

13
48

7

**PENERAPAN TEKNIK TRANSFER EMBRIO
PADA SAPI PERAH DENGAN MENGGUNAKAN
EMBRIO SEGAR**

PAMERAN
15 DEC 1994

Ketua Peneliti :

Dr. Drh. Laba Mahaputra, M.Sc.

SELESAI

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : Proyek Peningkatan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat
Bersumber dari dana pinjaman Bank Dunia XXI (LOAN No. 2944-IND)

Kontrak Nomor : 310/P4M/DPPM/BD.XXI/1990 tgl. 25 Mei 1990

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud

1991

166/2P/PWA/H/92

166/2P/PWA/H/92

166/2P/PWA/H/92

166/2P/PWA/H/92

PENERAPAN TEKNIK TRANSFER EMBRIO PADA SAPI PERAH DENGAN MENGGUNAKAN EMBRIO SEGAR

Ketua Peneliti :

Dr. Drh. Laba Mahaputra, M.Sc.

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**Dibiayai oleh : Proyek Peningkatan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat
Bersumber dari dana pinjaman Bank Dunia XXI (LOAN No. 2944-IND)**

Kontrak Nomor : 310/P4M/DPPM/BD.XXI/1990 tgl. 25 Mei 1990

Ditbinlitabmas, Ditjen Dikti, Depdikbud

1991

PENERAPAN TEKNIK TRANSFER EMBRIO
PADA SAPI PERAH DENGAN MENGGUNAKAN
EMBRIO SEGAR

Karya Tulis :
Dr. H. S. M. M. M. M. M.

EMBAWA YIN...
Ditulis oleh :
Kategori :
Tahun :
1991

1. EMBRIOLOGI BINATANG

2. SAPI PERAH

**PENERAPAN TEKNIK TRANSFER EMBRIO
PADA SAPI PERAH DENGAN MENGGUNAKAN
EMBRIO SEGAR**

KICS

KIC

636.208 926 4

Pen

p-1

Tim Peneliti :

Dr. Drh. Laba Mahaputra, M.Sc.

Drh. Mas'ud Hariadi, M.Phil.

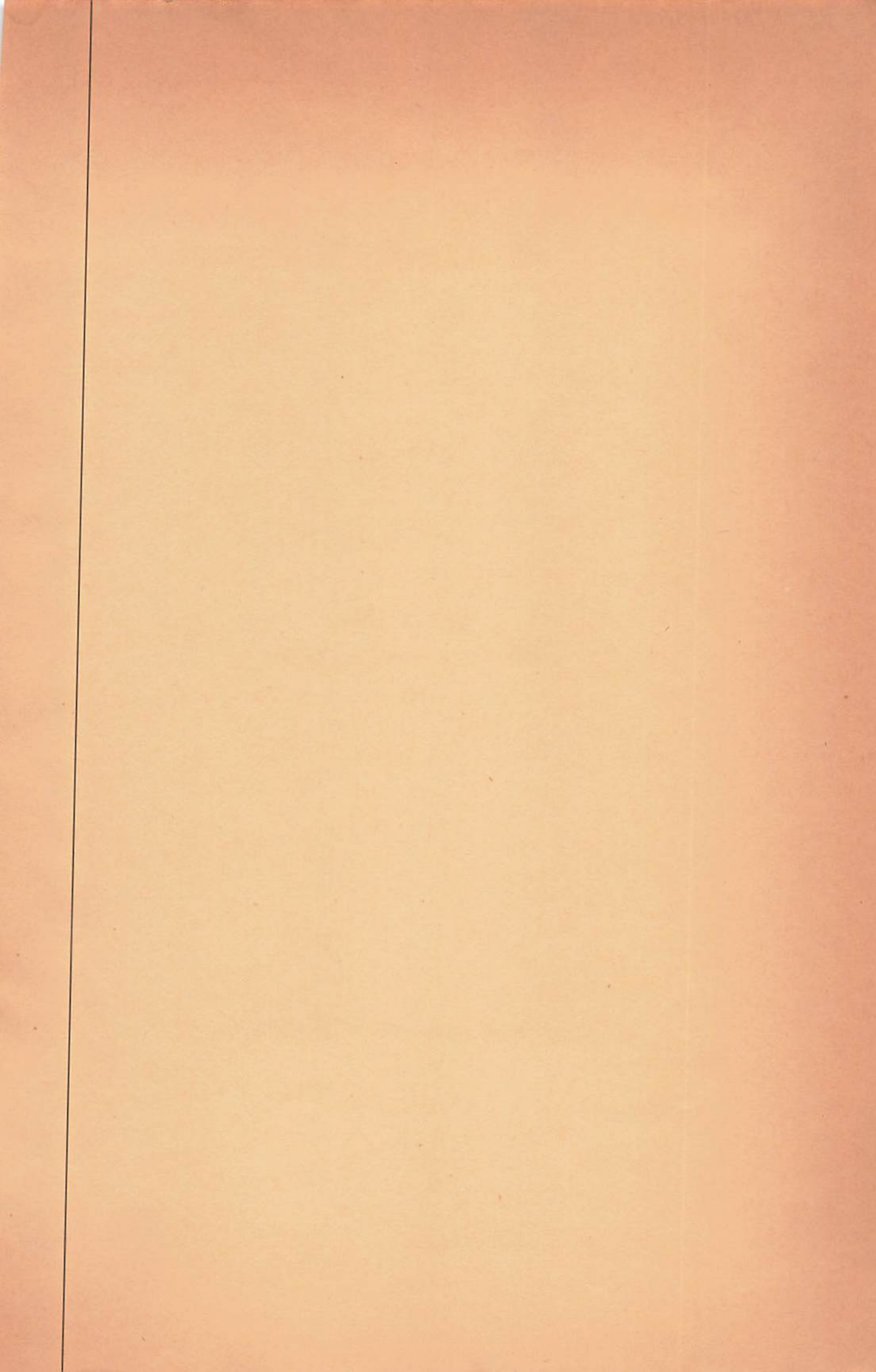
Dr. Drh. Ismudiono, MS.

Prof.Dr.Drh. Soehartojo Hardjopranjoto, M.Sc.

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"
SURABAYA

166/LP/pwq/H/92



FORMAT LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : PENERAPAN TEKNIK TRANSFER EMBRIO PADA SAPI PERAH DENGAN MENGGUNAKAN EMBRIO SEGAR
- b. Macam Penelitian : () Fundamental, (x) Terapan,
() Pengembangan
- c. Kategori Penelitian : II/III/IV)

2. Kepala Proyek Penelitian :
- a. Nama lengkap dengan gelar : Dr. Drh. Laba Mahaputra, M.Sc.
- b. Jenis kelamin : Laki-laki
- c. Pangkat/Bolongan dan NIP : Penata Tk. I/III d 130 687 550
- d. Jabatan sekarang : Lektor Madya/Kalab. Kebidanan
- e. Fakultas/jurusan : Kedokteran Hewan/Reproduksi dan Kebidanan
- f. Univ./Inst./Akademi/ : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu yang diteliti : Embrio Transfer

3. Jumlah Tim Peneliti : 7 orang

4. Lokasi Penelitian : Surabaya & Pacet (Mojokerto)

5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerjasamakelembagaan, sebutkan

- a. Nama Instansi :
b. Alamat :

6. Jangka waktu penelitian : 8 bulan

7. Biaya yang diperlukan : Rp 4.240.000,- (empat juta dua ratus empat puluh ribu Rupiah)

Mengetahui
Dekan Fakultas

Prof. Dr. Soehartojo H, M.Sc.

