



BIBLIOMETRIK DAN KAJIAN PUSTAKA TENTANG RISET TRANSFER EMBRIO PADA SAPI PERAH: SATU DEKADE TERAKHIR DALAM *DATABASE SCOPUS*

Afduha Nurus Syamsi ^{*1,2}, Nelly Kusrianty^{1,3}, Chomsiatun Nurul Hidayah², Lis Safitri²

¹ Program Doktor Ilmu Ternak, Universitas Brawijaya

² Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman

³ Fakultas Peternakan, Universitas Madako

*email: afduha.nurus.syamsi@unsoed.ac.id

Abstrak. Tujuan penulisan karya ilmiah ini adalah mengeksplorasi dan menyajikan data tren penelitian tentang transfer embrio (TE) 10 tahun terakhir pada *database scopus* untuk *stakeholder* pada industri perah di Indonesia. Kajian pustaka dilakukan dengan penelusuran ilmiah dalam *Google Scholar*, *skimming* dan seleksi, serta sintesis kajian. Analisis bibliometrik dilakukan dengan penelusuran ilmiah pada *database scopus* dengan kata kunci ("embryo transfer") AND ("dairy" OR "cattle" OR "cow" OR "bovine"), ekstraksi (*limit to and exclude*), analisis dengan Vosviewer dan RStudio, dan sintesis kajian. Hasil kajian menunjukkan bahwa kajian TE pada sapi perah mulai meningkat kembali pasca Pandemi Covid 19 (2022). Publikasi artikel TE tertinggi berdasarkan author adalah PS Baruselli dan PJ Hansen, berdasarkan institusi adalah University of Florida, berdasarkan negara adalah Brazil, berdasarkan benua adalah Amerika. Publikasi dengan korespondensi Indonesia baru tercatat sebanyak 2 dokumen. Berdasarkan kata kunci, objek penelitian berupa "*female*" dan "*animal*" adalah yang paling banyak muncul. Selain itu, kata kunci *embryo transfer* dan *pregnancy* merupakan metode dan output penelitian yang paling banyak muncul. Berdasarkan sebaran kepadatan, kata kunci yang paling ideal pada tren terkini adalah "*in vitro fertilization*" dan "*blastocysts*", sedangkan yang paling potensial untuk mendapatkan *riset gap* dan *novelty* adalah "*genetic*", "*genotype*", "*genomics*", "*clanixin*", "*analogs and derivatives*", dan "*anti-inflammatory agents*". Prosedur aplikasi TE meliputi superovulasi induk donor, inseminasi buatan, koleksi embrio, dan transfer embrio ke induk resipien. Masing-masing tahapan memiliki potensi kajian penelitian yang beragam. Penelitian TE pada sapi perah di Indonesia masih sangat terbatas, sehingga potensial di kembangkan. Kajian ini memiliki *riset gap* dan potensi *novelty* yang beragam berdasarkan pada kondisi di Indonesia, serta hasilnya akan sangat bermanfaat untuk mendukung pengembangan industri ternak perah di Indonesia.

Kata kunci: bibliometrik, transfer embrio, sapi perah

Abstract. This paper aims to explore and present data on embryo transfer (ET) research trends in the last ten years on the Scopus database for stakeholders in the Indonesian dairy industry. The literature review was conducted using scientific searches in Google Scholar, *skimming* and selection, and synthesizing studies. Bibliometric analysis was carried out in scientific searches on the Scopus database with keywords ("embryo transfer") AND ("dairy" OR "cattle" OR "cow" OR "bovine"), extraction (*limit to and exclude*), analysis with Vosviewer and RStudio, and study synthesis. The results showed that ET studies in dairy cows increased after the COVID-19 Pandemic (2022). The highest ET publications by the author are PS Baruselli and PJ Hansen, by the institution, is the University of Florida, by country is Brazil, by continent is America. Indonesian correspondence has only recorded as many as two documents. Based on keywords, research objects like "female" and "animal" are the most common. In addition, the keywords "embryo transfer" and "pregnancy" are the most common research methods and outputs. Based on the density distribution, the most ideal keywords in the latest trends are "in vitro fertilization" and "blastocysts", while those with the most potential to gain research gap and novelty are "genetic", "genotype", "genomics", "clanixin", "analogs and derivatives", and "anti-inflammatory agents". The ET procedures included cow donor superovulation, artificial insemination, embryo collection, and ET for the recipient cow. Research on ET in Indonesian dairy cattle is still limited, so it has the potential to be designed. This study has various research gaps and novelty potential based on conditions in Indonesia, and the results will be beneficial for supporting the development of the dairy industry in Indonesia.

Keywords: bibliometric, embryo transfer, dairy cattle

PENDAHULUAN

Budidaya sapi perah tidak dapat lepas dari proses, manajemen, dan teknologi reproduksi. Siklus produksi sapi perah atau juga biologi laktasi, diinisiasi melalui proses perkawinan dan fertilisasi. Keberhasilan pembentukan embrio hingga tahap implantasi, memberikan sinyal pada sistem fisiologis secara menyeluruh untuk memberikan respon dukungan terhadap kebuntingan. Respon ini juga meliputi perkembangan kelenjar ambing untuk menghasilkan susu (laktasi) yang akan digunakan oleh calon *neonatal*. Oleh karena itu, ketepatan siklus reproduksi menjadi kunci yang penting dalam produksi sapi perah. Selain itu, penyebaran potensi genetik dari tetua unggul perlu diakselerasi untuk menggantikan indukan dengan ekspresi produksi yang buruk di dalam populasi. Hal ini akan meningkatkan produktivitas secara menyeluruh dalam populasi, kemudian meningkatkan efisiensi ekonomi. Proses ini tidak dapat dilakukan hanya dengan metode perkawinan konvensional, mengingat ternak dengan potensi genetik tinggi sangat terbatas. Optimalisasi proses ini dapat diwujudkan melalui aplikasi teknologi transfer embrio.

Transfer embrio (TE) merupakan generasi kedua bioteknologi reproduksi setelah inseminasi buatan (IB) yang paling sering diterapkan pada ternak sapi di dunia. Teknologi TE digunakan untuk memanfaatkan sel-sel telur secara optimal dari indukan yang unggul (donor) untuk dibuahi dan disebarkan pada indukan lainnya (resipien). Aplikasi TE pada sapi perah melibatkan serangkaian prosedur yang kompleks, mulai dari superovulasi induk donor, inseminasi buatan, koleksi embrio, hingga transfer embrio ke induk resipien (Sophian dan Afiati, 2016; Muchlis et al., 2022). Teknologi TE pada mamalia (kelinci) pertama kali dilakukan di Inggris pada Tahun 1890 oleh Walter Heape. Teknologi TE mulai diujicobakan pada ternak domba pada Tahun 1934. Tahun 1949, kemudian diujikan pada sapi dengan empat keberhasilan kebuntingan, namun diaborsi sebelum mencapai masa penuh. Memasuki tahun 1951, TE mulai dilakukan pada sapi, kerbau, serta babi. Aplikasi TE di Indonesia pertama kali dilakukan di Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang pada Tahun 1994 (Mebratu et al., 2020; Said et al., 2020).

Aplikasi TE pada ternak perah telah menunjukkan hasil yang menjanjikan, dengan peningkatan signifikan dalam produksi susu dan perbaikan genetik. Kajian penelitian dan aplikasi TE di negara-negara maju telah berkembang optimal dan menjadi bagian integral dari industri peternakan perah (Bonilla et al., 2014). Sementara di negara berkembang seperti Indonesia, penerapannya masih menghadapi berbagai tantangan. Tantangan tersebut meliputi investasi, keterbatasan sumber daya manusia yang terlatih, serta komitmen antar lembaga. Padahal, Indonesia membutuhkan teknologi ini untuk mengakselerasi perkembangan industri dan pencapaian Swasembada Susu. Selain itu, program minum susu gratis bagi siswa sekolah dasar yang akan diterapkan bertahap di Indonesia mulai akhir Tahun 2024, menjadi salah satu faktor pendorong untuk dipertimbangkannya aplikasi TE dalam budidaya ternak perah di Indonesia.

