

LAPORAN AKHIR
Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi
(PTUPT)



**Isolasi, Identifikasi dan Produksi *human* Chorionic
Gonadotropin (*hCG*) dari Urine Wanita Hamil untuk
Memanipulasi Maturasi *Invitro* dan Ovulasi *Invivo* pada
Sapi Madura**

TAHUN KE 2 DARI RENCANA 2 TAHUN

TIM PENGUSUL :

Prof Dr HERRY AGOES HERMADI drh MSi (0023085904)
Prof Dr R.TATANG SANTANU ADIKARA, drh MS. Akp. (0016075304)
SUNARYO HADI WARSITO Drh.,MP.(0026037002)

DIBIYAI OLEH:

DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN
PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
Nomor: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018

UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOPEMBER 2018

LAPORAN AKHIR

Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi
(PTUPT)

KCC
Kk
LP 50/19
Her
i



Isolasi, Identifikasi dan Produksi *human Chorionic Gonadotropin (hCG)* dari Urine Wanita Hamil untuk Memanipulasi Maturasi *Invitro* dan Ovulasi *Invivo* pada Sapi Madura

TAHUN KE 2 DARI RENCANA 2 TAHUN

TIM PENGUSUL :

Prof Dr HERRY AGOES HERMADI drh MSi (0023085904)
Prof Dr R.TATANG SANTANU ADIKARA, drh MS. Akp. (0016075304)
SUNARYO HADI WARSITO Drh.,MP.(0026037002)

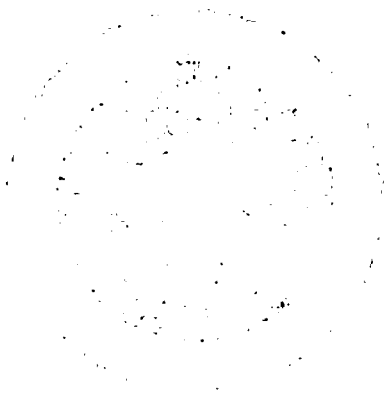
DIBIAYAI OLEH:

DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN
PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
Nomor: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018

UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOPEMBER 2018

IR-11111
KEMENTERIAN RI
KEMENTERIAN RI
KEMENTERIAN RI

UNIVERSITAS AIRLANGGA
FACULTY OF ...



...
...
...
...

...

...

...
...
...

...
...
...

...

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Isolasi, Identifikasi dan Produksi human Chorionic Gonadotropin (hCG) dari Urine Wanita Hamil untuk Memanipulasi Maturasi Invitro dan Ovulasi Invivo pada Sapi Madura

Peneliti/Pelaksana
 Nama Lengkap : Dr. drh. HERRY AGOES HERMADI, M.Si
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
 NIDN : 0023085904
 Jabatan Fungsional : Guru Besar
 Program Studi : Pendidikan Profesi Dokter Hewan
 Nomor HP : 081217959343
 Alamat surel (e-mail) : herry-a-h@fkh.unair.ac.id

Anggota (1)
 Nama Lengkap : Dr. drh. R TATANG SANTANU ADIKARA M.Si
 NIDN : 0016075304
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)
 Nama Lengkap : SUNARYO HADI WARSITO M.P
 NIDN : 0026037002
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

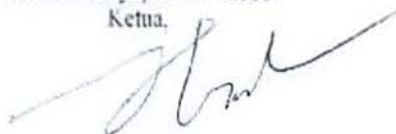
Institusi Mitra (jika ada)
 Nama Institusi Mitra : -
 Alamat : -
 Penanggung Jawab : -
 Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
 Biaya Tahun Berjalan : Rp 100,000,000
 Biaya Keseluruhan : Rp 200,000,000

Mengetahui,
 Dekan Fakultas Kedokteran Hewan



(Prof. Dr. Pudji Sianto, drh., M.Kes.)
 NIP/NIK 195601051986011001

Kota Surabaya, 8 - 11 - 2018
 Ketua,



(Dr. drh. HERRY AGOES HERMADI, M.Si)
 NIP/NIK 195908231987031003

Menyetujui,
 Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi



(Prof. Hery Purnobasuki, M.Si., Ph.D.)
 NIP/NIK 196705071991021001



DISCUSSION

The purpose of this research is to isolate and identify the bacteria that cause the disease in the fish.

The first step in this research is to collect the fish that are sick.

The next step is to collect the tissue from the sick fish.

The next step is to make a smear from the tissue.

The next step is to stain the smear with Gram stain.

The next step is to observe the smear under a microscope.

The next step is to identify the bacteria based on the Gram stain result.

The next step is to make a culture of the bacteria.

The next step is to observe the culture under a microscope.

The next step is to identify the bacteria based on the culture result.

The next step is to make a slide of the bacteria.

The next step is to observe the slide under a microscope.

The next step is to identify the bacteria based on the slide result.

The next step is to make a slide of the bacteria.

The next step is to observe the slide under a microscope.

The next step is to identify the bacteria based on the slide result.

The next step is to make a slide of the bacteria.

The next step is to identify the bacteria based on the slide result.

The next step is to make a slide of the bacteria.

The next step is to identify the bacteria based on the slide result.

The next step is to identify the bacteria based on the slide result.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	1
PRAKATA	2
DAFTAR ISI.....	3
DAFTAR TABEL.....	4
DAFTAR GAMBAR	5
DAFTAR LAMPIRAN	6
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	15
BAB 4 METODA PENELITIAN	16
BAB 5 HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	19
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	22
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25



DAFTAR TABEL

Table 5 .1. Sinkronisasi Estrus dengan Pgf 2 α dan dikombinasikan dengan hCG	19
Table.5 .2. Diagnosa kebuntingan 60 hari dengan USG	20
Tabel .5.3. Target Capaian Tahun 2018	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1. Diagnosa Follikel Dominan saat estrus.....	20
Gambar 5.2. Diagnosa kebuntingan hari ke 60 tampak gambar USG	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Publikasi Ilmiah Internasional for philippine journal 2 articles.....	28
Lampiran 2. Seminar Internasional.....	42
Lampiran 3. Paten.....	45
Lampiran 4. Produk.....	47
Lampiran 5. Buku Ajar.....	48

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	1
PRAKATA	2
DAFTAR ISI.....	3
DAFTAR TABEL.....	4
DAFTAR GAMBAR	5
DAFTAR LAMPIRAN	6
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	9
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	15
BAB 4 METODA PENELITIAN	16
BAB 5 HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	19
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	22
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25



DAFTAR TABEL

Table 5 .1. Sinkronisasi Estrus dengan Pgf 2 α dan dikombinasikan dengan hCG	19
Table.5 .2. Diagnosa kebuntingan 60 hari dengan USG	20
Tabel .5.3. Target Capaian Tahun 2018	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 5.1. Diagnosa Follikel Dominan saat estrus.....	20
Gambar 5.2. Diagnosa kebuntingan hari ke 60 tampak gambar USG	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Publikasi Ilmiah Internasional for philipine journal 2 articles.....	28
Lampiran 2. Seminar Internasional.....	42
Lampiran 3. Paten.....	45
Lampiran 4. Produk.....	47
Lampiran 5. Buku Ajar.....	48

RINGKASAN

human Chorionic Gonadotropin (hCG) merupakan hormon Gonadotropin yang diekstraksi dari urine wanita hamil yang mempunyai konsentrasi tertinggi dijumpai pada usia kehamilan usia 1.5 atau 3.5 bulan saat positif tes kehamilan. Secara biologis telah diketahui identik dengan LH dan sering disebut *LH like*. *human Chorionic Gonadotropin* adalah hormon glycoprotein. Melakukan isolasi dan purifikasi protein *hCG*. Berat molekuler *hCG* 37 dan 22 kDa sesuai dengan hasil sds- page 10%. Perhitungan kadar elisa bahwa kadar *hCG* ibu hamil usia kebuntingan 1,5 dengan 10 kali pengendapan sebesar 105,667 mIU/mL berarti setiap kali pengendapan sebesar 10.567 mIU/mL. Kadar urine *hCG* usia kebuntingan 3,5 bulan rata-rata 13.444 mIU/mL. Uji potensi biologis *hcg* terhadap ovulasi pada sapi Madura sebanyak 30 ekor sapi Madura betina yang telah dipastikan tidak bunting dan tidak ada gangguan reproduksi. Berumur 2-3 tahun yang mempunyai bodi score minimal 2 sebelumnya diterapi dengan pakan konsentrat susu A protein 15 – 17 % (Phok Phand) 3 kg/hari/ekor selama 1 bulan dikelompokkan secara acak menjadi 2 kelompok dengan masing – masing perlakuan mendapatkan 15 ulangan penyuntikan *hCG* (Seerum) dan *hCG* hasil penelitian (kelompok perlakuan) / kelompok kontrol. Sinkronisasi birahi dilakukan dengan menyuntikkan PGF2 α . Jika birahi dilakukan inseminasi buatan 48 jam setelah penyuntikan PGF2 α (glandin) 25 mg. Penyuntikan ke dua dilakukan dengan interval 11 hari. 72 jam selanjutnya dilakukan penyuntikan *hCG*. Inseminasi dilakukan bila tanda – tanda birahi telah muncul. Kelompok perlakuan adalah :P₁ (kontrol) 15 ekor sapi disuntik 500 IU *hCG* chorulon intra muscular. P₂ (perlakuan) 15 ekor sapi disuntik 500 iu *hCG* hasil penelitian secara intra muscular. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan $p > 0,05$. Kesimpulannya antara *hCG* Chorullon intervet Holland (produk paten) dan Produk urine Chorionic gonadotropin (*hCG*) antara kontrol dan perlakuan pada sapi Madura dalam estrus dan kebuntingan. Penggunaan t test dalam analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata diantara kelompok kontrol produk patent chorulon intervet holland dan *hCG* perlakuan hasil penelitian $p > 0.05$.



PRAKATA

Puji syukur tim peneliti panjatkan kepada tuhan yang maha esa karena berkat rahmat dan hidayah-nya tim penelitian ini dapat menyelesaikan penelitian dari penelitian tahun anggaran 2018, yang berjudul. isolasi, identifikasi dan produksi *human chorionic gonadotropin (hCG)* dari urine wanita hamil untuk memanipulasi maturasi *invitro* dan ovulasi *invivo* pada sapi Madura, Penelitian ini merupakan penelitian unggulan perguruan tinggi (PTUPT) tahun 2018 no.597/un 3.14/lt/2917.

Menyadari bahwa populasi ternak sapi di Indonesia yang berkembang seiring jumlah penduduk yang terus melaju serta tingginya akan permintaan daging sapi maka sudah selayaknya perlu dipikirkan suatu cara agar mendongkrak populasi pada kedua ternak tersebut. Salah satu strategi yang dapat dilakukan adalah melalui teknologi yang sederhana dengan cara sinkronisasi birahi, sehingga memudahkan untuk pendeteksian kapan birahi terjadi yang selanjutnya akan mempermudah kapan waktu yang tepat untuk dilakukan kawin suntik. Pada penelitian tahun ini yang dilakukan pada sapi diperoleh hasil yang sangat memuaskan. Oleh karena itu tim peneliti mengharapkan turunnya anggaran dana untuk tahun kedua guna mengetahui tingkat keberhasilan apabila dilakukan pada ternak sapi.

Akhir kata semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pemerintah maupun peternak yang berkecimpung dalam usaha mengembangkan populasi ternak di Indonesia khususnya sapi .

Surabaya, 3 Nopember 2018



VII

BAB I.

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Tes kehamilan, tes darah kuantitatif dan tes urine yang paling sensitif pada manusia biasanya mendeteksi hCG antara 6 dan 12 hari setelah ovulasi. [29] Namun, harus diperhitungkan, bagaimanapun, bahwa tingkat hCG total dapat bervariasi dalam rentang yang sangat luas dalam 4 minggu pertama kehamilan, yang menyebabkan hasil yang salah selama periode ini. [30] Kenaikan 35% selama 48 jam diusulkan sebagai kenaikan minimal yang konsisten dengan kehamilan intrauterine yang layak. [31]. Kajian folikulogenesis secara seluler dimulai dari hormon GnRH, penanggulangan terhadap gangguan keseimbangan hormonal FSH – LH rendah adalah pertama – tama diperbaiki penyebabnya seperti, ransum pakan diperbaiki dengan kualitas pakan yang baik dan seimbang, lingkungan yang lebih baik, kandang yang lebih bersih, pergerakan udara yang baik, lebih longgar, sering dikeluarkan dari kandang agar lebih banyak bergerak. Bila keadaannya sudah menjadi lebih baik disusul dengan penyuntikan preparat FSH – LH atau like (FSH – LH) (5).

Human Chorionic Gonadotropin (*hCG*) tidak bersifat spesies spesifik artinya walaupun dihasilkan dari urine wanita hamil tetap masih memberikan efek terapi pada wanita resepien atau penderita, bahkan *hCG* dapat dilibatkan langsung dalam proses IVF (Invitro fertilisasi) pada manusia roses implantasi setelah transfer embrio bergantung pada kualitas embrio dan penerimaan endometrium. Diperkirakan bahwa lima puluh sampai tujuh puluh lima persen kehamilan hilang karena kegagalan implantasi. Ada bukti bahwa ada sekresi awal gonadotrophin chorionik manusia sebelum embrio implantasi, dan sekresi ini telah dikaitkan dengan fungsi penting dalam angiogenesis dan respon inflamasi yang mendorong proses implantasi. Tujuan kami adalah untuk mengetahui efek injeksi intrauterine human chorionic gonadotropin (*hCG*) sebelum transfer embrio dalam siklus fertilisasi in vitro (2).

Pembanding folikel mulai timbul secara simultan tetapi banyak yang menjadi atresia selama fase luteal dari siklus gelombang pertumbuhan folikel dimana satu diantaranya menjadi folikel dominan. Perubahan biokimia pada perkembangan folikel subordinat menjadi folikel dominan saat dilakukan analisa perubahan kimia terjadi sangat kontras tergantung prinsipnya adalah FSH, LH dan receptor yang ada (5). Kajian molekuler *hCG*, Tingkat perkembangan folikulogenesis terjadi sangat independent dari pengaruh gonadotropin hormone, antral folikuli menjadi sangat responsibel terhadap FSH-LH. Inhibin, Activin, Insulin Like Growth Factor I

UNIVERSITAS AIRLANGGA
FACULTY OF AGRICULTURE
DEPARTMENT OF ANIMAL SCIENCE
MADYASRAN

(IGF I) dan dinding protein (ikatan dengan protein) mempunyai efek langsung dan tidak langsung pada sel granulosa dan sel Techa dapat merangsang pertumbuhan folikel dan storeidogenesis. Inhibin mempunyai efek autocrin dan paracrin yang mampu mensintesis androgen dalam sel techa untuk stimulasi produksi FSH-LH dan steroid. Kemungkinan terjadi mekanisme feedback local (feedback loob) diantara individual folikel meliputi perubahan inhibin, activin, dn ikatan protein (binding protein) dibawah pengaruh lingkungan sistemik gonadotropin dan growth hormon. Pertumbuhan folikel dominant dan perubahan kadar estradiol dan perubahan relative dari perubahan kadar inhibin, activin, dan IGF banding protein. Dugaan ini dilakukan dengan test imonoblot kuantitatif didalam inrafolicular IGFI, IGFBP.2 (IGF banding protein) selama seleksi hari 2-4 saat siklus estrus, folikel dominant hari ke 5 (5).

Sampai saat ini, ahli medis hanya mengandalkan aktivitas tergantung pada LH dari pematangan oosit akhir dan dengan demikian Mengambilnya begitu saja bahwa gelombang alami siklus pertengahan FSH secara biologis berlebihan. Namun, sekarang saatnya mempertanyakan paradigma ini. Bukti dari penelitian klinis mengisyaratkan bahwa pada subset pasien yang belum ditentukan, gelombang LH dan FSH ganda menguntungkan dibandingkan dengan lonjakan LH dalam bentuk pemicu human chorionic gonadotrophin (HCG). Gelombang ganda bisa dipicu oleh bolus gonadotrophin-releasing agonis hormon menyebabkan flare up LH dan FSH endogen dan menyerupai gelombang alami gonadotrofin HCG yang diberikan bersamaan menjamin eksposur yang memadai terhadap aktivitas LH. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengkarakterisasi pasien di mana lonjakan FSH diperlukan untuk dimulainya kembali proses meiosis oosit (32).

Tujuan jangka panjang yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah:

Memproduksi hormon *hCG* (LH-like) untuk penanganan ovulasi pada sapi Madura



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Human chorionic gonadotropin (hCG).

Human chorionic gonadotropin (hCG) adalah hormon yang diproduksi oleh plasenta setelah implantasi. [1] [2] Kehadiran hCG terdeteksi pada beberapa tes kehamilan (tes strip kehamilan HCG). Beberapa tumor kanker menghasilkan hormon ini; Oleh karena itu, tingkat tinggi yang diukur saat pasien tidak hamil dapat menyebabkan diagnosis kanker dan, jika cukup tinggi, sindrom paraneoplastik, bagaimanapun, tidak diketahui apakah produksi ini adalah penyebab penyebab, atau efek karsinogenesis. Analog hipofisis hCG, yang dikenal sebagai hormon luteinizing (LH), diproduksi di kelenjar pituitari jantan dan betina dari segala umur. [1] [3] Manusia chorionic gonadotropin adalah glikoprotein yang terdiri dari 237 asam amino dengan massa molekul 36,7 kDa, kira-kira 14,5 α hCG dan 22.2kDa β hCG. [7] t adalah heterodimerik, dengan subunit α (alfa) yang identik dengan hormon luteinizing (LH), hormon perangsang folikel (FSH), hormon perangsang tiroid (TSH), dan subunit β (beta) yang unik untuk hCG. Subunit α (alfa) adalah asam amino lama. [8] Subunit β dari hCG gonadotropin (beta-hCG) mengandung 145 asam amino, dikodekan oleh enam gen homolog tinggi yang disusun secara tandem dan pasangan pada kromosom 19q13.3 - CGB (1, 2, 3, 5, 7, 8) [9] Dua subunit tersebut yang menciptakan inti hidrofobik kecil yang diliputi oleh rasio permukaan-terhadap-volume tinggi: 2,8 kali bola. Sebagian besar asam amino luar dari hidrofilik. [10]hCG tidak bersifat spesies spesifik artinya walaupun dihasilkan dari urine wanita hamil tetapi masih memberikan efek terapi pada wanita resepien atau penderita, bahkan hCG dapat dilibatkan langsung dalam proses IVF (Invitro Fertilisasi pada manusia (2). hCG bila dilakukan terapi pada infertilitas wanita bila dibandingkan dengan recombinant human FSH pada perbandingan hasil koleksi oocyte dan perkembangan embryo hasilnya sangat memuaskan Penggunaan hCG 85% oocyte mencapai fase metafase saat perlakuan IVF (3). untuk mengetahui apakah ada manfaat tambahan dari pemberian FSH selain hCG priming pada program pematangan in-vitro (IVM). Enam puluh wanita dengan sindrom ovarium polikistik (PCOS) yang menjalani 68 siklus IVM diacak oleh nomor komputer yang dihasilkan untuk menerima stimulasi FSH atau tidak. Tiga puluh lima siklus diolah dengan 75 IU rFSH selama 6 hari, dan 33 siklus tidak diolah. Setiap siklus diberi hCG 10 000 IU 36 jam sebelum pengambilan oosit. Oosit yang belum dewasa matang secara in vitro dan dibuahi oleh ICSI, dan embrio yang dihasilkan diganti pada hari ke 2 atau 3. Sebanyak 1528 oosit belum matang ditemukan. Tingkat pematangan dan

pemupukan secara keseluruhan masing-masing adalah 74,2 dan 72,8%. Setelah transfer embrio, 23 kehamilan menghasilkan (33,8%)(4).

