

RESPON SUPEROVULASI DENGAN HORMON *PREGNANT MARE SERUM GONADOTROPIN* PADA KERBAU RAWA INDUK

Lisa Praharani*, Riasari Gail Sianturi, Diana Andrianita Kusumaningrum dan Nurul Azizah

Balai Penelitian Ternak

*Korespondensi email: lisa.praharani@gmail.com

Abstrak. Superovulasi berperan penting dalam program transfer embrio. Suatu penelitian awal dilakukan untuk mengetahui respon superovulasi hormonal menggunakan hormone *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) pada ternak kerbau rawa induk. Penelitian dilakukan di Balai Penelitian Ternak. Sebanyak tiga ekor kerbau rawa induk paritas 3-5 dengan kondisi tubuh sedang disinkronisasi berahi dengan hormone prostaglandin (PGF) 5 ml/ekor dilakukan dua kali dengan interval 11 hari. Superovulasi dengan 3000 IU PMSG dilakukan pada hari ke-10 setelah estrus. Prostaglandin diberikan 48 jam setelah penyuntikan PGF sebanyak 5 ml/ekor dengan 2 kali pemberian interval 12 jam. Inseminasi buatan dilakukan pada 72 jam setelah pemberian PGF terakhir menggunakan 2 straw semen beku per inseminasi. Pemberian hCG 2 ml/ekor pada saat IB. Flushing dilakukan pada hari ke-6 setelah IB secara non-operasi. Pengamatan jumlah folikel (TFL) dan ukuran diameter folikel (DFL) dilakukan menggunakan Ultrasonography (USG). Data dianalisa secara deskriptif. Rataan TFL dan DFL 16,6 buah dan 12,0 mm. Embrio layak (NE) belum dihasilkan. Respon superovulasi pada kerbau rawa menghasilkan jumlah dan ukuran folikel yang besar, namun belum menghasilkan embrio layak transfer.

Kata kunci: Superovulasi, PMSG, USG, folikel, kerbau rawa induk

Abstract. Superovulation plays an important role in the embryo transfer program. A preliminary study was conducted to determine response of superovulation using *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) hormone in swamp buffalo. A total of three swamp buffalo cow parity ranged 3-5 with body condition medium were estrus synchronized with Prostaglandin hormone (PGF) @ 5 ml/head twice with 11 days of interval. Superovulation with 3000 IU PMSG was performed on the 11th day after estrus. Prostaglandins were given 48 hours after injection of PMSG with 2 intervals of 12 hours. Artificial insemination (AI) was carried out on 72 hours after last treatment PGF, using 2 frozen semen straws per insemination. Administration of hCG 2 ml/head at the time of IB. A non-surgery flushing was performed on day 6 after AI. The observation of the numbers of follicle (TFL) and the size of the follicle diameter (DFL) was performed using ultrasonography (USG). The data were analyzed descriptively. Average numbers and size of DFL was 16.6 and 12.0 mm. Viable embryos (NE) have not been produced. The response of superovulation in swamp buffalo cows resulted in a large number and size of follicles.

Keyword: Superovulation, PMSG, USG, follicle, swamp buffalo cow

PENDAHULUAN

Ternak kerbau memiliki peran dalam mendukung penyediaan daging nasional, meskipun kontribusi daging kerbau terhadap substitusi daging sapi masih rendah (Putra dan Triatmojo, 2018). Pada beberapa daerah seperti Sumatra Utara, Sumatera Barat, Banten, Jawa Barat, Jawa Timur, NTB dan Sulawesi Selatan dilaporkan bahwa konsumsi daging kerbau lebih tinggi disebabkan oleh peran daging kerbau yang sangat lekat dengan budaya, adat istiadat dan kearifan local pada masyarakat tersebut (Asriany, 2017).

