancet* 1989; 1: 347–349. [Medline]
15. Bradbury MW, Isola LM, Gordon JW. Enzymatic amplification of a Y chromosome repeat in a single blastomere allows identification of the sex of preimplantation mouse embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4053–4057. [Medline]
16. Pomp D, Good BA, Geisert RD, Corbin CJ, Conley AJ. Sex identification in mammals with polymerase chain reaction and its use to examine sex effects on diameter of day-10 or -11 pig embryos. *J Anim Sci* 1995; 73: 1408–1415. [Medline]
17. Kochhar HS, Buckrell BC, Pollard JW, King WA. Production of sexed lambs after biopsy of ovine blastocysts produced in vitro. *Can Vet J* 2000; 41: 398–400. [Medline]
18. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985; 230: 1350–1354. [Medline]
19. Handyside AH, Kontogianni EH, Hardy K, Winston RM. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990; 344: 768–770. [Medline]
20. Kageyama S, Yoshida I, Kawakura K, Chikuni K. A novel repeated sequence located on the bovine Y chromosome: its application to rapid and precise embryo sexing by PCR. *J Vet Med Sci* 2004; 66: 509–514. [Medline]
21. Herr CM, Holt NA, Matthaei KI, Reed KC. Sex of pregnancy from bovine embryos sexed with a rapid Y-chromosome-detection assay. *Theriogenology* 1990; 33: 247.
22. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: E63. [Medline]
23. Nagamine K, Hase T, Notomi T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers. *Mol Cell Probes* 2002; 16: 223–229. [Medline]
24. Mori Y, Nagamine K, Tomita N, Notomi T. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 150–154. [Medline]
25. Hirayama H, Kageyama S, Moriyasu S, Sawai K, Onoe S, Takahashi Y, Katagiri S, Toen K, Watanabe K, Notomi T, Yamashina H, Matsuzaki S, Minamihashi A. Rapid sexing of bovine preimplantation embryos using loop-mediated isothermal amplification. *Theriogenology* 2004; 62: 887–896. [Medline]
26. Thibier M, Nibart M. The sexing of bovine embryos in the field. *Theriogenology* 1995; 43: 71–80.
27. Hasler JF, Cardey E, Stokes JE, Bredbacka P. Nonelectrophoretic PCR-sexing of bovine embryos in a commercial environment. *Theriogenology* 2002; 58: 1457–1469. [Medline]
28. Macháty Z, Paldi A, Csaki T, Varga Z, Kiss I, Barandi Z, Vajta G. Biopsy and sex determination by PCR of IVF bovine embryos. *J Reprod Fertil* 1993; 98: 467–470. [Medline]

29. Bredbacka P, Kankaanpaa A, Peippo J. PCR-sexing of bovine embryos: a simplified protocol. *Theriogenology* 1995; 44: 167–176. [Medline]
30. Shea BF. Determining the sex of bovine embryos using polymerase chain reaction results: a six-year retrospective study. *Theriogenology* 1999; 51: 841–854. [Medline]
31. Chrenek P, Boulanger L, Heyman Y, Uhrin P, Laurincik J, Bulla J, Renard JP. Sexing and multiple genotype analysis from a single cell of bovine embryo. *Theriogenology* 2001; 55: 1071–1081. [Medline]
32. Forell F, Lopes RFF, Rodrigues JL. Sexing of in vitro-produced bovine embryos using PIT-stop PCR after microaspiration. *Theriogenology* 2002; 57: 747.
33. Park JH, Lee JH, Choi KM, Joung SY, Kim JY, Chung GM, Jin DI, Im KS. Rapid sexing of preimplantation bovine embryo using consecutive and multiplex polymerase chain reaction (PCR) with biopsied single blastomere. *Theriogenology* 2001; 55: 1843–1853. [Medline]
34. Virta J, Markola J, Peippo J, Markkula M, Vilkki J. Sex determination of bovine embryo blastomeres by fluorogenic probes. *Theriogenology* 2002; 57: 2229–2236. [Medline]
35. Rao KB, Pawshe CH, Totey SM. Sex determination of in vitro developed buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos by DNA amplification. *Mol Reprod Dev* 1993; 36: 291–296. [Medline]
36. Manna L, Neglia G, Marino M, Gasparri B, Di Palo R, Zicarelli L. Sex determination of buffalo embryos (*Bubalus bubalis*) by polymerase chain reaction. *Zygote* 2003; 11: 17–22. [Medline]
37. Matthews ME, Reed KC. A DNA sequence that is present in both sexes of *Artiodactyla* is repeated on the Y chromosome of cattle, sheep, and goats. *Cytogenet Cell Genet* 1991; 56: 40–44. [Medline]
38. Matthews ME, Reed KC. Sequences from a family of bovine Y-chromosomal repeats. *Genomics* 1992; 13: 1267–1273. [Medline]
39. Appa Rao KBC, Totey SM. Cloning and sequencing of buffalo male-specific repetitive DNA: sexing of in-vitro developed buffalo embryos using multiplex and nested polymerase chain reaction. *Theriogenology* 1999; 51: 785–797. [Medline]
40. Hirayama H, Kageyama S, Takahashi Y, Moriyasu S, Sawai K, Onoe S, Watanabe K, Kojiya S, Notomi T, Minamihashi A. Rapid sexing of water buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos using loop-mediated isothermal amplification. *Theriogenology* 2006; 66: 1249–1256. [Medline]
41. Harisah M, Azmi TI, Hilmi M, Vidyadaran MK, Bongso TA, Nava ZM, Momongan V, Basrur PK. Identification of crossbred buffalo genotypes and their chromosome segregation patterns. *Genome* 1989; 32: 999–1002. [Medline]
42. Barker JS, Moore SS, Hetzel DJ, Evans D, Tan SG, Byrne K. Genetic diversity of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): microsatellite variation and a comparison with protein-coding loci. *Anim Genet* 1997; 28: 103–115. [Medline]
43. Padula AM. The freemartin syndrome: an update. *Anim Reprod Sci* 2005; 87: 93– 09. [Medline]
44. Kanagawa H, Muramoto J, Kawata K, Ishikawa T. Chromosome studies on heterosexual twins in cattle. I sex-chromosome chimerism (XX/XY). *Jpn J Vet Res* 1965; 13: 33–42. [Medline]
45. Kanagawa H, Kawata K, Ishikawa T. Chromosome studies on heterosexual twins in cattle. II significance of sex-chromosome chimerism (XX/XY) in early diagnosis of freemartin. *Jpn J Vet Res* 1965; 13: 43–49. [Medline]
46. Satoh S, Hirata T, Miyake Y, Kaneda Y. The possibility of early estimation for fertility in bovine heterosexual twin females. *J Vet Med Sci* 1997; 59: 221–222. [Medline]
47. Cavalieri J, Farin PW. Birth of a Holstein freemartin calf co-twinning to a schistosomus reflexus fetus. *Theriogenology* 1999; 52: 815–826. [Medline]
48. Marcum JB. The freemartin syndrome. *Anim Breed Abst* 1974; 42: 227–242.
49. Miyake Y, Ishikawa T, Kawata K. The relationship between sex chromosomal chimerism and vaginal length in bovine heterosexual twin females. *Japan J Animal Reprod* 1980; 26: 69–73.
50. Olsaker I, Jorgensen CB, Hellemann AL, Thomsen PD, Lie O. A fast and highly sensitive method for detecting freemartinism in bovine twins using immunomagnetic beads and Y-specific PCR primers. *Anim Genet* 1993; 24: 311–313. [Medline]
51. Fujishiro A, Kawakura K, Miyake Y, Kaneda Y. A fast, convenient diagnosis of the bovine freemartin syndrome using polymerase chain reaction. *Theriogenology* 1995; 43: 883–891. [Medline]
52. Kadokawa H, Minezawa M, Yamamoto Y, Takahashi M, Shimada K, Takahashi H, Kariya T. Freemartinism among singleton bovine females born from multiple embryo transfer. *Theriogenology* 1995; 44: 295–306. [Medline]

53. Ennis S, Vaughan L, Gallagher TF. The diagnosis of freemartinism in cattle using sexspecific DNA sequences. *Res Vet Sci* 1999; 67: 111–112. [Medline]
54. Long SE. Development and diagnosis of freemartinism in cattle. *In Pract* 1990; 12: 208–210.
55. Zhang T, Buoen LC, Seguin BE, Ruth GR, Weber AF. Diagnosis of freemartinism in cattle: The need for clinical and cytogenic evaluation. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 1672–1675. [Medline]

Pengaruh Epidural Tunggal Ditambah Penyuntikan Intramuscular FSH Pada Respon Superovulasi Di Anatolian Black Cow

Umur TAŞDEMİR¹, Muharrem SATILMIŞ¹, Tahir KARAŞAHİN¹, Sedat Hamdi KIZIL¹, Mustafa KAYMAZ², Kei IMAI³

¹Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Lalahan Livestock Central Research Institute, Ankara, Turkey;

²Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Ankara, Turkey;

³National Livestock Breeding Center, Odakurahara, Nishigo, Fukushima, Japan.

Ringkasan: Penelitian ini dirancang untuk menentukan apakah satu injeksi epidural ditambah intramuskular (im) suntikan FSH untuk mengurangi jumlah perawatan injeksi yang dibutuhkan untuk menginduksi respon supurovulatory, serta untuk menentukan efek pengobatan ini pada Anatolian Hitam sapi (*Bos Taurus*). Hasilnya akan dibandingkan dengan yang diperoleh dengan pemberian suntikan dua kali sehari FSH. Dua puluh satu sapi Hitam Anatolia yang digunakan dalam penelitian ini. Anatolia sapi Hitam menerima Cue-mate mengandung 1,56 g progesteron. Sapi-sapi dibagi menjadi tiga kelompok (D1, D2 dan E) berdasarkan rute dosis dan administrasi FSH. Dalam kelompok D1 total 490 IU FSH dan dalam kelompok D2 total 700 IU FSH diberikan intramuskular dalam menurunkan dosis untuk dua kali sehari selama 4 hari. Pada kedua kelompok perlakuan superovulatory yang dimulai pada hari 7 siklus. Di grup E, FSH diberikan 175 IU epidural ditambah 175 IU im injeksi pada hari ke 7 siklus. Pada hari ke-9 siklus, Cue-mate telah dihapus dan sapi menerima 500 mg prostaglandinF2 α di semua groups. Sapi-sapi yang inseminasi buatan (AI) menggunakan semen diperoleh dari penduduk asli lembu Hitam Anatolia dua kali; di malam hari 11 dan di pagi hari 12 dengan interval 12 jam. Sapi disuperovulasi yang non-pembedahan memerah 7 hari setelah AI. Embrio morfologi dievaluasi dan diklasifikasikan sesuai dengan kriteria yang direkomendasikan oleh IETS. Tidak ada perbedaan signifikan yang diamati dalam jumlah rata-rata Corpus luteum (CL) di antara kelompok-kelompok yang $3,7 \pm 0,56$ di D1; $3,4 \pm 0,55$ di D2 dan $6,0 \pm 1,14$ di E. Tidak ada perbedaan dalam hasil embrio ditransfer antara kelompok-kelompok (10/42, 23,8% di D1, 14/32, 43,8% di D2 dan 19/82, 23,2% di E). Hasil embrio Untransferable tidak juga berbeda secara signifikan antara kelompok (32/42, 76,2% di D1, 18/32, 56,2% di D2 dan 63/82, 76,8% di E). UFO tingkat adalah sama pada semua kelompok (17/77, 22,1% di D1, 13/71, 18,3% di D2 dan 28/132, 21,2% di E). Tingkat pemulihan ditemukan menjadi signifikan antara kelompok-kelompok (59/77, 76,6% di D1, 45/71, 63,4% di D2 dan 110/132, 83,3% di E). Untuk menyimpulkan, injeksi epidural tunggal ditambah suntikan im aplikasi FSH dapat diperoleh hasil yang dapat diterima dibandingkan dengan dua kali injeksi harian FSH untuk respon superstimulatory. Tingkat embrio Namun dipindahtangankan dari Anatolia Hitam sapi ditemukan menjadi rendah di kedua injeksi epidural tunggal ditambah im injeksi dan aplikasi FSH dua kali sehari. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mendapatkan hasil yang lebih konkret pada peningkatan hasil embrio dipindahtangankan dalam keturunan yang berbeda.

Kata kunci: Sapi, embrio, injeksi epidural, FSH, superovulasi.