2.2. Mafaat chorionic gonadotropin (hCG) dan aplikasinya

Human chorionic gonadotropin adalah glikoprotein yang terdiri dari 237 asam amino dengan massa molekul 36,7 kDa, kira-kira 14,5 α hCG dan 22.2kDa β hCG. [7].Ini adalah heterodimerik, dengan subunit α (alfa) yang identik dengan hormon luteinizing (LH), hormon perangsang folikel (FSH), hormon tiroid-stimulating hormone (TSH), dan subunit β (beta) yang unik untuk hCG. Subunit α (alfa) adalah 92 asam amino yang panjang. [8] Subunit β dari hCG gonadotropin (beta-hCG) mengandung 145 asam amino, dikodekan oleh enam gen homolog tinggi yang disusun secara tandem dan pasangan terbalik pada kromosom 19q13.3 - CGB (1, 2, 3, 5, 7, 8) [9]Dua subunit tersebut menciptakan inti hidrofobik kecil yang dikelilingi oleh rasio permukaan-terhadap-volume tinggi: 2,8 kali bola. Sebagian besar asam amino luar bersifat hidrofilik. [10]Fungsi [sunting]Human chorionic gonadotropin berinteraksi dengan reseptor LHCG pada ovarium dan meningkatkan pemeliharaan korpus luteum pada awal kehamilan. Hal ini memungkinkan korpus luteum mengeluarkan hormon progesteron selama trimester pertama. Progesteron memperkaya rahim dengan lapisan pembuluh darah dan kapiler yang tebal sehingga bisa menopang janin yang sedang tumbuh . Karena muatannya yang sangat negatif, hCG dapat mengusir sel kekebalan ibu, melindungi janin selama trimester pertama. Ini juga telah dihipotesiskan bahwa hCG mungkin merupakan hubungan plasenta untuk pengembangan imunotolerance maternal lokal. Sebagai contoh, sel endometrium yang diobati dengan hCG menginduksi peningkatan apoptosis sel T (pembubaran sel T). Hasil ini menunjukkan bahwa hCG mungkin merupakan penghubung dalam pengembangan toleransi kekebalan peritrofoblastik, dan dapat memfasilitasi invasi trofoblas, yang diketahui mempercepat perkembangan janin di endometrium. [11] Ini juga telah menyarankan bahwa kadar hCG terkait dengan tingkat keparahan Hyperemesis gravidarum pada wanita hamil. [12] Karena kesamaannya dengan LH, hCG juga dapat digunakan secara klinis untuk menginduksi ovulasi di ovarium serta produksi testosteron di testis. Sebagai sumber biologis paling melimpah adalah wanita yang saat ini hamil, beberapa organisasi mengumpulkan air kencing dari ibu hamil untuk mengekstrak hCG untuk digunakan dalam perawatan kesuburan. [13] [14].

Sapi yang menyusui Holstein (n = 158), pada 213 ± 112 hari dalam pemerahan susu dan rata-rata 26 ± 9 kg susu per hari, secara acak ditugaskan ke salah satu dari tiga kelompok perlakuan: kontrol (CG, n = 52, garam), GnRH (GG, n = 55, 100 μ g gonadorelin), dan hCG (HG,

n = 51, 2500IU) diberikan lima hari setelah inseminasi buatan (AI). Suhu rektal diambil pada saat AI dan sampel darah dikumpulkan lima, tujuh, dan 12 hari setelah AI. Kehamilan ditentukan antara 42 dan 49 hari setelah AI. Konsentrasi progesteron (P4) dalam serum (ng / ml, mean \pm SE) untuk CG, GG, dan HG masing-masing, $2,7 \pm 0,4$, $2,5 \pm 0,4$, dan $3,2 \pm 0,5$ pada hari ke 5; $4,8 \pm 0,4$, $4,2 \pm 0,4$, dan $5,7 \pm 0,5$ pada hari ke 7; dan $5,2 \pm 0,4$, $6,9 \pm 0,4$, dan $8,5 \pm 0,5$ pada hari ke 12 setelah AI. Konsentrasi P4 meningkat secara proporsional dalam serum antara hari ke 5 dan 7 setelah AI (CG: 178%, GG: 168%, dan HG: 178%), menunjukkan bahwa perawatan tersebut tidak menimbulkan efek luteotropik pada yang ada. korpus luteum (CL). Konsentrasi P4 meningkat antara hari ke 7 dan 12 pada sapi yang diobati dengan GnRH dan hCG (GG: 164%, dan HG: 149%, $P < 0,01$); tapi tidak di kontrol sapi (GC: 18%, $P = 0,31$), menyarankan bahwa CL baru terbentuk. Perawatan dengan GnRH atau hCG meningkatkan tingkat konsepsi pada sapi dengan rektum suhu di bawah $39,7^\circ\text{C}$ (CG: 10,1%, n = 26, GG: 36,8%, n = 27; dan HG: 32,8%, n = 21), namun tidak pada sapi dengan suhu rektal di atas $39,7^\circ\text{C}$ (CG: 15,2%, n = 26; GG: 17,8%, n = 28; dan HG: 24,4%, n = 30). Data ini menunjukkan bahwa suhu tubuh tinggi menutupi dampak positif pengobatan dengan GnRH atau hCG pada hari ke 5 setelah AI saat pembuahan. (33). hCG bukan dari spesies spesifik yang berarti bahwa meskipun urin yang dihasilkan dari wanita hamil terus memiliki efek terapeutik pada wanita, bahkan hCG mungkin langsung terlibat dalam proses IVF (Invitro (pembuahan) pada manusia. Folikel komparatif mulai terjadi secara bersamaan tetapi banyak yang menjadi atresia selama fase luteal dari siklus pertumbuhan folikel di mana salah satunya menjadi folikel yang dominan. Perubahan biokimia dalam perkembangan folikel subordinat ke folikel dominan ketika dianalisis untuk perubahan kimia terjadi berbeda dengan prinsipnya adalah FSH, LH dan reseptor (Anonymous. 1994, Daya S, dkk 1995; Roche, 1996). Human chorionic gonadotropin (hCG) memiliki efek luteinizing hormone (LH) yang ampuh pada sapi yang memperpanjang masa hidup korpus luteum (CL) dan meningkatkan sintesis progesteron, menginduksi ovulasi di seluruh siklus estrus, mempromosikan pembentukan corpora lutea aksesori ketika diterapkan pada fase luteal awal, dan dinamika gelombang folikuler meningkatkan frekuensi siklus folikel dominan tiga gelombang. Karena hCG bekerja pada sel ovarium secara independen dari kelenjar pituitari dan efeknya lebih tahan lama daripada yang dihasilkan oleh pelepasan LH endogen, penggunaan hCG daripada hormon gonadotropin-releasing (GnRH) dapat ditargetkan pada populasi sapi subfertil. Ulasan ini menjelaskan penggunaan klinis hCG untuk meningkatkan kinerja reproduksi sapi perah. Selain itu, kami menjelaskan perkembangan terbaru dalam penggunaan terapi hCG dan studi yang membahas manfaat termasuk hCG dalam protokol sinkronisasi estrus

dan ovulasi. Tinjauan kami diakhiri dengan diskusi kritis tentang bagaimana temuan sebelumnya terkait dengan tanggapan ovarium terhadap pengobatan hCG dapat ditafsirkan dalam terang kemajuan terbaru dalam aplikasi klinis hCG. (DeRensis et al, 2010). Penelitian ini berkaitan dengan deskripsi berat molekul dan kadar hormon Urine Chorionic Gonadotrophin (hCG) pada wanita hamil berusia 1,5 - 3,5 bulan pada wanita Indonesia setelah 1000 g cold centrifugation dan teknik lanjutan Lebih khusus, studi ini membahas penggunaan Urin Chorionic Gonadotrophin (hCG) sebagai zat berbasis hormon yang memicu ovulasi pada sapi dan ruminansia lainnya yang berasal dari ekstraksi urin ibu hamil usia kehamilan tertentu. hCG bukanlah spesies spesifik yang berarti bahwa meskipun diproduksi dari urin wanita hamil itu masih memberikan efek terapeutik pada wanita atau pasien, bahkan hCG dapat langsung terlibat dalam proses IVF (Invitro fertilisasi) pada manusia. Folikel komparatif mulai terjadi bersamaan tetapi banyak yang menjadi atresia selama fase luteal dari siklus pertumbuhan folikel folikel dimana salah satunya menjadi folikel dominan. Perubahan biokimia dalam perkembangan folikel subordinat ke folikel dominan ketika menganalisis perubahan kimia terjadi sangat kontras tergantung pada prinsip bahwa ada FSH, LH dan reseptor. Penelitian ini berkaitan dengan deskripsi berat molekul dan kadar Urine Chorionic Gonadotrophin (hCG) pada wanita hamil berusia 1,5 - 3,5 bulan pada wanita Indonesia setelah 1000 g cold centrifugation dan teknik lanjutan. Human Chorionic Gonadotropin (hCG) adalah hormon Gonadotropin yang diekstraksi dari urin ibu hamil yang memiliki konsentrasi tertinggi ditemukan pada usia kehamilan 1,5 hingga 3,5 bulan atau 8 hingga 11 minggu hingga 4 bulan atau 12-15 minggu saat tes kehamilan positif. Biologinya dikenal identik dengan LH dan sering disebut LH like. Human Chorionic Gonadotropin adalah hormon glikoprotein. (Hermadi et al, 2017). hCG bukan dari spesies spesifik yang berarti bahwa meskipun urin yang dihasilkan dari wanita hamil terus memiliki efek terapeutik pada wanita atau pasien reseptif, bahkan hCG mungkin langsung terlibat dalam proses IVF (Invitro (pembuahan) pada manusia. Folikel komparatif mulai terjadi secara bersamaan tetapi banyak yang menjadi atresia selama fase luteal dari siklus pertumbuhan folikel di mana salah satunya menjadi folikel yang dominan. Perubahan biokimia dalam perkembangan folikel subordinat ke folikel dominan ketika dianalisis untuk perubahan kimia terjadi berbeda dengan prinsipnya adalah FSH, LH dan reseptor (Daya S, et al 1995; Roche, 1996). Pemanfaatan hCG untuk tujuan folikulogenesis pada sapi belum mampu menjelaskan mekanisme baik *invivo* perkembangan folikel di ovarium maupun *invitro* dalam proses pematangan ternak oosit. Apakah mekanisme mengikuti aturan FSH - LH endogen atau faktor lainnya. Diperlukan penelitian yang dapat membantu memantau instrumen ultra sono grafi

(ultrasound) untuk mengetahui gelombang pertumbuhan folikel (gelombang Follicular) atau pemantauan pematangan oosit di invitro. Gangguan hormonal hormonal yang menyebabkan penurunan kesuburan ternak dan pembiakan ternak dapat diperburuk oleh banyak faktor. persiapan enzim FSH - LH atau FSH Seperti - LH FSHp (Porcine FSH), Serum Gonadotropin Hamil Hamil (PMSG) dan Human Chorionic Gondotropin (hCG) (Allacivar et al., 1992; Roche, 1996).

Human chorionic gonadotropin (hCG) memiliki efek luteinizing hormone (LH) yang ampuh pada sapi yang memperpanjang masa hidup korpus luteum (CL) dan meningkatkan sintesis progesteron, menginduksi ovulasi sepanjang siklus estrus, meningkatkan pembentukan corpora lutea ketika diterapkan pada fase luteal awal, dan memodifikasi dinamika gelombang folikel meningkatkan frekuensi siklus folikel dominan tiga gelombang. Karena hCG bekerja pada sel ovarium secara independen dari kelenjar pituitari dan efeknya lebih tahan lama daripada yang dihasilkan oleh pelepasan LH endogen, penggunaan hCG daripada hormon gonadotropin-releasing (GnRH) dapat ditargetkan pada populasi sapi subfertil. Ulasan ini menjelaskan penggunaan klinis hCG untuk meningkatkan kinerja reproduksi sapi perah. Selain itu, kami menjelaskan perkembangan terbaru dalam penggunaan terapeutik hCG dan studi menangani manfaat termasuk hCG dalam protokol sinkronisasi estrus dan ovulasi. Tinjauan kami berakhir dengan diskusi kritis tentang bagaimana temuan sebelumnya yang terkait dengan tanggapan ovarium terhadap pengobatan hCG dapat ditafsirkan dalam terang kemajuan terbaru dalam aplikasi klinis hCG. (De Rensis et al, 2010). Tes kehamilan, tes darah kuantitatif dan tes urin yang paling sensitif pada manusia biasanya mendeteksi hCG antara 6 dan 12 hari setelah ovulasi. (Lenhard et al, 2012). Namun, harus diperhitungkan, bagaimanapun, bahwa kadar hCG total dapat bervariasi dalam rentang yang sangat luas dalam 4 minggu pertama kehamilan, yang menghasilkan hasil yang salah selama periode ini. (Schuler, 2017) peningkatan 35% selama 48 jam diusulkan sebagai peningkatan minimal yang konsisten dengan kehamilan intrauterus yang tepat. (Kirk et al, 2013). Studi tentang folliculogenesis seluler dimulai dengan hormon GnRH, pencegahan gangguan keseimbangan hormon FSH-LH yang rendah pertama dikoreksi penyebabnya, ransum pakan ditingkatkan dengan kualitas pakan yang baik dan seimbang, lingkungan yang lebih baik, kandang yang lebih bersih, udara gerakan yang baik, lebih longgar, sering dikeluarkan dari kandang untuk bergerak lebih banyak. Jika situasinya lebih baik diikuti dengan injeksi persiapan FSH - LH atau sejenisnya (FSH - LH) (Loutradis. 2004).

The Human Chorionic Gonadotropin (hCG) bukan dari spesies tertentu yang berarti bahwa bahkan jika diproduksi dari urin wanita hamil itu masih memberikan efek terapeutik pada

wanita penerima atau pasien, bahkan hCG dapat langsung terlibat dalam proses IVF (pembuahan invitro) pada manusia proses implantasi setelah transfer embrio tergantung pada kualitas embrio dan penerimaan endometrium. Diperkirakan bahwa lima puluh hingga tujuh puluh lima persen kehamilan hilang karena kegagalan implantasi. Ada bukti bahwa ada sekresi awal human chorionic gonadotrophin sebelum implantasi embrio, dan sekresi ini telah dikaitkan dengan fungsi penting dalam angiogenesis dan respon inflamasi yang mendorong proses implantasi. Tujuan kami adalah untuk menentukan efek dari suntikan human chorionic gonadotropin (hCG) intrauterine sebelum transfer embrio dalam siklus fertilisasi in vitro (Lund et al 2014; Schmidt et al.1996). Folikel komparatif mulai terjadi bersamaan tetapi banyak yang menjadi atresia selama fase luteal dari siklus pertumbuhan folikel folikel dimana salah satunya menjadi folikel yang dominan. Perubahan biokimia dalam perkembangan folikel subordinat menjadi folikel dominan ketika menganalisis perubahan kimia terjadi sangat kontras tergantung pada prinsip bahwa ada FSH, LH dan reseptor yang ada (Loutradis. 2004). Sebuah studi molekuler hCG, laju perkembangan folikulogenesis terjadi sangat independen dari efek hormon gonadotropin, folikel antral menjadi sangat responsif terhadap FSH-LH. Inhibin, Activin, Insulin Seperti Growth Factor I (IGF I) dan dinding protein (ikatan dengan protein) memiliki efek langsung dan tidak langsung pada sel granulosa dan sel-sel Techa dapat merangsang pertumbuhan folikel dan storeidogenesis. Inhibin memiliki efek autocrin dan paracrin yang mampu mensintesis androgen dalam sel teka untuk menstimulasi produksi FSH-LH dan steroid. Kemungkinan mekanisme umpan balik lokal (umpan balik loob) antara folikel individu termasuk perubahan inhibin, aktivin, dan pengikatan protein (protein pengikat) di bawah pengaruh gonadotropin sistemik dan hormon pertumbuhan. Pertumbuhan folikel dominan dan perubahan kadar estradiol dan perubahan relatif dalam perubahan kadar inhibin, aktivin, dan IGF dibandingkan dengan protein. Kecurigaan ini dilakukan oleh uji imonoblot kuantitatif pada IGFI inrafolicular, IGFBP.2 (IGF baining protein) selama seleksi 2-4 selama siklus estrus, dominan folikel hari ke 5 (Loutradis. 2004).



BAB 3.

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah:

Memproduksi hormon yang mempunyai konsentrasi tertinggi dijumpai pada usia kehamilan usia 1.5 atau 3.5 bulan saat positif tes kehamilan. Secara biologis telah diketahui identik dengan LH dan sering disebut LH like. *human* Chorionic Gonadotropin adalah hormon glycoprotein. Melakukan isolasi dan purifikasi protein *hCG* untuk mengetahui berat molekuler sesuai dengan hasil sds- page 12 %. Perhitungan kadar elisa bahwa kadar hCG ibu hamil usia kebuntingan 1,5 -3,5 bulan untuk penanganan ovulasi pada sapi Madura

3.1. Manfaat yang akan diperoleh dalam penelitian ini adalah:

Meningkatkan populasi sapi Madura merupakan plasma nutfah asli Indonesia melalui proses sinkronisasi birahi dan ovulasi guna kesinambungan produksi *hCG* (LH-like) *human* Chorionic Gonadotropin (*hCG*) merupakan hormon Gonadotropin yang diekstraksi dari urine wanita hamil yang bias diproduksi di Indonesia.