Di lain pihak, populasi ternak kerbau mengalami penurunan sebesar 46,3% selama sepuluh tahun terakhir (Ditjen PKH, 2020) yang diduga akibat menurunnya kualitas genetic disebabkan oleh tingginya tingkat inbreeding. Praharani dan Sianturi (2018) menyebutkan hampir semua daerah sentra

ternak kerbau melaporkan dugaan tingginya tekanan inbreeding akibat kelangkaan pejantan dan lama penggunaannya dalam sub populasi ternak kerbau dengan sistem pemeliharaan digembalakan serta adanya perkawinan yang belum terarah. Dampak inbreeding pada ternak kerbau berpengaruh terhadap penurunan performa produksi, reproduksi dan masa produksi (Bashir *et al.*, 2019).

Perbaikan mutu genetic pada ternak kerbau dapat dipercepat melalui aplikasi teknologi reproduksi seperti Inseminasi buatan (IB) dan transfer embrio (TE) dengan menggunakan betina elite dan pejantan *proven bull* (Baruselli *et al.*, 2020). Penerapan IB ternak kerbau telah banyak dilakukan pada daerah sentra produksi pengembangan sebagai salah satu upaya menekan tingkat inbreeding. Selain itu dilaporkan keberhasilan program IB meningkatkan performa pertumbuhan anak hasil IB dan preferensi peternak (Praharani dan Sianturi, 2018). Sedangkan TE pada ternak kerbau belum dilakukan terutama di Indonesia.

Dalam program produksi embrio secara *in vivo*, superovulasi secara hormonal berperan penting menentukan kuantitas dan kualitas ovum yang dihasilkan (Carvalho *et al.*, 2020). Beberapa metoda superovulasi berbeda jenis dan kuantitas hormon menggunakan hormon *follicle stimulating hormone* (FSH), *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG), *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) dan prostaglandin (PGF) telah dilaporkan dengan respon kualitas dan kuantitas folikel serta *transferable* embrio (layak transfer) bervariasi pada ternak kerbau (Redhead *et al.*, 2018). Namun informasi respon superovulasi hormonal menggunakan hormon PMSG pada ternak kerbau khususnya di Indonesia masih terbatas. Jumlah dan ukuran folikel merupakan indikator penting dalam mengevaluasi respon superovulasi dari perlakuan hormon yang digunakan (Baruselli *et al.*, 2020).

Tujuan penelitian adalah mengetahui respon superovulasi hormonal menggunakan PMSG pada kerbau rawa. Penelitian ini bermanfaat sebagai metode superovulasi yang dapat dipertimbangkan dalam program produksi embrio kerbau.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di kandang percobaan ternak kerbau Balai Penelitian Ternak. Lokasi penelitian terletak antara 250-350 m diatas permukaan laut dengan suhu rata-rata harian 28-30°C. Penelitian ini telah dievaluasi oleh tim Komisi Kesejahteraan Hewan Coba Badan Litbang Pertanian dengan nomor registrasi klirens etik: **Balitbangtan/Balitnak/Rm/02/2020**.

Sebanyak 3 ekor kerbau rawa induk digunakan dalam penelitian. Induk kerbau memiliki kondisi tubuh sedang dengan nilai 3-3,5 (skala 1-5: sangat kurus-sangat gemuk) dan kisaran paritas 3-5. Induk kerbau dipelihara dalam kandang individu. Pemberian pakan hijauan rumput raja 30-35 kg/ekor/hari dan konsentrat 3 kg/ekor/hari yang mengandung protein kasar 14% dan TDN 65%.

Sinkronisasi berahi menggunakan hormone prostaglandin (PGF, Lutelyse) sebanyak 5 ml/ekor dilakukan sebanyak dua kali dengan interval 11 hari. Superovulasi menggunakan PMSG dilakukan pada hari ke-10 setelah estrus dengan dosis 3000 IU/ekor. Prostaglandin (PGF) diberikan pada hari ke-

3 superovulasi sebanyak 5 ml/ekor dengan 2 kali pemberian interval 12 jam. Semua penyuntikan hormon PGF, PMSG dan hCG (IB) dilakukan secara intramuscular.