Kajian tentang aplikasi TE perlu dirangkum untuk mempermudah pemahaman berbagai *stakeholder* pada industri perah di Indonesia. Studi bibliometrik juga perlu dilakukan untuk memberikan gambaran pada

peneliti bidang reproduksi dan produksi ternak perah. Gambaran tersebut meliputi perkembangan penelitian terkini berdasarkan penulis, *publisher*, negara, dan kata kunci yang merujuk pada materi, metode, atau inovasi tertentu dalam pengembangan TE. Hal ini akan mendorong peneliti untuk mengembangkan penelitian TE berdasarkan tren terkini pada sapi perah. Meningkatnya jumlah penelitian juga akan meningkatkan output berupa produk fisik (alat/bahan), inovasi prosedur atau metode, paten, dan lain sebagainya. Output penelitian ini yang kemudian lebih lanjut dapat digunakan oleh pemerintah dalam menetapkan kebijakan pengembangan industri sapi perah di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Analisis bibliometrik dilakukan menggunakan aplikasi *Vosviewer* dan *RStudio*, dengan jurnal yang berasal dari *database scopus*. Tahapan analisis meliputi penelusuran, ekstraksi, analisis, dan sintesis artikel (Tabel 1). Kajian pustaka dilakukan untuk mendukung informasi mengenai teknologi IB dan potensi kajian lanjut bagi pembaca. Kajian Pustaka tentang transfer embrio (TE) didasarkan pada jurnal yang terkumpul pada analisis bibliometrik, kemudian ditambah dari penelusuran ilmiah dalam *Google Scholar*. Pustaka yang dikumpulkan sebanyak 80% merupakan jurnal internasional yang diterbitkan dalam kurun waktu 10 tahun terakhir. Proses kajian pustaka dilakukan dengan urutan yaitu penelusuran jurnal, *skimming* dan seleksi jurnal, kemudian sintesis kajian.

Tabel 1. Gambaran tahap sintesis artikel dengan analisis bibliometrik

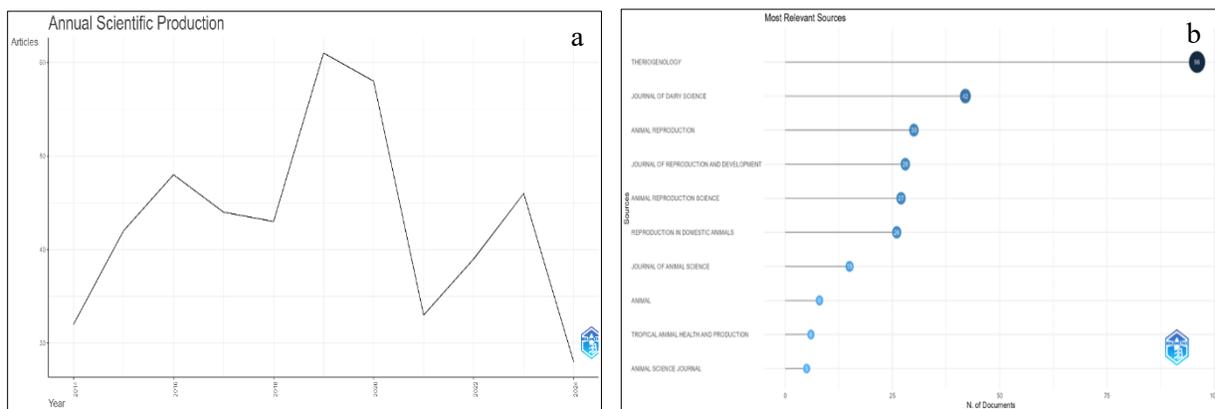
Tahapan	Uraian kerja	Keterangan
Penelusuran	Penelusuran jurnal pada database scopus dengan kata kunci ("embryo transfer") AND ("dairy" OR "cattle" OR "cow" OR "bovine")	3.152 dokumen
Ekstraksi	<i>Limit to subject area: agricultural and biological sciences, veterinary, biochemistry, genetics and molecular biology</i>	2.824 dokumen
	<i>Limit to document type: article, review, conference paper</i>	2.714 dokumen
	<i>Limit to years: 2014-2024 (10 tahun terakhir)</i>	843 dokumen
	<i>Exclude keywords: nonhuman, article, review, human, humans, Unclassified Drug, sheep, pig, goat</i>	478 dokumen
Analisis	478 dokumen terekstraksi diunduh dalam bentuk CSV untuk analisis Vosviewer dan BibTeX untuk RStudio. Keduanya digunakan untuk mendapatkan ilustrasi perkembangan penelitian berdasarkan pada penulis, institusi, <i>publisher</i> , negara, dan kata kunci.	Aplikasi Vosviewer dan RStudio
Sintesis	Hasil analisis berupa gambar dan grafik diinterpretasikan dalam pembahasan artikel.	-

HASIL DAN PEMBAHASAN

Publikasi yang berkaitan dengan transfer embrio (TE) pada rentang Tahun 2014-2024 (10 tahun terakhir) menunjukkan fluktuasi yang cukup tinggi (Gambar 1a). Mulai Tahun 2014, publikasi tema ini

memiliki kecenderungan meningkat hingga puncaknya berada pada Tahun 2019 (61 dokumen). Namun demikian, menurun pada Tahun 2020 (58 dokumen) dan kemudian terus menurun secara drastis pada Tahun 2021 (33 dokumen). Hal ini sangat berhubungan erat dengan Pandemi Covid 19, yang mempengaruhi kegiatan penelitian dan publikasi hampir di seluruh bidang. Turunnya publikasi ini disebabkan karena pembatasan kegiatan fisik (termasuk penelitian), penurunan anggaran penelitian, perubahan fokus penelitian dan dana pada penanggulangan Covid 19. Setelah memasuki masa *new normal* pada Tahun 2022 (39 dokumen), geliat penelitian TE mulai meningkat kembali, meskipun data publikasi Tahun 2024 menurun. Penurunan ini terjadi karena pengumpulan data masih dalam tengah tahun berjalan 2024 (28 dokumen) dan diprediksi akan terus meningkat melebihi Tahun 2023 (46 dokumen).

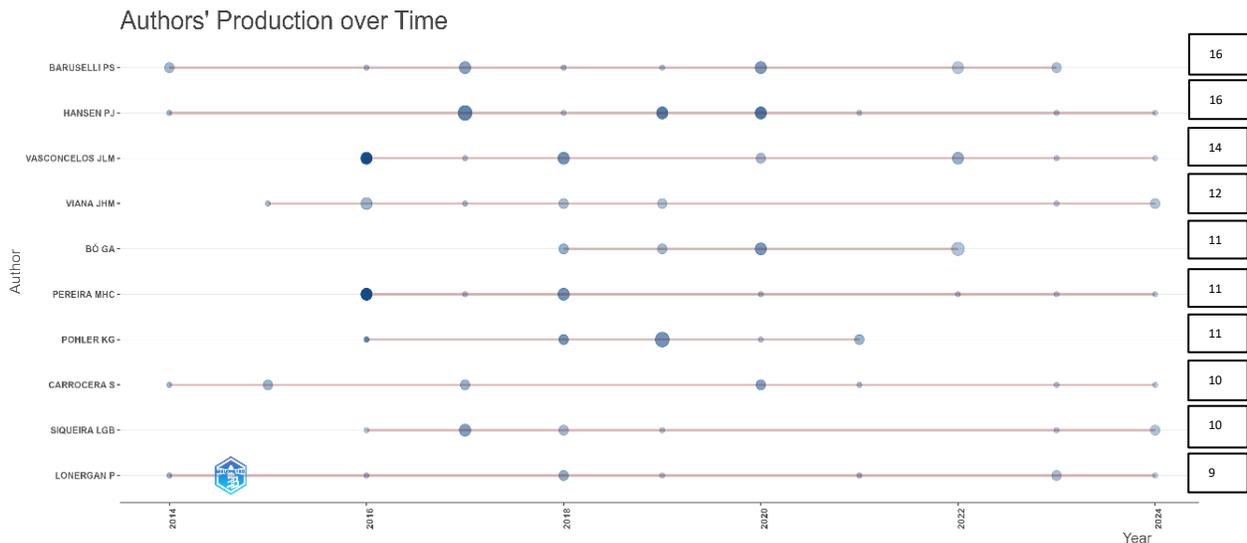
Gambar 1b menunjukkan bahwa lima besar publikasi terbanyak terkait TE pada 10 tahun terakhir terdapat pada Jurnal Theriogenology (96 dokumen), Journal of Dairy Science (42 dokumen), Animal Reproduction (30 dokumen), Journal of Reproduction and Development (28 dokumen), dan Animal Reproduction Science (27 dokumen). Data ini menunjukkan bahwa paper/ artikel tentang TE lebih banyak diterima dan dipublikasi oleh jurnal-jurnal spesifik tentang reproduksi ternak. Jurnal-jurnal dengan tema yang lebih umum, memungkinkan adanya seleksi dan distribusi keilmuan dalam setiap volume dan nomor, sehingga kesempatan publikasi pada tema TE atau tema reproduksi lain menjadi lebih kecil.