NIP 130 189 851

Kepala Proyek Penelitian,

Dr. Drh. Laba Mahaputra, M.Sc.

NIP 130 687 550



Mengetahui
Pimpinan Kelembagaan
Penelitian Universitas Airlangga
a.n.b. Sekretaris

Prof. Dr. dr. Soedijono
NIP 130 261 504

*) Coret yang tidak perlu.

Ringkasan

PENERAPAN TEKNIK TRANSFER EMBRIO PADA SAPI PERAH DENGAN MENGGUNAKAN EMBRIO SEGAR

(L. Mahaputra, M. Hariadi, Ismudiono, S. Hardjopranjoto, 1991. 28 hal)

Sampai saat ini Indonesia masih mengimpor embrio beku untuk mempercepat penyebaran genetik unggul, tapi harganya sangat mahal serta angka kebuntingannya juga rendah. Dilain pihak pembuatan embrio segar dapat dibuat dengan angka kebuntingan yang dilaporkan cukup tinggi.

Tujuan penelitian untuk menerapkan bioteknologi dibidang peternakan, khususnya untuk menghitung penemuan embrio dan kebuntingan yang terjadi setelah proses transfer. Selain itu juga memanfaatkan jasa radioaktif lewat teknik radioimmunoassay untuk memantau kejadian kematian embrio dini.

Penelitian ini menggunakan 4 donor dan 16 resipien sapi Friesian. Untuk penyerentakan birahi dipakai PGF2-alfa dengan 2 kali penyuntikkan. Sedangkan untuk superovulasi dipergunakan kombinasi PMSG yang disuntikkan im pada hari ke 10 dari penyuntikkan PGF yang pertama, serta HCG disuntikkan saat permulaan timbulnya birahi. Pengumpulan embrio dilakukan dengan teknik non bedah, pada hari ke 7 setelah IB, lalu diikuti dengan transfer embrio dengan bantuan mini straw yang dimasukkan di dalam insemination gun ke dalam kornua uteri yang ipsilateral dengan korpus luteum.

Observasi klinis dan laboratoris menunjukkan, bahwa: 1. Gejala birahi yang timbul pada penyerentakkan birahi dengan penyuntikkan PGF lebih lama dari pada penyerentakkan birahi yang kedua. 2. Profil progesteron air susu 24 hari setelah IB dapat dipakai untuk memantau terjadinya kematian embrio dini. 3. Tidak semua folikel masak dapat diovulasikan setelah penyuntikkan 2000 IU HCG. 4. Pengendapan dengan corong selama 1 jam dapat mengurangi jumlah cairan flushing yang diperiksa dengan hasil recovery embrio 47%. 5. Walaupun angka kebuntingan dini sudah mencapai 33,3%, tetapi angka tersebut menurun lagi menjadi 16,7% setelah diperiksa per rektal.

Perlu seleksi donor lebih ketat guna mendapatkan respon ovulasi yang lebih seragam, pemakaian filter untuk mendapatkan embrio lebih cepat serta tatalaksana yang lebih baik antara peneliti dengan tim kesehatan hewan dimana penelitian dilakukan untuk menghindari kematian embrio dini lebih banyak lagi.

(L.P. Fakultas Kedokteran Hewan, Unair: 310/P4M/DPPM/BD XXI/1990, 25 Mei 1990).

Summary

EMBRYO TRANSFER TECHNIQUE USING FRESH EMBRYO IN DAIRY CATTLE

(L. Mahaputra, M. Hariadi, Ismudiono, S. Hardjopranojoto,
1991. 28 pages)

Up to now Indonesian government still imported frozen embryo to speed up and spread out of high genetic potency of cattle, but the price is expensive enough and the pregnancy rate is also poor. Otherwise, reported that the fresh embryo can be produced and the pregnancy rate high enough.

The purpose of this study was to apply biotechnology in animal husbandry, especially to evaluate embryo recovery and pregnancy rate after embryo transfer performed. The other hand this study was also purposed to use radioactive energy through radioimmunoassay technique for monitoring early embryonic death.

This study was carried out, using four donors and 16 recipients Friesian cow. To synchronize the oestrus among them, twice injections of PGF alfa were provided. Whereas to

superovulate the donors, PMSG injected intramuscularly at 10 days after injection of first PGF alfa, and followed with

injection of HCG at commencement of the oestrus signs. Collecting embryos were performed with non surgical technique on 7 days after AI, and then followed by embryo transfer using ministraw that was inserted into insemination gun, and deposited at ipsilateral of uterine horn, where existed of CL on the ovary.

Clinical and laboratory observation shown that:

1. Oestrus signs show at the first synchronization with PGF took longer than the the second injection of PGF.
2. Profile of defatted milk progesteron at 24 days after AI can be used to monitor early embryonic death.
3. It was not all of mature follicles can be ovulated after injected with 2000 IU HCG.
4. One hour flushing medium with precipitated technique in the glass cone may reduce the flushing medium to be evaluated with 47% embryo recovery.
5. Although the early pregnancy rate had been reached 33,3%, but it had reduced till a half of it, to 16,7% after examined rectally. It is therefore, needed to select the donor precisely to obtain ovulation rate more responsive each other, using filtration may be suggested to identify embryo much faster, so then the coordination between researcher and farm animal health section have to be cooperated to avoid early embryonic death much higher.

(Res.Inst. Faculty of Medical Veterinary, Unair: 310/P4M/DPPM/
BDXXI/1990, 25 Mei 1990).

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR	
HASIL PENELITIAN	i
RINGKASAN	ii
SUMMARY	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	3
TUJUAN PENELITIAN	7
MANFAAT HASIL PENELITIAN	7
MATERI DAN METODA	8
a. Parameter yang diamati	8
b. Materi penelitian	8
c. Metoda	9
Cara Pengumpulan Embrio Dengan Teknik Non Bedah dan Teknik Transfer	10
Pengambilan Sampel Air Susu	11
Analisis Kadar Progesteron Air Susu	12
d. Analisis Data	12
HASIL DAN PEMBAHASAN	13
KESIMPULAN DAN SARAN	21
DAFTAR PUSTAKA	23

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
I.	Jumlah Sapi Resipien Birahi pada PGF I dan PGF ke II	13
II.	Rata-rata (Hari) Resipien Birahi Setelah Diberi PGF Tahap I dan PGF Tahap II pada Resipien dan Donor	16
III.	Penemuan Embrio Setelah Proses Flushing pada Donor, Jumlah CL, Folikel Sisa dan Angka Kebuntingan	17

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Kadar Progesteron Air Susu (ng/ml) pada Resipien, Dalam Beberapa Kurun Waktu (hari) Sebelum dan Setelah Transfer Embrio	26
2. Uji McNemar Untuk Jumlah Sapi Birahi Setelah PGF	27
3. Uji-t Untuk Membedakan Respon Birahi setelah PGF	28