Inseminasi buatan (IB) dilakukan pada 72 jam sesudah penyuntikan PGF menggunakan 2 straw semen beku per inseminasi. Sebelum IB dilakukan pemeriksaan kualitas semen beku dengan post-thawing 25-30%. Pemberian hCG sebanyak 2 ml/ekor dilakukan pada saat IB. Tabel 1 menyajikan prosedur pelaksanaan tahapan sinkronisasi berahi, superovulasi dan *flushing* embrio.

Tabel 1. Tahapan pelaksanaan sinkronisasi berahi, superovulasi, IB dan *flushing* embrio

Hari ke	Perlakuan	Dosis	Keterangan
-14	Prostaglandin (PGF) ke-1	5 ml	intramuskular
-3	PGF ke-2	5 ml	
0	Estrus (I)		
+10	PMSG	3000 IU	intramuskular
+12	PGF	5 ml	
	PGF	5 ml	
+15 (0)	Estrus (II)		
	IB	2 straw	
	hCG	2 ml	intramuskular
+21 (+6)	<i>Flushing</i> (PBS)	500 ml	<i>Foley catheter</i>

Pemanenan embrio dilakukan dalam kandang jepit (*crash*) dengan cara *flushing* non-operasi menggunakan foley catheter pada hari ke-6 setelah IB menggunakan larutan 0,04% *Phosphate Bovine Saline*. Flushing dilakukan pada kedua tanduk uterus. Sebelum flushing dilakukan penyuntikan 2 ml of 2% Xylocaine Hydrochloride. Embrio ditelusuri dengan menggunakan mikroskop dan dievaluasi bentuk morfologinya.

Pengamatan jumlah (total) folikel (TFL) dan ukuran diameter folikel (DFL) pada ovarium kanan dan kiri dilakukan pada saat penyuntikan PMSG (hari ke-1) dan sesudah pemberian PMSG pada hari ke-5 melalui Ultrasonography (USG) ExaGo 7,5 MHz secara transrectal. Pengamatan jumlah dan kualitas embrio dilakukan dengan mikroskop. Selanjutnya data diolah secara deskriptif menggunakan rata-rata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah ternak kerbau rawa dalam penelitian dibatasi oleh ketersediaannya di Balitnak. Diameter folikel (DFL) dan jumlah folikel (TFL) serta jumlah *transferable* embrio (NE) dari masing-masing induk kerbau rawa ditampilkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah dan diameter folikel serta jumlah embrio sebelum dan sesudah perlakuan PMSG

Perlakuan	Jumlah folikel (TFL)			Diameter folikel (DFL), mm			Jumlah embrio (NE)
	kanan	kiri	Total	kanan	kiri	Rataan	
Hari ke-1	4	3,5	7,5	7,2	6,5	6,9	
Hari ke-5	10,3	6,3	16,6	12,9	11,2	12,0	
Flushing							Generatif (1)

Berdasarkan Tabel 2, rata-rata TFL dan DFL adalah 7,5 dan 6,9 mm pada saat perlakuan (penyuntikan) PMSG hari ke-1 dimana TFL dan DFL pada ovarium kanan lebih banyak yaitu 4 vs 3,5 dan 7,2 vs 6,5 mm. Sedangkan rata-rata TFL dan DFL adalah dan mm pada hari ke-5 setelah perlakuan PMSG, dimana TFL dan DFL pada ovarium kanan juga lebih banyak yaitu 10,3 vs 6,3 dan 12,9 vs 11,2 mm. Rataan TFL dan DFL setelah hari ke-5 perlakuan PMSG lebih tinggi dibandingkan pada saat

perlakuan PMSG (hari ke-1) yang menunjukkan respon superovulasi yang tinggi. Besarnya diameter folikel sesudah perlakuan PMSG (12,0 mm) pada hari ke-5 hampir dua kali dibandingkan sebelum perlakuan PMSG pada hari ke-1 (6,9 mm), demikian pula TFL dua kali lipat. Meskipun demikian embrio layak transfer tidak ditemukan, dimana 1 embrio degenerative (grade D), sehingga tidak dilakukan pengawetan atau pembekuan embrio.