Pendahuluan

Anatolia Hitam sapi Bos Taurus berkembang biak dari Turki yang memiliki kemampuan adaptasi terhadap kondisi yang keras. Populasi murni Hitam sapi Anatolia telah menurun secara dramatis, terutama dalam dekade terakhir. Ini berkembang biak adalah salah satu sumber daya genetik langka dari Turki. Informasi yang menunjukkan jumlah penduduk, distribusi dan risiko status jenis ini tidak cukup belum. Untuk alasan ini sebuah studi inventarisasi komprehensif harus dimulai untuk mengurangi kesenjangan informasi dan menyiapkan rencana aksi nasional (14). Transfer embrio sapi telah diterapkan secara luas di seluruh dunia. Teknologi ini meningkatkan jumlah keturunan yang diperoleh dari donor dengan nilai genetik yang tinggi dan digunakan untuk menyebarkan genetika yang diinginkan di seluruh dunia (8). Superovulasi adalah salah satu metode utama yang digunakan untuk menyediakan embrio untuk teknologi transfer embrio (13). Tujuan dari perawatan superovulatory pada sapi adalah untuk mendapatkan jumlah maksimum embrio dipindahtangankan (11, 13). Banyak faktor yang mempengaruhi hasil variabel dan kualitas embrio pada sapi disuperovulasi (4). Perawatan FSH telah lebih umum digunakan untuk superovulasi (36, 40). Namun, biologi paruh FSH pada sapi telah dilaporkan relatif singkat (5 jam atau kurang) (15), sehingga perlu diberikan sering, untuk mencapai tingkat ovulasi yang tinggi (32). Telah terbukti bahwa suntikan dua kali sehari dari FSH dengan penurunan dosis menginduksi respon superovulatory lebih besar dari perawatan harian tunggal injeksi (32, 44). Namun, penggunaan suntikan im dua kali sehari biaya tinggi dan secara teknis sulit. Selanjutnya penanganan yang berlebihan terkait dengan perawatan sering mungkin stres bagi hewan dan dapat berakibat pada menurunnya respon superovulatory (15). Di sisi lain, pengembangan pendekatan praktis untuk mencapai tanggapan yang disempurnakan untuk protokol superovulasi masih memerlukan penelitian lebih lanjut (1). Protokol disederhanakan dari superstimulation diharapkan dapat mengurangi penanganan donor, biaya dan meningkatkan respon untuk hewan (1, 17). Meskipun ada banyak laporan tentang efisiensi pengobatan FSH untuk respon superstimulatory ovarium pada sapi, tidak ada informasi tentang injeksi epidural FSH untuk respon superstimulatory.

Dengan demikian, penelitian ini dirancang untuk menentukan apakah epidural ditambah im tunggal suntikan FSH mengurangi jumlah perawatan injeksi yang dibutuhkan untuk menginduksi respon superovulatory memuaskan, serta untuk menentukan efek pengobatan ini pada Anatolian Hitam sapi. Akhirnya, Hasilnya dibandingkan dengan yang diperoleh oleh suntikan dua kali sehari FSH.

Bahan dan Metode

populasiStudi: sapi Dua puluh satu Anatolia Hitam (Bos Taurus) usia 3 sampai 3,5 tahun digunakan dengan desain crossover. Penelitian dilakukan di Lalahan Ternak Central Research Institute (39 ° 58 '23,56' 'N, 33 ° 06' 28,51 " E) di ketinggian 1098m.

Rata-rata berat badan sapi berkisar antara 300 dan 350 kg. Sapi-sapi tersebut ditempatkan di luar ruangan di pena terlindung dan diberi makan dengan konsentrat harian bersama-sama dengan kualitas baik alfaalfa jerami dan jerami barley. Air disediakan ad libitum. Semua sapi teraba per rektum sebelum penelitian untuk menentukan kemungkinan kelainan saluran reproduksi. Prosedur eksperimental telah disetujui oleh Komite Perawatan Hewan dari Universitas Istanbul, Fakultas Kedokteran Hewan.

Desain studi: Anatolia sapi Hitam menerima pasangan Cue- mengandung 1,56 g progesteron (Cue-mate, Bioniche Kesehatan Hewan Ltd, New Zeland) pada hari acak siklus (hari 0). Sapi-sapi dibagi menjadi tiga kelompok berdasarkan pada rute dosis dan administrasi FSH (Folltropin, 700 IU,

Bioniche Kesehatan Hewan Ltd, Republik Irlandia). Dalam kelompok D1 total 490 IU FSH diberikan sebagai intramuskular (im) injeksi dalam menurunkan dosis dua kali sehari selama 4 hari. (87,5, 87,5, 70, 70, 52,5, 52,5 35, 35 IU; N = 21; Gambar 1). Dalam kelompok D2 total 700 IU FSH diberikan sebagai im injeksi menurunkan dosis dua kali sehari selama 4 hari (140, 140, 105, 105, 70, 70, 35, 35 IU; n = 21; gambar 2). Pada kedua kelompok perlakuan superovulatory yang dimulai pada hari 7 siklus. Di grup E, FSH diberikan 175 IU epidural ditambah 175 IU im injeksi pada 7 hari pertama siklus (n: 21; Gambar 3). 9 hari kemudian awal siklus, Cue-mate telah dihapus dan sapi menerima 500 mg prostaglandinF2 α (PGF2 α ; Cloprostenol, 250 mg, im, Estrumate®, Intervet, Turki) di semua groups. Sapi-sapi itu inseminasi buatan menggunakan semen diperoleh dari sapi jantan Hitam Anatolia dua kali; di malam hari 11 dan di pagi hari 12 dengan interval 12 jam. Ovarium sapi yang teraba pada awal pembilasan untuk memperkirakan jumlah CL. Sapi disuperovulasi yang non-pembedahan memerah 7 hari setelah AI. Setiap sapi diberi anestesi epidural menggunakan 60 mg Adocain (Lidokain HCL, 20mg / ml, Sanovel, Turki) sebelum pembilasan. Vulva dimundurkan dengan desinfektan dan Foley kateter (14-16 FR, Agtech, USA) dengan bohlam 15 ml, dimasukkan melalui vagina dan leher rahim. Sebuah stylet stainless steel digunakan untuk kaku kateter untuk memungkinkan bagian melalui leher rahim dan kedua tanduk yang memerah dengan media yang pembilasan (990 ml ringer laktat + 10 ml serum anak sapi) menggunakan folley cathater dimasukkan sebelah persimpangan utero-tuba. Tanduk rahim dipijat dan dimanipulasi untuk memfasilitasi arus balik menengah. The rahim terkena Media flushing dikumpulkan menjadi 1000 ml disterilkan botol. Sebuah stereo (Olympus, SZH10, Olympus, Jepang) digunakan untuk mencari embrio. Embrio morfologi dievaluasi dan diklasifikasikan sesuai dengan kriteria yang direkomendasikan oleh IETS (45). Embrio diklasifikasikan sebagai kelas 1 (sangat baik atau baik) dan 2 (adil) dianggap sebagai embrio ditransfer, sementara embrio diklasifikasikan sebagai kelas 3 (miskin) dan 4 (mati atau merosot) dianggap sebagai embrio untransferable.

Analisis statistik: Jumlah CL telah disampaikan kepada analisis varians (Proc GLM). Hasil embrio dan tingkat pemulihan dievaluasi dengan uji chi-square dengan menggunakan MINITAB (MINITAB Rilis 13,0; Copyright 2000). Kondisi tubuh, musim tahun, sapi dan interval melahirkan dianggap dan dianalisis sebagai kovariat Hasil dinyatakan sebagai sarana atau proporsi (\pm SD). Perbedaan dianggap signifikan pada $P < 0,05$.

Hasil

Sebagaimana tercantum tabel 1, tidak ada perbedaan yang signifikan yang diamati antara kelompok perlakuan. Angka-angka rata-rata untuk CL ditentukan sebagai ($3,7 \pm 0,56$ di D1, $3,4 \pm 0,55$ di D2 dan $6,0 \pm 1,14$ pada kelompok E; $p = 0,084$). Yield embrio ditransfer juga menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan (10/42, 23,8% di D1, 14/32, 43,8% di D2 dan 19/82, 23,2% pada kelompok E; $P = 0,071$; table1). Hasil embrio Untransferable juga tidak berbeda secara signifikan antara kelompok perlakuan (32/42, 76,2% di D1, 18/32, 56,2% di D2 dan 63/82, 76,8% pada kelompok E; $p = 0,071$; table1). Oosit yang tidak dibuahi (UFO) tingkat adalah serupa pada semua kelompok (17/77, 22,1% di D1, 13/71, 18,3% di D2 dan 28/132, 21,2% pada kelompok E; $p = 0,837$; table1). Tingkat pemulihan secara signifikan Diskusi dan Kesimpulan Dalam penelitian ini, rata-rata jumlah CL ditemukan lebih besar pada kelompok yang menerima FSH injeksi epidural tunggal ditambah suntikan im FSH daripada kelompok yang menerima FSH dua kali sehari selama 4 hari. Meskipun perbedaan antara angka rata-rata CL antara kelompok secara statistik tidak signifikan, mereka ditemukan lebih rendah dari beberapa penelitian sebelumnya mulai 7,3-31,3 (2, 9,

10, 23, 34). Namun, temuan serupa dengan Yu et al. (47) yang disuperovulasi Tianzhu yak putih dengan injeksi dua kali sehari selama 4 hari dan dilaporkan 4,8 CL. Perubahan respon ovarium telah ditemukan berhubungan dengan perbedaan dalam perawatan superstimulatory seperti total dosis, durasi dan waktu pengobatan, dan penggunaan hormon tambahan dalam protokol pengobatan (38, 39). Faktor tambahan untuk perbedaan dalam respon ovarium mungkin genetik dari hewan dan lingkungannya (3), asupan makanan (46), berkembang biak (1, 9, 42), musim (33), usia (27, 29), ovarium Status pada saat pengobatan (5, 18) dan efek superstimulations diulang (30). Telah dilaporkan bahwa penerapan FSH dalam berbagai bentuk dan cara-cara lain selain im injeksi dapat menginduksi respon superovulatory dan jumlah lemak subcutaneous dianggap menjadi faktor penentu pada sapi (10, 25). Demikian pula, temuan ini menunjukkan bahwa injeksi epidural FSH mengakibatkan respon superovulatory diterima untuk membandingkan injeksi dua kali sehari dari FSH pada sapi Hitam Anatolia. Alasan untuk hasil ini tidak jelas; Namun, itu bisa berspekulasi bahwa hasil memperoleh mungkin bergantung pada cara pemberian FSH oleh yang diserap perlahan-lahan.

Serangkaian penelitian dilakukan pada jenis donor several yang berbeda untuk menentukan cara dosis dan administrasi sesuai FSH untuk menghilangkan stres karena beberapa suntikan FSH (12). Telah dilaporkan bahwa im tunggal dan suntikan sc FSH memiliki efek yang sama dengan perawatan FSH dua kali sehari (1, 21, 35, 43). Dalam penelitian ini, proporsi hasil embrio ditransfer juga menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan

antara kelompok perlakuan. Hasil saat ini konsisten dengan beberapa laporan di mana proporsi embrio berkualitas tinggi berbanding terbalik dikaitkan dengan respon ternak untuk superovulasi (20, 22). Ketika membandingkan dengan penelitian lain yang dilakukan dengan protokol FSH yang berbeda, dipindahtangankan proporsi embrio dalam penelitian ini lebih rendah dari pada jenis dari Sistani (49%), Angus (52%), Finlandia Ayrshire (61%), Holstein (54%), asli Korea (62%) dan Black Jepang (53%), (6, 26, 31, 34, 37, 41). Namun, hasil yang sama dilaporkan di Nelore sapi (1, 7). Donaldson (16) melaporkan bahwa jumlah embrio berkualitas rendah dikumpulkan meningkat ketika lonjakan LH diinduksi sangat awal, sangat terlambat, atau tidak diinduksi sama sekali. Hubungan antara interval waktu untuk induksi lonjakan LH dan nomor dan / atau kualitas embrio tidak sepenuhnya dipahami. Sebuah angka yang lebih rendah dari embrio dipindahtangankan dalam penelitian ini mungkin berkaitan dengan regresi awal CL atau kinerja reproduksi yang buruk dari Anatolia Hitam sapi.

Dilaporkan bahwa tingkat yang lebih rendah dari fertilisasi bisa menjadi konsekuensi dari penurunan jumlah tumbuh folikel (28). Oosit yang tidak dibuahi (UFO) tingkat adalah serupa pada semua kelompok. Dalam studi ini, tingkat UFO ditemukan lebih tinggi dari beberapa studi sebelumnya yang berkisar antara 23,5% sampai 39% pada jenis yang berbeda (26, 31, 38, 41). Hal ini mungkin karena ovulasi asynchronous dan kegagalan pembuahan.

Tingkat pemulihan ditemukan berbeda secara signifikan antara semua kelompok dan itu merupakan yang tertinggi dalam kelompok E (175 IU epidural ditambah 175 IU intramuscular suntikan FSH hari 7 siklus). Studi pada embrio / tingkat pemulihan ovum (per folikel ovulasi) menggunakan recovery embrio nonsurgical yang bervariasi secara luas dari setinggi 60-80% (23, 24) ke level 20-25% (19). Tingkat pemulihan ditemukan dalam penelitian ini adalah konsisten dengan tingkat yang dapat diterima dilaporkan sebelumnya.

Kesimpulannya, injeksi epidural tunggal ditambah suntikan im aplikasi FSH dapat diperoleh hasil yang dapat diterima dibandingkan dengan dua kali injeksi harian FSH untuk respon superstimulatory. Namun, tingkat embrio ditransfer dari Anatolia Hitam sapi ditemukan menjadi

rendah di kedua injeksi epidural tunggal ditambah im injeksi dan aplikasi FSH dua kali sehari. Studi lebih lanjut yang diperlukan untuk mendapatkan hasil yang lebih konkret pada peningkatan hasil embrio dipindahtangankan dalam keturunan yang berbeda.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai proyek yang didukung oleh Ilmiah dan Teknologi Research Council Turki (TUBITAK) (Project No: 106G005, TURKHAYGEN-1).