BAB 4.

METODE PENELITIAN

4.1. Kerangka Umum Pemecahan Masalah

Untuk memecahkan masalah dalam penelitian ini maka dibuat kerangka umum pemecahan masalah yang nantinya akan dijabarkan kedalam metode yang lebih khusus dan terperinci. Pada garis besarnya penelitian ini dilakukan secara bertahap yang terdiri atas tiga tahapan sebagai berikut :

4.2. Bahan dan Peralatan Penelitian

Pada penelitian ke – 1 memerlukan sampel urine hamil sehat yang diambil dari RS Dr. Soetomo Surabaya dan uji biologis Bahan dan reagen yang dipakai dalam penelitian kedua adalah isolat *hCG* yang diperoleh dari hasil ekstraksi urine hamil setelah melalui karakterisasi dan isolasi dengan teknik SDS-PAGE dan Elusi. membran nitroselulosa (Hybond-C pure, nitrocellulosa membrane, Amersham Life Science-England), kertas tissue, carbonate-bicarbonate, BSA (Bovine Serum Albumin), MgCl₂, NaOH, TBS (Tris Buffer Saline), Glutaraldehyde 0,25% TCM (Tissue Culture Medium) Sedangkan peralatan yang digunakan adalah Blotter (Bio-Dot Apparatus, BIORAD-USA), microplate, Elisa reader, vacum pump, vortex, gunting, pipet eppendorf, pipet Pasteur, plastik tip, cawan petri, gunting, kantong selofan, sentrifus, tabung reaksi, magnetic stirrer, incubator CO₂, refrigerated centrifuge, freezer, autoclaf, peralatan gelas, peralatan seksi, vacutainer.

Metode Penelitian Digambarkan dalam kerangka penelitian secara skematis dua tahap dari tahun 2017 adalah sebagai berikut :

Kerangka Penelitian Secara Skematis II



Koleksi Urine wanita hamil 1,5 - 3.5 bulan sehat



Ekstra charcoal untuk menghilangkan steroid hormon, sterifugasi dingin dan pemisahan *hCG* dengan sephadex coloums chromatography G- 100.



Karakteristik, identifikasi *hCG* dengan SDS - PAGE



Penentuan Kadar Protein *hCG* dengan elisa



Uji Potensi Biologis *hCG* terhadap birahi dan kebuntingan sapi madura

4.3. Uji Potensi Biologis *hCG* terhadap Ovulasi pada Sapi Madura

Sebanyak 30 ekor sapi Madura betina di desa Keramat, Sembilangan dan Ujung Piring Kecamatan Bangkalan yang telah dipastikan sehat dan fertil. Berumur 2-3 tahun yang mempunyai bodi score minimal 2 sebelumnya diterapi dengan pakan konsentrat susu A protein 15 – 17 % (Phok Phand) 3 kg/hari/ekor selama 1 bulan dikelompokkan secara acak menjadi 2 kelompok dengan masing – masing perlakuan mendapatkan 15 ulangan penyuntikan *hCG* (Seerum) dan *hCG* hasil penelitian (kelompok perlakuan) / kelompok kontrol.

Sinkronisasi birahi dilakukan dengan menyuntikkan $PGF2\alpha$.

Jika birahi dilakukan inseminasi buatan 48 jam setelah penyuntikan $PGF2\alpha$ (glandin) 25 mg. Penyuntikan ke dua dilakukan dengan interval 11 hari. 72 jam selanjutnya dilakukan penyuntikan *hCG*. Inseminasi dilakukan bila tanda – tanda birahi telah muncul.

Kelompok perlakuan adalah :

P₁ (kontrol) 15 ekor sapi : Disuntik 500 IU *hCG* chorulon intra muscular.

P₂ (perlakuan) 15 ekor sapi : Disuntik 500 iu *hCG* hasil penelitian intra muscular

BAB 5.

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. Hasil

Berat molekul urin human chorionic gonadotrophin (hCG) adalah 37 kda dan 22 kda dalam penelitian ini sebagai Cole (2010) dalam penelitiannya, perhitungan tingkat elisa bahwa kadar hCG ibu hamil dengan usia kehamilan 1,5 - 3,5 bulan kehamilan usia rata-rata 13.444 miu / ml. Teknologi Bioassay Laboratorium urine hamil. Hasil penelitian menunjukkan absorbans OD 0,133 dengan konsentrasi 13,444 mIU / m L. dengan 10 kali deposisi urin.

Table 5.1. Sinkronisasi Estrus dengan Pgf 2 α dan dikombinasikan dengan hCG

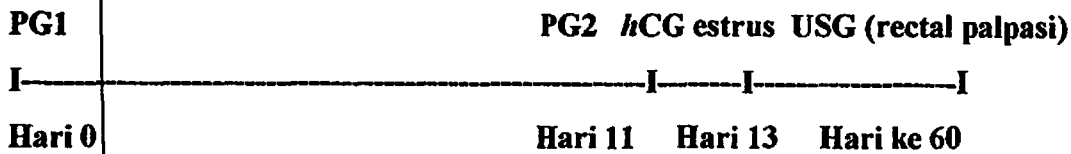
Estrus synchronization			
hCG Chorullon	Hasil	hCG Urine	Hasil
C.1	+	U.1	+
C.2	+	U.2	+
C.3	+	U.3	+
C.4	+	U.4	+
C.5	+	U.5	+
C.6	+	U.6	+
C.7	+	U.7	+
C.8	+	U.8	+
C.9	+	U.9	+
C.10	+	U.10	+
C.11	+	U.11	+
C.12	+	U.12	+
C.13	+	U.13	+
C.14	+	U.14	+
C.15	+	U.15	+
Total	+ 15		+15

($p > 0.05$).

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan uji T $p > 0,05$ tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam estrus, dimana injeksi 2 X Pgf 2 α interval 13-hari dan estrus rata-rata 16 dari semua persilangan sapi madura menunjukkan estrus nyata. Kejadian ini memungkinkan ovarium memberikan kesempatan untuk mengembangkan folikel sub ordinat menjadi folikel de Graaf (Imthurn et al, 1996) dalam stimulus Pgf 2 α kedua pada hari ke 11. Setelah itu pada hari ke 13 semuanya di kelompok Chorullon dan Kelompok urine hCG menunjukkan gejala 100% gejala estrus.

Selain itu, reseptor LH / hCG juga diekspresikan pada sel granulosa. Casarini dkk. telah melaporkan bahwa jalur sinyal hCG dan LH tidak sepenuhnya tumpang tindih, dan fakta ini mungkin memiliki implikasi untuk penggunaan hCG dalam teknik reproduksi bantuan (ART) (Guibourdenche et al, 2009). Hershko Klement dkk. menggambarkan bahwa gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonis, awalnya disain sebagai pengganti hCG, telah

4.4 Jadwal Penyuntikan *hCG* pada penelitian 2

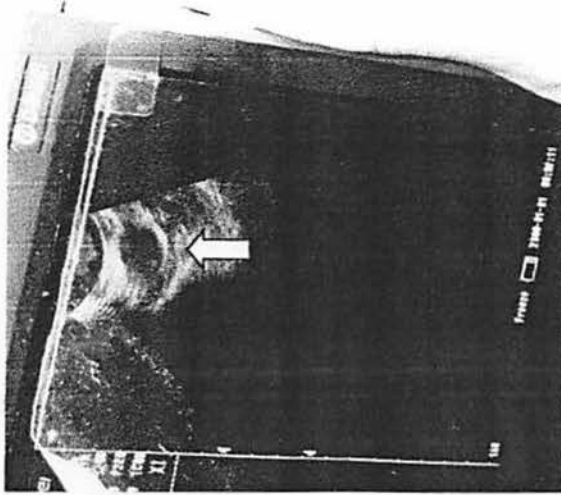


4.5. Rancangan dan Analisis Statistik

Data hasil ekstraksi, identifikasi, isolasi *hCG* dan karakteristik diolah secara deskriptif. Data yang diperoleh dari birahi dan kebuntingan yang telah dilakukan akibat penambahan *hCG* pada sapi diidentifikasi dengan adanya maturasi atau kematangan sel telur sapi dianalisis secara sidik ragam (Anova) bila terdapat perbedaan perlakuan dilakukan uji lebih lanjut dengan uji Tukey. Sedangkan data tingkat kematangan sel telur dianalisa dengan uji Khi-Kuadrat (Steel and Torrie, 1991)

Data yang diperoleh dari pertumbuhan folikel, birahi dan ovulasi serta kebuntingan pada sapi Madura juga dilakukan analisis yang sama.

menyebabkan era baru pemberian agonis GnRH diikuti oleh hCG yang memicu ovulasi (Cole, 2010)



Gambar 5.1. Diagnosa Follikel Dominan saat estrus

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan uji t $p > 0,05$ tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam tanda estrus, di mana injeksi 2 X Pgf 2 α interval 11 hari dan estrus rata-rata hari ke 13 dari semua sapi Madura menunjukkan estrus nyata. Acara ini memungkinkan ovarium memberikan kesempatan untuk berkembang (frike et al, 1993; Ginter et al. 1989) dalam stimulus Pgf 2 α kedua pada hari ke 13. Setelah berovulasi bahwa pada hari ke 16 semuanya di Chorullon dan hCG kelompok urin menunjukkan kehamilan positif 100% (10 ekor) di hCG Chorullon dan 90% (9 ekor) urin hCG. Terjadi pada sapi Madura setelah AI menggunakan semen beku 84% (Wurlina et al, 2014)

Table.5 .2. Diagnosa kebuntingan 60 hari dengan USG

Diagnosa kebuntingan 60 hari			
hCG Chorullon	Hasil	hCG Urine	Hasil
C.1	+	U.1	+
C.2	+	U.2	+
C.3	+	U.3	+
C.4	+	U.4	+
C.5	+	U.5	+
C.6	+	U.6	+
C.7	+	U.7	+
C.8	+	U.8	+
C.9	+	U.9	+
C.10	+	U.10	-
C.11	+	U.11	+
C.12	+	U.12	+
C.13	+	U.13	+
C.14	+	U.14	+
C.15	+	U.15	+
Total	+ 15		+14

($p > 0.05$)

hCG disekresikan oleh syncytiotrophoblast yang berasal dari sel-sel sitotrofoblas terfusi dan dibedakan (Choi et al 2014; Nwabuobi, et al.2017) untuk waktu yang lama, peran utama yang diketahui dari hCG adalah promosi sekresi progesteron oleh korpus luteum pada awal kehamilan (Hung yu et al, 2000), bertindak melalui reseptor hCG / LH (luteinizing hormone). Namun, baru-baru ini, banyak fungsi lain dari hCG, tidak hanya di plasenta tetapi juga di miometrium (Santos et al, .2001), rahim, dan janin, telah dijelaskan (Cole, LA2010; Guibourdenche et al, 2009).



Gambar 5.2. Diagnosa kebuntingan hari ke 60 tampak gambar USG

Dalam gambar USG Nampak kepala bulat lonjong dan tulang belakang yang hyperekogenik menunjukkan warna putih tulang dan gambaran hitam ditengah bersifat hypoechogenik adalah cairan amnion.

5.2. Luaran yang dicapai

Tabel 5.3. Target Capaian Tahun 2018

	Jenis Luaran	Indikator Capaian		
			TS	TS+1
1	Publikasi Ilmiah	<i>International</i>		X
		Nasional Terakreditasi		
2	Pemakalah dalam Temu Ilmiah	<i>International</i>		X
		Nasional		
3	<i>Invited speaker</i> dalam temu ilmiah	<i>International</i>		
4	<i>Visiting lecturer</i>	<i>International</i>		
5	HKI hak kekayaan intelektual	Paten	X	
6	Produk			X
7	Model			
8	Buku Ajar (ISBN)		X	
9	Tingkat Kesiapan Teknologi			

**BAB 6.****RENCANA DAN TAHAPAN BERIKUT**

Penelitian ini diprogram hanya 2 tahun rencana dan tahapan berikut telah berakhir tahun 2018 adalah mengaplikasikan masing masing tehnik sinkronisasi birahi kemasyarakatan dengan menggunakan ke dua metoda tersebut tingkat keberhasilan kejadian birahi dan kebuntingan antara teknologi gertak dan ovulasi untuk dengan menggunakan urine hCG maupun chorullon produk patent. urine hCG dapat dikembangkan di Negara kita dengan mengingat resourcesnya yang besar.



BAB 7.

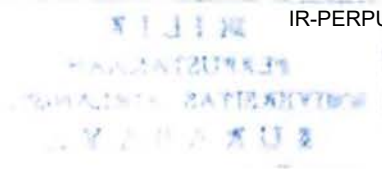
KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

untuk memanipulasi *invivo* diikuti dengan estrus dan kehamilan sapi Madura. Birahi atau estrus terjadi pada hari ke 60 setelah dilayani AI. 60 hari setelah AI antara kelompok kontrol dan kelompok penelitian menggunakan diagnosis dengan USG dan rectal palpasi untuk pemeriksaan kebuntingan. Hasilnya menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata $p > 0,05$ yang berbeda antara kelompok kontrol dan perlakuan dalam birahi dan kebuntingan.

7.2. Saran

Diperlukan hewan coba lebih banyak untuk mengetahui ketepatan fungsi terapi human chorionic gonadotropin (hCG) dari urin wanita hamil terhadap kebuntingan sapi Madura yang diaplikasikan secara meluas di Indonesia.



DAFTAR PUSTAKA

1. Taponen. J .2003. Ovarian function in dairy cattle after gonadotropin-releasing hormone treatments during perioestrus. Academic Dissertation. the Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki
2. Álvaro Santibañez,¹ Jorge García,^{#1} Olga Pashkova,¹ Omar Colín,¹ Guillermo Castellanos,¹ Ana P Sánchez,¹ and Julio F De la Jara¹ 2014;Effect of intrauterine injection of human chorionic gonadotropin before embryo transfer on clinical pregnancy rates from *in vitro* fertilisation cycles: a prospective study. Reprod Biol Endocrinol. 2014; 12: 9. PMID: PMC3911962
3. Agrawal, R. Holmes, J and Jacobs, H.S. (2000). *Follicle-stimulating hormon or human menopausal gonadotropin for ovarium stimulation in in vitro fertilization cycles : a metaanalysis. Fertil. Steril,* 73, 338-343. [ISI] [Medline]
4. Hung Yu E. Estella Yee LL. William SBY and Pak Chung Ho 2000. *hCG is as good as recombinant human FSH in term of oocyte and embryo quality : a prospective randomized trial Dept. of obstetrics and gynaecology, quen mary hospital, the University of Hongkong.*
5. Loutradis.D. 2004. Folliculogenesis: Physiology and pathophysiology .Professor of Obstetrics and Gynaecology .Head of 1st Department of Obstetrics and Gynaecology University of Athens Medical School .Alexandra Hospital
6. Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction In Farm Animal. Lea and Febiger.* Philadelphina. 98-99. 161 – 162. 392 – 404.
7. Kanitz .W.2003.Follicular dynamic and ovulation in cattle – a review Research Institute for the Biology of Farm Animals, Department of Reproductive Biology, Dummerstorf, Germany Arch. Tierz., Dummerstorf 46 (2003) 2, 187-198
8. Cole LA (2009). "New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin". *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 8. doi:10.1186/1477-7827-7-8. PMC 2649930. PMID 19171054.
9. Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, L. Pool, and M.W. Overton.2001.Effect of human Chorionic gonatropin on Luteal Function and Reproductive Performance of high Producing Lactating Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 79:2881-2894. *and induction of ovulation in the mated and non mated one-humped camel) (Camelus dromedarius).* J. Reprod. Fert. 106:185-192
10. Steel, RGD dan JH Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedure Statistika Jakarta.* Penerbit PT. Gramedia Pustaka Jakarta.
11. E. M. Kaiin E M S. Said S & Tappa B. 2007. Kelahiran Anak Sapi Hasil Fertilisasi secara *in Vitro* dengan Sperma Hasil Pemisahan. Bidang Biologi Sel dan Jaringan, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Jl. Raya Bogor km.46 Cibinong 16911, e-mail: ekayantimk@yahoo.com (Diterima 06-07-2007; disetujui 02-10-2007)
12. Direktorat Pembibitan. 2000. Petunjuk teknis pengawasan mutu bibit ternak. Direktorat Pembibitan. Direktorat Jenderal Peternakan. Departemen Pertanian, Jakarta
13. Garner, D.L. 2001. Sex-sorting mammalian sperm: Concept to application in animals. *Journal of Andrology* 22 : 519-526
14. Hoshi, H. 2003. *In vitro* production of bovine embryos and their application for embryo transfer. *Theriogenology* 59 : 675 -685.
15. Kaiin, E.M., B. Tappa, S. Said, F. Afī ati, M. Gunawan & N.D. Yanthi. 2003. Aplikasi bioteknologi untuk produksi bibit yang sudah diketahui jenis kelaminnya. Laporan Teknik Proyek Penelitian Bioteknologi. Puslit Bioteknologi LIPI. Hlm. 96-116.
16. Kaiin, E.M., M. Gunawan, S.Said & B.Tappa. 2004. Fertilisasi dan perkembangan oosit sapi hasil IVF dengan sperma hasil pemisahan. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Puslitbang Peternakan, Bogor. Hlm. 21-25.