PENDAHULUAN

Sampai saat ini Indonesia masih mengimport sapi Fresian Holstein untuk mencukupi kebutuhan air susu masyarakat yang semakin meningkat. Biaya untuk mengimport sapi perah sangat tinggi, padahal ada kecenderungan produksi susunya lebih kecil (menurun) dari pada waktu di negara asalnya. Teknik transfer embrio merupakan satu-satunya teknik yang mempunyai banyak keuntungan. Salah satu diantaranya adalah dapat mempercepat peningkatan populasi ternak sapi yang mempunyai mutu genetik unggul, memperkecil atau meniadakan sama sekali biaya transportasi ternak sapi unggul dengan cara mengimport embrio sapi beku kemudian ditransferkan kepada sapi perah lokal. Tetapi hal ini masih juga merupakan tantangan tersendiri bagi peternak karena mahalnya harga per satu embrio sapi beku yang mencapai Rp 75.000,- (setelah disubsidi pemerintah), tidak jarang dijumpai embrio yang sudah abnormal sehingga tak layak untuk ditransferkan. Sedangkan yang lain ditransferpun angka kebuntingan dan kelahirannya juga rendah. Memproduksi sendiri embrio segar dengan cara superovulasi pada sapi donor unggul dengan air mani yang berasal dari pejantan unggul dapat dihasilkan 5-10 embrio normal yang siap ditransferkan. Jumlah embrio ini dapat dihasilkan dengan cara penyuntikkan FSH dan LH atau PMSG dan HCG. Karena penyuntikkan antara donor dengan resipien atau antar resipien itu sendiri agak sulit, tidak jarang peneliti memakai

kombinasi gonadotropin dengan prostaglandin.

Superovulasi dengan penyuntikkan PMSG dan HCG pada 1 ekor donor sapi dapat dihasilkan rata-rata 7 sel telur. Sedangkan dalam periode waktu 1 tahun maksimum dapat dilakukan superovulasi 4 kali, sehingga embrio yang bisa diharapkan dari seekor donor 20-30 embrio setiap tahunnya. Memperhatikan keuntungan ini embrio transfer dalam subsektor peternakan merupakan suatu tantangan yang harus dimasyarakatkan penerapannya pada petani ternak guna membangun subsektor peternakan dengan lebih cepat.

Teknik pemisahan (splitting) dan cloning embrio yang berkembang akhir-akhir ini di laboratorium juga bertujuan mempercepat penyebaran genetik unggul. Teknik ini memang tidak memerlukan tenaga banyak untuk pengumpulan embrio di lapangan, tetapi kecanggihan alat yang mahal seperti bedah mikro dan manipulator mikroskop diperlukan untuk menyokong terlaksananya tujuan tersebut.

Oleh karena itu perlu dicobakan dalam penelitian ini penggunaan embrio segar hasil superovulasi betina unggul dan diinseminasi dengan semen pejantan unggul yang dilaksanakan di dalam negeri oleh putra-putri Indonesia sendiri.

Hipotesis Penelitian :

1. Ho : Tidak ada perbedaan antara jumlah sapi yang birahi pada pengobatan PGF I dan PGF II.
2. Ho : Tidak ada perbedaan rata-rata respon birahi yang timbul pada pengobatan PGF I dan PGF II.

TINJAUAN PUSTAKA

Penerapan teknik tranfer embrio untuk membangun usaha subsektor peternakan merupakan salah satu penerapan bioteknologi karena dapat meningkatkan dengan cepat baik kualitas maupun kuantitas keturunan yang pada saat ini masih merupakan teknik baru dan mahal di Indonesia. Secara kualitative sapi donor yang berkualitas bila diberikan suntikan hormon gonadotropin seperti FSH, LH atau PMSG dan HCG atau dosis kombinasi PMSG dan PGF₂ alfa dapat memberikan jumlah telur yang diovulasikan meningkat jumlahnya (Fielden, Hayman, 1982). Jumlah telur bisa meningkat jumlahnya 5 kali lipat dari jumlah terovulasi secara fisiologis pada monopora. Peningkatan jumlah ovulasi itu pada mamalia terjadi akibat pemberian obat-obatan gonadotropin ataupun yang dikombinasi dengan obat yang bukan gonadotropin hormon. Demikian pula, pola pemberian, waktu pemberian, dosis obat dan cara pemberian obat akan sangat mempengaruhi respon terjadinya ovulasi. Makin meningkat hingga batas tertentu suatu dosis hormon gonadotropin diberikan hingga batas tertentu, akan mengakibatkan juga peningkatan jumlah embrio yang dihasilkan. Penyuntikkan kombinasi obat secara intramuskular 1500 IU PMSG dan 1500 IU HCG dibandingkan dengan penyuntikkan 3500 IU PMSG dengan 1500 IU HCG pada sapi donor menghasilkan jumlah korpus luteum yang berbeda secara nyata (Siswanto, 1990). Pola

pemberian PMSG atau FSH untuk tujuan superovulasi, jauh berbeda sebab waktu paruh yang dimiliki oleh masing-masing hormon ini sangat berbeda. Dengan demikian penyuntikkan PMSG cukup disuntikkan 1 kali karena kandungan asam sialatnya banyak, sedangkan FSH minimum harus disuntikkan 1 kali sehari selama 3 hari dengan dosis yang menurun (Hafez, 1980; Mahaputra, 1987). Hormon gonadotropin untuk tujuan superovulasi tidak dianjurkan pemakaiannya lewat oral atau disuntikkan secara intravena. Sebab pemakaian PMSG ataupun hormon gonadotropin yang lain lewat oral mengakibatkan hormon tersebut inaktif. Demikian pula hormon ini tidak dipakai secara intravena, sebab akan mengakibatkan efek yang sangat singkat, sedangkan untuk pertumbuhan folikel masak dari preantral folikel minimal dibutuhkan waktu 72 jam (Hafez, 1980). Waktu pemberian hormon merupakan salah satu teknik terpenting untuk mendapatkan jumlah ovulasi yang lebih banyak. Dengan demikian penyuntikkan yang paling tepat dalam penggunaan PMSG adalah pada hari ke 15-16 dari siklus birahinya. Pada saat ini akan terjadi masa transisi penurunan aktifitas korpus luteum, maka dengan demikian hormon progesteron dalam darah juga akan menurun, sehingga diharapkan sehari setelah itu terjadi pengeluaran FSH dari hipofisa anterior. Di lain pihak PMSG pada saat itu akan mulai bekerja sehingga bisa diharapkan terjadinya potensiasi antara FSH invivo dengan PMSG yang disuntikkan. Sering kali di lapangan sangat sukar, ditemukan rekording peternakan yang

tertata baik sehingga agak sukar untuk menentukan siklus birahi ke 15-16. Untuk menyerentakkan birahi antara resipien dengan donor, atau antar resipiennya sendiri dipakai penyuntikkan 7,5 mg prostaglandin F_2 alfa analoge (dynoprost) intra uterin atau 25-30 mg dinoprost intramuskuler. Semua penyuntikkan ini diberikan pada fase luteal, baik pada satu kali atau dua kali penyuntikkan PGF. Karena kemampuan luteolisisnya (Morales *et al.*, 1978) PGF ini mengakibatkan terjadinya regresi korpus luteum hampir secara bersamaan, sehingga birahi juga dapat diharapkan secara hampir bersamaan.