Referensi

1. Alvarez RH, Martinez AC, Pires RM (2010): respon Superovulatory sapi zebu diobati dengan PfsH di injeksi subkutan tunggal diikuti oleh sub-dosis intramuskular tambahan 48 jam kemudian. *Reprod Domest Anim*, 45, 421-24.
2. Amiridis GS, Tsiligianni T, Vainas E (2006): Follicle ablasi meningkatkan respon ovarium dan jumlah embrio yang dikumpulkan pada sapi disuperovulasi selama tahap awal laktasi. *Reprod Domest Anim*, 41, 402-7.
3. Andrade JC, Oliveira MA, Lima PF, Guido SI, Bartolomeu CC, Tenorio Filho F, Pina VM, Iunes- Souza TC, Paula NR, Freitas JC, 2003: Penggunaan hormon steroid di superovulasi donor Nelore pada tahapan yang berbeda siklus estrus, *Anim Reprod Sci*, 77, 117-25.
4. Armstrong DT (1993): Kemajuan terbaru dalam superovulasi ternak. *Theriogenology*, 39, 7-24.
5. Bader JF, Kojima FN, Wehrman ME, Lindsey BR, Kerley MS, Patterson DJ (2005): Pengaruh suplementasi lemak prepartum pada FSH superstimulation dan pemulihan embrio dipindahtangankan pada sapi daging sapi multipara. *Anim Reprod Sci*, 85, 61-70.
6. Barati F, Niasari-Naslaji A, Bolourchi M, Sarhaddi F, Razavi K, Naghzali E, Thatcher WW (2006): respon Superovulatory sapi Sistani untuk tiga dosis yang berbeda dari FSH selama musim dingin dan musim panas. *Theriogenology*, 66, 1149-1155.
7. Barros CM, Nogueira MFG (2001): Transfer Embrio di *Bos indicus* ternak. *Theriogenology*, 56, 1483-1496.
8. Baruselli PS, de Sa Filho MF, Martins CM, Nasser LF, Nogueira MF, Barros CM, Bo GA (2006): Superovulasi dan transfer embrio pada sapi *Bos indicus*. *Theriogenology*, 65, 77-88.
9. Benyei B, Gaspard A, Komlosi A, Pecs A (2004): Pengulangan dan heritabilitas jumlah ovulasi dan embrio di bendungan-putri pasangan dalam disuperovulasi sapi Holstein-Friesian. *Reprod Domes Anim*, 39, 99-102.
10. Bo GA, Hockley DK, Nasser LF, Mapletoft RJ (1994): respon Superovulatory ke injeksi subkutan tunggal Folltropin-V pada sapi potong. *Theriogenology*, 42, 963-75.
11. Bo GA, Carballo Guerrero D, Adams GP (2008): pendekatan alternatif untuk menyiapkan sapi donor untuk superovulasi. *Theriogenology*, 69, 81-7.
12. Bo GA, Guerrero DC, Tribulo A, Tribulo H, Tribulo R, Rogan D, Mapletoft RJ (2010): Pendekatan baru untuk superovulasi pada sapi. *Reprod Nutr Dev*, 22, 106-12.
13. Boland MP, Goulding D, Roche JF (1991): gonadotropin alternatif untuk superovulasi pada sapi. *Theriogenology*, 35, 5-17.
14. Compan D, Cividini A (2008): ternak *Brachycerous* di negara-negara Balkan dan perspektif mereka. *Domzale: titik fokus daerah Eropa untuk sumber daya genetik ternak*, 44-6.
15. Demoustier MM, Beckers JF, Van Der Zwalmen P, Closset J, Gillard J, Ectors FR (1998): Penentuan kadar babi plasma Folltropin-V selama pengobatan superovulasi pada sapi. *Theriogenology*, 30, 379-86.

16. Donaldson LE (1985): LH dan FSH profil di superovulasi dan produksi embrio dalam sapi. *Theriogenology*, 23, 441-47.
17. Driancourt MA (2001): Peraturan dinamika folikel ovarium pada hewan ternak. Implikations untuk manipulasi reproduksi. *Theriogenology*, 55, 1211-1239.
18. Durocher J, Morin N, Blondin P (2006): Pengaruh stimulasi hormonal pada respon folikel sapi dan kompetensi perkembangan oosit dalam operasi komersial. *Theriogenology*, 65, 102-15.
19. Fricke PM, Kirsch JD, Reynolds LP, Redmer DA (1994): Studi FSH-P diinduksi pertumbuhan folikel pada sapi. *Theriogenology*, 42, 43-53.
20. Irlandia JJ, Ward F, Jimenez-Krassel F, Irlandia JL, Smith GW, Lonergan P, Evans AC (2007): nomor folikel sangat berulang dalam individu hewan tetapi berbanding terbalik dengan konsentrasi FSH dan proporsi berkualitas baik embrio setelah stimulasi ovarium pada sapi. *Hum Reprod*, 22, 1687-1695.
21. Kanitz W, Becker F, Schneider F, Kanitz E, Leiding C, Nohner HP, Pohland R (2002): Superovulasi pada ternak: aspek praktis pengobatan gonadotropin dan inseminasi. *Reprod Nutr Dev*, 42, 587-99.
22. Kawamata M (1994): Hubungan antara jumlah folikel kecil sebelum superovulatory pengobatan dan respon superovulatory pada sapi Holstein. *J Vet Med Sci*, 56, 965-7.
23. Kelly P, Duffy P, Roche JF, Boland MP (1997): Superovulasi pada ternak: pengaruh jenis FSH dan metode administrasi pada pertumbuhan folikel, respon ovulasi dan pola endokrin. *Anim Reprod Sci*, 46, 1-14.
24. Kim IH, Anak DS, Yeon SH, Choi SW, Taman SB, Ryu IS (2001): Pengaruh penghapusan folikel dominan sebelum superstimulation pada pertumbuhan folikel, ovulasi dan produksi embrio pada sapi Holstein. *Theriogenology*, 55, 937-45.
25. Kimura K, Hirako M, Iwata H, Aoki M, Kawaguchi M, Seki M (2007): superovulasi Sukses sapi oleh administrasi tunggal FSH dalam aluminium hidroksida gel. *Theriogenology*, 68, 633-9.
26. Larson JE, Lamb GC, Funnell BJ, Bird S, Martins A, Rodgers JC (2010): produksi Embrio di disuperovulasi sapi Angus diinseminasi empat kali dengan, semen beku-dicairkan bergender-diurutkan atau konvensional. *Theriogenology*, 73, 698-703.
27. Lerner SP, Thayne Virginia Barat, Baker RD, Henschen T, Meredith S, Inskeep EK, Dailey RA, Lewis PE, Butcher RL (1986): Umur, dosis FSH dan faktor-faktor lain yang mempengaruhi superovulasi pada sapi Holstein. *J Anim Sci*, 63, 176-83.
28. Lopes AS, Butler ST, Gilbert RO, Butler WR (2007): Hubungan ukuran pra-ovulasi folikel, konsentrasi estradiol dan musim untuk hasil kehamilan pada sapi perah, *Anim Reprod Sci*, 99, 34-43.
29. (2001): respon Superovulatory, kualitas embrio dan kesuburan setelah pengobatan dengan gonadotropin yang berbeda pada sapi asli. *Theriogenology*, 56, 65-77.
30. Malhi PS, Adams GP, Mapletoft RJ, Singh J (2008): respon Superovulatory dalam model sapi penuaan reproduksi. *Anim Reprod Sci*, 109, 100-9.
31. Mikkola M, Mäntysaari P, Tammiranta N, Peippo J, Taponen J (2005): Pengaruh protein pada tingkat pemulihan embrio dan berkualitas di sapi disuperovulasi. *Anim Reprod Sci*, 87, 193-202.
32. Monniaux D, Chupin D, Saumande J (1983): tanggapan Superovulatory sapi. *Theriogenology*, 19, 55-81.
33. Monty DE, Jr I, Racowsky C (1987): Evaluasi *in vitro* viabilitas embrio awal dan pembangunan di musim panas menekankan, sapi perah disuperovulasi. *Theriogenology*, 28, 451-65.
34. Rajamahendran R, Canseco RS, Denbow CJ, Gwazdauskas FC, Vinson KAMI (1987): Pengaruh

- dosis rendah FSH diberikan pada awal siklus estrus dan respon superovulatory berikutnya pada sapi Holstein. *Theriogenology*, 28, 59-65.
35. Rogan D, Tribulo A, Tribulo H, Tribulo R, Carballo Guerrero D, Tribulo P, Mapletoft RJ, Bo GA (2010): Dosis titrasi untuk superstimulation dari Brangus dan Bonsmara donor dengan Folltropin®-V dengan injeksi intramuskular tunggal. *Reprod Fertil Dev*, 22, 365 [Abstrak] doi: 10,1071 / RDV22NIAB416.
 36. Rover R, Genicot G, Leonard S, Bols P, Dessy F (2005): Ovum pick up dan produksi embrio in vitro pada sapi superstimulated dengan protokol superstimulation disesuaikan secara individual. *Anim Reprod Sci*, 86, 13-25.
 37. Anak DS, Choe CY, Cho SR, Choi SH, Kim HJ, Kim IH (2007a): Pengaruh berkurang dosis dan jumlah perawatan FSH pada respon superovulatory di CIDR- dipelajari sapi asli Korea. *J Reprod Dev*, 53, 1299-1303.
 38. Anak DS, Choe CY, Choi SH, Rae-Cho S, Kim HJ, Han MH, Ryu IS, Suh GH, Kim UH, Kim IH (2007b): Pengaruh estradiol benzoat atau pengobatan GnRH sebelum superstimulation di CIDR- diobati, sapi asli Korea (*Bos taurus*). *Anim Reprod Sci*, 100, 14-21.
 39. Sugano M, Watanabe S (1997): Penggunaan sangat murni babi FSH preparation untuk superovulasi pada sapi Hitam Jepang. *J Vet Med Sci*, 59, 223-25.
 40. Sugano M, Shinogi T (1999): induksi Superovulasi pada sapi Hitam Jepang dengan injeksi intramuskular tunggal hMG atau FSH dilarutkan dalam polyvinylpyrrolidone. *Anim Reprod Sci*, 31, 175-81.
 41. Sugano M, Shinogi T, Nakada K, Nakao T (2001): profil endokrin dan kualitas embrio pada sapi hitam Jepang disuperovulasi dengan gonadotropin menopause manusia dan babi hormon perangsang folikel. *Reprod Domest Anim*, 36, 57-63.
 42. Tasdemir U, Agaoglu AR, Kaymaz M, Karakas K (2011): respon ovarium dan embrio hasil Angora dan Kilis kambing diberi Hari 0 Protokol untuk superovulasi pada musim tidak berbiak. *Troph Anim Kesehatan dan Prod*,
 43. 43, 1035-1038. 43. Tribulo A, Tribulo H, Tribulo R, Carballo Guerrero D, Tribulo P, Rogan D, Mapletoft RJ, Bo GA (2010): Superstimulation dari angus donor dengan suntikan intramuskular tunggal Folltropin®-V. *Reprod Fertil Mengembangkan*, 22, 367 [Abstrak] doi: 10,1071 / RDV22NIAB420.
 44. Walsh JH, Mantovani R, Duby RT, Overstrom EW, Dobrinsky JR, Enright WJ, Roche JF, Boland MP (1993): Efek dari suntikan sekali atau dua kali sehari dari p- FSH pada respon superovulatory di sapi. *Theriogenology*, 40, 313-21.
 45. Wright JM (1998): ilustrasi fotografi embrio tahap perkembangan dan kode kualitas. Dalam Stringfellow DA, Seidel GE (eds), *Manuel Masyarakat Embrio transfer International*. 3. Ed. Savoy: IL: IETS, 167-70.
 46. Yaakub H, O'Callaghan D, Boland MP (1999): Pengaruh jenis dan kuantitas berkonsentrasi pada superovulasi dan embrio hasil dalam daging sapi sapi. *Theriogenology*, 51, 1259-1266. 47. Yu S, Ju X, Wang L, Fan J (2007): transfer embrio Sukses di Tianzhu yak putih menggunakan protokol standar. *Sci C Hidup Sci*, 50, 655-59.