17. Margawati, E.T., E.M. Kaiin, K.Eriani, N.D. Yanthi & Indriawati. 2000. Pengaruh media IVM dan IVC pada perkembangan embrio sapi secara in vitro. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 5 : 229-233.
18. Isnaini. N., Suyadi., I.K. Utama Dan P. Situmorang. 2003. Upaya memperpendek selang beranak sapi perah anestrus post partum melalui pemberian ekstrak hipofise sapi. Laporan PAATP Departemen Pertanian 2003. JASWANDI. 2002. Penggunaan hepes dan butiran efervesen dalam sistim incubasi pada produksi embrio domba secara in vitro. Thesis Doktor pada Program pascasarjana Institut Pertanian Bogor
19. Ekayanti M. Kaiin, M. Gunawan., Syahrudin Said dan B. Tappa. 2004. Fertilisasi dan perkembangan oosit sapi hasil IVF dengan sperma hasil pemisahan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. hlm. 31.
20. Said, S., E.M. Kaiin & B. Tappa. 2005. Produksi anak sapi potong dan perah berjenis kelamin sesuai harapan. Prosiding Seminar Nasional Industri Peternakan Modern. Puslit Bioteknologi. Mataram. Hlm. 209-216
21. Wahjuningsih, S., D. Sasmito, E. Triwulaningsih dan P. Situmorang. 2003. Produksi embrio sapi potong secara murah dengan teknologi IVF dan aplikasinya dalam transfer embrio untuk penyediaan bakalan. Laporan PAATP Departemen Pertanian 2003.
22. Triwulanningsih E., M.R. Toelihere, J.J. Rutledge, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan K. Diwyanto. 2003. Seleksi dan kapasitas spermatozoa dengan metode Percoll gradient untuk fertilisasi oosit dan produksi embrio in vitro pada sapi. Manuscript Berita Biologi LIPI.
23. Triwulanningsih, E. 2002b. Produksi embrio sapi in vitro dengan modifikasi waktu dan suhu pada medium maturasi yang diperkaya dengan FSH dan Estradiol 17. Disertasi. Program Pascasarjana IPB.
24. Triwulanningsih E., M.R Toelihere, J.J.Rutledge, T.L. Yusuf, B. Purwantara dan K. Diwyanto. 2001b. Produksi embrio in vitro dengan modifikasi waktu dan hormon gonadotropin selama pematangan oosit. *JITV* 6(3): 179-188.
25. Trinil. S. 2004. Keberhasilan IB menggunakan semen sexing setelah dibekukan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. hlm. 29.
26. Ekayanti M. Kaiin, M. Gunawan., Syahrudin Said dan B. Tappa. 2004. Fertilisasi dan perkembangan oosit sapi hasil IVF dengan sperma hasil pemisahan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. hlm. 31.
27. Cole LA. 2010. In: Structures of free α -subunit and free β -subunit. In: Human chorionic gonadotropin (hCG) Cole LA, editor. Elsevier, Oxford; in press
28. Cole LA. 2010. In: Human chorionic gonadotropin (hCG) Cole LA, editor. Elsevier, Oxford; Background hCG. in press
Butler SA, Khanlian SA, Cole LA (2001). "Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices". *Clinical Chemistry*. 47 (12): 2131-2136. PMID 11719477.23
29. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR (1999). "Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy". *New England Journal of Medicine*. 340 (23): 1796-1799. doi:10.1056/NEJM199906103402304. PMID 10362823. 24
30. Jump up^ Butler SA, Khanlian SA, Cole LA (2001). "Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices". *Clinical Chemistry*. 47 (12): 2131-2136. PMID 11719477. 25
31. Kirk E, Bottomley C, Bourne T (2013). "Diagnosing ectopic pregnancy and current concepts in the management of pregnancy of unknown location". *Human Reproduction Update*. 20 (2): 250-61. doi:10.1093/humupd/dmt047. PMID 24101604.23

32. Shahar K a,* and , Peter H.b. 2010. LH (as HCG) and FSH surges for final oocyte maturation: sometimes it takes two to tango? a Rambam Medical Center, IVF Unit, Aliyah Street, Haifa, Israel; b The Fertility Clinic, Skive Regional Hospital, Resenjevej 25, 7800 Skive, Denmark * Corresponding author. E-mail address: skol@rambam.health.gov.il (S Kol) Reproductive BioMedicine Online (2010) 21, 590–592
33. Beltran M.P. and Vasconcelos J.L.M., 2008 Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth day post artificial insemination during summer [Taxa de concepção de vacas Holandesas tratadas com GnRH ou hCG no quinto dia após a inseminação artificial no verão] M.P. Beltran and J.L.M. Vasconcelos* Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP Caixa Postal 560 18618-000 – Botucatu, S Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.60, n.3, p.580-586

RESEARCH NOTE
**HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN FROM URINE OF PREGNANT WOMEN
 FOR *IN VITRO* MATURATION OF MADURA CATTLE OOCYTES**

Herry Agoes Hermadi¹, Raden Tatang Santanu Adikara²,
 Mas'ud Hariadi¹ and Erma Safitri¹

¹Department of Veterinary Reproduction; ²Department of Veterinary Anatomy, Faculty of
 Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, East Java, Indonesia

ABSTRACT

The purpose of this study was to test whether human chorionic gonadotropin (hCG) from urine of pregnant women can be used for *in vitro* maturation of Madura cattle oocytes. Urine samples were collected from 50 healthy pregnant women gestating for 1.5 to 3.5 months. Molecular weights of hCG were 37 kDa and 22 kDa. HCG levels measured via ELISA had 10 times the deposition, with an average of 27,333 m IU/l at 1.5 months and 105,667 m IU/l at 3.5 months, respectively. T-test showed no significant difference in oocyte maturation rate between the control group with patent hCG and hCG from pregnant women at $P > 0.05$. This study illustrates that hCG from pregnant women at 1.5 to 3.5 months can aid in *in vitro* maturation of Madura cattle oocytes.

Key words: hCG, *in vitro* maturation, Madura beef cattle, oocytes, urine of pregnant women

Philipp. J. Vet. Med., 55(S1): 127-132, 2018

INTRODUCTION

Pregnancy tests, quantitative blood tests and the most sensitive urine tests in humans usually detect hCG between 6 and 12 days after ovulation (Wilcox *et al.*, 1999). However, it should be considered that the total hCG level varies a lot within the first four weeks of pregnancy, which makes tests susceptible to error (Butler *et al.*, 2001). A 35% increase in hCG level over 48 h is the proposed minimum increment consistent with an appropriate intrauterine pregnancy test (Kirk *et al.*, 2013).

Human chorionic gonadotropin (hCG) is not species-specific and not limited to human hormones, i.e., urine from pregnant women also holds therapeutic effects for receptive animals. In fact, Santibañez *et al.* (2014) suggested that intrauterine injection effect of hCG may be directly involved in *in vitro*

fertilization (IVF) process in humans before embryo transfer. HCG is a hormone the placenta produces after implantation (Gregory and Finlay, 1999; Cole, 2009) and this can be detected in several pregnancy tests.

Human chorionic gonadotropin is a glycoprotein composed of 237 amino acids. The molecular mass of intact α (alpha) and β (beta) hCG are 36.7, 14.5 and 22.2 kDa, respectively (Gam and Latiff, 2005). It is heterodimeric with alpha subunits identical to luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH), thyroid stimulating hormone (TSH) and beta subunit unique to hCG. The α subunit contains 92 amino acids, while β subunit contains 145 amino acids, encoded by six high homologous genes composed of tandem and pairs on chromosome 19q13.3-CGB (Steel and Torrie, 1969; Canfield *et al.*, 1987; Agrawal *et al.*, 2009).

HCG treatment in terms of embryonic

***FOR CORRESPONDENCE:**

(email: erma@fkh.uair.ac.id)

development and oocyte collection, has been shown to be a more promising treatment to female infertility compared with recombinant human FSH. In the study by Ng *et al* (2001), 85% of the oocytes reached metaphase at IVF treatment 2, consequently, it was tested whether there would be an additional benefit to administering FSH on top of hCG in priming *in vitro* maturation (IVM). Third to fifth cycles were treated with 75 IU rFSH for 6 days, while 33 cycles were given 10,000 IU hCG 36 h before oocyte retrieval and fertilization via IVF and ICSI. The resulting embryo was replaced on day 2 or 3. A total of 1528 immature oocytes were found. The overall maturation and fertilization rates were 74.2 and 72.8%, respectively. After embryo transfer, 23 pregnancies (33.8%).

The use of hCG in animals, specifically on follicular growth and development *in vivo* or *in vitro*, has been investigated. Due to its similarity to LH, hCG may also be used clinically to induce ovulation in the ovaries. For this reason, some organizations collect urine from pregnant women to extract hCG. Using hCG, comparative follicles begin to occur simultaneously, but many cases become atretic. During the luteal phase of the follicular growth cycle, one of the follicles becomes dominant. Notably, biochemical changes in the development of subordinate follicles to dominant follicles, when analyzed for chemical changes, are different from those in FSH, LH and receptor (Zematis *et al*, 2015).

In the study of molecular hCG, folliculogenesis is highly dependent on the influence of gonadotropin hormone: anterior folliculi is responsible for FSH-LH, Inhibin, activin, insulin-like growth factor I (IGF I) and protein walls (bonds with proteins) directly affect granulosa cells and theca cells that stimulate follicular growth and steroidogenesis (Gardner *et al*, 2004). Injection of 1,000 IU hCG exogenously within 24 h of sow postpartum farrowing induced ovulation in 41%-75% of the population at 7-10 days after injection (Armstrong *et al*, 1999; Kirkwood *et al*, 1999). Postpartum sow ovaries have potentially estrogenic medium-sized follicles (4 to 5 mm), and some sows have exhibited estrous behavior (De Rensis *et al*, 1993; Sesti and Britt, 1993; Sesti and Britt, 1994; Langendijk *et al*, 2007). But the postpartum estrous behavior observed at 2-4 days postpartum farrowing is anovulatory,

which is likely due to the inability to generate a pre-ovulatory LH surge (Sesti and Britt, 1993).

Medical experts up to this day have been relying on LH activity-dependent alone in inducing final oocyte maturation, which overlooks the redundancy of the natural waves of mid-cycle FSH surge. Thus, this needs to be resolved. Evidence from clinical research suggests that in an undetermined subset of patients, the LH and FSH waves are doubly advantageous compared to the LH spike in the form of a human chorionic gonadotropin (hCG) trigger. Double waves can be triggered by gonadotropin-releasing hormone agonist boluses, causing endogenous LH and FSH flare-ups and resembling natural waves of concomitant hCG to ensure adequate exposure to LH activity (Kol and Humaidan, 2010). Further research is needed to characterize hCG from urine of pregnant women which can then be potentially used for *in vitro* maturation of Madura cattle oocytes.

The purpose of this research was to extract hCG from urine of pregnant women gestating at 1.5 to 4.5 months, characterize and determine the molecular weight of the hCG protein and perform a biological potential test to determine its effect on the maturation level of Madura cattle oocytes.

MATERIALS AND METHODS

HCG isolation, identification and purification

Urine samples were taken from fifty healthy pregnant women gestating for 1.5 to 3.5 months. Samples were obtained by a midwife from a clinic in Surabaya, East Java, Indonesia. In the morning, 100 ml of urine was collected from each pregnant woman and these were centrifuged at 3,000 rpm for 15 min at 4°C to separate the metabolite cells. Thirty mg/100 ml activated charcoal powder was added, and the mixture was centrifuged at 3,000 rpm at 4°C for 20 min (Green and Leake, 1987) until mixture was homogeneous. Charcoal removes toxic substances, dyes and steroid hormones; it also absorbs and inactivates organic chemicals. Supernatant was filtered through an Erlenmeyer tube using a filter paper, producing a 50 ml supernatant. This was poured into Sephadex G-100 filtration device and poured into a chamber with running buffer

HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN FROM URINE OF PREGNANT WOMEN 129

to carry out electrophoresis (Sakakibara *et al.*, 1987). Furthermore, hCG extract obtained from urine extract was processed through SDS-PAGE and ELISA (Gam and Latiff, 2005). A running gel was inserted through the well roughly less than the upper limit. Around 1 ml of butanol was added, and the gel was left for 25 min until it has solidified. Butanol was discarded, and the gel was cleansed with PBS and dried with Whatman paper Comb was removed and remnants of the gel with buffer were cleaned.

hCG concentration

hCG concentration was determined through ELISA based on the sandwich principle (Mahaputra and Mustafa, 2003). The microtiter wells were coated with a monoclonal antibody directed towards a unique antigenic site of the hCG molecule. An aliquot of sample containing endogenous hCG was incubated in the coated well. After washing, a second incubation followed with an enzyme-conjugate, an anti-hCG antibody conjugated with horseradish peroxidase. After incubation, the unbound conjugate was washed off. The amount of bound peroxidase was proportional to the concentration of hCG in the sample. Having added the substrate solution, color intensity developed was proportional to the concentration of hCG in the sample (Karimsan *et al.*, 2011).

In vitro maturation of cattle oocytes

Extracted hCG was used to investigate its potential in inducing *in vitro* maturation in Madura beef cattle oocytes. There were two setups: the control group was given TCM 199 + 0.5 IU pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) + 0.5 IU hCG (Chorulon, Intervet, Holland), while the experimental group received the same treatment but with 0.5 IU hCG from gestating women.

Ovaries from slaughterhouses were washed 2 to 3 times with physiological saline solution, placed in a glass above water bath at 37°C, taken one by one with sterile tweezers and dried with sterile tissue paper. Using a 10 ml sterile disposable syringe, samples were washed with 1.5 ml of oocyte washing medium. Suction was done by stabbing the adjacent part of the ovary parenchyma in the next follicle bubble and directing the needle tip to the follicle (approximately 5 mm in diameter) near the point of needling (without

removing the needle first). After each follicle fluid was siphoned off (about 3-4 ml), this was carefully transferred into test tubes to avoid mechanical damage to the oocyte and placed in a water bath. After the oocyte had dropped to the bottom of the tube, precipitate was evaluated by placing it on a large petri dish and examining under a stereo microscope (Mahaputra and Mustafa, 2003).

Once an oocyte was found, this was collected with a modified pastry pipette (of the same diameter as the oocyte), placed on a smaller petri dish with washing medium and examined again under a microscope to determine its quality (Mahaputra and Mustafa, 2003). Afterwards, all oocytes were washed 3-4 times with washing medium and was finally washed with 2.5-3 ml of tissue culture medium 199 (TCM 199). Oocytes with no cumulus debris were transferred into the maturation medium, dropping 100 µl each in a petri dish. A total of 10 oocytes were used in this study, prepared 2 h earlier in incubator with 5% CO₂. Four 100 µl drops of maturation medium were placed in each 35 mm sterile petri dish. Each drop of medium can culture as much as 5 oocytes. Media were then covered with mineral oil and placed in an incubator containing 5% CO₂, set at 39°C and humidity of 95-100% for 24 h. One percent aceto-orcein stain was added to determine maturity level of egg cell (Chen *et al.*, 2013).

To collect data on egg maturity, harvested eggs were placed and covered on the glass object, then pinned in a fixative solution for 48 h. These were stained with 1% aceto-orcein for 2-3 min, washed with solution and viewed under an inverted microscope. Assessment of egg maturity level was based on germinal vesicle (GV), germinal vesicle breakdown (GVBD), metaphase I and metaphase II criteria (de Oliveira *et al.*, 2016). Mature oocytes were identified by locating those which can resume meiosis (extruding a first polar body) and can undergo fertilization (Fig 1).

Data analysis

Data on identification, isolation, purification and measurement of hCG concentration from the urine of pregnant women at 1.5 to 3.5 months were processed descriptively. Student's t-test (Steel and Torrie 1960) was used to determine the difference in oocyte maturation rate between patent hCG (Chorulon, Intervet, Holland) and

hCG from urine of pregnant women.

RESULTS AND DISCUSSION

HCG isolation, identification and purification

SDS-PAGE results showed that hCG from the urine of pregnant women had molecular sizes of 37 kDa and 22 kDa (Fig. 2). Gan and Latiff (2005) detected other bands from non-reduced fractionally desialylated-hCG sample: 43.5, 38.5, 29.45 and 29.85 kDa which, after being reduced, resulted to an uncompounded pledge at 35.2 kDa.

Calculation of hCG concentration

The human pregnant urine ammonium sulphate precipitated concentrations of hCG at age 1.5 and 3.5 month were 27,333 m IU/l and 105,667 m IU/l, respectively. The measurement of hCG provides a specific test for pregnancy. Lyophilized hCG, although stable at room temperature for 8 weeks, should be stored at 2-8°C (Suthar and Shah, 2009). It is advised to reconstitute it in sterile 18 M-cm H₂O at a concentration of 1,000 IU/ml, which can be further diluted to other aqueous solutions.

In vitro maturation of cattle oocytes

Oocytes that matured *in vitro* are capable of resuming meiosis, extruding a first polar body and can undergo fertilization (Fig. 1). In this research, the rate of maturation of cow oocytes in TCM 199 + 0.5 IU PMSG + 0.5 IU hCG (Chorulon Intervet, Holland) was 91.15-8.57, while maturation rate in TCM 199 + 0.5 IU PMSG + 0.5 IU hCG from pregnant

women was 90.51±12.86. T-test showed no significant difference between groups ($P>0.05$) (Table), suggesting that hCG from pregnant woman can be used for maturation process of cow oocytes.

The dairy cattle industry has perfected the application of the first reproductive biotechnology, i.e. artificial insemination (AI), a success story which made use of embryo transfer technology (ETT). In addition, emerging researchers have taken interest in the field of transvaginal oocyte recovery (TVOR) and *in vitro* embryo production (IVEP). IVF has paved the starting point for the production of generative material for many sophisticated reproduction techniques, like sperm microinjection into mature oocytes. In several countries, commercial IVF facilities are already being serviced by cattle ET operators. Also various research groups have reported on the modification of TVOR (Suthar and Shah, 2009).

This study tested the use of hCG from urine of pregnant women in inducing maturation of cattle oocytes. Recorded molecular weight of hCG via SDS-PAGE was 37 and 22 kDa. HCG concentrations via ELISA assay had 10 times the deposition, with average level of 27,333 m IU/l at 1.5 months and 105,667 m IU/l at 3.5 months. T-test revealed no significant difference ($P>0.05$) between groups. This study illustrates that hCG extracted from urine of pregnant women at 1.5 to 3.5 months can be used to induce *in vitro* maturation in Madura cattle oocytes.

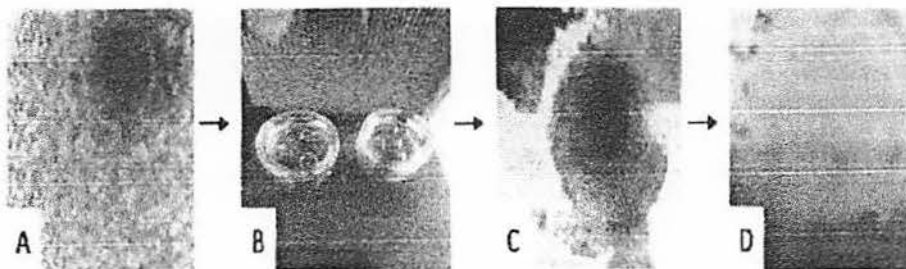


Fig. 1. *In vitro* maturation culture of Madura beef cattle oocytes at different stages. A: addition of hCG to maturation culture; B: immature oocyte; C: mature oocyte; D: egg cells at metaphase stage.

HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN FROM URINE OF PREGNANT WOMEN 131

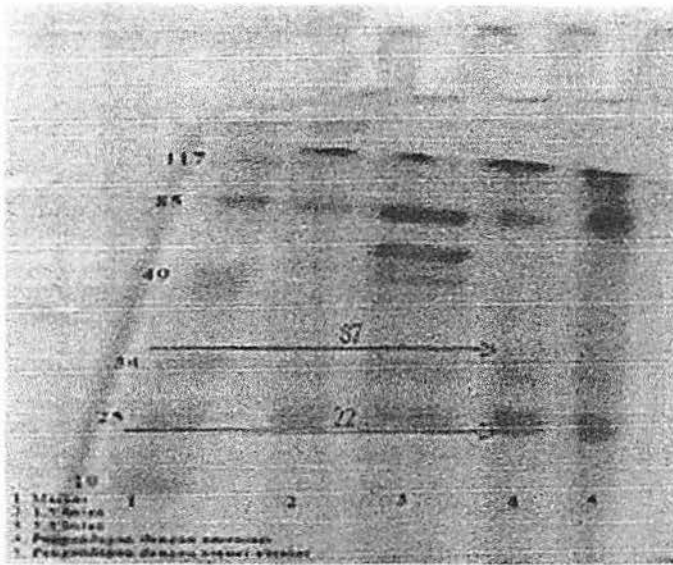


Fig. 2. SDS-PAGE shows molecular weight of hCG from urine of pregnant woman at 37 and 22 kDa.

Table. Rate of maturation in cattle oocytes induced by different hCG sources.

hCG used	n	Mean ±SD
TCM 199 + 0.05 PMSG + 0.5 IU hCG (Chorulon, Intervet, Holland)	50	91.15 ± 8.57*
TCM 199 - 0.5 IU PMSG - 0.5 IU hCG from pregnant women	50	90.54 ± 12.36*

ACKNOWLEDGMENT

This research was partially supported by funding from the Directorate General of Higher Education (DIKTI), Ministry of National Education, Indonesia.

REFERENCES

Agarwal R, Holmes J and Jacobs HS. 2000. Follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin for ovarian stimulation in *in vitro* fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertility and Sterility* 73: 338-48.

Armstrong TA, Flowers WL and Epp JH. 1999. Control of the weaning-to-estrus interval in sows using gonadotrophins and prostaglandins

during lactation. *Journal of Animal Science* 77(2): 2533-2539.

Butler SA, Khanlou SA and Cole LA. 2001. Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices. *Clinical Chemistry* 47(12): 2131-2136.

Caulfield RF, O'Connor JF, Birken S, Kridhevsky A and Wilcox AJ. 1987. Development of an assay for a biomarker of pregnancy and early fetal loss. *Environmental Health Perspectives* 74: 57-66.

Chen X, Chen SL, He YN and Ye DS. 2013. Minimum dose of hCG to trigger final oocyte maturation and prevent OHSS in a long GnRH protocol. *Journal Hunan University Science Technology Medical Sciences* 38(1): 131-136.

Cole LA. 2009. New discoveries on the

- biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reproductive Biology and Endocrinology* 1(1): 1-37.
- de Oliveira SA, Calviera VF and Cortés JC. 2016. Final oocyte maturation in assisted reproduction with human chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH trigger). *JBR: Assisted Reproduction* 20(4): 245-259.
- De Koning F, Hunter MJ and Foxcroft GR. 1991. Suckling induces inhibition of luteinizing hormone secretion and follicular development in the early postpartum sow. *Biology of Reproduction* 45(5): 964-969.
- Gam LH and Lauff A. 2005. SDS-PAGE electrophoretic property of human chorionic gonadotropin (hCG) and its β -subunit. *International Journal of Biological Sciences* 1(3): 103-109.
- Gardner DK, Weissman A, Hewitt CM and Shoham Z. 2001. *Textbook of Assisted Reproductive Techniques* (4th ed.) Florida: CRC Press.
- Green B and Leake KE. 1987. *Strimed Hormones: A Practical Approach* (2nd ed.) Oxford: IRL Press.
- Gregory JD and Finlay JL. 1990. Alpha-fetoprotein and beta-human chorionic gonadotropin: their clinical significance as tumour markers. *Drugs* 57(3): 463-467.
- Kariman N, Hidayati M, Taheri Z, Farzhan M, Salehpour S and Alavi Majid SH. 2011. Comparison of ELISA and three rapid HCG dipsticks in diagnosis of premature rupture of membranes. *Iran Red Crescent Medicine Journal* 13(5): 415-419.
- Kirk E, Bottomley C and Bourne T. 2003. Diagnosing ectopic pregnancy and correct concepts in the management of pregnancy of unknown location. *Human Reproduction Update* 20(2): 250-261.
- Kirkwood RN, Henry SC, Tekach LM and Foxcroft GR. 1999. Human chorionic gonadotropin at parturition fails to consistently induce ovulation in sows. *Swine Health Production* 7: 50-71.
- Kol S and Humaidan P. 2010. LH (as HCG) and FSH surges for final oocyte maturation: sometimes it takes two. *Reproductive Biomedicine Online* 21(5): 690-692.
- Langendijk P, Dieleman SJ, van den Ham CM, Hazeliger W, Soede NB and Kemp B. 2007. LH pulsatile-release patterns, follicular growth and function during repetitive periods of suckling and non-suckling in sows. *Theriogenology* 67: 1076-1086.
- Mahaputra I and Mustafa I. 2003. Performance of serum cattle and horse estrus supplement of oocyte maturation media on *in vitro* fertilization of Madura cattle. *Jurnal Penelitian Ilmu Sapi* 4(3): 114-117.
- Ng KH, Lau FY, Young WS and Ho PC. 2001. hMG is as good as recombinant human FSH in terms of oocyte and embryo quality: a prospective randomized trial. *Human Reproduction* 16(2): 319-325.
- Sakakibara R, Tomiwa N, Sakai A and Ichiguro M. 1987. Electrophoretic separation of proteins on agarose gel—application for direct immunization with a gel piece containing an antigen. *Analytical Biochemistry* 162(1): 150-155.
- Santibañez A, García J, Pashkova O, Colla O, Castellanos G, Sánchez AP and Jara JFD. 2014. Effect of intravaginal injection of human chorionic gonadotropin before embryo transfer on clinical pregnancy rates from *in vitro* fertilisation cycles: a prospective study. *Reproductive Biology and Endocrinology* 12(1): 9.
- Sestly LA and Eric JH. 1993. Influence of stage of lactation, exogenous luteinizing hormone-releasing hormone, and suckling on estrus positive feedback of luteinizing hormone, and ovulation in sows treated with estrogen. *Journal of Animal Science* 77(4): 989-998.
- Seati LA and Bratt JH. 1991. Secretion of gonadotropins and estimated releasable pools of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropins during establishment of suckling-induced inhibition of gonadotropin secretion in the sow. *Biology of Reproduction* 50(5): 1078-1086.
- Steel RGD and Torrie JH. 1990. *Principles and Procedures of Statistics*. New York: McGraw Hill.
- Sulnar VS and Shah SG. 2009. Bovine *in vitro* embryo production: an overview. *Veterinary World* 2(12): 475-479.
- Wang W, Zhang XH, Wang WH, Liu YL, Zhao LH, Xue SL and Yang KH. 2011. The time interval between hCG priming and oocyte retrieval in ART program: a meta-analysis. *Journal of Assisted Reproduction Genetics* 28(10): 991-999.
- Wilcox AJ, Baird DD and Weinberg CR. 1999. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *New England Journal of Medicine* 340(23): 1796-1799.
- Zemelis J, Emmy G, Bouwman P, Langendijk WHEJ, van Weeren and Kirkwood RN. 2015. Postpartum injection of human chorionic gonadotropin effects on sow ovarian follicles. *Journal of Swine Health and Production* 23(3): 137-139.

Lampiran 1b.2. International Journal for phillipine Draft

human Chorionic Gonadotropin (hCG) from Urine Pregnant Women to Manipulate In vivo Ovulation and pregnancy in Madura Cows

Hermadi H.A; Adikara T S and Sunaryo H.W.

Herry Agoes Hermadi¹, Raden Tatang Santanu Adikara², Sunaryo Hadi Warsito³¹Departement of Veterinary Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia²Departement of Veterinary Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia³Departement of Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesiaemail HAH: herrypro59@yahoo.com, email RTSA: rtsadikara@gmail.com,
email SHW : sunhawe_drh@gmail.com

ABSTRACT

human Chorionic Gonadotropin (hCG) is a Gonadotropin hormone which is extracted from the urine of pregnant women who have the highest concentration found at gestational age ages 1.5 or 3.5 months when it is positive the pregnancy test. Biologically it is known to be identical to LH and is often called LH like. human Chorionic Gonadotropin is a glycoprotein hormone. Isolating and purifying hCG proteins. The molecular weight of hCG 37 and 22 Kda corresponds to a 10% sds-page result. Calculation of the level that the hCG content of pregnant women 1.5 years of pregnancy with 10 times deposition of 105.667 mIU / mL means that each time deposition is 10,567 mIU / mL. The level of hCG urine at 3.5 months of pregnancy was 13,444 mIU / mL on average. The biological potential test of hcg for ovulation in Madura cattle was 30 Madurese female cows which had been confirmed to be non-pregnant and had no reproductive disorders. Aged 2-3 years with a minimum body score of 2 previously treated with feed milk concentrate A protein 15-17% (Phok Phand) 3 kg / day / head for 1 month grouped randomly into 2 groups with each treatment getting 15 replications injection of hCG (Serum) and hCG results of the study (treatment group) / control group. estrus synchronization is done by injected PGF2 α . If estrus is made artificial insemination 48 hours after injected of PGF2 α (glandin) 25 mg. The second injection was carried out at 11-day intervals. 72 hours later injection of hCG is carried out. Insemination is carried out if lust has appeared. The treatment group was: P1 (control) 15 cows were injected with 500 IU of intra muscular hCG chorulon. P2 (treatment) 15 cows were injected with 500 iu hCG as a result of intra muscular research. The results showed that there was no significant difference $p > 0.05$. In conclusion, between hCG Chorullon intervet Holland (patent product) and urine Chorionic gonadotropin (hCG) product between control and treatment in Madura cattle in estrus and pregnancy. The use of t test in statistical analysis showed that there was no significant difference between the control groups of patent chorulon intervet holland and hCG products treated with the results of the study $p > 0.05$.

Key Words : Madura Cows , urine hCG, estrus and pregnancy.

INTRODUCTION

Pregnancy tests, quantitative blood tests and the most sensitive urine tests in humans usually detect hCG between 6 and 12 days after ovulation. [29] However, it must be taken into account, however, that the level of total hCG can vary in a very wide range in the first 4 weeks of pregnancy, which causes incorrect results during this period. [30] An increase of 35% for 48 hours is proposed as a minimal increase consistent with an adequate intrauterine pregnancy. [31]. This study deals with the description of molecular weight and levels of Urine Chorionic Gonadotrophin (hCG) in pregnant women aged 1.5 - 3.5 months in Indonesian women after 1000 g cold centrifugation and advanced techniques. Human Chorionic Gonadotropin (hCG) is the Gonadotropin hormone extracted from the urine of pregnant women who have the highest concentration found at 1.5 to 3.5 months of gestation or 8 to 11 weeks to 4 months or 12-15 weeks during a positive pregnancy test. Biology is known to be identical to LH and is often called LH like. Human Chorionic Gonadotropin is a glycoprotein hormone. (Hermadi et al, 2017). hCG is not of a specific species which means that even though the urine produced from a pregnant woman continues to have a therapeutic effect on receptive women or patients, even hCG may be directly involved in the IVF process (Invitro (fertilization) in humans. Comparative follicles begin to occur simultaneously but many become atresia during the luteal phase of the follicular growth cycle where one of them becomes the dominant follicle. The biochemical changes in the development of subordinate follicles to the dominant follicles when analyzed for chemical changes occur differently from the principles of FSH, LH and receptors (Daya S, et al 1995; Roche, 1996). The use of hCG for the purpose of folliculogenesis in cattle has not been able to explain the mechanism of both *in vivo* development of follicles in the ovary and *in vitro* in the process of oocyte cattle maturation. Is the mechanism to follow endogenous FSH - LH rules or other factors. Research is needed that can help monitor *ultra sono grafi* (ultrasound) instruments to determine follicular growth waves (Follicular waves) or oocyte maturation monitoring *in vitro*. Hormonal disorders that cause a decrease in livestock fertility and livestock breeding can be exacerbated by many factors. FSH-LH or FSH enzyme preparations such as - LH FSHp (Porcine FSH), Pregnant Pregnant Serum Gonadotropin (PMSG) and Human Chorionic Gondotropin (hCG) (Allacivar et al., 1992; Roche, 1996). Cellular studies of folliculogenesis begin with the GnRH hormone, prevention of a low hormonal balance of FSH-LH is corrected first, for example, feed rations are improved with good and balanced feed quality, better environment, cleaner cages, air movement good, looser, often taken out of the cage to move more. If the situation has become better followed by injecting FSH-LH preparations or likes. (FSH-LH) (5). Human Chorionic Gonadotropin (hCG) does not have a specific species meaning even though it is produced from the urine of pregnant women still giving therapeutic effects to prescribed women or patients, even hCG can be involved directly in IVF (Invitro fertilization) in humans implantation process after embryo transfer depends on quality embryo and endometrial reception. It is estimated that fifty to seventy-five percent of pregnancies are lost due to implantation failure. There is evidence that there is an initial chorionic gonadotrophin secretion before implantation embryos, and this secretion has been associated with important functions in angiogenesis and the inflammatory response that drives the implantation process. The aims of the research are increasing cattle population Madura is a native Indonesian plasma through the synchronization process of lust and ovulation for the continuation of production of hCG (LH-like) human Chorionic Gonadotropin (hCG) is a Gonadotropin hormone extracted from the urine of pregnant women that can be produced in Indonesia.

RESEARCH METHODS

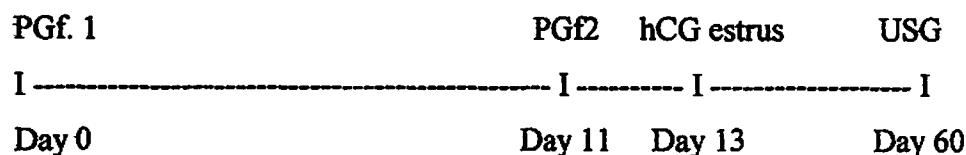
To solve the problem in this study, a general framework of problem solving was made which would later be translated into more specific and detailed methods. The outline of this research is carried out in stages which consists of three stages as follows. Materials and Research Equipment require healthy pregnant urine samples taken from Dr. Soetomo Surabaya and biological tests. The materials and reagents used in the second study were hCG isolates obtained from the extract of pregnant urine after through characterization and isolation with SDS-PAGE and Elusi techniques. nitrocellulose membranes (Hybond-C pure, nitrocellulosa membrane, Amersham Life Science-England), tissue paper, carbonate-bicarbonate, BSA (Bovine Serum Albumin), MgCl₂, NaOH, TBS (Tris Buffer Saline), Glutaraldehyde 0.25% TCM (Tissue Culture Media) While the equipment used is Blotter (Bio-Dot Apparatus, BIORAD-USA), microplate, Elisa reader, vacuum pump, vortex, scissors, eppendorf pipette, Pasteur pipette, plastic tip, petri dish, scissors, cellophane bag, centrifuge , test tube, magnetic stirrer, CO₂ incubator, refrigerated centrifuge, freezer, autoclave, glassware, sexy equipment, vacutainer. Research Methods Described in a schematic two-stage research framework from the Schematic Research Framework II Urine Collection of pregnant women 1.5 to 3.5 months Extra-healthy charcoal to eliminate steroid hormones, cool sterilization and separation of hCG with sephadex coloums chromatography G-100. Extra charcoal to eliminate steroid hormones, cold sterilization and hCG separation with sephadex coloums chromatography G - 100. Characteristics, identification of hCG with SDS - PAGE Determination of hCG Protein Level with the Test of Biological Potential of hCG on lust and Madura cow pregnancy. Biological Potential Test of hCG against Ovulation in Madura Cows. As many as 30 female Madura cows in the Keramat, Sembilangan and Ujung Piring villages of Bangkalan Subdistrict which have been confirmed to be healthy and fertile. Aged 2-3 years with a minimum body score of 2 previously treated with feed milk concentrate A protein 15-17% (Phok Phand) 3 kg / day / head for 1 month grouped randomly into 2 groups with each treatment getting 15 replications injection of hCG (Serum) and hCG results of the study (treatment group) / control group. Lust synchronization is done by injecting twice. If lust is made artificial insemination 48 hours after injection of PGF₂ α (glandin) 25 mg. The second injection was carried out at 11-day intervals. 72 hours later injection of hCG is carried out. Insemination is carried out if lust has appeared.

The treatment group are:

P1 (control) 15 cows: Injected with 500 IU of intra muscular hCG chorulon.

P2 (treatment) 15 cows: Injected 500 IU of hCG human Urine extracted.

Schedule of injected hCG .



Statistical Design and Analysis. Data from extraction, identification, isolation of hCG and characteristics were processed descriptively. Data obtained from lust and pregnancy that have been done due to the addition of hCG in cattle were identified by the presence of maturation or maturity of bovine egg cells analyzed by t test if there were differences in treatment carried out further tests with the Tukey test. (5). Data obtained from follicle growth, lust and ovulation and pregnancy in Madura cattle were also carried out the same analysis.

RESULT OF THE RESEARCH

The molecular weight of human chorionic gonadotrophin (hCG) is 37 kda and 22 kda in this study as Cole (3;6;7) in their study, the calculation of the level of hCG levels of pregnant women with gestational age 1.5 - 3.5 months of pregnancy the average age 13,444 miu / ml. Laboratory Bioassay Technology urine pregnant. The results showed absorbance of OD 0.133 with a concentration of 13.444 mIU / m L. with 10 times urine deposition.