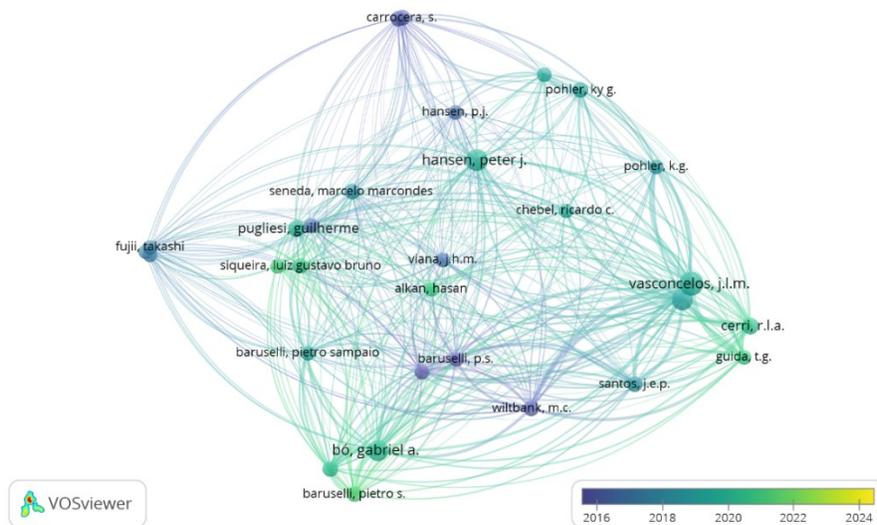
Gambar 1. Jumlah publikasi (a) tentang transfer embrio dan *publisher* yang paling banyak mempublikasi (b) pada *database scopus* Tahun 2014-2024

Gambar 2 dan 3, menunjukkan data authors correspondence dan kolaborasi antar author yang menerbitkan artikel dengan tema TE. Garis yang terhubung antara satu nama dengan yang lain, menunjukkan adanya kolaborasi pada suatu terbitan artikel. Selain itu, warna garis yang semakin terang, menunjukkan publikasi yang paling terkini. Data menunjukkan bahwa lima besar penulis dengan publikasi tema TE terbanyak adalah PS Baruselli dan PJ Hansen (16 dokumen), JLM Vasconcelos (14 dokumen), JHM Viana (12 dokumen), KG Pohler, MHC Pereira, dan GA Bó (11 dokumen), serta S Carrocera S dan LGB Siqueira (10 dokumen). Namun demikian, indeks kolaborasi tertinggi (menulis bersama dengan

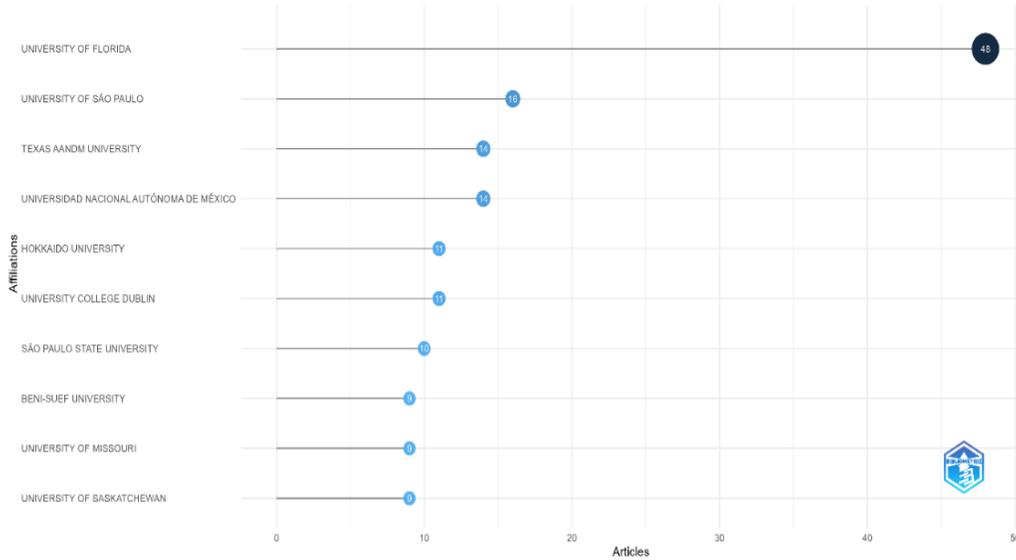
penulis lain pada suatu artikel) terdapat pada PJ Hansen (6,22), GA Bó (4,32), dan PS Baruselli (2,64). Data juga menunjukkan bahwa PS Baruselli dan PJ Hansen merupakan peneliti yang paling konsisten dalam meneliti dan mempublikasi artikel dengan tema TE. JLM Vasconcelos pada 3 tahun terakhir juga cukup aktif dalam penelitian dan publikasi tema ini. Adapun informasi ID scopus dan institusi ketiga penulis yaitu 6602269366/ Universidade de São Paulo (Pietro Sampaio Baruselli), 57203601629/ University of Florida (Peter James Hansen), dan 7006563571/ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (José Luiz Moraes Vasconcelos). Data peneliti ini dapat menjadi rujukan bagi calon peneliti untuk menawarkan kolaborasi sebagai anggota peneliti, penelaah/ reviewer, calon promotor, dan lain sebagainya.



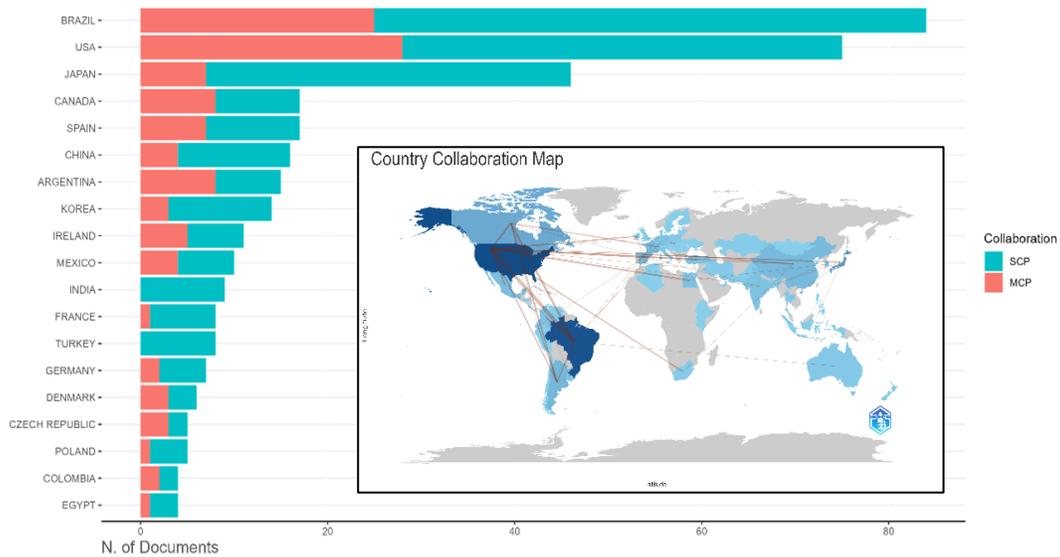
Gambar 2. Sepuluh besar *authors* yang mempublikasi tentang transfer embrio pada *database scopus* Tahun 2014-2024



Gambar 3. Jaringan atau kluster *authors* yang mempublikasi artikel dengan tema transfer embrio pada *database scopus* Tahun 2014-2024



Gambar 4. Sepuluh besar afiliasi *author* yang mempublikasi artikel dengan tema transfer embrio pada *database scopus* Tahun 2014-2024



Keterangan: SCP: *single country publication*; MCP: *multiple country publication*; Warna biru yang semakin gelap dalam peta menunjukkan jumlah publikasi yang semakin tinggi.