Heath (1982) dengan memberikan gabungan PMSG dengan PGF₂ alfa memperoleh embrio rata-rata dengan cara pembedahan pada tiap sapi donor 4,4 embrio. Hafez (1980), Miller (1982) melakukan pengumpulan embrio dengan cara pembedahan dan Mahaputra *dkk.* (1987) mengumpulkan dengan teknik tanpa pembedahan pada sapi, masing-masing memperoleh rata-rata jumlah embrio 5,12 dan 5 embrio. Dengan alasan yang belum jelas bahwa pengumpulan embrio dengan tanpa pembedahan mendapatkan angka kebuntingan yang lebih rendah 2,5 kali bila dibandingkan dengan cara pengumpulan dengan pembedahan (Loneragan, 1982). Walaupun demikian cara non pembedahan ini mempunyai keunggulan dalam waktu pengumpulan embrio, dan menghindarkan seminimal mungkin akan kerusakan organ reproduksi. Tetapi kenyataan di bawah ini menunjukkan bukti yang kontradiktif dengan pernyataan Loneragan (1982).

Kebuntingan dari pengumpulan embrio dengan pembedahan dapat dicapai hanya 45% Miller (1982), sedangkan Heath (1982) melaporkan bahwa angka kebuntingan yang dicapai pada pengumpulan embrio dengan tanpa pembedahan adalah 66%. Untuk mempertahankan kebuntingan pada sapi, akan diproduksi hormon progesteron oleh korpus luteum graviditatum. Progesteron ini akan terus diproduksi serta disokong oleh progesteron yang berasal dari plasenta foetalis hingga akhir masa kebuntingan. Secara fisiologis sapi tidak bunting kadar progesteronnya akan menurun dengan tajam mencapai kadar basal pada hari ke 19-22 dari siklus birahinya. Tetapi kalau dia bunting kadar ini akan tetap dipertahankan tinggi (2,5-3 ng/ml) pada air susu skim (Mahaputra, 1990). Dengan indikator hormon inilah dimungkinkan untuk dilakukan pemantauan dini (22-24 hari setelah IB) terjadinya kebuntingan dini atau kematian embrio dini (early embryonic loss) pada resipien (Heap dkk., 1973; Pope dkk., 1976; Schiavo dkk., 1975; Laitenen dkk., 1985). Sedangkan teknik lain seperti palpasi per-rektal sampai saat ini belum mampu mendiagnosa terjadi kematian embrio dini (early embryonic death) atau kebuntingan dini, tetapi teknik palpasi rektal ini efektif setelah 45 hari pasca IB.

TUJUAN PENELITIAN

Beberapa tujuan penelitian yang dilakukan antara lain:

1. Mengetahui kecepatan respon birahi yang ditimbulkan pada sinkronisasi pertama dengan kedua dalam pemakaian PGF_{2a}.
2. Penerapan teknik embrio transfer dengan embrio segar untuk mempercepat peningkatan genetik unggul pada sapi perah.
3. Memantau terjadinya kegagalan kebuntingan dan kematian embrio dini lewat progesteron air susunya dengan teknik radioimmunoassay.

MANFAAT HASIL PENELITIAN

Hasil ini dapat dimanfaatkan kepada peternak sapi perah yang ingin meningkatkan kuantitas dan kualitas peternakannya, sehingga dapat ditangani secara lebih cepat tanpa harus menunggu embrio beku dari luar negeri.

MATERI DAN METODA

A. Parameter Yang Diamati antara lain:

- Kecepatan timbulnya birahi, banyaknya sapi birahi, korpus luteum dan folikel sisa yang teraba setelah super ovulasi, recovery embrio dan angka kebuntingan, serta kadar progesteron pada resipien.

B. Materi Penelitian

1. Hewan coba:
 - 16 ekor sapi resipien
 - 4 ekor sapi donor
2. Bahan-bahan:
 - PGF_{2a} analoge (EnZaprost, Chinoin)
 - PMSG (Foligon, Intervet)
 - HCG (Chorulon, Intervet)
 - Tc 199 (Flow Laboratories)
 - S spuit disposable
 - Foley cateter 16 G
 - Obat infus, vitamin dan antibiotika dan antiseptik
 - Mini strow transparan
 - Progesteron Kit (TKPG2, DPC)
3. Alat-alat:
 - Selang polypropylene
 - Servic dilatator
 - Mikroskop besecting
 - Petridisk
 - Camera dan adaptor
 - Corong gelas penampung
 - Insemination gun
 - Vortex - mixer
 - Gamma Counter
 - Multipette (Ependorf)
 - Arteri clamp
 - Digital PH Meter

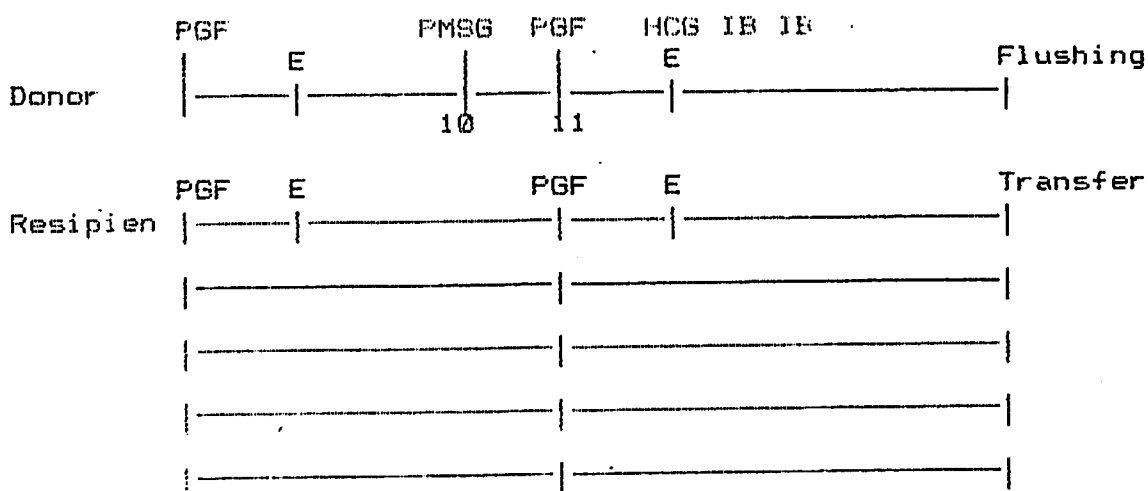
C. Metode

Empat sapi donor dan 16 sapi resipien yang dipakai dalam penelitian ini milik perusahaan sapi perah Jl. Kaliwaron di Surabaya dan sebagian lain milik Dolog Mojokerto yang berada di Koperasi Dana Mulya Pacet. Penelitian ini di mulai sejak 2 Nopember 1989 untuk sapi yang di Pacet dan 2 April 1990 - 2 Desember 1990. Untuk sapi di Surabaya sapi donor yang dipakai pada saat pertama kelapangan untuk seleksi donor dan resipien adalah sapi-sapi yang memenuhi syarat sebagai donor dan resipien. Sapi donor mempunyai kelebihan dalam hal produktifitas air susu dibandingkan dengan resipien. Sapi donor dan resipien sama-sama pada saat seleksi dalam kondisi organ reproduksi normal dan hanya dipakai yang dalam keadaan fase luteal.