Dalam penelitian ini rata-rata jumlah TFL 16,6 dan ukuran DFL 12,9 mm dimana lebih tinggi dibandingkan penelitian Praharani *et al.* (2020a) yang melaporkan respon superovulasi dengan FSH pada kerbau rawa rata-rata TFL 9,0 dan DFL 11,2 mm. Sementara pada kerbau Murrah dilaporkan rata-rata TFL 4 dan DFL 12,3 mm (Praharani *et al.*, 2020b) dimana TFL lebih sedikit namun DFL tidak berbeda dengan penelitian ini. Hal ini disebabkan perbedaan DFL pemberian dan jenis kerbau serta fisiologi kerbau. Namun TFL dan DFL ovarium kanan dalam penelitian ini lebih besar dibandingkan ovarium kiri baik sebelum maupun sebelum perlakuan PMSG. Ovarium kanan menghasilkan TFL dan TFL yang lebih besar seperti yang dilaporkan juga oleh Praharani *et al.* (2020a,b) dengan perlakuan superovulasi menggunakan FSH pada kerbau rawa dan Murrah.

Ukuran DFL pada ovarium kanan dan kiri dalam penelitian ini lebih tinggi dari laporan penelitian Ekrami *et al.* (2013) yang mengukur DFL ovarium kanan dan kiri dengan metode berbeda yaitu melalui palpasi rektal tidak berbeda, sementara dalam penelitian ini menggunakan USG. Sementara Abd-Allah *et al.* (2013) menyatakan bahwa ukuran DFL antara ovarium kanan dan kiri cenderung sama. Variasi antara individu ternak dalam penelitian ini tidak disajikan dalam Tabel 2, namun seperti yang dilaporkan oleh beberapa penelitian superovulasi pada ternak kerbau (Palanisammi *et al.*, 2020; Praharani *et al.*, 2020a,b), respon superovulasi antara individu ternak sangat.

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian terdahulu pada ternak sapi dan kerbau yang melakukan superovulasi menggunakan hormone PMSG, dimana pengaruh hormone PMSG meningkatkan ukuran ovarium lebih besar dua kali lipat dibandingkan perlakuan superovulasi dengan hormone FSH (Ekrami *et al.*, 2013). Kandungan asam sialic dalam PMSG memperpanjang waktu paruh hormone sehingga menghasilkan kontinuitas rekrutmen folikel setelah ovulasi (Abdel-Khalek *et al.*, 2018), dimana folikel tersebut mensekresi estradiol yang jauh melebihi konsentrasi normal pre-ovulasi yang berdampak pada respon superovulasi lebih rendah. Hal ini menyebabkan meningkatnya folikel yang tidak dapat terovulasi dampak dari rendahnya konsentrasi *luteinizing hormone* (LH) pra-ovulasi dan rendahnya konsentrasi progesterone saat awal fase luteal selama superovulasi, sehingga menghasilkan sedikitnya embrio yang diperoleh dalam *flushing* (Palanisammi *et al.*, 2020).

Tidak ditemukannya embrio berkualitas dalam penelitian ini seperti yang dilaporkan juga oleh Praharani *et al.* (2020a,b) pada penelitian awal dengan kerbau rawa dan Murrah yang menggunakan FSH untuk superovulasi. Sedikitnya hasil *flushing* embrio kerbau terjadi pada beberapa penelitian lainnya. Embrio yang diperoleh dari hasil *flushing* secara *in vivo* bervariasi dari 1-3, disebabkan oleh tingginya ova (sel telur) yang tidak terfertilisasi (Carvalho *et al.*, 2020). Demikian pula Baruselli *et al.* (2020) mengatakan bahwa 20-40% ternak kerbau yang diberi perlakuan superovulasi menghasilkan

sedikitnya 1 embrio lebih sedikit dibandingkan ternak sapi (Baruselli *et al.*, 2020). Rendahnya respon superovulasi terhadap jumlah embrio disebabkan rendahnya *primordial follicle pool* kerbau rawa (20%) dan kerbau sungai (30%) serta tingginya *follicular atresia* dibandingkan ternak sapi (Ciornei *et al.*, 2019).