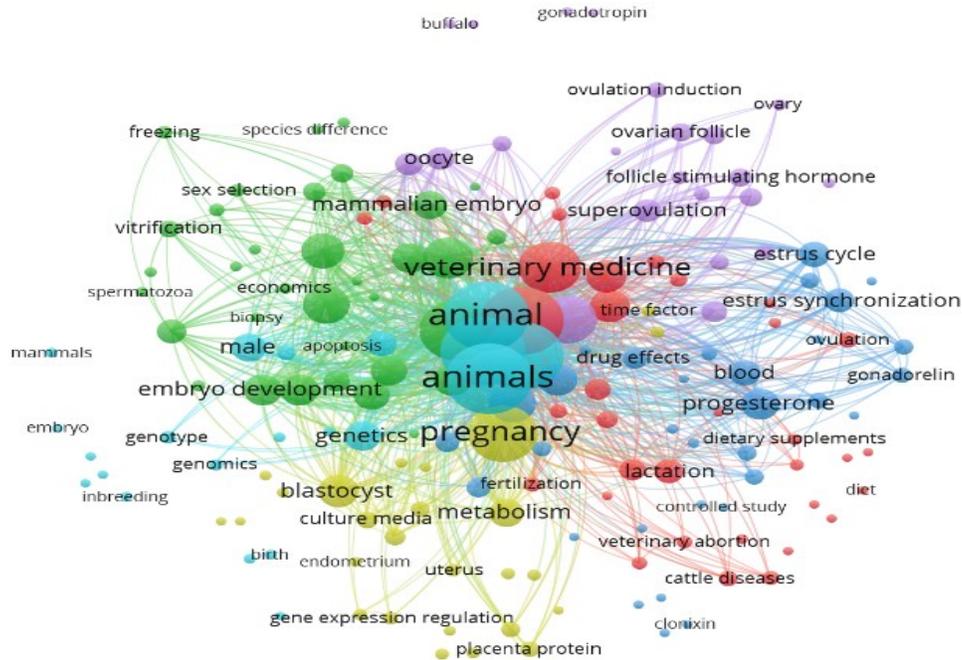
Gambar 5. Negara asal *author* yang mempublikasi artikel dengan tema transfer embrio pada *database scopus* Tahun 2014-2024

Institusi dengan publikasi terbanyak tentang TE secara berurut yaitu University of Florida (48 dokumen), University of São Paulo (16 dokumen), Texas A&M University dan Universidad Nacional Autonoma de Mexico (14 dokumen). Berdasarkan pada Gambar 4, diketahui bahwa 10 besar publikasi tentang TE terindeks *scopus* sebanyak 70% berasal dari Benua Amerika. Hal ini sejalan dengan data pada

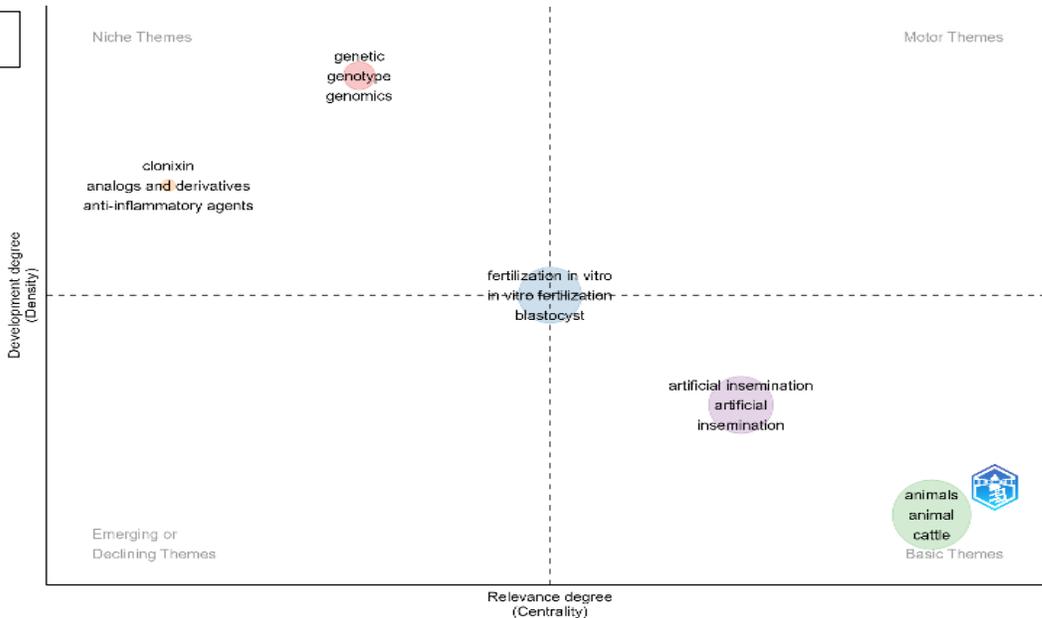
Gambar 5 yang menunjukkan bahwa 5 dari 10 besar negara yang mempublikasi artikel tentang TE terbanyak dari Benua Amerika. Jepang, Cina, Korea, dan India merupakan negara di Benua Asia dengan publikasi yang cukup baik. Indonesia sendiri dalam data ini ditemukan 2 naskah yang diterbitkan, dan salah satunya merupakan *multiple country publication* (MCP). Naskah MCP *author* dengan afiliasi Indonesia berkolaborasi dengan penulis dari Jepang (peta pada Gambar 5). Jumlah ini lebih sedikit dari Thailand (4 dokumen), namun lebih tinggi dari Vietnam dan Filipina (masing-masing 1 dokumen) untuk negara di Asia Tenggara. Informasi institusi dan negara ini sangat penting sebagai bahan pertimbangan baik bagi peneliti atau pemerintah untuk menjalankan kerjasama institusional atau bilateral dalam pengembangan TE di Indonesia. Informasi ini juga bermanfaat bagi calon mahasiswa untuk menentukan tujuan pendidikan tinggi pada negara dan universitas yang tepat dalam keminatan khusus bidang TE.

Berdasarkan kata kunci, kata “*female*” (525 kali) dan “*animal/ animals*”(300/ 287 kali) adalah yang paling banyak muncul. Hal ini disebabkan karena keduanya merupakan objek utama yang digunakan dalam penelitian TE. Selain itu kata kunci “*embryo transfer*” (423 kali) dan “*pregnancy*” (385 kali) juga memiliki intensitas kemunculan yang tinggi, karena merupakan metode dan output utama dalam penelitian TE. Gambar 6a menunjukkan kluster kata kunci yang saling terhubung, yang menandakan kemunculan secara bersamaan pada suatu artikel. Terdapat sekitar 5 kluster yang terbentuk dari 478 dokumen yang dirangkum dari *database scopus*. Warna tertentu pada gambar, menunjukkan kluster yang berbeda. Masing-masing kluster bermuara pada kata kunci yang mewakili “objek” dan metode TE itu sendiri, kemudian menyebar pada berbagai jenis kata kunci yang lebih spesifik. Kata kunci spesifik tersebut meliputi kajian pada organ reproduksi, fisiologi (hormonal, nutrisi, kesehatan), genetika, spermatozoa (kualitas, kuantitas, *sexing*), percobaan *in vitro*, dan lain sebagainya. Terdapat beberapa kata kunci pada Gambar 6 yang tidak terkoneksi atau terkoneksi jauh dengan kata kunci utama (objek, metode, dan output) seperti “*diet*”, “*species different*”, “*genomics*”, “*gene expression regulation*”, “*embryo development*”, “*clonixin*”, “*placenta protein*” dan lain sebagainya. Berdasarkan Gambar 6b, kata kunci yang paling ideal pada tren terkini adalah “*in vitro fertilization*” dan “*blastocysts*”, sedangkan yang paling potensial untuk mendapatkan novelty adalah “*genetic*”, “*genotype*”, “*genomics*”, “*clonixin*”, “*analogs and derivatives*”, dan “*anti-inflammatory agents*”. Kata kunci tersebut merupakan peluang untuk mendapatkan *riset gap* dan *novelty* baru untuk melaksanakan penelitian di Indonesia. Sebagai contoh kata kunci “*buffalo*” tidak terhubung pada 5 kluster yang terbentuk. *Buffalo* di Indonesia merupakan komoditas ternak perah harapan, namun memiliki masalah serius dalam hal reproduksi. Kajian TE pada kerbau untuk meningkatkan potensinya dalam menghasilkan susu, merupakan sebuah kebaruan yang penting bagi perkembangan penelitian reproduksi dan produksi perah di Indonesia pada khususnya.