PENGARUH BANGSA DAN KORPUS LUTEUM TERHADAP KEBERHASILAN KEBUNTINGAN PADA SAPI RESIPIEN / SAPI PENERIMA EMBRIO

Ériklis Nogueira^I; Gabriel Saravi Cardoso^{II}; Heitor Romero Marques SMP^{II}; Alexandre Menezes Dias^{III}; Luís Carlos Vinhas Ítavo^{III}; Juliana Corrêa Borges^{IV}

^I CPAP - EMBRAPA Pantanal - Corumbá, MS, Brasil

^{II} Curso de Medicina Veterinaria - UCDB - Campo Grande, MS, Brasil

^{III} Programa de Mestrado e Doutorado em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuaria, UCDB - Campo Grande, MS, Brasil

^{IV} Departamento de Fisiologia Hewan - FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP, Brazil

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi tingkat kebuntingan sapi resipien dengan bangsa yang berbeda (Nellore dan blasteran), serta efek dari ukuran dan jenis korpus luteum (CL) pada konsentrasi plasmatic tingkat progesteron dan kebuntingan sapi resipien. Sebanyak 152 sapi yang disinkronisasi dengan progesteron implan dan pada hari transfer embrio, yang sebelumnya diperoleh superovulasi dan beku di etilena glikol, diameter dan jenis korpus luteum (kavitas dan kompak) diukur dan darah dikumpulkan untuk pengukuran progesteron. Tingkat kebuntingan adalah 44,1%, dengan diameter korpus luteum yang lebih tinggi pada sapi resipien yang bunting (2.03 ± 0.41) dibandingkan dengan yang tidak bunting ($1,86 \pm 0,34$ cm). Konsentrasi plasmatic progesteron tidak berbeda antara bunting ($1,50 \pm 1,05$) dan yang tidak bunting ($1,31 \pm 0,91$ ng / mL) hewan. Jenis korpus luteum tidak mempengaruhi tingkat kebuntingan. Hanya bangsa Angus dan Marchigiana persilangan berbeda di antara mereka sendiri di tingkat kebuntingan (33,3 dan 59,2%, masing-masing). Probabilitas kebuntingan dipengaruhi hanya dengan diameter CL, tapi tidak dengan P4 konsentrasi plasmatic. Pemilihan ukuran korpus luteum pada saat transfer embrio merupakan faktor penting untuk meningkatkan angka kebuntingan pada sapi resipien, dan kompak dan kavitas corpora lutea tidak mempengaruhi tingkat kebuntingan sapi resipien. Sapi resipien bangsa Nellore memiliki tingkat kebuntingan yang memuaskan dan sebanding dengan persilangan (*Bos taurus* × *Bos indicus*) sapi resipien.

Kata Kunci: kavitas korpus luteum, Nellore, progesteron, USG

Pengantar

Transfer embrio adalah bioteknologi yang mempercepat perbaikan genetik untuk meningkatkan jumlah keturunan dari donor genetika unggul dalam waktu singkat. Di antara faktor yang perlu dipertimbangkan dalam program transfer embrio, sapi resipien dicatat untuk menjadi faktor penentu bagi keberhasilan bioteknologi (Eja et al., 2001). Biaya pemeliharaan tidak bunting persilangan *Bos indicus* × *Bos taurus* taurus sebagai sapi resipien, ditambah dengan tingkat pemanfaatan yang rendah, meningkatkan biaya bioteknologi. Hari ini, beberapa produsen telah digunakan Nellore sebagai sapi resipien, tetapi data dalam literatur langka dan dengan hasil yang kontroversial. Data tersebut sangat penting karena penggunaan wajib sapi resipien genetik zebu dengan transfer embrio dan

dalam proses pembuahan *in vitro* untuk keturunan Brahman, Cangaian, Indubrasil, Nellore dan Sindi sejak 2014 (ABCZ, 2010).

Pembentukan dan pemeliharaan kebuntingan melibatkan interaksi kompleks antara embrio dan lingkungan rahim dan korpus luteum (Mann et al., 1995). Tingkat kebuntingan dari superovulasi dan *fertilisasi in vitro* lebih rendah dari yang diperoleh oleh inseminasi buatan atau kawin alam (Peterson & Lee, 2003). Hasil ini mungkin terkait dengan keterbelakangan dari embrio, yang asynchrony embrio-rahim dan buruknya kualitas reseptor korpus luteum (Sreenan & Diskin, 1987), sehingga kesenjangan dalam pengakuan ibu dan pemeliharaan kebuntingan. Rongga korpus luteum yang ditemukan dalam 40-80% dari siklus estrus dari sapi dan sapi diobati dengan progesteron (P4) atau prostaglandin, dan konsentrasi P4 tidak dipengaruhi oleh adanya rongga (Eja et al, 2001; Marques et al., 2002). Namun, penggunaan korpus luteum dengan rongga telah dihasilkan kontroversi (Grygar et al, 1997; Marques et al, 2002; Looney et al, 2006, Siqueira et al, 2009a..).

Baruselli dkk. (2001) menemukan peningkatan konsentrasi P4 sesuai dengan peningkatan korpus luteum pada sapi resipien persilangan dan menurut Binelli dkk. (2001), korpus luteum yang lebih besar pada sapi resipien dapat meningkatkan angka kebuntingan dalam program transfer embrio. Namun, Nogueira dkk. (2004) menemukan hasil yang berlawanan, di mana sapi resipien yang menerima dosis 400 dan 600 IU kuda chorionic gonadotropin menunjukkan konsentrasi yang lebih tinggi dari P4 dan tinggi korpus luteum, tetapi tingkat kebuntingan lebih rendah daripada yang tidak diobati atau diberikan 200 IU dari kuda chorionic gonadotropin.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan tingkat kebuntingan dari Nellore dan persilangan (*Bos taurus* × *Bos indicus*) sapi resipien dan untuk mengevaluasi efek dari ukuran dan jenis korpus luteum pada konsentrasi plasmatic dari P4 dan kebuntingan sapi resipien embrio sapi.

Bahan dan metode

Percobaan telah dilakukan di Band 'alta Pertanian, terletak di Corumbá - MS, Brasil (19° 7' 26.39 "S lintang dan 57° 32 '42,14" W bujur) pada periode Januari-April 2008. Awalnya, 201 *Bos indicus* dan persilangan *Bos indicus* × *Bos taurus* sapi dan sapi yang disinkronisasi dalam tiga periode, dengan interval 40 hari. Sapi indukan bangsa Nellore dan persilangan Angus, Caracu dan Marchigiana. Data dari mencampuri darah Simmental dan Brown Swiss dikelompokkan dan dianalisis bersama-sama dalam kelompok yang disebut mestizo. Hewan-hewan memiliki skor kondisi tubuh secara teratur 3, pada skala 1 sampai 5 (Ferreira, 1991). Hewan disimpan di rumput padang rumput dengan *B. brizantha* dan *B. decumbens*, menerima garam mineral (80 g P / kg) dan *ad libitum* air.

Untuk sinkronisasi, binatang menerima perangkat intravaginal, mengandung 1 g P4 (Primer[®]. Tecnopec, Brazil) dan 2 mg benzoat estradiol (Estrogin[®] Farmavet, Brazil), intramuskular pada hari acak dari siklus estrus (hari 0) setelah evaluasi ginekologi sebelumnya untuk menilai nada uterus dan adanya struktur menunjukkan cyclicity ovarium (korpus luteum atau folikel > 10 mm). Perangkat telah dihapus pada hari kedelapan di pagi hari dan 0.150 mg d-

cloprostenol (PGF₂) (Prolise[®], Tecnopec, Brazil) dan 10 IU FSH (Follicle Stimulating Hormone-Folltropin[®], Tecnopec, Brazil) diberi intramuskular.

Salah satu miligram benzoat estradiol diberikan (Estrogin[®], Farmavet, Brazil) pada hari kesembilan di pagi hari, dengan pengamatan estrus pada hari 10. Pada hari 17 setelah penyisipan implan, sapi resipien dievaluasi menggunakan perangkat ultrasound dengan 8,0 MHZ linear Probe (Falcon 100 - Pie Medis[®]), untuk memverifikasi respon protokol dan mengukur diameter dan jenis korpus luteum ([Gambar 1](#)). Pada hari yang sama, transfer embrio dilakukan, dengan metode non-bedah, dengan hewan yang sama dengan kualitas embrio kelas 1 dan 2, menurut IETS (1998), yang sebelumnya dibekukan dan dicairkan di etilena glikol "satu langkah", dari 12 Nellore donor disuperovulasi dengan injeksi FSH. Pada hari transfer embrio, sampel darah dikumpulkan melalui vena coccygeal ke dalam tabung yang berisi heparin dan disimpan pada suhu 5 °C. Sampel plasma ditempatkan ke microtubes diidentifikasi dan disimpan pada -20 °C, setelah sentrifugasi pada 1700 g selama 10 menit.



Gambar 1. Evaluasi ovarium dengan menggunakan USG pada hari dilakukan transfer embrio dengan visualisasi pada kavitas corpus

Sampel plasma menjadi sasaran radioimmunoassay (RIA) untuk pengukuran konsentrasi plasmatic dari P4, dilakukan pada FMVA Araçatuba-UNESP Kampus, Laboratorium Endokrinologi, Departemen Dukungan Lapangan, Produksi Hewan dan Kesehatan (DAPSA), dengan menggunakan kit komersial (Coat-a -Count Diagnostik Products

Corporation, CA, USA). Dalam uji tersebut, sensitivitas adalah 0,01 ng / mL, dan koefisien intra-assay 2,4%.

Para sapi resipien diperiksa dengan Falcon 100 USG (Pie Medis[®]) dengan 8,0 MHz transrectal transducer 30 hari setelah ET untuk diagnosis kebuntingan. Analisis varians dilakukan dengan menggunakan uji Tukey untuk perbandingan sarana ($P < 0,05$). Untuk analisis tingkat kebuntingan, frekuensi dianalisis dengan Chi-square dan korelasi dievaluasi melalui tes Spearman. Probabilitas kebuntingan dimodelkan dengan cara analisis regresi logistik, menurut variabel independen: ukuran korpus luteum dan konsentrasi P4. Probabilitas kebuntingan ditentukan dengan asumsi distribusi binomial (1 = bunting, 0 = tidak bunting), dan link yang logit. Analisis dilakukan menggunakan software SAS (Analisis Statistik System, versi 9.2), mengadopsi $\alpha = 0,05$.

Hasil dan Diskusi

Para sapi resipien disinkronisasi dengan intravaginal perangkat yang berisi P4 terkait dengan penerapan FSH menunjukkan tingkat yang memuaskan pemanfaatan 75,6% (152/201), dan tingkat kebuntingan 44,1% (67/152), mirip dengan penelitian lain dalam literatur, misalnya, Barreiros et al. (2006), yang menemukan hasil yang sama dalam penilaian USG untuk memperkirakan tingkat pemanfaatan sapi resipien diobati dengan P4 dan PGF2 α , sehingga pemanfaatan 72,8% dan 79%, masing-masing.

Tidak ada perbedaan antara diameter korpus luteum dan P4 plasmatic antara indukan dievaluasi ([Tabel 1](#)). Blasteran sapi resipien Marchigiana disajikan tingkat kebuntingan lebih tinggi dari persilangan yang Angus. Keturunan lainnya menunjukkan hasil antara, dengan tidak ada perbedaan antara satu sama lain ([Tabel 1](#)).

Gonzales et al. (1993) melaporkan perbedaan dalam kinerja reproduksi hewan dengan genotipe yang berbeda. Penulis yang sama menemukan bahwa mereka yang memiliki fraksi genetik *Bos indicus* lebih tinggi menunjukkan efisiensi yang lebih besar dalam penggunaan pakan, adaptasi yang lebih besar untuk kondisi buruk dan cenderung memiliki tingkat reproduksi yang lebih baik dalam kondisi tropis. Namun, pengamatan ini tampaknya bertentangan dengan penelitian lain, di mana hewan dengan fraksi *taurus Bos* genetik yang tinggi menunjukkan efisiensi reproduksi yang lebih besar, terutama bila digunakan dalam program transfer embrio sebagai sapi resipien. Teodoro & Madalena (2002) menyatakan bahwa, tergantung pada jenis manajemen, persilangan *Bos taurus* \times *Bos indicus* dapat menunjukkan hasil produksi dan reproduksi sama atau lebih unggul *Bos taurus* hewan.

Perlu dicatat bahwa wilayah tersebut memiliki suhu tinggi (maksimum dan minimum 32,56 dan 23,60 °C, masing-masing) dan kelembaban relatif (85,35%) selama bulan-bulan sebelumnya percobaan, untuk yang terletak di Pantanal (lahan basah tropis) wilayah Mato Grosso do Sul (Soriano, 1999). Tingkat kebuntingan dari inseminasi buatan atau kawin alam turun drastis karena panas stres (Badinga et al., 1993). Juga, Ealy dkk. (1993) telah menunjukkan efek merusak dari suhu pada embrio dalam studi yang dilakukan di *vivo*. Oleh

karena itu, suhu tinggi dan kelembaban mungkin telah dipromosikan ketidaknyamanan termal lokal pada hewan dan mungkin telah mempengaruhi pengurangan angka kebuntingan, terutama pada hewan dengan rambut warna yang lebih gelap seperti kasus Angus lintas. Namun, penelitian lebih lanjut tentang pengaruh suhu lokal dan kelembaban di tingkat kebuntingan hewan ini diperlukan untuk hipotesis ini dikonfirmasi.

Tingkat kebuntingan dari Nellore adalah 41,1% (Tabel 1), dan tidak berbeda dari breeds lainnya ($P > 0,05$), menunjukkan bahwa jenis ini dapat digunakan sebagai sapi resipien embrio sapi, menunjukkan hasil yang memuaskan dari kebuntingan, karena parameter untuk seperti (sinkronisasi hari dari siklus estrus dan usia embrio, ukuran korpus luteum, kesehatan dan gizi) terpenuhi.