Table 1. Estrus synchronization with Pgf 2 α and combined with hCG

Estrus synchronization			
hCG Chorullon	Result	hCG Urine	Result
C.1	+	U.1	+
C.2	+	U.2	+
C.3	+	U.3	+
C.4	+	U.4	+
C.5	+	U.5	+
C.6	+	U.6	+
C.7	+	U.7	+
C.8	+	U.8	+
C.9	+	U.9	+
C.10	+	U.10	+
C.11	+	U.11	+
C.12	+	U.12	+
C.13	+	U.13	+
C.14	+	U.14	+
C.15	+	U.15	+
Total	+ 15		+15

(p > 0.05)

The results showed no significant difference with the T test > 0.05 did not show a significant difference in estrus, where injection of 2 X Pgf 2 a 13-day interval and estrus on average 16 of all madura cattle crosses showed real estrus. This incident allows the ovary to provide an opportunity to develop subordinate follicles to de Graaf follicles (23) in the second Pgf 2 α stimulus on day 11. After that on day 13 all in the Chorullon group and hCG urine group showed 100 symptoms % of estrus symptoms. In addition, the LH / hCG receptor is also expressed in granulosa cells. Casarini et al. have reported that the hCG and LH signaling pathways do not fully overlap, and this fact may have implications for the use of hCG in ART reproduction techniques (16). Hershko Klement et al. illustrating that gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonists, initially presented as a substitute for hCG, have led to a new era of GnRH agonists followed by hCG which triggers ovulation (3;6;7).

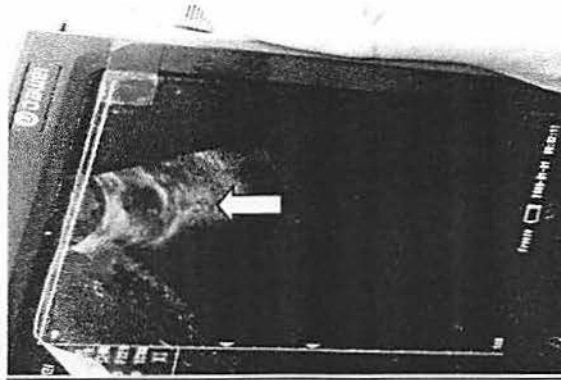


Figure 2. Diagnosis of Dominant Follicles when cows estrus

The results showed no significant difference with the test $tp > 0.05$ did not show a significant difference in estrus sign, where injection of 2 X Pgf2 α interval 11 days and estrus on the 13th day of all Madura cows showed real estrus . This event allows the ovary to provide an opportunity to develop (24; 22) in the second Pgf 2 α stimulus on day 13. After ovulating that on day 16 everything in the Chorullon and hCG urine groups showed a positive pregnancy of 100 % (15 tails) in Chorullon hCG and 90% (14tails) of hCG urine. Occurs in Madura cattle after AI uses frozen semen 84% (21).

Table.2. Diagnosis of pregnancy 60 days with ultrasound

Diagnosis of pregnancy 60 days with ultrasound			
hCG Chorullon	Result	hCG Urine	Result
C.1	+	U.1	+
C.2	+	U.2	+
C.3	+	U.3	+
C.4	+	U.4	+
C.5	+	U.5	+

C.6	+	U.6	+
C.7	+	U.7	+
C.8	+	U.8	+
C.9	+	U.9	+
C.10	+	U.10	-
C.11	+	U. 11	+
C.12	+	U.12	+
C.13	+	U.13	+
C.14	+	U.14	+
C.15	+	U.15	+
Total	+ 15		+14

($p > 0.05$)

hCG is secreted by syncytiotrophoblast originating from diffuse and differentiated cytotrophoblast cells (19; 20) for a long time, the main known role of hCG is the promotion of progesterone secretion by the corpus luteum in early pregnancy (1), acting through luteinizing hormone hCG / LH receptors. However, recently, many other functions of hCG, not only in the placenta but also in the myometrium (4), uterus, and fetus, have been described (6;7;16).



Figure 2. Diagnosis of the 60th day of pregnancy appears on an ultrasound image

In the ultrasound image, the oblong round head and the hyper ecogenic spine show bone white and the hypoechogenic appearance of the middle is amniotic fluid.

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

Manipulate *invivo* by used hCG followed by estrus and pregnancy Madura cattle. Lust or estrus occurs on the 60th day after being served by AI. 60 days after AI between the control group and the study group used a diagnosis with ultrasound and rectal palpation for pregnancy examination. The results showed that there were no significant differences $p > 0.05$ which differed between the control and treatment groups in lust and pregnancy.

More animals are needed to determine the accuracy of the function of human chorionic gonadotropin (hCG) therapy from the urine of pregnant women against Madura cow pregnancy which is widely applied in Indonesia.

References

1. Hung Yu E, Estella Yee LL, William SBY and Pak Chung Ho 2000. hCG is as good as recombinant human FSH in term of oocyte and embryo quality : a prospective randomized trial Dept. of obstetrics and gynaecology, quen mary hospital, the University of Hongkong.
2. Loutradis.D. 2004. Folliculogenesis: Physiology and pathophysiology .Professor of Obstetrics and Gynaecology .Head of 1st Department of Obstetrics and Gynaecology University of Athens Medical School .Alexandra Hospital
3. Cole LA (2009). "New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin". *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 8. doi:10.1186/1477-7827-7-8. PMC 2649930. PMID 19171054.
4. Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, L. Pool, and M.W. Overton.2001.Effect of *human* Chorionic gonatropin on Luteal Function and Reproductive Performance of high Producing Lactating Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 79:2881-2894. *and induction of ovulation in the mated and non mated one-humped camel) (Camelus dromedarius)*. *J. Reprod. Fert.* 106:185-192
5. Steel, RGD dan JH Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedure Statistika Jakarta*. Penerbit PT. Gramedia Pustaka Jakarta.
6. Cole LA. 2010. In: Structures of free α -subunit and free β -subunit. In: Human chorionic gonadotropin (hCG) Cole LA, editor. Elsevier, Oxford; in press
7. Cole LA. 2010. In: Human chorionic gonadotropin (hCG) Cole LA, editor. Elsevier, Oxford; Background hCG. in press
8. Butler SA, Khanlian SA, Cole LA (2001). "Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices". *Clinical Chemistry.* 47 (12): 2131–2136. PMID 11719477.23
9. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR (1999). "Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy". *New England Journal of Medicine.* 340 (23): 1796–1799. doi:10.1056/NEJM199906103402304. PMID 10362823.
10. Butler SA, Khanlian SA, Cole LA (2001). "Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices". *Clinical Chemistry.* 47 (12): 2131–2136. PMID 11719477. 25

11. Kirk E, Bottomley C, Bourne T (2013). "Diagnosing ectopic pregnancy and current concepts in the management of pregnancy of unknown location". *Human Reproduction Update*. 20 (2): 250–61. doi:10.1093/humupd/dmt047. PMID 24101604.
12. Hermadi H.A; Adikara RT and Sunaryo H.W.2017. Isolation, Identification and Production of human Chorionic Gonadotropin (hCG) from Urine Pregnant Women.
13. Alcivar. A.A, R.R Maurer and L.L Anderson 1992. Endocrine changes in beef Heifers Supewrovulated Gonodotropin. Departmen of Animal Science Iowa State University and Roman Lhruskaus. Dept. of agriculture clay cnter. *J. Anim Sci* 70:224-231.
14. Roche FJ, 1996 Control and regulation of folliculogenesis-a symposium in perrerspective. *Revierws of Reproduction* (1996) 1, 19-27 Departement of Animal Husbandry and Production, Faculty of Veterinary Medicine, university College, Dublin 4, Ireland.
15. Daya, S., Gunby, J., Hughes, E.G. et al. (1995). Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotrophin for in c vitro fertilization cycles : a metaanalysis. *Fertil. Steril.*, 64, 347-354 □ISI□ □Medline□.
16. Guibourdenche, J.; Fournier, T.; Malassine, A.; Evain-Brion, D. Development and hormonal functions of the human placenta. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2009, 47, S35–S40. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
17. Hermadi H.A; Adikara RT and Sunaryo H.W.2017. Isolation, Identification and Production of human Chorionic Gonadotropin (hCG) from Urine Pregnant Women to Manipulate Maturation of Invitro and Invivo Ovulation in Madura Cows. Research department. Airlangga University
18. Hermadi HA ; Hariadi.M and Adikara R.T. S. 2017. Deskripsi Patent Gambaran Teknik Sendimentasi dan SDS – Page untuk mengetahui Berat Molekul dan kadar Urine human Chorionic Gonadotrophin (hCG) pada Ibu Hamil Usia Kehamilan 1.5–3.5 Bulan pada wanita IndonesiaUniversitaas Airlangga Indonesia.
19. Choi, J.; Smitz, J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: Origins of difference. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2014, 383, 203–213. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
20. Nwabuobi, C.; Arlier, S.; Schatz, F.; Guzeloglu-Kayisli, O.; Lockwood, C.J.; Kayisli, U.A. hCG: Biological functions and clinical applications. *Int. J. Mol. Sci.*2017, 18, 2037. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
21. Wurlina, Mulyati S. Meles, D.K Anom A, 2014. Sinkronized of estrus Using PGF2 α and Superovulation Using PMSG and HCG and AI Against Lust, Number of Pregnant, Number and Gender of Etawa Crossbred Goat Kids. *Ovozoa E-Journal*, 3 (1). pp. 186-191. ISSN 2302

22. Ginther, O.J., J.P. Kastelic and L. Knopf, 1989. Intraovarian relationships among dominant and Subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. *Theriogenology* 32:787-795.
23. Imthurn, B., Macas, E., Rosselli, M. et al. (1996). Nuclear maturity and oocyte morphology after stimulation with highly purified follicle stimulating hormone compared to human menopausal gonadotrophin. *Hum. Reprod.*, 11, 2387-2391.
□Abstract□
24. Fricke, P.M., L.P. Reynolds and D.A. Ridmer, 1993. Effect of human chorionic gonadotrophin administered early in the estrous cycle on valuation and subsequent luteal function in cows. *J. Anim. Sci.* 71 : 1242 – 1246.



CERTIFICATE OF APPRECIATION
INTERNATIONAL CONFERENCE ON FOOD AND AGRICULTURE
NO:198/PL17.4/ICOFA-17

THIS CERTIFICATE IS PROUDLY PRESENTED TO:

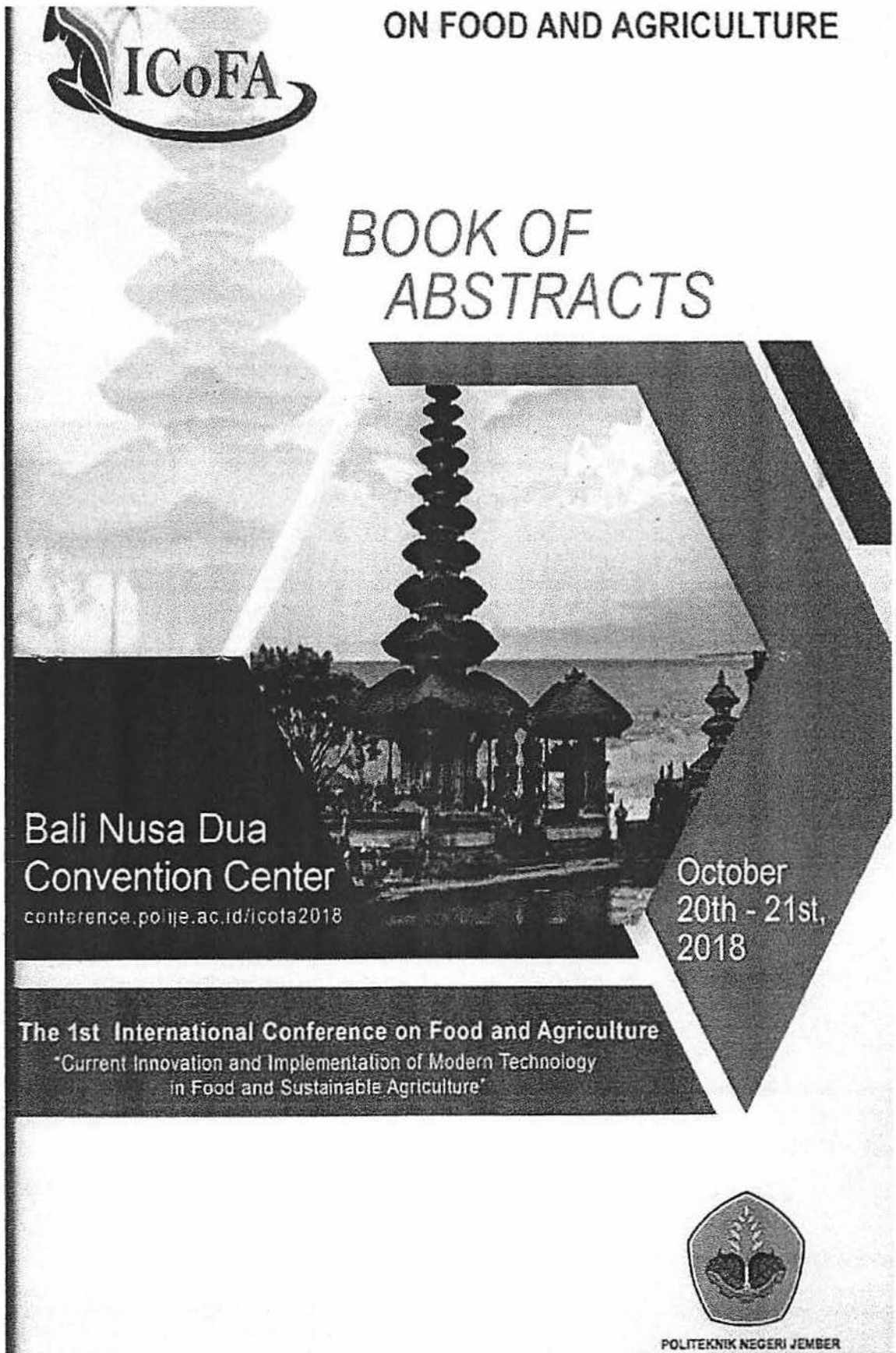
Herry Agoes Hermadi
(PRESENTER)

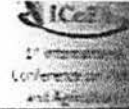
in recognition of valuable contributions
Nusa Dua, Bali, October 20th-21st, 2018

Chairman of
International Advisory Board.


(Dr. Naffang Dwi Wahyono)

BALI NUSA DUA CONVENTION CENTER, NUSA DUA BALI, INDONESIA 20th-21st OCTOBER 2018





[ABS-218]

Whole human Chorionic Gonadotropin (hCG) from Urine Pregnant Women to Manipulate In vivo followed by estrus and pregnancy in Etawah Crossbred Goats

Herry Agoes Hermadi (a*), Raden Tarang Santanu Adikara (b), Sunaryo Hadi (c)

- a) Department of Veterinary Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia
*herrypro59@yahoo.com
- b) Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia
- c) Department of Animal Husbandry, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

Abstract

Isolation of urine hCG accumulated 1 until 3 months, filtrated by chromatography Sephadex G20. At temperature of 4°C with charcoal and ethanol as many in 4°C Ultra centrifuge were centrifuged. Precipitate diluted on PBS. Concentration of hCG by using Bioassay technology *Lepus* sp. pregnant. The result showed absorbency OD 0,133 with the concentration 13.444 mIU/ml. 20 Etawah Crossbred Goats divided become 2 groups. Group I 10 etawah goats control twice PGF2a pha 15 mg IM with interval 11 days 72 after the last injected of PGF2a. Group II will be showed 500 IU Chorulon Interval IM and hCG on day 9 and hCG urine on day 13. Group I AI. Group II have twice-prostaglandin with the same time with the control group. Group II received 500 IU chorulon interval IM on day 9 and hCG urine on day 13. The sign of estrus was shown on day 14 and served of AI. 45 days later after treatment between control a marek used abdominal palpation for pregnancies tests. The result showed that no significant difference ($p > 0.05$). The conclusion is not different between hCG Chorulon interval (patent product Indurlesion Product of human Chorionic gonadotropin (hCG)).

Keywords: Etawah Crossbred Goats, Semioctination technique, whole hCG, SDG-500, hCG estrus and pregnancy

Topic: Animal Nutrition, Animal Production, and Veterinary Science

DEPARTEMEN KEHAKIMAN DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTORAT JENDERAL HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL

Gabus (terlampir)

Formulir Permohonan Paten

Ditisi oleh petugas

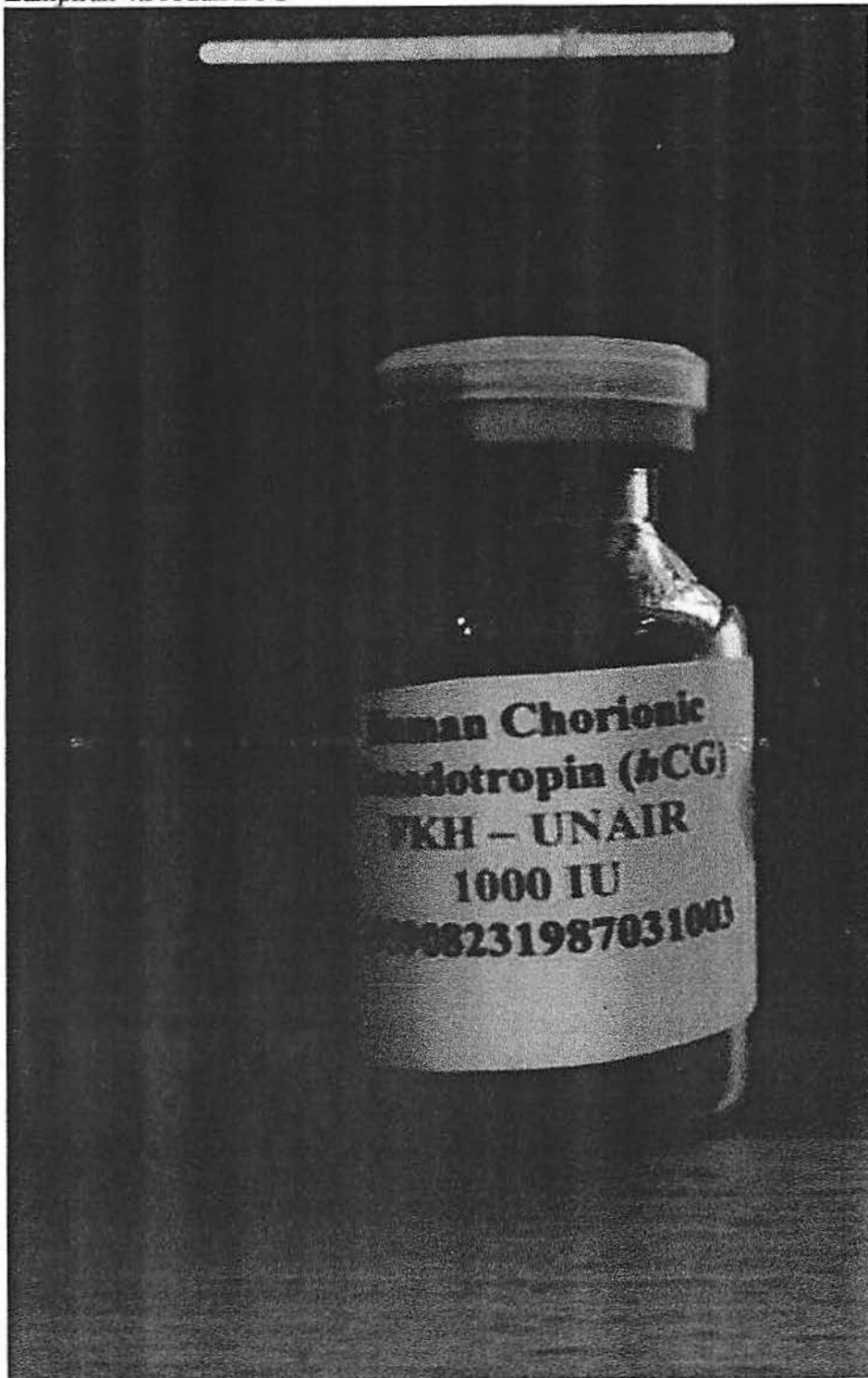
Tanggal Pengajuan :