a



b



Gambar 6. Kluster (a) dan diagram kepadatan (b) kata kunci dari 478 dokumen yang terangkum dengan tema transfer embrio pada *database scopus* Tahun 2014-2024

Prosedur Umum dan Peluang Kajian pada Aplikasi Transfer Embrio (Kajian Pustaka)

Seleksi Donor dan Resipien

Seleksi donor sapi dengan sifat genetik dan fenotipik yang unggul/ superior merupakan dasar dari penerapan transfer embrio. Keunggulan genetik ternak donor sangat berkontribusi pada tujuan genetik program dan kemungkinan menghasilkan sejumlah besar embrio yang dapat digunakan dalam TE. Pejantan

donor harus memiliki kualifikasi yang sangat bagus, sehat, dan berumur empat sampai delapan tahun. Sapi jantan yang dipilih harus memiliki *recording* yang jelas dan dengan evaluasi pertumbuhan tinggi serta, menghasilkan semen yang secara makroskopis dan mikroskopis memenuhi kriteria yang baik (David dan Hamilton, 2016). Donor sperma diperoleh dari pejantan di dalam *farm* atau di pusat transfer embrio dengan pemeliharaan yang intensif (Philips dan Jahike, 2016). Kriteria sapi betina donor yaitu dengan kualifikasi yang sangat bagus, sehat, dan berumur empat sampai delapan tahun. Recording sapi harus jelas dengan kapasitas produksi dan reproduksi yang baik. Disisi lain, evaluasi kecukupan pakan juga harus memadai dengan skor BCS optimal. Betina memiliki riwayat umur pertama kawin antara 18-24 bulan, laktasi mencapai 10 bulan dengan produksi susu diatas rata-rata, *days open* maksimal 60 hari, dan *calving interval* maksimal 365 hari (Selk, 2002).

American Embryo Transfer Association (2014) menjelaskan bahwa jumlah rata-rata embrio layak dari donor yang baik adalah 6,8 per *flushing*. Ferraz et al. (2016) menjelaskan bahwa sapi yang belum pernah beranak menghasilkan *viable embryos* lebih tinggi dibandingkan betina yang sudah beranak sekali dan atau lebih dari sekali ($72% > 70,5% > 61,6%$), serta jumlah ovum yang infertile lebih sedikit ($2% < 11,8% < 23,23%$). Menurut Maulana (2019), induk donor pada kelompok umur 5-10 tahun memperoleh rataan embrio layak transfer terbanyak (9,41/*flushing*), umur 2-4 tahun (7,41/*flushing*) dan umur 11-12 tahun (5,00/*flushing*), sehingga induk dengan umur 5-10 tahun memberikan dampak yang lebih baik dalam upaya aplikasi embrio transfer. Murphy et al (2018) menjelaskan bahwa volume semen pada jantan adult (3-6 tahun) lebih tinggi dibandingkan jantan pubertas (± 2 tahun) ataupun jantan senior (> 7 tahun). Motilitas sperma pasca *throwing* pada *adult bulls* (> 4 tahun) 69,9% lebih tinggi dibandingkan jantan umur pubertas (56,9%) dan lebih menurun lagi pada jantan senior (> 7 tahun). Selk (2002) menjelaskan bahwa kemampuan kualitas semen yang bagus terhadap produksi embrio layak adalah $> 55,95%$.

Tabel 2. Peluang penelitian pada tahap seleksi donor dan resipien pada teknologi transfer embrio

Uraian	Variabel	Sumber rujukan
Seleksi dan kriteria donor betina	Genetik (seleksi genom, EBV), produktivitas dan kryopreservasi oosit, status fisiologis (umur, kesehatan, hormonal, nutrisi), kualitas embrio.	Vieira et al. (2014); Ferraz et al. (2016);
Seleksi dan kriteria donor jantan	Genetik (seleksi genom, EBV), produksi sperma, kualitas spermatozoa, kryopreservasi sperma, sexing spermatozoa.	Capelouto et al. (2018), Baruselli et al. (2021); Wrenzycki (2022)
Seleksi dan kriteria resipien	Status fisiologis (umur, kesehatan, reproduksi, <i>BW & BCS</i> , hormonal, nutrisi)	

Salah satu aspek terpenting namun kurang diperhatikan dalam keberhasilan program TE adalah ternak resipien. Sapi resipien setidaknya berumur minimal 15 bulan dan memiliki siklus estrus yang normal (7-21 hari). Sapi ini juga memiliki bobot badan minimal 300 kg dan tidak memiliki riwayat gangguan reproduksi. Sapi yang dipilih harus memiliki indeks reproduksi yang baik, mudah beranak, memiliki kemampuan produksi susu yang baik, dan memiliki *mothering ability* yang baik. Mereka harus mendapat nutrisi yang tepat dengan BCS antara 3-4. Sapi-sapi ini juga harus menjalani program kesehatan ternak yang baik (Selk, 2002). Praharani et al. (2019) menjelaskan bahwa selain efek kualitas individu resipien, bangsa juga mempengaruhi terhadap keberhasilan TE. Bangsa sapi FH menghasilkan bobot badan lahir (55,56kg) yang lebih tinggi dibandingkan bangsa Ongole (44,44kg), Simental (50,53kg) dan Limosin (50,85kg).

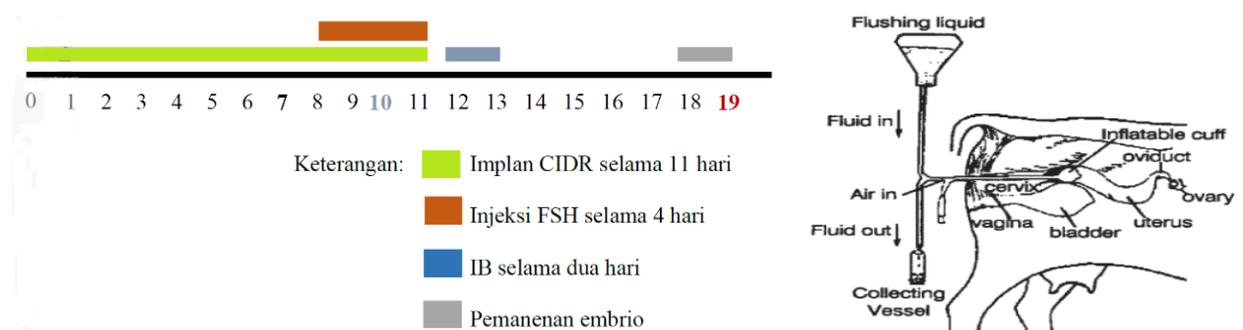
Superovulasi, Inseminasi Buatan, dan Flushing pada Ternak Donor

Superovulasi adalah suatu teknologi dalam bidang peternakan yang merupakan bagian terpenting dalam proses penerapan teknologi transfer embrio pada ternak. Superovulasi adalah proses biologi pertumbuhan dan pematangan serta pelepasan sel telur dalam jumlah yang melebihi ovulasi secara alamiah. Sapi yang dikelola dengan baik dapat melepaskan sebanyak 10-12 sel telur yang layak dalam satu kali estrus. Sekitar 85% dari semua donor subur akan merespons superovulasi dengan rata-rata lima embrio yang dapat ditransfer. Sapi dapat diberikan prosedur yang sama dengan interval 60 hari, tetapi akan terjadi penurunan jumlah embrio seiring waktu. Prinsip dasar superovulasi adalah merangsang perkembangan folikel melalui penggunaan sediaan hormon, yang diberikan secara intramuskular atau subkutan, dengan aktivitas hormon perangsang folikel (FSH). Sediaan FSH yang tersedia secara komersial disuntikkan dua kali sehari selama empat hari pada pertengahan atau mendekati akhir siklus estrus normal. Suntikan prostaglandin diberikan pada hari ketiga yang akan menyebabkan regresi CL dan terjadi estrus kira-kira 48 hingga 60 jam kemudian (Philips dan Jahike, 2016).