Donor dan resipien mula-mula disuntik intra-uterin secara bersamaan dengan menggunakan 7,5 mg prostaglandin F₂-alfa (PGF) analog (Enzaprost, Chinoin). Pada hari ke 10 dari penyuntikkan PGF pertama hanya pada donor disuntik dengan 3500 IU PMS (Folligon, Intervet) kemudian diikuti pada hari ke 11 dari penyuntikkan PGF yang pertama diulangi dengan penyuntikkan PGF yang kedua pada semua resipien dan donor. Pada saat permulaan timbul gejala birahi, hanya donor yang disuntik intramuskuler dengan 2000 IU HCG (Chorulon, Intervet). Delapan hingga 10 jam setelah gejala birahi pertama tampak, hanya sapi donor dilakukan inseminasi buatan

(IB) dan diulangi 24 jam kemudian. Selanjutnya 7 hari setelah IB, dilaksanakan pengumpulan embrio pada donor dengan cara tanpa pembedahan dan bersamaan transfer embrio pada resipien (Gambar 1).

Gambar 1. Sekema Jadwal Superovulasi Pada Donor Dan Sinkronisasi antara Donor dan Resipien.



Cara Pengumpulan Embrio Dengan Teknik Non Bedah Dan Teknik Transfer

Pada hari ke 7 setelah IB, sapi donor dilakukan pemeriksaan secara eksplorasi rektal untuk menentukan jumlah korpus luteum yang ada di ovarium. Untuk memudahkan masuknya Folley Catheter 16 G, sebelumnya dilakukan epidural anaesthesi dengan 7 ml 2% procain HCl pada interspace procesus spinosus os coccygea pertama dengan os sacrum terakhir, lalu selang lima menit os cervicalis dikuatkan dengan memasukkan Cervix dilator. Setelah Folley Catheter

masuk yang dituntun dengan introducer metal, 20 ml udara dimasukkan agar balon menggelembung dibagian distal salah satu kornua uteri. Selanjutnya media Tissue Culture 199 (TC 199) Ph 7,2 dimasukkan 50-150 ml kedalam kornua uteri dan diulangi pada setiap kornua tiga kali. Pengeluaran cairan flushing dilakukan dengan mengadakan pengurutan kornua uteri yang sedang berisi cairan TC 199. Cairan flushing ditampung ke dalam corong kaca yang dihubungkan dengan polyethylene tube. Kemudian setelah satu jam hanya cairan bagian bawah dilepaskan kedalam petri untuk dilakukan pemeriksaan embrio. Setelah identifikasi dan evaluasi dibawah mikroskop, embrio dimasukkan dengan cara menyedot kedalam mini straw lalu dengan perantaraan insemination gun embrio didepositkan didalam kornua uteri proksimal yang sepihak dengan keberadaannya korpus luteum.

Pengambilan sampel air susu

Air susu diambil dari puting susu kedalam 10 ml tabung yang sudah diisi dengan 2 tetes kalium dichromat untuk pemeriksaan progesteronnya. Sampel diambil hanya terhadap resipien yang ditransfer embrio pada saat birahi 7 hari (transfer) 14 hari, 24 dan 28 hari setelah birahi. Air susu yang disimpan hanya skimnya saja dengan memisahkan krimnya melalui pemusingan 15 menit 3000 rpm, hingga assay dilakukan. Progesteron air susu dalam beberapa periode waktu setelah transfer dihitung, dimaksudkan untuk menentukan kematian embrio dini dan bunting dini. Konfirmasi kebuntingan

dilakukan dengan pemeriksaan uterus secara rektal pada 45-60 hari setelah transfer embrio.

Analisis kadar progesteron air susu

Seratus microliter air susu skim direaksikan kedalam assay tube yang sudah dilapisi antibodi progesteron. Setelah pengocokan 30 detik, diatas pengocok listrik tabung assay diisi dengan 1 ml 125 I-P4 (DPC, USA). Selanjutnya pengocokan 30 detik dilakukan lalu dibiarkan minimum 3 jam dalam suhu kamar. Radioaktifitas ditera di dalam gamma counter setelah cairan yang berisi progesteron bebas dan progesteron berlabel semuanya dibuang, sehingga akan tertinggal hanya yang merupakan kompleks progesteron-antibodi-progesteron berlabel (Anonimus, 1984).

Rumus yang dipakai dalam perhitungan hormon adalah:

$$\% \text{ Bindung} = \frac{\text{Rata-rata Sampel (cpm)} - \text{Rata-rata NSB (cpm)}}{\text{Rata-rata B0 (cpm)} - \text{Rata-rata NSB (cpm)}} \times 100$$

D. Analisis data:

Semua bentuk parameter yang diamati ditabulasi dan disajikan dalam bentuk statistik diskriptive, kemudian respon birahi dari penyuntikkan PGF pertama dengan PGF yang kedua diuji dengan uji-t (Steel and Torrie, 1980). Sedangkan jumlah sapi birahi pada penyuntikkan PGF pertama dan kedua diuji dengan uji McNemar dengan koreksi Yates (Siegel and Castellan, 1988). Embryo recovery dan angka kebuntingannya disajikan dalam bentuk persentase. Kadar progesteron pada resipien yang ditanami embrio disajikan dalam grafik garis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penyerentakkan birahi pada resipien dengan pola penyuntikkan 2 kali PGF ke dalam kornua uteri yang satu sisi dengan keberadaannya korpus luteum, didapat bahwa jumlah sapi resipien yang birahi pada penyuntikkan PGF pertama sebanyak 81,25% (13/16) PGF yang kedua 75% (12/16) dimana satu sama lain menunjukkan hasil yang tidak ada beda bermakna ($P > 0,05$) (Tabel I, Lampiran 2).

Penyuntikan PGF secara intra muskular untuk tujuan sinkronisasi birahi pada sapi Friesian menimbulkan birahi hanya 55% setelah penyuntikkan PGF yang kedua (Toelihere, 1987). Sedangkan peneliti lain melaporkan, bahwa jumlah sapi yang dapat birahi setelah penyuntikkan PGF adalah 87,7% (Ismudiono dkk., 1987), berkisar antara 80-85% (Mahaputra, 1990).