Nomor permohonan :

<p>Dengan ini saya/kami ¹⁾ (71) Nama : Universitas Airlangga Alamat ²⁾ : Lembaga Pengembangan Bisnis dan Inkubasi Kampus C Mulyorejo, Surabaya 60115 Warga Negara : Indonesia Telepon : (031) 59174318 NPWP : 00.005.564.0-606.000</p>		
Mengajukan permohonan paten/paten sederhana		()
Yang merupakan permohonan paten Internasional/PCT dengan nomor :		
<p>(74) melalui/tidak melalui ⁴⁾ Konsultan Paten Nama Badan Hukum ³⁾ Alamat Badan Hukum ³⁾ Nama Konsultan Paten : Alamat ³⁾ Nomor Konsultan Paten Telepon / fax :</p>		()
<p>(54) dengan judul invensi TEKNIK SEDIMENTASI DAN SDS - PAGE UNTUK MENGETARUHI BERAT MOLEKUL DAN KADAR URINE BUNYAN CBORIONIC GONADOTROPHIN (hCG) PADA IBU HAMIL USIA KEBERHAMILAN 1.5 - 3.5 BULAN PADA WANITA INDONESIA</p>		()
<p>Permohonan Paten ini merupakan pecahan dari permohonan paten nomor :</p>		()
<p>(72) Nama dan kewarganegaraan para inventor :</p> <p>Herry Agoes Hermadi warga negara Indonesia Masud Hariadi warga negara Indonesia RTS Adikara warga negara Indonesia</p>		<p><u>Ditisi oleh petugas</u> ()</p>

2. Adalah alamat kodinasan/surat-menyurat
 3. Jika konsultan Paten yang ditunjuk bekerja pada Badan Hukum tertentu yang bergerak dibidang konsultan paten maka sebutkan nama Badan Hukum yang bersangkutan.
 4. Jika lebih dari ruang yang disediakan agar ditulis pada lampiran tambahan
 5. Berilah tanda silang pada jenis dokumen yang saudara lampirkan
 6. Jika permohonan paten diajukan oleh .
 - Lebih dari satu orang, maka setiap orang ditunjuk oleh kelompok /group
 - Konsultan Paten maka berhak menandatangani adalah konsultan yang terdaftar di Kantor Paten.
- *) Coret yang tidak sesuai.

Lampiran 4. Produk hCG



Lampiran 5.

DRAFT BUKU :

Isolasi, Identifikasi dan Produksi *human* Chorionic Gonadotropin (*hCG*) dari Urine Wanita Hamil untuk Memanipulasi Maturasi *Invitro* dan Ovulasi *Invivo* pada Sapi dan Ruminansia Lain



Prof. Dr HERRY AGOES HERMADI drh.,M.Si (NIDN : 0023085904)

Prof.MASUD HARIADI drh.,M.Phil. Ph.d (NIDN: 0015036703)

Prof. Dr. R. TATANG SANTANU ADIKARA, M.S., Drh.

SUNARYO HADI WARSITO drh MP

**LEMBAGA PENELITIAN DAN INOVASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2018**

KATA PENGANTAR

Saya menyampaikan rasa syukur sedalam–dalamnya kepada Tuhan Yang Maha Esa. Dengan selesainya penyusunan buku ini maka buku ini berisi materi **Isolasi, Identifikasi dan Produksi *human* Chorionic Gonadotropin (*hCG*) dari Urine Wanita Hamil untuk Memanipulasi Maturasi *Invitro* dan Ovulasi *Invivo* pada Sapi**. Buku ini dapat digunakan guna mengatasi kasus Gangguan Reproduksi di Indonesia dan sebagai acuan bagi para mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga di semester VII. Disamping itu buku ajar ini dapat pula dipergunakan oleh para mahasiswa D3 Program Studi Kesehatan Ternak di semester IV pada kuliah ilmu kemajiran dan ilmu penyakit reproduksi.

Gangguan Reproduksi di Indonesia adalah bagian dari Ilmu kemajiran merupakan satu matarantai dan tak dapat dipisahkan dari ilmu–ilmu reproduksi lainnya. Kegiatan penanggulangan penyakit reproduksi yang didasarkan pada ilmu kemajiran, memberi informasi terakhir dalam penentuan tampilan reproduksi ternak. Tanpa usaha penanggulangan kegagalan reproduksi, tampilan reproduksi yang diperoleh adalah suatu gambaran yang semu yang tidak mencerminkan kemampuan reproduksi nyata dan optimal suatu kelompok ternak. Kemampuan reproduksi yang optimal hanya dapat dicapai sesudah kegiatan penanggulangan kemajiran yang dilaksanakan secara berkesinambungan.

Setelah melakukan sendiri di lapangan dihadapkan pada berbagai masalah reproduksi yang dimanifestasikan dalam angka–angka penurunan populasi ternak yang mengkhawatirkan di negeri ini, kini disadari bahwa penanggulangan kemajiran harus dipadukan dengan kegiatan pemeriksaan kebuntingan dan inseminasi buatan. Kesadaran ini harus diisi dengan kegiatan–kegiatan nyata dalam program pemberantasan penyakit reproduksi secara nasional.

Oleh karena itu sehubungan dengan hal tersebut diatas dirasa perlu untuk meneRBCitkan buku ajar Ilmu Kemajiran pada Ternak sebagai pegangan bagi para mahasiswa untuk ikut berpartisipasi di dalam pelaksanaan pemberantasan kemajiran kelak bila telah lulus sebagai Dokter Hewan.

Surabaya, Agustus 2017

Penyusun,

DAFTAR SINGKATAN

AA	: Arachinonic Acid
Ab	: Antibodi
ADAM	: A Disintegrin and A Metallproteinase
Ag	: Antigen
AP	: Alkaline Phosphatase
APS	: Ammonium Persulfat
Asn	: Aspargin
AS-A	: <i>Arylsulfatase A</i>
BSA	: Bovine Serum Albumin
BSC	: Body Score Condition
BO medium	: Bracket and Oliphant's Medium
cAMP	: cyclic Adenosin Mono Phosphate
CCR	: C-Terminal Cystein Rich
cDNA	: cloned Deoxyribo Nucleic Acid
CFA	: Compleet Freund's Adjuvant
CBB G-250	: Commasie Brilliant Blue G-250
Ch	: Choline
CHO	: China Hamster Ovary
CO ₂	: Carbon Dioksida
Cys	: Cystein
Da	: Dalton
DAG	: Diacylglycerol
E2	: Estrogen
ECD	: Extra Cellular Domain
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMEA	: European Medicines Evaluation Agency
FA	: Freund's Adjuvant
FDA	: Food and Drug Association
FKH	: Fakultas Kedokteran Hewan
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
FSHR	: Follicle Stimulating Hormone Receptor
Fuc	: Fucose
Galt-1	: β 1,4-galactosyltransferase
GlcNac	: Glucosamin Neroamic Acid
GnRh	: Gonadotrophin Releasing hormone
GPH	: Glycoprotein Pituitary Hormone
GVBD	: Germinal Vesicle Break Down
HCl	: Asam Chlorida
hCG	: equine Chorionic Gonadotrophin
hCG	: human Chorionic Gonadotrophin
hMG	: human Menopause Gonadotrophin

HP : Highly Purified
 HRT : Hormone Replacement Therapy

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR SINGKATAN	iii
DAFTAR ISI.....	iv
RINGKASAN	v
PENDAHULUAN	1
TUJUAN	8
Fungsi hCG	9
Daftar Pustaka	75
Daftar Riwayat Hidup	34

RINGKASAN

Efisiensi reproduksi memiliki dampak besar pada profitabilitas produsen susu dan banyak metodologi yang digunakan untuk memperbaiki efisiensi reproduksi, termasuk penggunaan hormon reproduksi untuk mengatur dan mengendalikan siklus estrus. Protokol sinkronisasi Ovsynch dikembangkan untuk mensinkronisasi ovulasi pada sapi perah menyusui dengan menggunakan GnRH dan PGF₂alfa. Protokol ini mensinkronisasi ovulasi dalam jangka waktu 8 jam dari 24-32 jam setelah administrasi GnRH kedua. Sinkronisasi yang tepat ini memungkinkan keberhasilan full inseminasi buatan (IB) tanpa deteksi estrus. Respon ovulasi setelah pemberian admin GnRH pertama adalah faktor penting untuk sinkronisasi ovulasi yang berhasil pada protokol Ovsynch. Tingkat ovulasi yang tinggi setelah perlakuan GnRH pertama dalam mengurangi kemungkinan bahwa sapi memiliki folikel dominan fungsional yang mampu melakukan ovulasi selama pengobatan GnRH terakhir pada Ovsynch. Sebagai tambahan, tingkat ovulasi yang lebih rendah setelah GnRH pertama muncul untuk menghasilkan tingkat sinkronisasi alower setelah administrasi GnRH kedua. Efek positif dari sapi perah laktasi. GnRH dan tingkat sinkronisasi dengan protokol presynchroniza seperti Presynch, Double Ovsynch dan seterusnya.

human Chorionic Gonadotropin (hCG) merupakan hormon Gonadotropin yang diekstraksi dari urine wanita hamil usia 92 saat positif tes kehamilan. Secara biologis telah diketahui identik dengan LH dan sering disebut *LH like* (Anonimus, 1994). *human Chorionic Gonadotropin* adalah hormon glycoprotein yang terdiri dari 237 asam amino dengan berat molekul 25,7 kDa. (Cole LA, 2009).

Melakukan ekstraksi *hCG* dengan charcoal dan melakukan pemisahan, tujuan jangka pendek yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah, mengisolasi dan mengidentifikasi *hCG* dari urine wanita hamil dengan tahapan ekstraksi *hCG* dengan bantuan charcoal dalam ultra sentrifus 4°C *hCG* dalam urine wanita hamil dengan sentrifugasi dengan *CM sephadex C-50 coloums chromatografi*. Melakukan karakteristik dan mengidentifikasi protein *hCG* dengan SDS-PAGE. Melakukan isolasi dan purifikasi protein *hCG* dengan elektroelusi. Melakukan uji biologis produksi

mengetahui efektivitas *hCG* terhadap invitro fertilisasi pada sapi. Melakukan uji biologis produksi mengetahui efektivitas *hCG* terhadap invivo ovulasi pada sapi.

BAB I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Human chorionic gonadotropin (hCG) adalah hormon yang diproduksi oleh plasenta setelah implantasi. [1] [2] Kehadiran hCG terdeteksi pada beberapa tes kehamilan (tes strip kehamilan HCG). Beberapa tumor kanker menghasilkan hormon ini; Oleh karena itu, peningkatan kadar diukur ketika pasien tidak hamil dapat menyebabkan diagnosis kanker dan, jika cukup tinggi, sindrom paraneoplastik, bagaimanapun, tidak diketahui apakah produksi ini merupakan penyebab kontribusi, atau efek karsinogenesis. Analog hipofisis hCG, yang dikenal sebagai luteinizing hormone (LH), diproduksi di kelenjar pituitari laki-laki dan perempuan dari segala usia. [1] [3] Human chorionic gonadotropin adalah glikoprotein yang terdiri dari 237 asam amino dengan massa molekul 36,7 kDa, sekitar 14,5 α hCG dan 22.2kDa β hCG. [7]. Ini heterodimerik, dengan subunit α (alpha) identik dengan hormon luteinizing (LH), hormon perangsang folikel (FSH), thyroid-stimulating hormone (TSH), dan subunit β (beta) yang unik untuk hCG. Subunit α (alpha) memiliki 92 asam amino. [8] The β -subunit dari hCG gonadotropin (beta-hCG) mengandung 145 asam amino, dikodekan oleh enam gen yang sangat homolog yang diatur dalam pasangan tandem dan terbalik pada kromosom 19q13.3 - CGB (1, 2, 3, 5, 7, 8) [9] Kedua subunit menciptakan inti hidrofobik kecil yang dikelilingi oleh rasio luas permukaan-volume yang tinggi: 2,8 kali dari bola. Sebagian besar asam amino luar adalah hidrofilik. [10]Fungsi

Human chorionic gonadotropin berinteraksi dengan reseptor LHCG di ovarium dan meningkatkan pemeliharaan korpus luteum selama awal kehamilan. Ini memungkinkan korpus luteum untuk mensekresikan hormon progesteron selama trimester pertama. Progesterone memperkaya rahim dengan lapisan pembuluh darah dan kapiler yang tebal sehingga dapat mempertahankan janin yang sedang tumbuh [rujukan?]. Karena muatannya yang sangat negatif, hCG dapat mengusir sel-sel kekebalan ibu, melindungi janin selama trimester pertama [rujukan?]. Ini juga telah dihipotesiskan bahwa hCG dapat menjadi penghubung plasenta untuk pengembangan imunotoleransi maternal lokal [rujukan?]. Sebagai contoh, sel endometrium yang diinduksi hCG menginduksi peningkatan apoptosis sel T (pelarutan sel T). Hasil ini menunjukkan bahwa hCG dapat menjadi penghubung dalam pengembangan toleransi kekebalan peritrofoblastik, dan dapat memfasilitasi invasi trofoblas, yang dikenal untuk mempercepat perkembangan janin di endometrium. [11] Ini juga telah menyarankan bahwa kadar hCG terkait dengan tingkat keparahan morning sickness atau Hyperemesis gravidarum pada wanita hamil. [12] Karena kesamaannya

dengan LH, hCG juga dapat digunakan secara klinis untuk menginduksi ovulasi di ovarium serta produksi testosteron di testis. Sebagai sumber biologis yang paling melimpah adalah wanita yang saat ini hamil, beberapa organisasi mengumpulkan urin dari wanita hamil untuk mengekstrak hCG untuk digunakan dalam perawatan kesuburan. [13] [14] Human chorionic gonadotropin juga berperan dalam diferensiasi / proliferasi seluler dan dapat mengaktifkan apoptosis. Mengenai bentuk-bentuk endogen hCG, ada berbagai cara untuk mengkategorikan dan mengukurnya, termasuk hCG total, peptida total hCG C-terminal, hCG utuh, sub-hCG β -subunit bebas, fragmen β -core hCG, hiperglikosilasi hCG, hCG nicked, hCG alfa, dan hCG hipofisis. Mengenai persiapan farmasi hCG dari sumber-sumber hewani atau sintesis, ada banyak persiapan gonadotropin, beberapa di antaranya dibenarkan secara medis dan yang lainnya bersifat quack. Pada 6 Desember 2011, Administrasi Makanan dan Obat-obatan Amerika Serikat telah melarang penjualan produk diet hCG "homeopati" dan over-the-counter dan menyatakan mereka curang dan ilegal. [4] [5] [6] Pola pembangunan peternakan pada dasarnya adalah untuk penyediaan pangan yang berasal dari ternak baik secara kualitas maupun secara kuantitas yang dapat berperan mendorong peningkatan sumber daya manusia dari segi pemenuhan protein hewani. Kebutuhan protein asal hewan secara Nasional 6 gram/kapita/hari, namun baru tercapai 5,34 gram/kapita/hari (Ditjenak, 2006).

Kondisi populasi ternak sapi secara Nasional menurun 1,22% pertahun, kondisi ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti tingkat kebutuhan daging sapi yang tinggi dan terjadinya gangguan reproduksi (Ditjenak, 2006).

Salah satu gangguan reproduksi yang sering terjadi pada sapi, adalah hypofungsi ovarium. Prioritas penanggulangan gangguan keseimbangan hormon *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) yang rendah pada hypofungsi ovarium pada pembenahan penyebab utamanya seperti, faktor manajemen, ransum pakan sapi yang cukup dengan kualitas yang baik dan seimbang, lingkungan kandang dengan ventilasi udara yang cukup dan sering dikeluarkan dari kandang agar lebih banyak bergerak. Bila keadaannya sudah menjadi lebih baik, *Body Score Condition (BSC)* telah mencapai nilai lebih dari dua, dilanjutkan dengan penyuntikan preparat kombinasi FSH-LH atau FSH-LH like. Preparat FSH-LH like yang dimaksud adalah *Pregnant Mare Serum Gonadotrophin (PMSG)* dan *human Menopause Gonadotrophin (hCG)* (Alcivar et al., 1992; Hadley, 1992; Harjopranto, 1995; Roche, 1996).

hCG sebagai *FSH-LH Like* pertama kali diproduksi yang dikemas dalam bentuk hormon injeksi 150 IU untuk kepentingan kesehatan reproduksi manusia. Komponen penting yang paling menunjang dari *hCG* adalah kandungan *FSH-LH* yang seimbang, yaitu *FSH* 75 IU dan *LH* 75 IU atau lebih dikenal dengan istilah komposisi *FSH : LH* 50% : 50%. Kondisi demikian sangat menguntungkan, mengingat pemberian *FSH-LH* yang tidak seimbang komposisinya dapat berdampak pada terjadinya sistik ovarium atau sistik folikel. Terjadinya sistik ovarium atau sistik folikel sebagai dampak pemberian preparat kombinasi *FSH-LH* yang tidak seimbang contohnya *PMSG* mengandung *FSH : LH* 75% : 25%. Sangatlah kecil terjadinya sistik ovarium pada pemberian preparat kombinasi *LH – FSH* yang seimbang (Giudice *et al.*, 1994; Harjopranto, 1995; Westergaard, 1999).