Prosedur yang dapat dilakukan dengan cara implan preparat progesteron intravaginal yaitu *Controlled Internal Drug Release* (CIDR) yang mengandung 60 mg *medroxyprogesterone acetate* selama 11 hari. Hari pertama implantasi CIDR merupakan hari ke-0. Superovulasi dilakukan pada sapi donor yang telah diseleksi dengan injeksi FSH (20 mg/ml) selama empat hari yaitu pada hari ke-8 sampai hari ke-11 dengan pemberian dua kali sehari yaitu pagi dan sore dengan dosis menurun 4 ml pada hari ke-1, 3 ml pada hari ke-2, 2 ml pada hari ke-3, dan 1 ml pada hari ke-4 secara *intra muscular*. Selanjutnya diinjeksi PGF2 α pada hari ke-10 pada pagi dan sore untuk mereresikan CL, sehingga dua sampai tiga hari setelahnya timbul estrus. Pada hari ke-11 CIDR dicabut, pada hari ke-12 dan ke-13 dilakukan inseminasi buatan pada sapi donor tiga kali, yaitu antara pagi-sore-pagi atau sore-pagi-sore tergantung onset estrus. Palpasi rektal dilakukan pada hari ke-7 setelah inseminasi buatan, sehingga diperoleh data jumlah *Corpus Luteum* yang berfungsi sebagai parameter untuk mendeteksi berapa jumlah ovum yang diovulasikan oleh seekor sapi (Maulana, 2019). Gambaran program superovulasi dapat dilihat pada Gambar 7.

Prosedur pemanenan embrio dilakukan tanpa pembedahan, tetapi menggunakan teknik yang disebut dengan flushing. Flushing menggunakan kateter karet sintesis kecil yang dimasukkan melalui leher rahim sapi donor, dan media cair khusus dimasukkan secara kontinyu hingga keluar kembali dari Rahim. Pemanenan embrio dilakukan tujuh atau delapan hari setelah estrus. Prosedur pemanenan ini relatif sederhana dan dapat diselesaikan dalam waktu 30 menit atau kurang tanpa membahayakan sapi. Stylet steril dimasukkan ke dalam kateter untuk mempermudah melewati serviks ke dalam rahim. Saat ujung kateter berada di rahim, manset diisi secara perlahan dengan kurang lebih 2 ml *normal saline*. Kateter kemudian ditarik perlahan sehingga manset terpasang pada os internal serviks. Larutan garam kemudian ditambahkan ke manset untuk menutup sepenuhnya *ostium interna serviks*. Konektor Y dengan tabung masuk dan keluar dipasang ke kateter. Sepasang tang dipasang pada setiap tabung untuk mengatur aliran cairan pembilas. Cairan ditambahkan dan dikeluarkan secara berurutan dengan memanfaatkan gravitasi. Cairan di dalam rahim ditekan melalui rektal, terutama di sepertiga bagian atas tanduk rahim.

Kurang lebih sebanyak satu liter cairan digunakan per donor. Setiap tanduk rahim diisi dan dikosongkan lima sampai sepuluh kali dengan 30 sampai 200 ml cairan setiap kali, sesuai dengan ukuran rahim. Embrio dikeluarkan dengan cairan ini ke dalam gelas ukur yang besar. Setelah sekitar 30 menit, embrio keluar dan dapat diamati di bawah mikroskop stereo (Selk, 2002). Proses pelaksanaan *flushing* embrio digambarkan pada Gambar 7. Embrio yang teramati diseleksi berdasarkan karakteristik tertentu (Tabel 3) yang kemudian akan diklasifikasikan menjadi embrio layak transfer dan tidak layak transfer. Embrio dengan kategori *excellent*, *good*, *fair* dan *poor* termasuk dalam kriteria layak transfer, sedangkan *degenerate* dan *unfertilize* tidak layak transfer.



Gambar 7. Gambaran program superovulasi dan pemanenan embrio/ *flushing* (Selk, 2002; Maulana, 2019)

Pada tahapan ini, terdapat berbagai potensi kajian penelitian yang dapat dilakukan antara lain *optimalisasi protokol superovulasi*: yaitu meneliti dosis dan jenis hormon yang paling efektif untuk meningkatkan jumlah dan kualitas oosit yang dihasilkan. *Genetika dan respon superovulasi*: yaitu memahami bagaimana faktor genetik mempengaruhi respon superovulasi pada berbagai ras dan individu ternak (*genetic improvement*). *Metode inseminasi buatan*: yaitu mengkaji teknik inseminasi buatan yang paling efisien untuk memastikan fertilisasi yang tinggi (waktu, metode dan perangkat, *skill* inseminator,

serta biaya). *Kondisi dan waktu flushing*: yaitu mengevaluasi waktu optimal dan kondisi terbaik untuk melakukan *flushing* guna meningkatkan pemulihan embrio. Selain itu juga dapat dikembangkan penelitian tentang superovulasi dan *flushing* ovum, fertilisasi *in vitro*, *sexing* pada spermatozoa, kryopreservasi embrio, metode *thawing freeze* embrio (Mapletoft & Bó, 2018; Mebratu et al., 2020; Valente et al., 2022; Lafontaine et al., 2023).

Tabel 3. Kategori kualitas embrio hasil flushing

Kualitas Embrio	Standar	Kriteria	Kelompok Embrio
1	<i>Excellent</i>	Sangat baik, tidak cacat, bentuk bundar, ikatan blastomer erat dan kompak, simetri dan warna agak gelap (dark amber)	Layak transfer
	<i>Good</i>	Permukaan embrio tidak begitu rata dengan degenerasi sel sekitar 0-10%	Layak transfer
2	<i>Fair</i>	Sedikit cacat, degenerasi sel lebih banyak (10-30%)	Layak transfer
3	<i>Poor</i>	Cacat, asimetri dan degenerasi sel lebih dari 30%	Layak transfer
DG	<i>Degenerate</i>	Embrio mengalami hambatan perkembangan, granulasi, ikatan blastomer sedikit lepas dan ovum masih muda. Semua sel mengalami degenerasi	Tidak Layak transfer
UF	<i>Unfertilized</i>	Sel-sel rusak dan tidak dibuahi	Tidak Layak transfer

Sumber: Maulana (2019)

Sinkronisasi Estrus dan Transfer Embrio pada Ternak Resipien

Untuk memaksimalkan kelangsungan hidup embrio pada betina resipien setelah transfer, maka kondisi saluran reproduksi resipien harus mirip dengan kondisi di saluran reproduksi donor. Hal ini memerlukan sinkronisasi estrus antara donor dan penerima, secara optimal dengan prosedur yang sama. Ternak resipien yang disinkronkan dengan PGF2 α , harus diberi perlakuan 12 hingga 24 jam sebelum sapi donor karena estrus yang diinduksi PGF2 α akan terjadi pada resipien dalam 60 hingga 72 jam dan pada sapi donor superovulasi dalam 36 hingga 48 jam. Produk sinkronisasi lebih efektif pada resipien pada masa *pubertas-adult* (Mebratu et al. 2020).