Dalam penelitian ini dihasilkan TFL dan DFL yang cukup baik, namun tidak berkorelasi dengan embrio yang dihasilkan seperti yang dilaporkan juga oleh Praharani *et al.* (2020a,b) menggunakan FSH sebagai perlakuan superovulasi pada ternak kerbau rawa dan Murrah. Penelitian Carvalho *et al.* (2020) juga menunjukkan adanya korelasi negative antara jumlah follicle yang berdiameter >8 mm dan jumlah embrio yang dihasilkan dalam perlakuan superovulasi. Oleh karena itu TFL dan DFL tidak merupakan indikasi baik dalam memduga jumlah embrio yang dapat dikoleksi/*flushing*.

Dalam penelitian ini jumlah TFL dan besarnya ukuran DFL tidak diikuti perubahan saluran *oviduct* sehingga menyebabkan kegagalan dalam menangkap ova yang berakibat pada tidak adanya embrio yang dihasilkan pada kerbau seperti juga yang dilaporkan oleh Baruselli *et al.* (2020) dalam reuiu. Pada ternak kerbau, kondisi ini disebabkan oleh kurangnya kemampuan *fimbriae* dalam mengumpulkan ova yang dihasilkan oleh ovarium sehingga gagal fertilisasi seperti yang dilaporkan Salzano *et al.* (2018). Kegagalan *fimbriae* dalam menangkap ova akibat ukuran DFL yang sangat besar pada saat ovulasi. Sebagai jawaban kegagalan penangkapan ova dalam ovidu berkaitan dengan kemampuan *fimbria*.

Waktu paruh PMSG yang panjang berdampak pada respon superovulasi sangat bervariasi, adanya folikel persisten dalam ovarium sehingga terjadi ketidakseimbangan hormonal dan embrio tidak layak transfer (Afriani *et al.*, 2019). Selain itu disebutkan juga bahwa panjangnya waktu paruh PMSG mengakibatkan terjadinya stimulasi pembentukan folikel baru, meskipun telah terjadi ovulasi sehingga folikel mensekresi estrogen yang tinggi dan berdampak pada terganggunya transpor dan daya tahan hidup embrio.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ternak kerbau rawa induk memberikan respon cukup baik terhadap perlakuan superovulasi dengan PMSG melalui jumlah dan ukuran folikel yang tinggi, meskipun belum dapat menghasilkan embrio layak transfer. Penelitian dengan menggunakan jumlah sampel ternak kerbau yang lebih banyak disarankan untuk mendapatkan hasil yang lebih tepat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Balai Embrio Ternak (BET) Cipelang, Bogor yang telah bekerjasama membantu pelaksanaan kolekting embrio (*flushing*) kerbau.

REFERENSI

Abd-Allah, S. M., R. K. Sharma, S. K. Phulia, and S. Inderjeet. 2013. Superovulatory response following transvaginal follicle ablation in Murrah buffalo: Effect of FSH or PMSG+FSH. *Theriogenol. Insight*, 3(2): 77-84.