Konsentrasi plasmatic dari P4, tarif diameter korpus luteum dan kebuntingan tidak berbeda ($P > 0,05$) sesuai dengan jenis korpus luteum (Tabel 2), yang merupakan perjanjian dengan hasil yang diperoleh oleh Eja dkk. (2001). Ini menunjukkan bahwa kemampuan untuk menghasilkan P4 dan mempertahankan kebuntingan adalah setara dalam dua jenis korpus luteum, hanya berbeda dalam morfologi. Barreiros dkk. (2006), dalam sidang di Parana dengan sapi resipien persilangan, ditemukan 22,7% dari korpus luteum kavitas ketika hewan-hewan itu disinkronkan dengan P4. Nilai-nilai ini konsisten dengan yang ditemukan dalam penelitian ini (27,6%) dan tidak mempengaruhi konsentrasi plasmatic P4 oleh adanya rongga, seperti juga diamati oleh Siqueira dkk. (2009a).

Tabel 2. P4 konsentrasi plasmatik, diameter korpus luteum dan tingkat sapi dengan klasifikasi resipien sesuai korpus luteum

	Kompak	Kavitas	P
N	110	42	
P4 Konsentrasi plasmatik, ng/mL	1.58±1.23	1.43±0.96	0.602
Diameter korpus luteum, cm ¹	2.00±0.29	2.04±0.34	0.380
Tingkat kebuntingan, % ²	45.4	42.9	0.254

¹ Nilai tidak berbeda ($P > 0.05$)

² Nilai tidak berbeda ($P > 0.05$) dengan kuadrat

Aspek lain yang diamati oleh Kastelic dkk. (1990) adalah hilangnya rongga korpus luteum di sapi bunting. Kerugian seperti rongga dalam pemeriksaan USG menunjukkan bahwa temuan ini pada awal kebuntingan tidak penting untuk pemeliharaan kebuntingan. Selain itu, penelitian lain menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam konsentrasi P4 dengan kavitas atau compact corpora lutea pada saat transfer embrio (Eja et al, 2001;.. Marques et al, 2002).

Konsentrasi plasmatic dari P4 pada saat transfer embrio tidak berbeda antara sapi resipien yang menjadi bunting dan tidak bunting ($P > 0,05$) (Tabel 3), yang dalam perselisihan dengan Siqueira dkk. (2009a). Probabilitas kebuntingan tidak dipengaruhi ($P > 0,05$) dengan

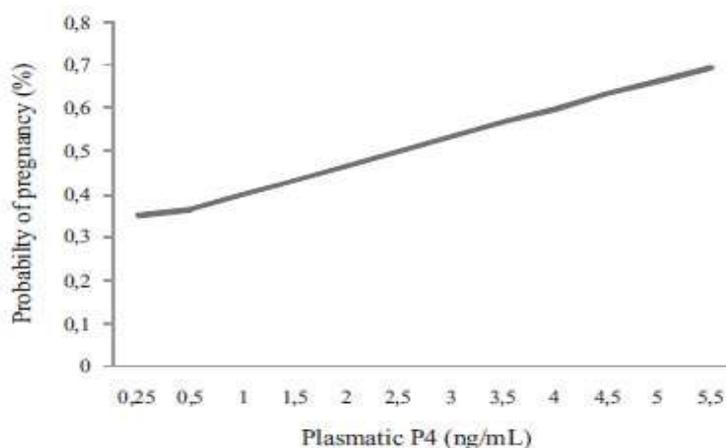
meningkatkan konsentrasi P4 plasmatic ([Gambar 2](#)). Marques et al. (2009) juga tidak menemukan perbedaan dalam konsentrasi P4 pada transfer embrio dari sapi resipien yang menjadi bunting dan tidak bunting, dengan nilai 2,51 dan 2,42 ng / mL, masing-masing. P4 konsentrasi plasmatic optimal untuk pembentukan kebuntingan bervariasi 2,0-5,0 ng / mL (Niemann et al., 1985). Namun, Eja dkk. (2001) menunjukkan bahwa konsentrasi P4 yang dibutuhkan untuk membangun dan mempertahankan kebuntingan mungkin kurang dari yang dijelaskan sebelumnya. Dalam studi tersebut, tidak ada perbedaan dalam tingkat kebuntingan ketika konsentrasi P4 lebih rendah dari 0,58 ng / mL, atau melebihi 16 ng / mL. Hasler dkk. (1980) juga menemukan bahwa 8 dari 177 sapi resipien bunting memiliki konsentrasi P4 <0,5 ng / mL pada hari 10, 11 dan 12 dari siklus estrus.

Ada perbedaan ($P < 0,05$) di corpus luteum diameter antara sapi resipien bunting dan tidak bunting, dengan diameter lebih besar dari korpus luteum di bekas ([Tabel 3](#)). Beberapa penulis telah menemukan korelasi positif antara daerah korpus luteum dan kemampuannya untuk menghasilkan P4. Dalam penelitian ini, ada korelasi positif antara diameter korpus luteum dan konsentrasi plasmatic dari P4, dengan nilai 0,32 ($P < 0,05$), seperti juga diamati oleh Siqueira dkk. (2009b). Probabilitas kebuntingan dipengaruhi oleh ukuran korpus luteum ($P < 0,05$) ([Gambar 3](#)).

Tabel 3. P4 konsentrasi plasmatic, diameter korpus luteum dari klasifikasi resipien menurut kebuntingan

	Bunting	Tidak bunting	P
N	67	85	
P4 Konsentrasi plasmatic, ng/mL	1.50±1.05	1.31±0.91	0.385
Diameter korpus luteum, cm ¹	2.03±0.41a	1.86±0.34b	0.042

¹ a≠b ($P < 0,05$).



Gambar 2. Kemungkinan kebuntingan pada sapi resipien

Dengan menggunakan konsentrasi P4 (P=0.092)

Semakin besar area dari jaringan luteal, yang lebih positif pengaruh pada tingkat konsepsi pada sapi resipien embrio sapi (Tribulo et al., 2000). Menurut Binelli dkk. (2001), memperoleh lutea corpora besar di reseptor dapat meningkatkan tingkat kebuntingan dalam program transfer embrio; Namun, Eja dkk. (2001) menunjukkan bahwa fluktuasi P4 mencerminkan kombinasi tingkat yang berbeda dari perkembangan korpus luteum dan sekresi P4 selama tahap awal dari siklus estrus. Looney dkk. (2006) menunjukkan bahwa corpora lutea minimal 10 mm yang dapat diterima untuk sapi resipien embrio untuk menjadi cocok untuk transfer embrio. Para penulis yang sama telah mengamati perbedaan dalam tingkat kebuntingan ketika menggunakan sapi resipien dengan korpus luteum lebih besar dari 10 mm. Dalam penelitian ini, diameter rata-rata korpus luteum adalah 20 mm.

Kesimpulan

Nellore Sapi resipien memiliki tingkat kebuntingan yang memuaskan dan sebanding dengan persilangan (*Bos taurus* × *Bos indicus*) sapi resipien. Pemilihan ukuran korpus luteum pada saat transfer embrio merupakan faktor penting untuk meningkatkan angka kebuntingan pada sapi resipien embrio sapi. Jenis korpus luteum (compact atau kavitas) tidak mempengaruhi tingkat kebuntingan sapi resipien embrio sapi.

Referensi

Associaçao Brasileira DE CRIADORES DE ZEBU -. **ABZ Regulamento melakukan serviço de registro genealógico das raças zebuínas**. Uberaba: ABCZ 2010. 148p.

BADINGA, L .; THATCHER, WW; THATCHER, T. et al. Pengaruh stres panas lingkungan pada perkembangan folikel dan steroidogenesis di lacting Holstein sapi. **Theriogenology**, v.39, p.797-810, 1993.

Barreiros, TRR; BLASCHI, W .; Borsato, EA et al. Comparação das Taxas de prenhez entre receptoras com corpos lúteos cavitários ou compactos apos protocolo de sincronização com cloprostenol ou transferência de embriões em tempo **Fixo. Semina: Ciências Agrárias**, ay.27, n.4, p.657-664, 2006.

BARUSELLI, PS; Marques, MO; Madureira EH dkk. Peningkatan angka kebuntingan di sapi resipien embrio diobati dengan perangkat CIDR-B dan EKG. **Theriogenology**, v.55, p.157, 2001 [abstrak]

Binelli, M .; THATCHER, WW; MATTOS, R. et al. Strategi Antiluteolytic untuk meningkatkan kesuburan pada sapi. **Theriogenology**, v.56, n.9, p.1451-1463, 2001.

Ealy, AD; Drost, M .; HANSEN, PJ Perkembangan perubahan dalam perlawanan embrio untuk efek buruk pada tekanan panas ibu pada sapi. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.2899-2905, 1993.

Ferreira, AM **Manejo reprodutivo e eficiência da atividade leiteira**. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, 1991a. 47p. (Embrapa-CNPGL. Documentos, 46).

Gonzalez, FHD; TORRES, CA; VETROMILA, MA Efeito da condição fisik em novilhas mestiças sobre a fertilidade e os níveis sanguíneos de glicose, albumina e progesterona Pos-serviço. **Revista de Brasileira Zootecnia**, ayat 22, n.3, p.439-444, 1993.

GRYGAR, saya .; KUDLA'C, E .; DOLEZEL, R. et al. Volume jaringan luteal dan konsentrasi serum progesteron pada sapi bantalan homogen korpus luteum atau corpus luteum dengan rongga. **Reproduksi Hewan Ilmu**, ayat 49, p.77-82, 1997.

Hasler, JF; BOWEN, RA; NELSON, LD dkk. Konsentrasi progesteron serum pada sapi menerima transfer embrio. **Journal Reproduksi dan Fertilitas**, ayat 58, p.71-77, 1980.

INTERNATIONAL embryo TRANSFER MASYARAKAT - IETS - **Manual Internasional Embrio transfer Society**. 3.ed. Stringfellow, DA; Seidel, S. (Eds.) SAVOY, IL, 1998. 173P.

KASTELIC, JP; Pierson, RA; Ginther, OJ Ultrasonic morfologi dari corporea lutea dan rongga sentral selama siklus estrus dan awal kebuntingan di sapi. **Theriogenology**, v.34, n.3, p.487-498, 1990.

LOONEY, CR; NELSON, JS; SCHNEIDER, HJ dkk. Meningkatkan kesuburan pada sapi resipien daging sapi sapi. **Theriogenology**, v.65, p.201-209, 2006.

MANN, GE; Lamming, GE; FRAY, estradiol MD Plasma dan progesteron selama awal kebuntingan sapi dan efek pengobatan dengan buserelin. **Reproduksi Hewan Ilmu**, v.37, p.121-131, 1995.

Marques, MO; Arruda, RP; Madureira, EH dkk. Efeito da cavidade melakukan corpo lúteo na Concentração plasmática de progesterona em novilhas *Bos taurus x Bos indicus* receptoras de embrião. **Revista de Brasileira Reprodução Hewan**, ayat 26, p.238-240, 2002.

Marques, PAF; COSTA, EP; FERNANDES CAC dkk. Inovulação de embriões bovinos recém-colhidos em receptoras tratadas com rbST 464 tidak dia lakukan estro. **Revista de Brasileira Zootecnia**, v.38, n.3, p.462-466, 2009.

Niemann, H .; Sacher, B .; ELASAESSER, F. tarif Kebuntingan relatif terhadap tingkat progesteron sapi resipien plasma pada hari transfer non-bedah beku / dicairkan embrio sapi. **Theriogenology**, V.23, p.631-639, 1985.

Nogueira, MFG; MELO, DS; Carvalho, LM et al. Apakah progesteron tinggi konsentrasi menurunkan tingkat kebuntingan di sapi resipien embrio disinkronkan dengan PGF2a dan EKG? **Theriogenology**, v.61, p.1283-1290, 2004.

Peterson, AJ; LEE, RS-F. Meningkatkan kebuntingan sukses setelah transfer embrio. **Theriogenology**, v.59, p.687-697, 2003.

SPELL, AR; BEAL, KAMI; Corah, LR dkk. Mengevaluasi sapi resipien dan embrio faktor yang mempengaruhi tingkat kebuntingan dari transfer embrio sapi potong. **Theriogenology**, v.56, n.2, p.287-297, 2001.

Siqueira, LGB; TORRES, CAA; SOUZA, ED dkk. Tingkat kebuntingan dan korpus luteum faktor-terkait yang mempengaruhi pembentukan kebuntingan di sapi resipien sapi disinkronkan untuk transfer embrio tetap waktu **Theriogenology**, v.72, p.949-958, 2009a..

Siqueira, LGB; TORRES, CAA; Amorim, LS et al. Hubungan timbal balik antara morfologi, echotexture, dan fungsi korpus luteum sapi selama siklus estrus. **Reproduksi Hewan Ilmu**, v.115, p.18-28, 2009b.

Soriano, BMA **Boletim agrometeorológico: 1998** (Fazenda Nhumirim). Corumbá: Embrapa Pantanal, 1999. 20 p.

SREENAN, JM; Diskin, MG Faktor yang mempengaruhi tingkat kebuntingan berikut transfer embrio pada sapi. **Theriogenology**, ay.27, p.99-113, 1987.

Teodoro, RL; Madalena, FE Evaluasi salib dari Holstein, Jersey atau Brown Swiss indukan x Holstein-Friesian / Gir bendungan. 2. liveweights Perempuan. **Genetika Molekuler dan Penelitian**, v.1, p.25-31, 2002.