Proses inseminasi embrio ke sapi resipien diawali dengan memasukkan embrio ke dalam sedotan inseminasi berukuran 1/4 ml, dalam prosedur mikroskopis. Proses ini dibantu dengan jarum suntik 1 ml. Pengalaman, kesabaran, dan ketangkasan akan sangat mempengaruhi keberhasilannya. Tahap selanjutnya adalah palpasi ovarium resipien melalui rektal untuk menentukan ovarium mana yang telah berovulasi. Vulva sapi resipien dibuka lalu dimasukkan gun inseminasi dengan hati-hati pada leher rahim. Ujung gun diletakkan pada tanduk di sisi ovarium. Embrio dikeluarkan dengan perlahan di ujung depan tanduk rahim tersebut. Proses ini harus dilakukan secara perlahan dan menjamin tidak terjadinya luka rahim. Peradangan dan timbulnya jaringan parut akan sangat mengurangi kemungkinan terjadinya kebuntingan. Embrio yang baru di panen (*flushing*) dapat segera diinseminasi ke resipien atau dapat disimpan dalam keadaan beku

dalam nitrogen cair. Proses pembekuan dan *thawing* sangat rumit dan biasanya menghasilkan penurunan angka kebuntingan sekitar 10 - 20% dibandingkan dengan embrio segar.

Pada tahapan ini, potensi kajian penelitian yang dapat dilakukan meliputi *metode sinkronisasi estrus*: yaitu mengevaluasi berbagai protokol hormonal untuk sinkronisasi estrus, seperti penggunaan prostaglandin, progesteron, dan kombinasi hormon lainnya. *Pengaruh genetik dan fisiologis*: yaitu meneliti bagaimana faktor genetik dan fisiologis pada ternak resipien mempengaruhi respon terhadap sinkronisasi estrus. *Waktu optimal transfer embrio*: yaitu menentukan waktu optimal untuk transfer embrio setelah sinkronisasi estrus guna meningkatkan tingkat kehamilan. *Kesehatan dan nutrisi resipien*: yaitu mengkaji pengaruh status kesehatan dan nutrisi pada kesuksesan implantasi embrio. *Teknik transfer embrio*: yaitu mengembangkan dan menguji teknik transfer embrio yang lebih efisien dan minim invasif. Selain itu juga dapat dilakukan kajian perbandingan jenis embrio yang mengalami proses kryopreservasi berbeda dengan kondisi segar terhadap keberhasilan kebuntingan (Yizengaw , 2017; Mebratu et al., 2020; Nowicki, 2020).

Hasil Penelitian Transfer Embrio pada Sapi Perah

Penelitian transfer embrio telah menunjukkan kemajuan signifikan dalam peningkatan produksi ternak perah. Teknologi ini memungkinkan pemindahan embrio berkualitas tinggi dari sapi donor yang unggul ke sapi resipien, yang dapat meningkatkan kualitas genetik kawanan dan produksi susu. Kajian tentang teknik superovulasi, inseminasi buatan, dan sinkronisasi estrus telah meningkatkan tingkat keberhasilan kehamilan dan kesehatan anak sapi yang dihasilkan. Implementasi teknologi ini secara luas dalam industri peternakan telah memberikan kontribusi penting terhadap efisiensi dan produktivitas produksi susu (Hasler, 2014). Aziz et al. (2023) menjelaskan bahwa sapi betina hasil transfer embrio (TE) menunjukkan fertilitas yang lebih baik dibandingkan betina hasil inseminasi (IB) buatan biasa. Sapi TE memiliki kinerja reproduksi yang lebih unggul dibandingkan sapi IB pada masa laktasi pertamanya, dan menunjukkan peningkatan regulasi gen yang terkait dengan kesuburan. Nowicki (2020) menambahkan bahwa TE mampu meningkatkan fertilitas dan kebuntingan pada sapi perah. Tabel 4 menunjukkan hasil penelitian perbandingan *conception rate* pada sapi perah yang hanya di IB biasa dengan yang di IB-TE. Sapi perah yang di IB-TE menunjukkan *conception rate* yang lebih tinggi dibandingkan dengan IB biasa pada semua teknik perkawinan buatan.

Tabel 4. Perbandingan *conception rate* sapi perah yang di IB biasa dan di IB-TE

<i>Conception rate</i>		Keterangan
IB	IB-TE	
17,9%	41,7%	<i>frozen-thawed embryos</i>
20,4%	41,5%	<i>frozen-thawed IVF embryos following AI</i>
30%	52,6%	<i>frozen-thawed embryos (92%) and fresh embryos (8%) following AI after natural heat</i>

Sumber: Nowicki (2020)

Bonilla et al. (2014) menjelaskan bahwa performa pedet yang dilahirkan hasil dari IB, TE fresh, dan TEF (frozen) menunjukkan hasil yang berbeda. Kelahiran pedet betina sangat nyata lebih tinggi TE dibandingkan dengan IB. Proporsi anak betina hampir 100 persen didapat karena menggunakan metode sexing yaitu 92,7% (untuk TE embrio segar), 92,1% (TE freezing), dan 51,2% (AI biasa). Lahir kembar tidak didapatkan pada metode TE. Bobot lahir pedet hasil TE lebih tinggi dibandingkan dengan IB biasa (TE segar 45,3 kg vs TE Freezing 42,5kg vs IB 41,7kg). Tingkat culling heifers pada TE jauh lebih rendah dibandingkan dengan IB biasa (TE segar 4,3% vs TE Freezing 16% vs IB biasa 23,8%). Untuk variabel produksi yang lain cenderung tidak nyata seperti produksi dan kualitas susu. Performa produksi susu sapi hasil transfer embrio dapat berbeda-beda tergantung dari beberapa faktor seperti genetika sapi donor, kesehatan sapi donor, kriteria sapi donor, dan pengamatan berahi selama 2 siklus. Namun, teknologi transfer embrio (TE) dapat meningkatkan kapasitas reproduksi dari sapi betina dan memperpendek interval generasi antara tahapan seleksi dengan dapat dihasilkannya progeny donor dalam persentase yang tinggi. Meskipun tingkat keberhasilan TE belum sebaik Inseminasi Buatan (IB), namun TE dapat memperpendek interval generasi antara tahapan seleksi dengan dapat dihasilkannya progeny donor dalam persentase yang tinggi. Tabel 5 merangkum beberapa penelitian lain terkait dengan aplikasi TE pada sapi perah.

Tabel 5. Beberapa hasil penelitian transfer embrio pada sapi perah

Sumber	Fokus riset	Hasil
Siqueira et al. (2017)	Mengevaluasi bagaimana produksi embrio <i>in vitro</i> (IVP) menggunakan semen <i>reverse X-sorted</i> mempengaruhi fenotipe postnatal dari sapi perah.	<ul style="list-style-type: none"> • Anak sapi yang dihasilkan oleh IVP lebih berat saat lahir dibandingkan dengan anak sapi AI. • Anak sapi IVP-sexed memiliki tingkat kematian kumulatif yang lebih tinggi dari 90 hingga 180 hari dibandingkan dengan anak sapi AI. • Anak sapi <i>IVP-conv</i> dan MOET menunjukkan tingkat kematian yang tidak berbeda secara signifikan dari AI atau <i>IVP-sexed</i>.
Kaniyamattam et al. (2018)	Evaluasi kinerja ekonomi dan genetik dari berbagai kombinasi transfer embrio yang diproduksi <i>in vitro</i> (IVP-ET)	<ul style="list-style-type: none"> • Pada skenario ET100, nilai TBV (<i>True Breeding Value</i>) dari net merit (NMS) meningkat sebesar \$2.984 selama 15 tahun, dengan peningkatan terbesar terjadi antara skenario ET0 dan ET20. • Peningkatan TBV untuk produksi susu sebesar 2.477 kg/305 hari tercapai pada skenario ET100 dibandingkan dengan ET0.
Estrada-Cortés et al. (2019)	Aplikasi TE pada sapi dengan kondisi stress panas dan metritis menggunakan beberapa jenis sediaan embrio	Kebuntingan per TE lebih rendah pada sapi yang menerima embrio beku (7,0%; 3/43) dibandingkan sapi yang menerima embrio segar (26,7%; 32/120). Kebuntingan per TE lebih rendah pada sapi yang didiagnosis metritis pada periode awal postpartum (7,1%; 2/28) dibandingkan sapi tanpa metritis (24,4%; 33/135).
Sala et al. (2020)	Penerapan <i>5-day fixed-time embryo transfer</i> (FTET) dengan memanipulasi kadar progesteron melalui penggunaan ulang alat	FTET 5 hari dengan CIDR baru atau yang telah digunakan hingga empat kali menunjukkan hasil kehamilan dan pemanfaatan penerima yang serupa yaitu kebuntingan mencapai 90%. FTET meningkatkan efisiensi reproduksi dan penggunaan ulang CIDR adalah strategi yang layak