- Abdel-Khalek, A. E., M. A. El-Harairy, M. K. El-Bana, A. M. S. El-Din and M. E. A. Omar. 2018. Impact of Single or Multiple Doses of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) on Superovulatory Response of Post-Partum Friesian Cows J. Animal and Poultry Prod., Mansoura Univ., Vol.9 (7): 295 – 304.
- Afriani T, F Rahim, A Rachmat, M Mundana and A Farhana 2020 Follicle Stimulating Hormone and Gonadotropin Releasing Hormone Administration to the Superovulation of Buffalo (*Bubalus bubalis*). *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* Vol 15 (2): 113-117.
- Asriany, A., 2017. Kearifan Lokal Dalam Pemeliharaan Kerbau Lokal di Desa Randan Batu Kabupaten Tana Toraja, Makassar: Universitas Hasanuddin
- Baruselli, P. S., J. G. S. de Carvalho, F. M. Elliff, J. C. B. da Silva, and D. Chello. 2020. Embryo transfer in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* Vol 150 (1): 221-228.
- Bashir, M. K., Shahid-ur-Rehman, M. I. Mustafa, M. Q. Bilal and M. S. Khan. 2019. Inbreeding Effect on Productive, Reproductive and Lifetime Traits of Nili-Ravi Buffaloes. *Pak. j. life soc. Sci.* 17(1): 1-6.
- Carvalho, J. G. S., N. A. T. Carvalho, D. C. Souzaa, and B.M. Júnior. 2020. Administration of PGF2 α during the periovulatory period increased fertilization rate in superovulated buffaloes. *Theriogenology* Vol 145:138-143.
- Ciornei, Ș., D. Drugociu, P. Roșca, and L. Ghineț. 2019. Polyovulatory response and *in vivo* embryo production at the *Romanian Indigenous Buffalo*, out of breeding season in N-E of Romania. : <https://www.researchgate.net/publication/332037026>. Accessed 3 July 2020.
- Ekrami, B., H. Ghasemzadeh-Nava, P. Tajik and A. Tamadon. 2013. Evaluation Of The Superovulatory Effect Of Pregnant Mare’s Serum Gonadotropin (Pmsg) And Follicle Stimulating Hormone (Fsh) In The Non-Breeding Season Of River Buffaloes Of The Miankaleh Peninsula, Northern Iran. *Buffalo Bulletin* (September 2013) Vol.32 No.3: 189-195.
- Palanisammi A, S. Satheshkumar and S. Rangasamy. 2020. Superovulatory response and embryo yield in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2020; 8(6): 1468-1470.
- Putra A. R. S. dan A. Triatmojo. 2018. Analisis Dampak Kebijakan Impor Daging Kerbau Di Indonesia Melalui Pendekatan Manajemen Rantai Nilai Ternak. *Jurnal Kebijakan Pembangunan Peternakan* Vol. 1 (1): 1-7.
- Praharani, L. dan R. S. G. Sianturi. 2018. Tekanan inbreeding dan alternatif solusi pada ternak kerbau. *Wartazoa* Vol. 28 No. 1 Th. 2018 Hlm. 001-012.
- Praharani, L., R. S. G. Sianturi, D. A. Kusumaningrum, and S. Rusdiana. 2020a. A preliminary study on superovulatory response with follicle stimulating hormone using ultrasonography in buffalo heifers. *Proceeding International Seminar of Animal Science and Technology Conference, UNSOED, 5 November 2020 (in process)*.
- Praharani L., R. S. G. Sianturi dan D. A. Kusumaningrum. 2020b. Studi Awal Respon Superovulasi dengan *Follicle Stimulating Hormone* pada Kerbau Murrah Induk. *Prosiding Seminar Nasional Peternakan UGM, 16 Desember 2020 (in process)*.
- Redhead, A., Siewb, K., Lambiec, N. N., Carnarvonc, D., Ramgattieb, R., & Knightsa, M. (2018). The relationship between circulating concentration of AMH and LH content in the follicle stimulating hormone (FSH) preparations on follicular growth and ovulatory response to superovulation in water buffaloes. *Animal Reproduction Science*, 188, 66-73.
- Salzano, A., C. de Canditiis, and R. F. Della. 2018. Evaluation of factors involved in the failure of ovum capture in superovulated buffaloes. *Theriogenology* 122:102-8.