Tabel I. Jumlah Sapi Resipien Birahi pada PGF I dan PGF ke II

Perlakuan	PGF I	PGF II	Jumlah
Birahi	13	12	25
Tidak birahi	3	4	7
Jumlah	16	16	32

Rata-rata (\pm sd) respon birahi yang timbul pada penyuntikan PGF yang pertama dan PGF kedua pada resipien masing-masing $4,0 \pm 1,68$ hari dan $2,75 \pm 1,14$ hari. Kedua perlakuan ini

menunjukkan respon birahi yang lebih cepat terjadi pada penyuntikkan PGF yang kedua ($P < 0,05$) (Lampiran 3). Demikian pula terjadi pada donor, penyuntikkan PGF yang kedua menunjukkan respon birahi 2,5 hari, yang berarti lebih cepat dari 3,75 hari yang ditimbulkan dari penyuntikan PGF yang pertama (Tabel II). Beberapa obat dapat dipakai untuk tujuan sinkronisasi seperti Prostaglandin F_2 alfa (PGF), preparat progesteron yang ditempatkan dalam vagina anterior dan bisa juga susuk progesteron bawah kulit yang diimbangi dengan preparat estrogen intramuskular. Birahi yang timbul setelah pencabutan progesterone releasing intervaginal device (PRID) berkisar 2-5 hari (Mahaputra dan Pranoto, 1989). Pada pemakaian obat PGF secara intra uterine yang diberikan pada fase luteal, birahi yang timbul berkisar 3-5 hari (Mahaputra, 1990), 2-4 hari (Hafez, 1980). Sedangkan pemakaian susuk norgestomet birahi yang timbul juga berkisar 2-4 hari setelah pencabutan susuk tersebut (Ismudiono dkk., 1990). Dengan demikian pemakaian PGF pada umur korpus luteum yang bervariasi dapat menyerentakkan birahi, walaupun kisaran birahi yang timbul tidak seluruhnya dalam hari yang sama. Kelihatannya dari hasil yang diperoleh, penyerentakkan birahi yang dilakukan pada hari ke 11 dari penyuntikkan PGF yang pertama dapat menimbulkan birahi yang lebih pendek dan timbulnya birahi lebih seragam. Hal ini disebabkan oleh umur korpus yang seragam sehingga dalam satu kesatuan dosis PGF akan dapat secara bersamaan melisiskan sejumlah kesatuan sel-

sel luteal pada korpus luteum, sehingga penurunan kadar progesteron dalam darah dapat terjadi juga secara bersamaan. Dengan demikian umpan balik negatif yang terjadi ke hipotalamus juga terjadi secara seragam. Tetapi tidak demikian yang terjadi pada sinkronisasi dengan PGF yang disuntik pada fase luteal dengan umur korpus luteum yang bervariasi. Lebih bervariasinya waktu birahi yang timbul pada penyerentakkan PGF pertama mungkin disebabkan oleh satu kesatuan dosis PGF, hanya dapat menghancurkan satu kesatuan sel luteal yang mempunyai jumlah sel dan dalam umur tertentu. Sedangkan pada umur yang lain mungkin dosis tidak cukup, sehingga penurunan kadar progesteron darah terjadi lebih lambat, sehingga umpan balik negatif ke hipotalamus juga akan terhambat.

Kalau diperhatikan antara pencabutan obat-obatan progesteron ataupun setelah penyuntikkan PGF pada sapi, timbulnya birahi berkisar 2-5 hari dengan rata-rata 3 hari, maka tampaknya diperlukan waktu rata-rata 72 jam untuk merangsang preantral folikel menjadi folikel masak yang siap diovulasikan (Hafez, 1980).

Tabel II. Rata-rata (Hari) Respon Birahi Setelah Diberi PGF Tahap I dan PGF Tahap II pada Resipien dan Donor

	Resipien		Donor	
	PGF I	PGF II	PGF I	PGF II
Rata-rata	4,0 ^a	2,75 ^b	3,75	2,5
SD	1,68	1,14	0,50	0,58
n	13	12	4	4
Rentangan	2-9	2-6	3-4	2-3

notasi huruf a,b dalam satu baris, berbeda nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan hasil perabaan secara eksplorasi rektal jumlah rata-rata korpus luteum yang berhasil dibentuk dengan penyuntikan 3500 IU PMS adalah 4,25 (17/4) buah dan folikel masak tidak terovulasikan 1,75 (7/4) buah.

Jumlah folikel masak yang masih tersisa 1,75 buah (tidak terovulasikan) bisa disebabkan oleh beberapa faktor seperti reseptor LH yang kurang di dalam folikel atau memang dosis HCG yang tidak cukup sehingga ovulasi folikel terhambat atau tidak terjadi. Persentase penemuan embrio kembali setelah dilakukan pengumpulan dengan teknik non bedah (flushing, lewat servix uteri) adalah 47,0% (8/17), dengan hasil yang bervariasi antara 0 hingga 85,7% berarti kisaran penemuan embrio dari kosong hingga 6 embrio per donor (Tabel III). Besarnya kisaran hasil jumlah korpus luteum dan penemuan embrio pada masing-masing donor, disebabkan oleh pemilihan donor yang kurang tepat dan perlu perbaikan teknik pengumpulan embrio. Pemakaian 3000-3500 IU PMSG dan 2000 IU

HCG pada sapi dapat menghasilkan embrio 5 kali lipat dari ovulasi yang fisiologis (Hafez, 1980). Sedangkan Heath (1982) melaporkan rata-rata embrio diperoleh dari donor sebanyak 4,4 embrio. Dari 6 ekor resipien yang menerima embrio, hanya 33,3% (2/6) menunjukkan kebuntingan dini berdasarkan kadar progesteron pada 24 hari (lebih besar 1 ng/ml) dari siklus birahinya. Tetapi selanjutnya hanya 16,7% (1/6) sapi resipien yang bunting berdasarkan konfirmasi secara rektal pada 45 hari setelah transfer (Tabel III, Gambar 2 no. II/5).

Tabel III. Peneuan Embrio Setelah Proses Flushing pada Donor
Jumlah CL, Folikel Sisa dan Angka Kebuntingan.

Donor	Jumlah CL	Folikel sisa	Jumlah embrio didapatkan	% peneuan embrio	Resipien ditanamkan embrio	Kebuntingan dini	Kebuntingan lanjut
I	2	2	1	50	1	-	-
II	7	2	6	85,7	4	1	1
III	4	2	-	-	-	-	-
IV	4	1	1	25	1	1	-
Jumlah	17	7	8	47,0	6	2	1

Angka kebuntingan dini 33,3% yang diperoleh sebenarnya hampir sama dengan penelitian yang menggunakan frozen embrio dimana kebuntingan terjadi hanya 34% - 35% dengan teknik non bedah (Baker dan Jillella, 1982; Toelihere, 1987). Tetapi angka tersebut sangat rendah bila dibandingkan dengan angka kebuntingan 66% yang menggunakan embrio segar sapi Friesian

(Heath, 1982) ataupun 50% yang menggunakan embrio segar sapi Bali (Toelihere, 1987).

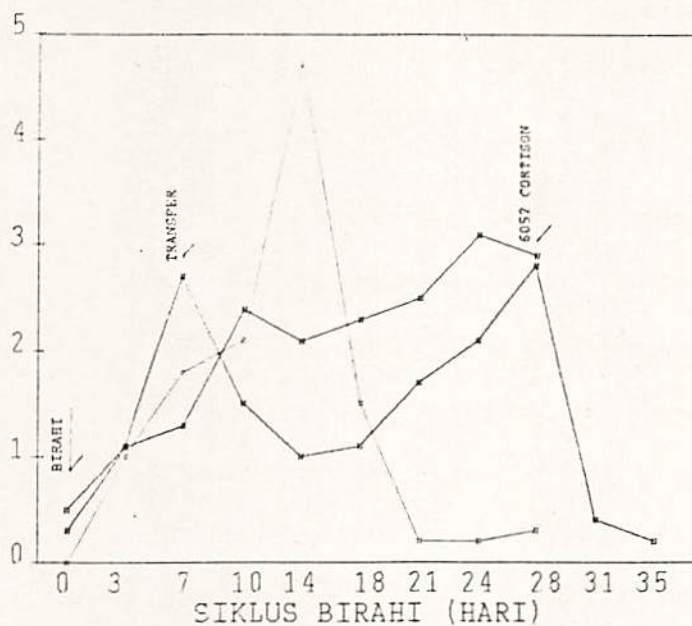
Karena suatu sebab kebengkakan pada paha kiri satu dari sapi resipien yang menunjukkan kebuntingan dini diberikan suntikan 2 dosis preparat cortison dan oxysteclin pada hari ke 29 dari siklus birahinya, sehingga mengakibatkan terjadinya kematian embrio dini (Early Embryonic loss). Jadi angka kebuntingan yang diperoleh menjadi 16,7%. Angka kebuntingan ini juga lebih rendah walaupun dibandingkan dengan menggunakan embrio beku yaitu 21,2% (Ismudiono dkk., 1987).