Sumber	Fokus riset	Hasil
	progesteron intravaginal (CIDR)	untuk mengurangi biaya tanpa mengorbankan efisiensi reproduksi.
Mapletoft et al. (2022)	Optimalisasi <i>AI fixed-time</i> (IATF) menggunakan <i>Equine chorionic gonadotropin</i> (eCG)	Induksi 400 IU eCG meningkatkan angka konsepsi setelah IATF, dan pada sapi perah yang dipelihara secara pastoral, pemberian ECG menyebabkan peningkatan kebuntingan yang signifikan. Hasil serupa juga terjadi pada sapi resipien embrio transfer.
Baruselli et al. (2022)	Aplikasi TE pada sapi perah <i>repeat-breeder</i> dan <i>heat-stressed</i>	Teknologi TE meningkatkan angka peluang kebuntingan pada sapi perah yang mengalami <i>repeat-breeder</i> dan <i>heat-stressed</i>
Lafontaine et al. (2023)	Membandingkan sapi yang dihasilkan dari fertilisasi in vitro (IVF), multiple ovulation embryo transfer (MOET), dan inseminasi buatan (AI) untuk karakteristik produksi susu.	Sapi yang dihasilkan dari MOET dan IVF memiliki performa yang lebih baik dalam hal produksi susu dibandingkan dengan sapi AI.

KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian transfer embrio (TE) pada sapi perah masih sangat potensial menghasilkan *novelty* yang outputnya dapat diadopsi, dimanfaatkan, diaplikasikan, dan dijadikan dasar dalam pembuatan kebijakan oleh *stakeholder* untuk mendukung pengembangan industri ternak perah di Indonesia.

REFERENSI

- Aziz, RLA, MM Hussein, H El-Said, S Kamel, MA Ibrahim, & A Abdel-Wahab. 2023. Monitoring of health status, performance and transcript abundance of some genes in dairy heifers produced by embryo transfer or artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(8), 1146-1155.
- American Embryo Transfer Association. 2014. AETA Annual Surveys. www.aeta.org/survey.asp.
- Baruselli, PS, CA Rodrigues, RM Ferreira, JNS Sales, FM Elliff, LG Silva,... & JD Michael. 2021. Impact of oocyte donor age and breed on in vitro embryo production in cattle, and relationship of dairy and beef embryo recipients on pregnancy and the subsequent performance of offspring: A review. *Reproduction, Fertility and Development*, 34(2), 36-51.
- Baruselli, PS, BLC Catussi, & LAD Abreu. 2022. Use of reproductive biotechnologies to improve the fertility of repeat-breeder and heat-stressed dairy cows. *SPERMOVA*, 12(1), 112-117.
- Bonilla, L, J Block, AC Denicol, PJ, & Hansen. 2014. Consequences of transfer of an in vitro-produced embryo for the dam and resultant calf. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 229-239.
- Capelouto, SM, ZP Nagy, DB Shapiro, SR Archer, DP Ellis, AK Smith,... & HS Hipp. 2018. Impact of male partner characteristics and semen parameters on in vitro fertilization and obstetric outcomes in a frozen oocyte donor model. *Fertility and Sterility*, 110(5), 859-869.
- David, A & S Hamilton. 2016. Hamco Cattle Co. 18th Annual Angus bull sale. Glenboro, Manitoba, Canada.
- Estrada-Cortés, E, WG Ortiz, RC Chebel, EA Jannaman, JI Moss, FC de Castro, ... & PJ Hansen. 2019. Embryo and cow factors affecting pregnancy per embryo transfer for multiple-service, lactating Holstein recipients. *Translational Animal Science*, 3(1), 60-65.
- Ferraz, PA, C Burnley, J Karanja, A Viera-Neto, JEP Santos, RC Chebel, & KN Galvão. 2016. Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. *Theriogenology*, 86(7), 1834-1841.
- Hasler, JF. 2014. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology*, 81(1), 152-169.
- Kaniyamattam, K, J Block, PJ Hansen, & A De Vries. 2018. Economic and genetic performance of various combinations of in vitro-produced embryo transfers and artificial insemination in a dairy herd. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1540-1553.



- Kipper, BH, JT Trevizan, JT Carreira, IR Carvalho, GZ Mingoti, ME Beletti, ... & MB Koivisto. 2017. Sperm morphometry and chromatin condensation in Nelore bulls of different ages and their effects on IVF. *Theriogenology*, 87, 154-160.
- Lafontaine, S, R Labrecque, P Blondin, RI Cue, & MA Sirard. 2023. Comparison of cattle derived from in vitro fertilization, multiple ovulation embryo transfer, and artificial insemination for milk production and fertility traits. *Journal of Dairy Science*, 106(6), 4380-4396.
- Mapletoft, RJ, & GA Bó. 2018. Innovative strategies for superovulation in cattle. *Animal Reproduction (AR)*, 10(3), 174-179.
- Mapletoft, RJ, PS Baruselli, & GA Bo. 2022. Fisiología relacionada al uso de la eCG en ganado de carne y leche. *SPERMOVA*, 12(1), 83-91.
- Maulana, I. 2019. Tingkat Keberhasilan Superovulasi Pada Berbagai Umur Sapi Donor. Naskah Publikasi Program Studi Peternakan.
- Mebratu, B, H Fesseha, & E Goa. 2020. Embryo transfer in cattle production and its principle and applications. *International Journal of Pharmacy & Biomedical Research*, 7(1), 40-54.
- Miller, S. 2022. Genomic selection in beef cattle creates additional opportunities for embryo technologies to meet industry needs. *Reproduction, Fertility and Development*.
- Muchlis, A, S Sema, AL Toleng, & H Sonjaya. 2022. Penerapan Bioteknologi Dalam Produksi Ternak Untuk Meningkatkan Produk Asal Hewan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Terpadu*, 2(1), 95-100.
- Nowicki, A. 2021. Embryo transfer as an option to improve fertility in repeat breeder dairy cows. *Journal of Veterinary Research*, 65(2), 231-237.
- Phillips, PE, & MM Jahnke. 2016. Embryo transfer (techniques, donors, and recipients). *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 32(2), 365-385.
- Praharani, L, RG Sianturi, DA Kusumaningrum, & O Parlindungan. 2020. Berat Lahir dan Mortalitas Anak Sapi Belgian Blue dari Rumpun Resipien dan Ketinggian Tempat Berbeda. In *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner* (pp. 45-54).
- Said, S, PP Agung, WPB Putra, & EM Kaiin. 2020. The role of biotechnology in animal production. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 492, No. 1, p. 012035). IOP Publishing.
- Sala, RV, LF Melo, JCL Motta, L Leffers-Neto, LC Carrenho-Sala, M Fosado, ... & A García-Guerra. 2020. Optimization of a 5-day fixed-time embryo transfer (FTET) protocol in heifers I. Manipulation of circulating progesterone through reutilization of intravaginal progesterone devices during FTET. *Theriogenology*, 156, 171-180.
- Selk, G. 2002. Embryo transfer in cattle. Oklahoma Cooperative Extension Service.
- Siqueira, LG, S Dikmen, MS Ortega, & PJ Hansen. 2017. Postnatal phenotype of dairy cows is altered by in vitro embryo production using reverse X-sorted semen. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5899-5908.
- Sophian, E, & F Afiati. 2016. Peranan bioteknologi reproduksi dalam peningkatan kualitas ternak. *Biotrends*, 7(1), 42-47.
- Valente, RS, TV Marsico, & MJ Sudano. 2022. Basic and applied features in the cryopreservation progress of bovine embryos. *Animal Reproduction Science*, 239, 106970.
- Vieira, LM, CA Rodrigues, MF Mendanha, MFD Sá Filho, JNSD Sales, AH Souza, ... & PS Baruselli. 2014. Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer programs in Holstein cattle. *Theriogenology*, 82(2), 204-212.
- Wrenzycki, C. 2022. Parameters to identify good quality oocytes and embryos in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 34(2), 190-202.
- Yizengaw, L. 2017. Review on estrus synchronization and its application in cattle. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*, 4(4), 67-76.