TRIBULO, H .; BO, GA; Gatti, G. et al. Tingkat kebuntingan di sapi resipien embrio diobati dengan estradiol benzoat dan perangkat vagina B CIDR-untuk menghilangkan kebutuhan untuk deteksi estrus. Dalam: INTERNATIONAL CONGRESS ON HEWAN REPRODUKSI, 14. 2000, Stockholm **Anais ...**; Stockholm:. ICAR, 2000. v.2, p.115.

Beberapa Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Berat Badan Lahir, Berat Sapih, dan Kenaikan Berat Badan Setiap Hari Pada Anak Sapi FH

¹Departemen Ilmu Hewan, Fakultas Pertanian, Universitas Demirel Süleyman, 32260 Isparta, Turki

²Fakultas Kedokteran, Departemen Biostatistik dan Informatika Medis, Süleyman Demirel University, 32260 Isparta, Turki

³Dokter hewan, Desa Akkoyunlu, 35900 Tyre, İzmir, Turki

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi berat lahir, bobot penyapihan dan kenaikan berat badan setiap hari dari sapi Holstein di fasilitas ternak di Izmir, Turki. Data pada 2091 anak sapi yang lahir antara tahun 2005-2010 digunakan untuk menilai parameter yang relevan. Pengaruh tahun melahirkan, bulan melahirkan, jenis anak sapi dan interaksi antara tahun melahirkan dan bulan melahirkan pada bobot lahir anak sapi sangat signifikan. Rata-rata keseluruhan bobot lahir adalah $39,6 \pm 0,15$ kg. Selain itu, efek tahun melahirkan, bulan melahirkan, jenis kelamin, berat lahir, usia menyusui, tahun melahirkan x bulan melahirkan, tahun melahirkan x jenis kelamin dan tahun melahirkan x bulan melahirkan x interaksi gender pada bobot tidur dan berat badan hidup setiap hari (DLWG) sangat signifikan. Alat keseluruhan WW dan DLWG masing-masing ditemukan $79,7 \pm 0,20$ kg dan $525 \pm 2,5$ g. Kenaikan satu kilogram dalam berat lahir menghasilkan peningkatan 0,89 kg pada bobot sapih dan penurunan 1,26 g pada kenaikan berat badan setiap hari. Indeks suhu-kelembaban prenatal (THI) mempengaruhi berat badan pedet lahir ($R^2 = 0,67$). Peningkatan THI dari 50 menjadi 80 menghasilkan penurunan berat badan sebesar 3,8 kg.

Pengantar

Pertumbuhan didefinisikan sebagai kenaikan massa hewan hidup secara massal dan dibagi menjadi dua periode sebagai pertumbuhan prenatal dan pascakelahiran. Peternak umumnya menghadapi pertumbuhan hewan pasca melahirkan. Namun, pertumbuhan prenatal juga sama pentingnya dengan pertumbuhan pascakelahiran (Düzgüneş dan Eliçin, 1986). Berat lahir merupakan indikator pertumbuhan prenatal awal dan mudah. Berat lahir biasanya digunakan sebagai kriteria seleksi awal pada peternakan sapi (Kaygısız dkk., 2012). Banyak peneliti melaporkan perkiraan heritabilitas medium untuk berat lahir. Perkiraan heritabilitas untuk berat lahir betina Brown Swiss yang diberikan oleh Kaygısız (1998), Akbulut dkk. (2001) dan Tilki dkk. (2008) masing-masing 0,084, 0,36 dan 0,15, dan berat lahir sapi Holstein yang diberikan oleh Unalan (2009) adalah 0,328. Faktor genetik dan lingkungan seperti umur bendungan, bobot bawaan bendungan, kemampuan ibu, kondisi gizi bendungan, ukuran serasah, umur kehamilan, tahun melahirkan, musim, inseminasi banteng, jenis kelamin pedet, jenis kelahiran, wilayah geografis dan ketinggian dapat mempengaruhi. Berat lahir pedet (Sakhare dan Ingle, 1983; Sang dkk., 1986; Holland dan Odge, 1992; Alpan dan Arpacık, 1998; Wattiaux, 1996a). Selama masa perawatan, pertumbuhan secara signifikan dipengaruhi oleh genetika, berat lahir, jenis kelamin anak lembu, musim kemarau, durasi masa menyusui, jumlah asupan susu atau susu, konsumsi starter total, suhu lingkungan, dan praktik perawatan (Akbulut dkk., 1993; Greenwood dan Cafe, 2007; Bayrıl dan Yılmaz, 2010; Bateman

dkk., 2012). Impor sapi perah dan inseminasi buatan di Turki mengubah struktur genetik ternak. Ada juga berbagai perbedaan antara praktik pengelolaan ternak dari fasilitas pengelolaan ternak. Oleh karena itu, penentuan bobot lahir dan penyapihan pedet pada tahun dan kelompok yang berbeda dapat memberikan bantuan yang signifikan bagi petani dalam pelaksanaan dan penilaian terhadap praktik pengelolaan ternak. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui faktor lingkungan yang mempengaruhi berat lahir, bobot penyapihan dan kenaikan berat badan setiap hari dari sapi Holstein di fasilitas ternak di Izmir, Turki.

Bahan dan Metode

Data penelitian dipasok dari catatan 2091 anak sapi yang lahir di peternakan sapi perah anggota Asosiasi Petani Ternak İzmir dari tahun 2005 sampai 2010. Data tentang tanggal melahirkan, berat badan lahir, tanggal penyapihan dan berat penyapihan dikumpulkan dan dianalisis. Setelah disinfeksi tali pusar dan menjilati ibu, pedet ditimbang dengan skala ($\pm 0,5$ kg) dan dibawa ke kandang individu. Kemudian, 2-3 kg kolostrum yang diperah dari ibu mereka dipasok ke pedet dengan botol susu plastik. Anak sapi hanya diberi kolostrum selama 3 hari pertama. Mulai dari hari ke 4, anak sapi diberi makan dengan total 4 liter susu pengganti dalam dua kali makan pagi dan sore hari. Setelah minggu pertama, air dan umpan starter pedet dipasok ke pedet. Umpan starter pedet hanya digunakan selama bulan pertama. Setelah itu, selain pakan starter, jerami kering dan jelai dicampur dengan susu dipasok ke pedet. Waktu penyapihan diputuskan oleh peternak berdasarkan sifat pertumbuhan pedet. Pedet disapih pada usia rata-rata 77 hari. Mereka ditimbang di pagi hari hari sapih. Dua model linier digunakan dalam analisis data.

Model 1:
$$Y_{ijkl} = \mu + cy_i + cm_j + sk + (cy * cm)_{ij} + (cy * s)_{ik} + (cm * s)_{jk} + (cy * cm * s)_{ijk} + e_{ijkl};$$

Dimana, Y_{ijkl} : Berat lahir; μ : mean umum; Cy_i : Pengaruh tahun melahirkan; Cm_j : Pengaruh bulan melahirkan; Sk : Pengaruh gender betina dan interaksi $(cy * cm)_{ij}$, $(cy * g)_{ik}$, $(cm * g)_{jk}$, $(cy * cm * g)_{ijk}$ dan e_{ijkl} : Randomized error.

Model2:

Ini diciptakan untuk menyapih berat badan dan kenaikan berat badan setiap hari dengan menambahkan berat lahir (bw) dan usia penyapihan (wa) ke dalam Model 1 sebagai kovariat.

Efek indeks suhu-kelembaban (THI) terhadap berat lahir dan bobot penyapihan juga diselidiki. Data suhu dan kelembaban relatif tahun 2004-2010 dipasok dari Direktorat Meteorologi Daerah İzmir. Untuk menghitung nilai THI, rumus yang diberikan oleh Kibler (1964) ($THI = 1,8 \times Ta - (1 - RH) \times (Ta - 14.3) + 32$, dimana THI: Indeks kelembaban suhu, Ta : Suhu atmosfer ($^{\circ}C$), RH : Kelembaban relatif (%)) digunakan. Hubungan polinomial diidentifikasi antara rata-rata bulanan THI dan berat lahir anak

sapi dan model estimasi kurva dibuat. Prosedur GLM / Univariat perangkat lunak statistik SPSS digunakan dalam analisis data dan perbandingan berpasangan dibuat berdasarkan perkiraan alat marjinal dan uji Bonferroni diterapkan untuk beberapa perbandingan.

Hasil dan Diskusi

Berat lahir

Mean kuadrat terkecil dan kesalahan standar untuk bobot lahir betina Holstein (BW) diberikan pada Tabel 1. Tahun calving, bulan melahirkan, anak lembu dan tahun melahirkan x bulan melahirkan memiliki pengaruh yang signifikan ($P < 0,01$) pada berat lahir. Rata-rata keseluruhan bobot lahir adalah $39,6 \pm 0,15$ kg. Bobot kelahiran terkecil (38,1 dan 38,4 kg) diamati pada tahun 2005 dan 2010 sedangkan nilai tertinggi (41,7 kg) diamati pada tahun 2006. Berkenaan dengan bulan melahirkan, bobot lahir terendah (38,2 dan 38,3 kg) adalah Diamati pada bulan Juni dan November dan nilai tertinggi diamati pada bulan Februari dan April (41,0 dan 41,1 kg). Ada variasi yang signifikan dalam bobot lahir pedet berdasarkan tahun melahirkan dan bulan melahirkan. Efek tahun mencerminkan kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembaban relatif, memberi makan, kebersihan, dan kondisi pengelolaan bendungan selama masa kehamilan (Manzi dkk., 2012). Pengaruh tahun melahirkan, jenis kelamin pedet, jenis anak sapi, kondisi pemberian pakan sampai akhir masa kehamilan dan kondisi iklim pada berat lahir betina dilaporkan oleh berbagai penelitian (Unalan, 2009; Shazzad dkk., 2010; Bazzi, 2011; ; Uzmay dkk., 2011; Manzi dkk., 2012). Rata-rata keseluruhan bobot lahir ($39,6 \pm 0,15$ kg) dari penelitian ini lebih rendah dari nilai yang dilaporkan oleh Bush dan Nicholson (1986), Başpınar dkk. (1998), Johanson dan Berger (2003), Uzmay dkk. (2010); Mirip dengan nilai yang dilaporkan oleh Unalan (2009) dan Bayrıl dan Yılmaz (2010) dan lebih besar dari nilai yang dilaporkan oleh Şahiner dan Demir (1998), Akbulut dkk. (1993), Bardakçioğlu (2001), Bilgiç dan Alıç (2005) dan Kaygısız dkk. (2012). Berat lahir rata-rata breed ukuran besar seperti Holstein biasanya dilaporkan sebagai 40-45 kg (Wattiaux, 1996b). Bobot kelahiran pedet dalam penelitian ini sesuai dengan bobot lahir umum dari jenis Holstein.

Rata-rata kuadrat terkecil dan kesalahan standar untuk bobot lahir betina laki-laki dan perempuan masing-masing adalah $41,1 \pm 0,21$ dan $38,2 \text{ kg} \pm 0,21$ ($P < 0,05$). Berat lahir pedet jantan sekitar 2,9 kg (7,7%) lebih tinggi dari bobot lahir betina betina (Tabel 1). Peneliti sebelumnya juga melaporkan bobot lahir yang lebih tinggi pada pedet jantan (Unalan, 2009; Uzmay dkk., 2010; Bazzi, 2011; Manzi dkk., 2012). Anak laki-laki betina biasanya memiliki bobot lahir lebih tinggi karena masa gestasi lebih lama dan intensitas hormon androgen yang lebih tinggi serum janin (Uzmay dkk., 2010; Manzi dkk., 2012). Dengan demikian, perpanjangan hari pada masa kehamilan menghasilkan peningkatan berat lahir 0,5 kg (Wattiaux, 1996a).

Untuk menilai pengaruh indeks suhu-kelembaban (THI) terhadap bobot lahir, nilai THI rata-rata dihitung untuk bulan kelahiran dan sebelum 2 bulan dari bulan kelahiran. Variasi bobot lahir dan nilai THI berdasarkan bulan melahirkan disajikan pada

Gambar 1.