Rata-rata (\pm sd) kadar progesteron yang dipantau untuk mendiagnosa kebuntingan dini dan kematian embrio menunjukkan pada saat dilakukan transfer embrio (7 hari setelah birahi) adalah $1,57 \pm 0,91$ ng/ml. Satu dari keenam resipien (penerima embrio) menunjukkan kadar progesteron lebih kecil dari 1 ng/ml pada saat transfer dan cenderung semakin menurun pada hari ke 10 setelah transfer (gambar 3 no. I/2). Sebaliknya 5 dari ke 6 sapi resipien yang ditanami embrio pada hari ke 7 dari siklus birahinya menunjukkan kadar progesteron yang semakin meningkat, dan mencapai puncaknya pada hari ke 10 hingga hari ke 14 dari siklus birahinya bagi yang tidak menjadi bunting (gambar 2 dan 3 no. I/8, no. III/7 dan II/7). Berdasarkan kecenderungan peningkatan kadar progesteron hingga 28 hari dari siklus birahi atau 21 hari setelah ditransfer kadar progesteron masih dijumpai tetap

tinggi yaitu 2,8 ng/ml (Gambar 2. no. 6052). Tetapi karena sapi tersebut diberikan obat oxysteclin dengan Cortison 2 dosis pada hari ke 29 dari siklus birahinya, maka selanjutnya profil progesteronnya menjadi 0,4 ng/ml dan 0,20 ng/ml masing-masing pada hari 31 dan 35 dari siklus birahinya (gambar 2, lampiran 1).

Pada sapi bunting kadar progesteronnya akan tidak pernah mencapai kadar basal sebelum menjelang kelahiran. Pada 24 hari saja setelah terjadi fertilisasi kadar progesteron air susu tanpa lemak meningkat menjadi lebih dari 0,75 ng/ml (Mahaputra, 1990; Sharifuddin dkk., 1988). Sedangkan sapi yang tidak mengalami bunting kadar progesteron ini sudah akan mencapai basal (mendekati nol) pada 19-21 hari dari siklus birahi.

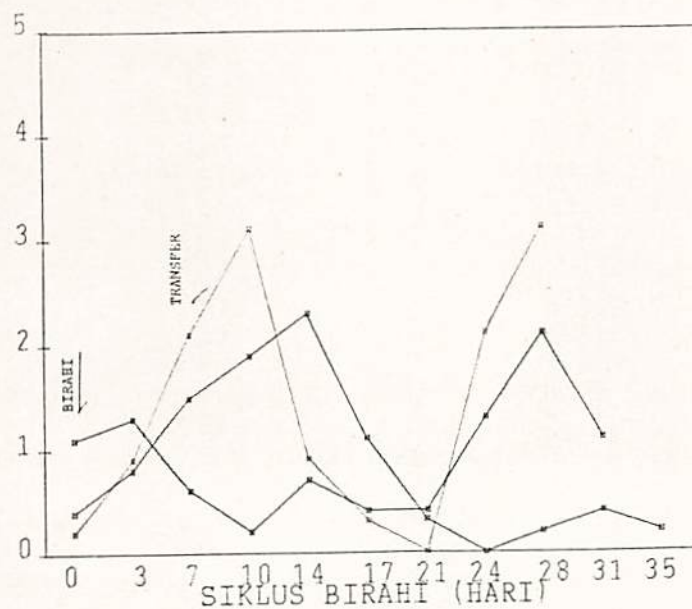
KADAR PROGESTERON (NG/ML)



---No. 6052
 ---No. I/8
 ---No. II/5

Gambar 2. Profil Progesteron Resipien Setelah Dilakukan Transfer Embrio Pada Hari Ke Tujuh Dari Siklus Birahinya

KADAR PROGESTERON (NG/ML)



---No. III/7
 ---No. II/7
 ---No. I/2

Gambar 3. Profil Progesteron Resipien Setelah Dilakukan Transfer Embrio Pada Hari Ke Tujuh Dari Siklus Birahinya

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Antara penyuntikkan PGF yang pertama dengan PGF yang kedua untuk tujuan sinchronisasi birahi pada sapi, sama-sama menunjukkan jumlah kemampuan untuk menimbulkan birahi.
2. Respon birahi rata-rata yang timbul setelah penyuntikkan PGF pertama lebih panjang dari pada penyuntikkan PGF yang kedua.
3. Pemantauan kebuntingan dini lewat progesteron air susu dapat dilakukan sangat dini (24 hari setelah dilakukan IB) dan dapat dipantau adanya "embryonic loss".
4. Tidak keseluruhan folikel masak terovulasikan setelah penyuntikkan 2000 IU HCG.
5. Teknik pengendapan embrio selama 60 menit pada corong gelas dapat mengurangi volume cairan flushing yang diperiksa untuk identifikasi dan memberi hasil embryo recovery 47% .
6. Angka kebuntingan yang didapat dari penelitian ini termasuk rendah (16,7%).

B. Saran

1. Walaupun pengumpulan embrio dengan teknik non pembedahan sudah dapat berhasil guna pada penelitian ini, perlu dilakukan seleksi resipien yang lebih ketat guna menyeragamkan respon ovarium terhadap kemampuan ovulasinya.