Ada hubungan polinomial antara nilai THI rata-rata dan nilai berat lahir bulan melahirkan (Gambar 2). Tingkat akurasi (R^2) dari hubungan antara THI dan berat lahir adalah 0,67. Variasi tahunan dan bulanan dalam perawatan, makan dan kondisi iklim mungkin telah menghasilkan variasi seperti itu. Mengingat hubungan polinomial antara nilai THI bulan melahirkan dan bobot lahir, diamati bahwa berat lahir awalnya menurun dan kemudian meningkat dengan meningkatnya nilai THI (Gambar 2). Sementara bobot lahir menurun secara linear dengan meningkatnya THI, kenaikan diamati pada nilai THI 70 atau di atas (September dan Oktober). Bobot kelahiran pada nilai THI masing-masing 50, 60, 70 dan 80 masing-masing diperkirakan dari persamaan ($Y = 0,009x^2 - 1,295x + 82,13$; $x = \text{THI}$) sebesar 39,9 kg, 36,8 kg, 35,6 kg dan 36,1 kg. Ada perbedaan 3,8 kg pada bobot lahir anak sapi yang lahir dengan nilai THI 50 dan 80. Penurunan bobot lahir pada nilai THI tinggi terutama disebabkan oleh dampak negatif dari tekanan panas pada perkembangan janin sampai akhir masa gestasi. Dengan demikian, Collier dkk. (1982) melaporkan bahwa pedet sapi Holstein yang terpapar tekanan panas selama 1/3 terakhir masa kehamilan memiliki bobot lahir kurang dari 3 kg dibandingkan sapi yang ditempatinya teduh. Karena bobot calve meningkat dari 4 menjadi 45 kg selama 1/3 terakhir dari masa gestasi, periode prenatal semacam itu sangat penting untuk bobot lahir pedet (Wattiaux, 1996a). Karena stres panas berdampak pada perkembangan

Berat sapih

Rata-rata kuadrat dan kesalahan standar untuk bobot penyapihan (misal) disajikan pada Tabel 1. Tahun calving, bulan melahirkan, jenis anak lembu, berat badan lahir, usia subur, tahun melahirkan x bulan melahirkan, tahun melahirkan x jenis anak lembu dan tahun melahirkan x calving Bulan x interaksi gender betina memiliki efek yang sangat signifikan ($P < 0,01$) pada bobot sapih. Rata-rata keseluruhan bobot sapih adalah $79,7 \pm 0,20$ kg. Sehubungan dengan tahun melahirkan, bobot penyapihan yang paling ringan (76,8 dan 77,1 kg) diamati pada tahun 2006 dan 2007 dan berat penyapihan terberat (84,3 kg) diamati pada tahun 2008. Berkenaan dengan bulan sabit, bobot sai terendah (77,8 kg) diamati pada bulan April dan nilai tertinggi (82,0 kg) pada bulan Februari. Rata-rata keseluruhan bobot sapih dari penelitian ini lebih kecil dari nilai yang dilaporkan oleh Başpınar dkk. (1998) dan lebih tinggi dari nilai yang dilaporkan oleh Akbulut dkk. (1993), Bayrıl dan Yılmaz (2010) dan Uzmay dkk. (2011). Berkenaan dengan bobot pedet yang disapih, Başpınar dkk. (1998) melaporkan nilai tertinggi di musim dingin dan terendah di musim panas dan Akbulut dkk. (1993) melaporkan nilai tertinggi di musim panas dan

musim gugur. Dalam penelitian ini, bobot sapih rendah pada musim semi dan tinggi pada bulan-bulan musim dingin.

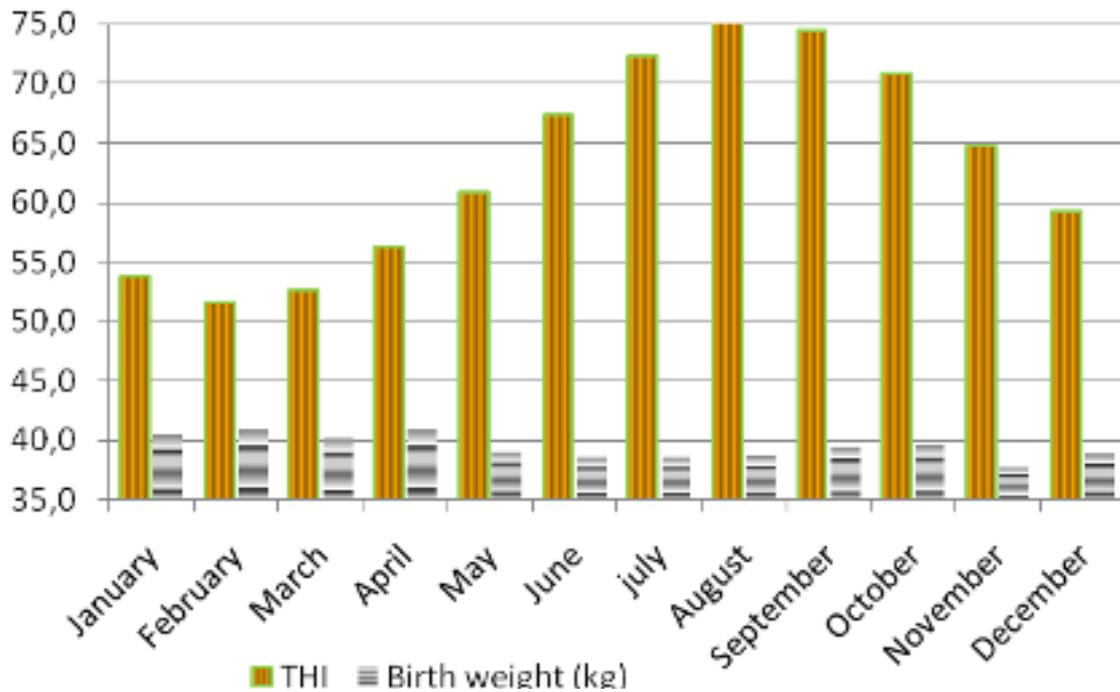
Cara paling tidak persegi untuk bobot sapih adalah $81,6 \pm 0,28$ kg pada pria dan $77,9 \pm 0,28$ kg pada wanita ($P < 0,05$). Sementara bobot lahir pedet laki-laki dari penelitian ini adalah 7,7% lebih tinggi dari pedet betina, rasionya turun menjadi 4,7% pada penyapihan. Berat badan sampai disapih menguntungkan betina. Meskipun pedet laki-laki tidak mampu menunjukkan keuntungan berat lahir mereka saat menyapih, mereka masih memiliki bobot penyapihan yang lebih tinggi daripada pedet betina hanya karena masa gestasi lebih lama atau tingkat androgen yang lebih tinggi (Manzi dkk., 2012). Mirip dengan temuan penelitian ini, Yanar dkk. (1993) juga melaporkan bobot penyapihan yang lebih tinggi untuk pria daripada wanita, namun Bayrıl dan Yılmaz (2010) tidak dapat mengidentifikasi perbedaan signifikan dalam bobot penyapihan jenis kelamin. Tabel 1 Kuadrat terkecil berarti, signifikansi dan beberapa hasil uji perbandingan untuk berat lahir (kg), bobot sapih (kg) dan kenaikan berat badan setiap hari (g) pedet Holstein

Faktor	Berat Lahir(kg)			Berat Sapih (kg)			Kenaikan Berat Badan Harian (g)		
	n	Berarti	SE	n	Berarti	SE	n	Berarti	SE
Rata-rata Keseluruhan	2091	39.6	0.15	1853	79.7	0.20	1853	525	2.5
Tahun Lahir		***			***			***	
2005	268	38.1c	0.38	258	79.5c	0.48	258	513cd	6.1
2006	224	41.7a	0.42	221	77.1d	0.53	221	490d	6.8
2007	232	40.1ab	0.43	214	76.8d	0.55	214	490d	7.0
2008	280	40.4ab	0.42	276	84.3a	0.52	276	587a	6.6
2009	596	39.2bc	0.24	563	79.3c	0.32	563	523c	4.1
2010	491	38.4c	0.26	321	81.5b	0.46	321	550b	5.9
Bulan Lahir		***			**			**	
Januari	182	40.2a-c	0.46	169	79.1ab	0.59	169	517ab	7.6

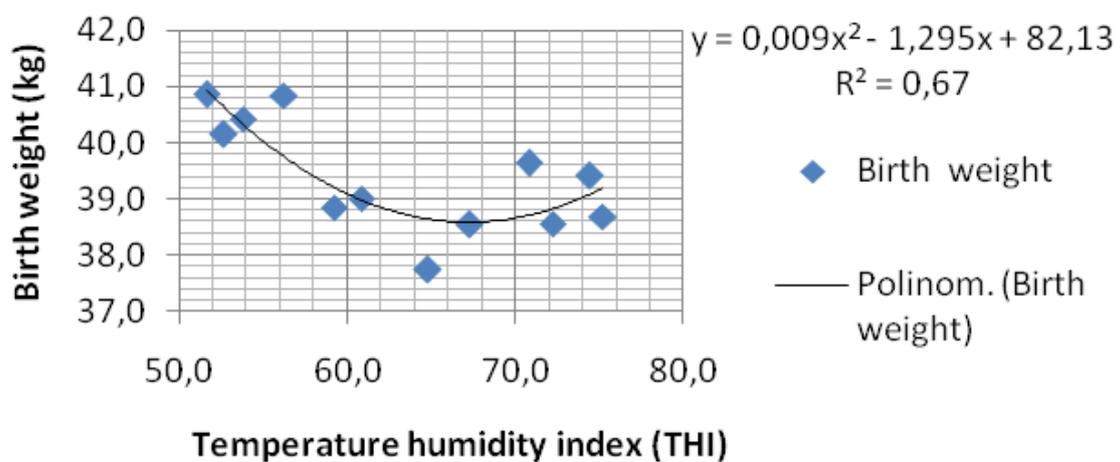
Febru ari	144	41.0a	0.51	117	82.0a	0.74	117	549a	9.5
Maret	132	40.2a- c	0.68	119	80.2ab	0.86	119	529ab	11.1
April	146	41.1a	0.54	127	77.8b	0.71	127	499b	9.2
Mei	160	39.5a- c	0.69	153	78.0b	0.84	153	505ab	10.8
Juni	192	38.2c	0.45	178	80.2ab	0.56	178	530ab	7.3
Juli	188	38.6bc	0.49	157	80.4ab	0.62	157	535ab	8.0
Agust us	187	38.9a- c	0.48	169	80.5ab	0.61	169	532ab	7.9
Septe mber	153	40.7ab	0.52	144	79.9ab	0.66	144	529ab	8.4
Oktob er	187	39.8a- c	0.46	169	80.3ab	0.57	169	536ab	7.3
Nove mber	202	38.3c	0.43	177	79.7ab	0.56	177	524ab	7.2
Dese mber	218	39.2a- c	0.45	174	78.7b	0.61	174	516ab	7.8
Jenis kelamin anak sapi		***			***			***	
Betina	1039	38.2	0.21	935	77.9	0.28	935	500	3.5
Jantan	1052	41.1	0.21	918	81.6	0.28	918	551	3.6
Tahun lahir x bulan lahur		***			***			***	
Tahun lahir x Jenis kelamin		NS			***			***	
Bulan lahir x Jenis kelamin		NS			NS			NS	
Tahun lahir x Bulan lahuir x Jenis		NS			***			***	

kelamin

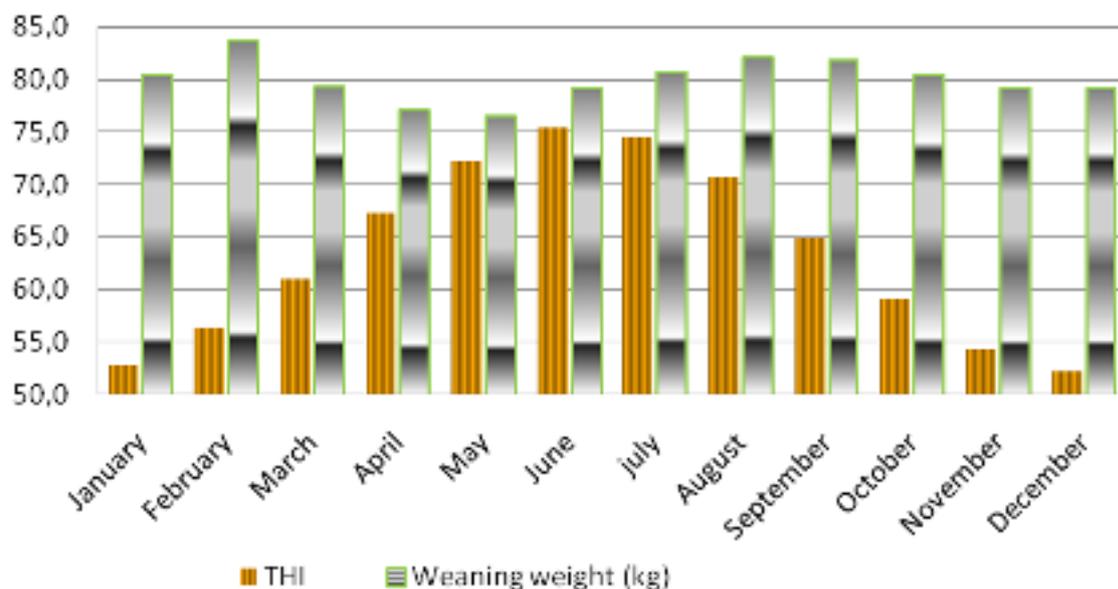
Berat lahir	-	0.89***	-1.26**
Usia sapih	-	0.41***	-1.08***
R2	0.21	0.60	0.43



Gambar 1 Variasi bulanan pada nilai berat lahir dan indeks suhu-kelembaban (THI)



Gambar 2 Variasi bobot lahir berdasarkan indeks kelembaban suhu



Gambar 3 Variasi bulanan pada nilai weaning weight and temperature kelembaban indeks (THI)

Berat penyapihan dipengaruhi oleh berat lahir dan umur penyapihan (Tabel 1). Kenaikan berat badan satu kilogram menghasilkan peningkatan bobot sapih 0,89 kg dan perpanjangan hari pada usia sapih menghasilkan kenaikan bobot sapih 0,41 kg. Bayril dan Yilmaz (2010) melaporkan kenaikan bobot betina Holstein sebesar 0,93 kg dengan kenaikan berat badan satu kg dan Yaylak et al. (2013) melaporkan kenaikan 1.09 kg pada sapi Brown Swiss dan Simmental. Selain meningkatkan bobot penyapihan dan bobot lahir yang lebih tinggi juga meningkatkan angka kematian anak dalam 48 jam kelahiran dan risiko distosia (Johanson dan Berger, 2003; Uzmay et al., 2010). Oleh karena itu, berat lahir ideal harus diarahkan pada seleksi.