2. Perlu pertimbangan untuk meningkatkan pemakaian dosis HCG saat birahi untuk menghindarkan terjadinya sisa folikel yang belum terovulasikan.
3. Hasil cairan flushing sudah dilakukan modifikasi pengumpulan dengan memakai corong gelas, walaupun demikian untuk lebih mempercepat penemuan embrio, masih perlu dilakukan pemakaian filter untuk pemisahan embrio dengan sebagian cairan bagian bawah dari endapan yang berada di dalam corong.
4. Tatalaksana yang lebih baik terhadap embrio dan resipien, diharapkan dapat meningkatkan angka kebuntingan dari hasil transfer embrio segar ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 1984. Laboratory Manual on Radioimmunoassay in Animal Reproduction. IAEA. Viena. Technical Reports Series 233. 83-93.
- Baker, A.A. , D. Jillella, 1985. Some Aspect of Embryo Tranfer in The Cow with Particular Reference to The Non Surgical Technique. Proc. Australian Society for Reproduction Biology. p. 32-35.
- Fielden, E.D. and D.L. Hayman. 1982. Repeated Ovulation and Embrio Transfer in Cattle. Embryo Transfer in Cattle, Sheep and goats. Symp Canberra-Australia. May 1981. 20-23.
- Hafez, E.S.E. , 1980. Reproduction in Farm Animals. 4th. ed. Lea and Febiger. p. 161, 570.
- Heap, R.B. , M. Gwyn. , J.A. Laing and D.E. Walters. (1973). Pregnancy diagnosis in Cows; Changes in Milk Progesterone Concentration During The Oestrans Cycle ang Pregnancy Measurea by Rapid Radio Immunoassay. J. Agric. Sci. (Canberra). 81: 151-157.
- Heap, R.B. , Holdsworth, R.J. , Gadsby, J.E. Laing, J.A. and Walters, D.E. (1976). Pregnancy Diagnosis in The Con From Milk Progesterone Concentration Br. Vet. J. 132: 445.
- Heath, T.D. 1982. Preparation and Treatment of Donors. Proc. Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Australian Society for Reproduction Biology. p. 15-17.
- Ismudiono, Hadi Saroso, Sudantoro, Y. Basbed, T.L. Yusuf, A. Siregar. 1987. Proc. Simposium Peranan Tranfer Embryo dan Rekayasa Genetik Dalam Peningkatan Mutu dan Produksi Ternak. IPB. 16-18 Februari 1987.
- Ismudiono, S. Hardjopranto, L. Mahaputra, M. Hariadi, P. Srianto. 1990. Transfer Embrio Dengan Menggunakan Embrio Beku pada Sapi Perah. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Laitinen, J., E. Remes., M. Tenhunan., O. Hanninen and M. Alanko. 1985. Milk Progesterone in Finnish Dairy Cows: A Field Study on The Control of Artificial Insemination and Early Pregnancy. Br. Vet. J. 141: 297-307.

- Loneragan, J. 1982. Surgical Collection of Embryos. Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Symp. Canberra-Australia. May 1981. 23-24.
- Mahaputra, L., Wurlina, Sharifuddin, 1987. Penggunaan Gabungan FSH, HCG dan Dynoprost Untuk Super Ovulasi pada Sapi. Proc. Simposium Peranan Transfer Embryo dan Rekayasa Genetik Dalam Peningkatan Mutu dan Produksi Ternak. IPB. 16-18 Februari 1987.
- Mahaputra dan I. Pranoto. 1989. Medroxy Progesteron Acetat (Depo Provera) Spon dan Analognya Sebagai Penggertak Fertilitas pada Sapi. Majalah Kedokteran Indonesia (MKI) 39. No. 7.
- Mahaputra, L. 1990. Pengukuran Kadar Progesteron Air Susu dan LH. Serum Untuk Menentukan Status Reproduksi dan Upaya Penanggulangan Infertilitas pada Sapi Perah Pasca Lahir. Disertasi Doktor FPS. Unair.
- Miller, W. 1982. Repeated Superovulation and Surgical Collection of Embryos and Subsequent Fertility of Donor Cows. Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Symp. Canberra - Australia. May 1988. 24-26.
- Morales, T.I., J.F. Woesner, D.S. Howell, J.M. Marsh and W.J. Lemaire. 1978. Prostaglandin F₂ alfa as a Luteolytic in Cattle Biochim. Biophys. Acta. 524. 428-434.
- Pope. G.S., I. Majtlik., P.J.H. Ball and J.D. Leaver. (1976). Use of Progesterone Concentrations of Pregnancy in Domestic Cattle. Br. Vet. J. 132: 497-506.
- Schiavo, J.J., R.L. Matuszczak., E.B. Olteneacu and R.H. Foote. 1975. Milk Progesterone in Postpartum and Pregnant Cows as a Monitor of Reproductive Status. J. Dairy. Sci. 58: 1713-1761.
- Siegel, S. and N.J. Castellan, Jr. 1988. Non Parametrics Statistic For The Behavior Sciences. 2nd. ed. McGraw-Hill Book Company. pp 75-80.
- Siswanto, R. 1990. Pengaruh Pemberian Kombinasi Hormon PMSG dan HCG Untuk Superovulasi pada Sapi Perah Friesian Holstein (Suatu Teknik Tahap Persiapan Transfer Embrio Di Lapangan). Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1980. Principles and Procedures of Statistics. 2nd. ed. McGraw-Hill Kogakusha, LTD. Tokyo. pp. 75-76.

- Syarifuddin, N., M.R. Jainudeen, and K. Aziruddin, 1988. This Milk Progesteron Radioimmunoassay for Monitoring Fertility in Small Holders Dairy Cattle in Malaysia: Application of Radioimmunoassay to Improving The Reproductive Efficiency and Productivity of Large Ruminants. 05-09 Sept. IAEA. Viena, Austria.
- Toelihere, M.R. 1987. The Development of Embryo Transfer in Large Farm Animals in Indonesia. Proc. Simposium Peranan Tranfer Embryo dan Rekayasa Genetik Dalam Peningkatan Mutu dan Reproduksi Ternak. IPB. 16-18 Februari 1987.

Lampiran 1. Kadar Progesteron Air Susu (ng/ml) pada Resipien, Dalam Beberapa Kurun Waktu (hari) Sebelum dan Setelah Transfer Embrio.

Waktu Resipien	E	3	7	10	14	17	21	24	28	31	35
6052	0,50	1,1	2,7	1,5	1,0	1,1	1,7	2,1	2,8	0,4	0,20
I / 8	0	1,0	1,8	2,1	4,7	1,5	0,20	0,2	0,30		
II / 5	0,31	1,1	1,3	2,4	2,1	2,3	2,5	3,1	2,9		
III/ 7	0,40	0,80	1,5	1,9	2,3	1,1	0,32	0,0	0,20	0,4	0,2
II / 7	0,2	0,9	2,1	3,1	0,9	1,9	0,30	0	2,1	3,1	
I / 2	1,1	1,3	0,6	0,2	0,7	0,4	0,4	1,3	2,1	1,1	

E = birahi

Lampiran 2. Uji McNemar Untuk Jumlah Sapi Birahi Setelah PGF

	PGF I	PGF II
Birahi	13	12
Tak birahi	3	4

$$\begin{aligned}
 \chi^2 &= \frac{(|A - D| - 1)^2}{A + D} \\
 &= \frac{(|13 - 4| - 1)^2}{13 + 4} = \frac{64}{17} = 3,76 \\
 \chi^2 &< 3,84 \quad \text{df} = 1 \\
 P &\geq 0,05
 \end{aligned}$$

Jadi tidak ada perbedaan jumlah sapi birahi pada perlakuan I dan II.

 HYPOTHESIS TESTS FOR MEANS

READER DATA FOR: A:ET LABEL: respon birahi setelah PGF
 NUMBER OF CASES: 14 NUMBER OF VARIABLES: 2

DIFFERENCE BETWEEN TWO GROUP MEANS: POOLED ESTIMATE OF VARIANCE

Lampiran 3. Uji-t Untuk membedakan respon birahi setelah PGF

	GROUP 1	GROUP 2	
MEAN =	4.0000	2.7500	
STD. DEV. =	1.6833	1.1382	
N =	13	12	
	DIFFERENCE =		1.2500
STD. ERROR OF DIFFERENCE =			.5798
T =	2.1558	(D.F. = 23)	GROUP 1: pg1 GROUP 2: pg2
PROB. =	.0209		

SELESAI

Nama : ...
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