Sekali lagi, nilai rata-rata THI dihitung untuk bulan kelahiran dan setelah 2 bulan dari bulan kelahiran untuk menilai efek THI pada bobot penyapihan. Variasi bulanan pada nilai indeks kelembaban suhu dan bobot weaning disajikan pada Gambar 3. Bobot penyapihan menurun dengan meningkatnya nilai indeks kelembaban suhu dan sebaliknya. Namun, karena antara berat lahir dan THI, hubungan tidak diamati juga antara bobot penyapihan dan THI. Bobot penyapihan yang lebih rendah pada musim semi terutama disebabkan oleh meningkatnya mikroorganisme penyebab penyakit dan penyakit yang membawa lalat bersamaan dengan meningkatnya suhu. Dengan demikian, kebanyakan penyakit diamati pada bulan-bulan musim semi di wilayah ini (Yaylak et al., 2010). Temperatur tinggi juga menurunkan konsumsi pakan pedet. Hal ini menunjukkan bahwa variasi suhu dan kondisi lingkungan lainnya di antara tahun kelahiran dan bulan kelahiran berpengaruh signifikan terhadap pedet saat disapih.

Kenaikan berat badan setiap hari

Rata-rata kuadrat dan kesalahan standar untuk kenaikan berat badan rata-rata hidup sehari-hari (DLWG) diberikan pada Tabel 1. Pengaruh tahun melahirkan, bulan melahirkan, jenis anak sapi, berat badan lahir, usia subur, tahun melahirkan x bulan melahirkan, tahun melahirkan x anak sapi Jenis kelamin dan tahun melahirkan x bulan melahirkan x interaksi gender betina pada kenaikan berat badan setiap hari ditemukan sangat signifikan ($P < 0,01$). Rata-rata DLWG anak sapi adalah $525 \pm 2,5$ g dengan nilai terendah (490 g) pada tahun 2006 dan 2007 dan nilai tertinggi (587 g) pada tahun 2008 ($P < 0,05$). Berkenaan dengan bulan melahirkan, nilai DLWG terendah (499 g) diamati pada bulan April, nilai tertinggi (549 g) diamati pada bulan Februari. Nilai DLWG rata-rata paling sedikit dari betina jantan dan betina masing-masing diamati sebagai 551 dan 500 g. Kenaikan satu kilogram pada berat lahir menghasilkan 1,26 g dan perpanjangan hari pada usia sapih menghasilkan penurunan 1,08 g pada anak sapi DLWG ($P < 0,01$). Rata-rata DLWG saat ini lebih tinggi dari nilai yang dilaporkan oleh Uzmay dkk., 2011. Keuntungan berat badan induk betina pada usia sapih harus 550-600 g (Kumlu, 1999). Dengan demikian, nilai saat ini ternyata cukup memadai.

Kesimpulan

Temuan saat ini menunjukkan bahwa berat badan lahir, bobot tidur dan kenaikan berat badan setiap hari pada anak sapi Holstein dipengaruhi secara signifikan pada tahun kelahiran, bulan kelahiran, jenis kelamin anak sapi dan beberapa interaksi antara variabel-variabel ini. Namun, berat lahir, bobot sapih dan kenaikan berat badan setiap hari sesuai dengan jenis penyakit Holstein pada umumnya. Indeks suhu-kelembaban pralahir (THI) mempengaruhi berat lahir anak sapi. Berat lahir pedet dengan nilai THI rendah selama trimester terakhir masa kehamilan lebih tinggi daripada pedet dengan nilai THI tinggi selama periode yang sama. Variasi berat lahir, bobot sapih dan kenaikan berat badan setiap hari terutama karena kondisi iklim, kondisi perumahan, praktik pengelolaan pakan dan kawanan bendungan selama masa gestasi dan masa menyusui anak sapi. Dalam seleksi yang harus dilakukan, efek faktor lingkungan seperti itu harus dicoba untuk dieliminasi. Penentuan bobot lahir dan bobot penyapihan pedet juga dapat memberikan berbagai dukungan dalam implementasi praktis fasilitas peternakan. Pencegahan tekanan panas yang diberikan pada sapi dalam sistem perumahan, oleh karena itu penyediaan praktik perawatan dan perawatan yang tepat juga dapat memperbaiki bobot lahir yang dapat berdampak negatif pada tekanan panas.

Referensi

- Akbulut Ö, Tüzemen N, Aydın R. 1993. Erzurum şartlarında Siyah Alaca sığırların verimi. 2: Doğum ağırlığı, büyüme ve yaşama gücü özellikleri. *Tb Vet. Jerami. Derg.*, 17 (3): 193-200.
- Akbulut O, Bayram B, Yanar M. 2001. Yarı entansif şartlarda yetiştirilen Esmer ve Siyah Alaca buzağuların doğum ağırlığına ait fenotipik ve genetik parametre tahminleri. *Lalahan Hay. Araşt. Derg.*, 41 (2): 11-20.
- Alpan O, Arpacık R. 1998. Maaf, tidak ada Yetiştiriciliği. 2. Baskı, Şahin Matbaası, Ankara.
- Bardakçioğlu dia. 2001. Bireysel kulübelerde barındırılan Holştayn buzağuların büyüme ve yaşama gücüne; Doğum ağırlığı, cinsiyet ve doğum mevsiminin etkileri. *İstanbul Üniv. Dokter hewan. Fak. Derg.*, 27 (2): 439-458.
- Başpınar H, Oğan M, Batmaz E S, Balcı F, Karakaş E, Baklacı C. 1998. Esmer ve Holştayn buzağuların büyüme ve yaşama gücüne etki eden bazı çevresel faktörler. *Lalahan Hay. Araşt. Derg.*, 38 (2): 19-31.
- Bateman HG, Hill TM, Aldrich JM, Schlotter RL, Firkins, JL. 2012. Analisis metoda pengaruh konsentrasi protein serum awal dan model prediksi empiris untuk pertumbuhan pedet Holstein neonatal melalui usia 8 minggu. *J. Dairy Sci.*, 95: 363-369
- Bayrıl T, Yılmaz O. 2010. Kazova Vasfi Diren Tarım İşletmesinde yetiştirilen Siyah Alaca buzağularda büyüme performansı ve yaşama gücü. *YYU Vet Fak. Derg.*, 21 (3): 169-173.
- Bazzi H. 2011. Evaluasi faktor non-genetik yang mempengaruhi berat lahir sapi Sistani. *J. Anim Dokter hewan. Adv.*, 10: 3095-3099.
- Bilgiç N, Alıç D. 2005. Siyah Alaca buzağuların doğum ağırlıklarına ait genetik ve fenotipik parametre tahminleri. *Ankara Üniv. Ter. Bil. Der.*, 10 (1): 72-75.
- Bush RS, Nicholson JWB. 1986. Pengaruh jadwal penyapihan, durasi pemberian susu dan tepung ikan pada kinerja pedet. *Bisa. J. Anim Sci.*, 66: 691-698.
- Collier RJ, Doelger SG, Kepala HH, Thatcher WW, Wilcows CJ. 1982. Efek stres panas pada konsentrasi hormon ibu, berat lahir sapi dan hasil susu postpartum sapi Holstein. *J. Anim Sci.*, 54: 309-319.
- Düzgüneş O, Eliçin A. 1986. Hayvan Yetiştirme İlkeleri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay: 978, Ders Kitabı: 288. Ankara.
- Greenwood PL, Cafe LM. 2007. Pertumbuhan sebelum melahirkan dan gizi sebelum melahirkan: konsekuensi jangka panjang untuk produksi daging sapi. *Hewan*, 1: 9: 1283-1296.
- Holland MD, Odge KG. 1992. Faktor-faktor yang mempengaruhi berat lahir anak sapi: Suatu tinjauan. *Theriogenology*, 38: 769-798.
- Johanson JM, Berger PJ. Berat lahir sebagai prediktor kemudahan melahirkan dan kematian perinatal pada sapi Holstein. *J. Dairy Sci.*, 86: 3745-3755.
- Kibler HH. 1964. Fisiologi lingkungan dan teknik penampungan. LXVII. Efek termal dari berbagai kombinasi suhu-kelembaban pada sapi Holstein yang diukur dengan delapan respons fisiologis, *Res. Banteng. Missouri Agric. Exp. Stasiun.* 862.
- Kaygısız A. 1998. Estimasi parameter genetik dan fenotipik untuk berat lahir di Brown dan Simmental Calves meningkat di Altindere State Farm. *Turk J. Vet. Animasi Sci.*, 22: 527-535.

- Kaygisız A, Bakır G, Yılmaz I. 2012. Parameter genetik untuk efek langsung dan maternal dan perkiraan nilai pengembangbiakan untuk berat lahir betina Holstein Friesian. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 18: 117-124
- Kumlu S. 1999. *Damızlık ve Kasaplık Sığır Yetiştirme*, Setma Matbaacılık, Ankara.
- Manzi M, Junga JO, Ebong C, Mosi RO. 2012. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan pra dan pasca-gulma dari enam kelompok breed ternak di stasiun Penelitian Songa di Rwanda. *Liv. Res. Pedesaan Dev*, Vol. 24, Pasal # 68. Tersedia 25 Mei 2014, (<http://www.lrrd24/4/manz24068.htm>)
- Sakhare PG, Ingle UM. 1983. Faktor genetik dan non-genetik yang mempengaruhi berat lahir di pedet Holstein x Sahiwal. *Indian J. Dairy Sci.*, 36: 184-186.
- Sang SM, Cho Y, Kim KK. 1986. Perkiraan repetabilitas umur kehamilan dan berat badan lahir dan dampak lingkungan terhadap sifat-sifat ini pada sapi perah. *Korean J. Anim Sci.*, 28: 184-187.
- Shahzad F, Yaqoob M, Younas M, Farooq U, Sher F, Asim M, Qamar S, Akbar M, Irshad I. 2010. Faktor-faktor yang mempengaruhi berat lahir sapi betina Cholistani. *Pak. Dokter hewan. J.*, 30 (4): 247-248.
- Şahiner Z, Demir H. 1998. Siyah Alaca sığırlarda yaşama gücü, büyüme, ergin canlı ağırlık ve vücut ölçülerini etkileyen bazı çevre faktörleri üzerinde araştırmalar. *İstanbul Üniv. Dokter hewan. Fak. Derg.*, 24 (1): 61-78.
- Tilki M, Saatçı M, Çolak M. 2008. Parameter genetik untuk efek langsung dan maternal dan perkiraan nilai pengembangbiakan untuk berat lahir pada Brown Swiss Cattle. *Turk J. Vet. Animasi Sci.*, 32: 287-292.
- Unalan A. 2009. Estimasi parameter genetik dan korelasi antara beberapa pengukuran tubuh pedet Holstein dan efek dari pengukuran pada kesulitan melahirkan. *J. Anim Dokter hewan. Adv.*, 8 (8): 1589-1594.
- Uzmay C, Kaya İ, Ayyılmaz T. 2010. Analisis faktor risiko distosia pada kawanan Holstein Turki. *J. Anim Dokter hewan. Adv.*, 9 (20): 2571-2577.
- Uzmay C, Ayyılmaz T, Kaya İ, Ünlü HB, Bertan B. 2011Turki DSYMB proyek pengujian keturunan dalam sistem peternakan kawanan sub-proyek inti dalam lingkup kegiatan pada peningkatan kemungkinan menerapkan prinsip-prinsip penggunaan sapi jantan calon, sapi lahir kesulitan dan hasil awal dari karakteristik pembangunan di keturunan. *Jerami. Urea*, 52 (1):. 1-8.
- Wattiaux MA. 1996a. *Panduan teknis susu Reproduksi dan seleksi genetik*. Institut Babcock untuk Penelitian dan Pengembangan Susu Internasional, Universitas Wisconsin.
- Wattiaux MA. 1996b. *Panduan teknis susu Menaikkan susu sapi perah*. Institut Babcock untuk Penelitian dan Pengembangan Susu Internasional, Universitas Wisconsin.
- Yanar M, Tüzemen N, Ockerman HW. 1993. Pengaruh usia penyapihan terhadap karakteristik pertumbuhan dan efisiensi pakan sapi Simmental. *Agr. Melengkapi. Int.* 45 (3-4): 38-39.
- Yaylak E, Kaya İ, Cundar V, Gevrek A. 2010. Jenis kerusakan, penyebab kerusakan dan kawanan meninggalkan usia pada sapi perah di bawah cakupan asuransi ternak dan dikenai kompensasi di beberapa distrik di Izmir Province of Turkey. *Afr. J. Agr. Res.*, 6: 1265-1273.

Yaylak E, Şayan Y, Kulay T, Güley Z. 2013. İthal edilen farklı ırk sığırlarda kolostrum kalitesi ve buzağlarının performansları. 2011-OMYO-001 nolu Proje Raporu.