Sampai akhir tahun 1995, kebutuhan dunia akan hormon *gonadotrophin* yang berasal dari urin perempuan menopause dipenuhi dari China, India, Eropa dan Amerika Latin untuk pabrik *hCG* (*Menotropin*) di USA. Konsumen *hCG* pun terbatas pada kesehatan reproduksi manusia dan tidak pada hewan (Lunenfeld, 2004). Kebutuhan hormon *gonadotrophin* pada hewan selama ini dipenuhi dari *PMSG*, *human Chorionic Gonadotrophin* (*hCG*) dan ekstrak *hypofisa* yang berasal dari hewan lain. Penggunaan *hCG* untuk superovulasi pada sapi potong, pada awalnya, diperkenalkan oleh Alcivar *et al.* (1992).

Preparat kombinasi *FSH-LH*, pertama kali digunakan untuk terapi gangguan reproduksi pada sapi adalah *PMSG*. Namun, pemberian preparat *PMSG* dapat berdampak timbulnya antibodi *PMSG* (anti *PMSG*). Anti *PMSG* yang terbentuk menyebabkan dosis injeksi yang diberikan lebih besar saat penyuntikan yang kedua, oleh sebab itu perlu dicarikan alternatif pengganti hormon *PMSG*, diantaranya adalah *hCG* (Harjopranto, 1995). Walaupun *hCG*, dihasilkan dari urin perempuan menopause, namun masih memberikan efek terapi yang baik pada perempuan resipien atau penderita, bahkan *hCG* dapat digunakan langsung dalam proses *In Vitro Maturasi* (*IVM*) dan *In Vitro Fertilisasi* (*IVF*) pada manusia (Daya *et al.*, 1995; Kubo, 2005). Pada kasus infertilitas perempuan, terapi dengan *hCG* menghasilkan koleksi oosit dan perkembangan embrio yang sangat memuaskan, yang hampir sama bila dibandingkan dengan menggunakan *recombinant human FSH* (*rhFSH*). Pemberian preparat *hCG* yang dilanjutkan dengan perlakuan *IVF* dapat memicu mitosis oosit hingga fase *metafase* (Agarwal *et al.*, 2000; Imthurn, *et al.* 1996; Mercan *et al.*, 1997).

hCG, sebagai *FSH Like* masih sangat relevan untuk digunakan sebagai hormon *gonadotrophin* pada manusia. *hCG* ini efektif terhadap terapi infertilitas maupun perlakuan sebelum IVF, merangsang proses maturasi folikel, ovulasi dan respon ovarium, serta pertumbuhan embrio yang dihasilkan disamping harganya yang jauh lebih murah (Huang *et al.*, 2004; Koninckx, 2001; Westergaard *et al.*, 1996). Pada hewan ternak, *hCG* mempunyai peluang untuk dikembangkan karena sumbernya yang mudah diperoleh (Alicivar *et al.*, 1992).

Sumber *hCG* diperoleh saat perempuan memasuki usia 50 tahun. Diperkirakan menopause pada perempuan terjadi saat usia 50 tahun yang ditandai dengan penurunan aktivitas ovarium karena folikel primordial tidak timbul lagi, sedangkan kelenjar *hypofisa anterior* tetap memproduksi FSH-LH. Pada saat itu perempuan memasuki gejala *peri - menopause* dan berakhir pada kondisi *post - menopause*. Kondisi menopause menyebabkan kadar hormon *estrogen* dan *progesteron* menurun karena tidak ada proses *steroidogenesis* dan disertai dengan peningkatan kadar hormon FSH-LH. Kadar FSH-LH yang tinggi dalam serum darah terekspresi di dalam urin, disebut sebagai hormon kombinasi FSH-LH *Like* atau dikenal sebagai *hCG* (Mayer and Hoyer, 2005).

Bovine FSH-LH adalah glikoprotein pada sapi mempunyai struktur dan berat molekul hampir sama dengan human FSH-LH. Berat molekul *Bovine* FSH dan LH masing-masing adalah 30 kDa (Cheng, 1976). *hCG* adalah hormon glikoprotein yang terdiri dari gabungan dua hormon FSH dan LH, sehingga disebut sebagai FSH - LH *Like*. Human FSH mempunyai berat molekul sekitar 30 - 35,5 kDa dan LH 28,5 - 30 kDa. Struktur *hFSH* terdiri dari subunit α dan β . Sub unit α mempunyai 92 asam amino dan β 111 asam amino. Sub unit α dan β , masing - masing mempunyai dua ikatan karbohidrat. Dua ikatan karbohidrat ini berperan secara *in vivo* untuk mempertahankan waktu paruh (*half - life*) aktivitas biologisnya di dalam darah (Motta *et al.*, 1996; Shoham, 2007). Produksi FSH dan LH oleh *hypofisa anterior*, dipicu oleh aktivitas *Gonadotrophin hormone* (GnRh). Kedua hormon ini sebelum mencapai ovarium, terlebih dahulu mengalami glikosilasi di dalam darah dan selanjutnya FSH bekerja pada sel granulosa dan LH pada sel theca di folikel ovarium. Kandungan karbohidrat hormon FSH dan LH, 27,2% ada pada glikoprotein hormon ini, meliputi *N-Acetyl-d-glucoaminase (NAG)*, *alpha-d-mannosa* dengan perbandingan masing-masing adalah 1 : 1, sedangkan kadar asam sialat dan *fucose* bervariasi. *Glycoprotein* FSH terikat dari pada asam amino *asparagin* 52 dan 78, sedangkan LH pada *asparagin* 52. Komposisi *outher layer* dari glikoprotein adalah *monosacharida*

asam sialat dan *inner layer* adalah *mannosa*. Komposisi karbohidrat memungkinkan glikoprotein FSH larut dalam air karena sifat karbohidrat yang hidrofilik (Hara *et al.*, 2007; Zara and Naz, 1998).

Deglikosilasi berarti penghilangan atau pemutusan rantai karbohidrat yang terikat pada atom karbon polipeptida dalam molekul glikoprotein (Aulanni'am, 2003). *Olygosacharida* dan unsur karbohidrat lainnya, contohnya *mannosa* dan asam sialat, jika diputus rantai ikatan karbohidratnya akan mempercepat kerja FSH-LH secara *in vitro* dan akan lebih cepat terbentuk *Germinal Vesicle Break Down* (GVBD) serta menumbuhkan sel *theca* serta *granulosa* (Bart *et al.*, 1997; Wendy *et al.*, 2001) memungkinkan lebih cepat waktu terbentuknya *cleavage* secara *in vitro*. Waktu terbentuknya *cleavage* pada proses *in vitro* fertilisasi secara normal adalah 24 jam (Mahaputra, 2007). Pemutusan rantai karbohidrat dapat dilakukan secara non enzimatis dan enzimatis. Pemutusan secara non enzimatis dilakukan dengan pemberian *Trifluoro Methanesulfonic Acid* (TFMS) dan *anisol*. Secara enzimatis digunakan enzim *glycanase* atau *endo/-exo - glycohydrolase* (Aulanni'am, 2003; Furuhashi and Suganoma, 2004; Yonezawa *et al.*, 1989). Andersen *et al.* (2000) melaporkan hasil penelitian, proses penghilangan asam sialat pada cabang oligosakarida hormon gonadotrophin FSH-LH *Like*, secara *in vivo*, mempercepat aktivitas folikulogenesis hewan dan dapat memperpendek lama hidup dalam plasma darah. Hal yang sama, dilakukan secara *in vivo* pada manusia (Zambrano *et al.*, 2007). Di sisi lain, secara *in vitro*, FSH-LH *Like* yang tidak mengandung asam sialat mempercepat induksi akumulasi cAMP di dalam kultur kumulus – oosit – kompleks (COC) dari folikel kecil (Andersen *et al.*, 2000; Vitt *et al.*, 1998).

hCG terdiri kombinasi hormon FSH dan LH. Reseptor FSH di ovarium ada pada sel *granulosa* yang berperan langsung pada perkembangan folikel saat maturasi oosit (Simoni *et al.*, 1997). Adapun reseptor LH lebih banyak di sel *theca* ovarium, yang berperan langsung pada proses *steroidogenesis*. Kedua reseptor FSH dan LH dapat ditampilkan aktivitasnya dengan pemeriksaan menggunakan metode immunohistokimia (Khas and Menon, 1998). Maturasi sel telur di luar tubuh (IVM) tidak akan berhasil dengan sempurna apabila tidak diciptakan kondisi yang serupa dengan di dalam tubuh induknya (*In Vivo*). Maturasi oosit maupun pertumbuhan embrio secara *In Vitro* diperlukan medium yang berfungsi sebagai tempat persediaan nutrisi dan sekaligus tempat pembuangan metabolit nutrisi. Zat-zat ada dalam medium merupakan zat - zat yang terlarut contohnya gula, asam amino dan ion organik yang diperlukan untuk metabolisme sel (Mahaputra dkk., 1999).

Pada proses IVM dibutuhkan pula penambahan hormon FSH dan LH. Sebelum dilakukan IVM dan IVF pada manusia, pemberian terapi hCG ataupun rFSH pada resepien menunjukkan kemampuan yang sama jika diaplikasikan hingga tingkat *Intra Cytoplasmic Injection* (ICI) (Jacob *et al.*, 1998; Weissman *et al.*, 1999). Pemberian FSH-LH dengan komposisi yang seimbang dalam *in vitro* fertilisasi pada ternak ruminansia memberikan hasil yang sangat baik. Dosis FSH dan LH yang diberikan, masing-masing adalah 10 µg/ml (Martino *et al.*, 1994; Goto and Iritani, 1992; Sirard and Lambert, 1985).

Kajian folliculogenesis secara seluler dimulai dari hormon GnRH, penanggulangan terhadap gangguan keseimbangan hormonal FSH – LH rendah adalah pertama – tama diperbaiki penyebabnya seperti, ransum pakan diperbaiki dengan kualitas pakan yang baik dan seimbang, lingkungan yang lebih baik, kandang yang lebih bersih, pergerakan udara yang baik, lebih longgar, sering dikeluarkan dari kandang agar lebih banyak bergerak. Bila keadaannya sudah menjadi lebih baik disusul dengan penyuntikan preparat FSH – LH atau like FSH – LH yaitu FSHp (Porcine FSH), Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) dan Human Chorionic Gonadotropin (hCG) (Allcivar *et al.*, 1992 ; Roche, 1996).

Equine chorionic gonadotropin (hCG), awalnya disebut gonadotropin serum betina hamil (PMSG), pertama kali dijelaskan oleh Cole dan Hart dan terdeteksi hampir serupa oleh Zandek pada tahun 1930. Pada tahun 1938, sebuah benteng standar internasional yang dibangun oleh PMSG dibentuk, dan konsep 'protokol dua langkah' (PMSG untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan folikuler, diikuti oleh induksi ovulasi dengan menggunakan hCG) diterapkan pada tahun 1941 untuk manusia. Meskipun protokol ini digunakan selama bertahun-tahun, pembentukan antibodi yang disebabkan oleh persiapan gonadotropin ini menyebabkan penarikannya untuk digunakan pada manusia pada tahun 1972. Sebaliknya, sejak diperkenalkannya 1934 dosis 750 unit untuk menginduksi estrus dan ovulasi. hCG masih digunakan pada ternak. Pemandangan folikel mulai timbul secara simultan tetapi banyak yang menjadi atresia selama fase luteal dari siklus gelombang pertumbuhan folikel dimana satu diantaranya menjadi folikel dominan. Perubahan biokimia pada perkembangan folikel subordinat menjadi folikel dominan saat dilakukan analisa perubahan kimia terjadi sangat kontras tergantung prinsipnya adalah FSH, LH dan receptor yang ada.

Equine chorionic gonadotropin termasuk dalam famili hormon glikoprotein yang sama dengan hormon perangsang LH, FSH dan tiroid. Sementara LH dan FSH disekresikan oleh kelenjar pituitary pada semua spesies mamalia, hCG diproduksi di

cangkir endometrium dari kuda betina hamil. Equine chorionic gonadotropin terdiri dari non-kovalen a dan b-subunit, dan struktur protein dari subunit b identik dengan LH. Sebuah kode gen tunggal untuk subunit-a, sementara gen lain mengkodekan subunit b. Dengan demikian, perbedaan aktivitas pengikatan antara LH dan hCG kemungkinan besar disebabkan oleh perbedaan ukuran dan struktur rantai N dan O-glycan yang terkait dengan rantai a dan b polipeptida. Memang, hCG mengandung lebih banyak dan lebih banyak karbohidrat daripada LH equine (eLH). Equine chorionic gonadotropin mengandung asam sialic, terutama pada b-subunit, yang memberi hormon pada paruh panjang 26 jam di equine, lebih lama dari masa paruh FSH dan LH. Akibatnya, hCG memiliki paruh paruh paling lama dalam sirkulasi sapi di antara gonadotropin alami, karena molekulnya mengandung oligosaccharides yang sangat sialyated yang mengurangi metabolisme dan penyaringan hCG di hati dan ginjal, masing-masing. Oleh karena itu, setelah pemberian 1500 UI hCG, konsentrasi aktif hCG pada aliran darah dapat bertahan hingga 118-123 jam pada Pemanfaatan hCG untuk tujuan folikulogenesis pada sapi belum dapat dijelaskan mekanismenya baik secara *in vivo* yaitu perkembangan folikel pada ovarium maupun secara *in vitro* pada proses maturasi oocyte sapi. Apakah mekanisme tersebut mengikuti kaidah kerja FSH – LH endogen atau ada faktor lain. Untuk itu diperlukan penelitian yang dapat membantu pantauan alat ultra sono grafi (USG) untuk mengetahui gelombang pertumbuhan folikel (Follicular wave) atau pemantauan maturasi oocyte secara *in vitro*. Gangguan keseimbangan hormonal yang menyebabkan menurunnya kesuburan ternak dan kemajiran pada ternak sapi dapat diperberat oleh banyak faktor. enyuntikan preparat FSH – LH atau FSH Like – LH FSHp (Porcine FSH), Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) dan Human Chorionnic Gondotropin (hCG).

Sel chorionic mulai berkembang pada embrio kuda di awal minggu ke-7 kehamilan dan mulai memasuki endometrium untuk membentuk cangkir endometrium (Allen dan Moor, 1972). Ini menunjukkan bahwa hCG pertama dapat dideteksi dalam serum kuda oleh Catchpole dan Lyons, pada tahun 1934. Sementara itu ada pola umum dimana tingkat sirkulasi hCG mencapai puncak pada 70-80 hari kehamilan, pertimbangan tentang variasi dapat ditemukan pada tiap kuda betina, baik di waktu puncak maupun pada jumlah hCG yang ditemukan dalam serum. Variasi dalam banyaknya peredaran hCG telah dikaitkan dengan faktor genetik, baik pengaruh faktor genetik dari pejantan maupun induk (Murphy dan Martinuk, 1991) (Martinuk et al., 1990). Jangka waktu hidup dari sel yang memproduksi hCG tampak tetap, seperti ektopik implan sel chorionic yang dipindahkan

ke kuda persisten yang tidak bunting dan yang kemudian mempertahankan sekresi hCG untuk 75-100 hari (de Mestre et al., 2011), mirip dengan keberadaan hormon yang ada di dalam alat kelamin betina.

Fungsi luar biasa dari hCG yang telah dimanfaatkan dalam beberapa konteks eksperimental dan komersial, adalah kemampuannya untuk mengekspresikan aktivitas follicle-stimulating hormone (FSH) pada spesies non-equid. Sedangkan dasar biologis fenomena ini tetap tidak sepenuhnya dipahami, penjelasan intuitif adalah bahwa aktivitas ganda harus didasarkan pada penentu struktural hCG atau LH dan FSH reseptor pada spesies non-equid. Salah satu karakteristik dari hCG adalah jangka waktu efeknya yang diperpanjang. Ketika disuntikkan ke tikus, hCG menampilkan eliminasi paruh waktu kerjanya lebih dari 5 jam (Aggarwal dan Papkoff, 1985), sementara pada domba adalah 21 jam (Murphy dan Martinuk, 1991). Pada sapi, yang paruh waktu hilangnya efek hormon diperkirakan 45,6 jam (Schams et al., 1978). Dasar terjadinya persisten ini dalam sirkulasi adalah glikosilasi yang luas dari molekul, yang terdiri dari sekitar 45% dari berat molekulnya (Papkoff, 1974; Matteri et al., 1987).

Penggunaan yang paling meluas dari hCG adalah eksploitasi aktivitas FSH dalam induksi estrus pada hewan dewasa. Seperti pada usia dimana babi mencapai pubertas, telah menjadi standar praktik industri untuk memajukan pubertas pada babi dengan kombinasi dosis hCG yang relatif rendah (400-500 IU) untuk menginduksi perkembangan folikel dan 100-200 IU hCG untuk menginduksi ovulasi. Meskipun pada prakteknya bervariasi, hewan biasanya tidak dikawinkan langsung setelah saat estrus diinduksi, melainkan sekitar 21 hari kemudian pada estrus kedua (Martinat-Butte et al., 2011). Hal ini menyebabkan kemungkinan beranak sedikit lebih besar (Bartlett et al., 2009). Pengobatan dengan hCG telah jarang digunakan untuk menginduksi pubertas pada ruminansia, meskipun telah berhasil digunakan pada domba (Sawalha et al., 2011).

Salah satu isu utama dalam reproduksi sapi adalah durasi anestrus postpartum, panjangnya merupakan konsekuensi yang luas dari produksi. Penyebab utama dari interval waktu yang panjang yang mendahului estrus pertama setelah partus adalah berkurangnya sekresi gonadotropin, yang disebabkan oleh induk yang menyusui anaknya atau kekurangan gizi, atau lebih sering, kombinasi keduanya. Beberapa usaha telah dilakukan untuk menyikapi terjadinya anestrus, termasuk terapi progesteron, stimulasi langsung hipofisis oleh GnRH dan pengobatan dengan hCG. Seringkali pengobatan ini diberikan dalam kombinasi (Bo et al., 2003).

Penggunaan hCG yang terkait telah berada dalam protokol sinkronisasi yang telah memungkinkan inseminasi pada sapi dengan waktu yang tetap (Sa Filho et al., 2010), pada domba (Martemucci dan D'Alessandro, 2011) dan pada sinkronisasi dari sapi resipien untuk transfer embrio dengan waktu yang tetap (Bo et al., 2011). Untuk waktu inseminasi yang tetap, pengobatan berdasarkan hCG dengan dosis rendah (300 IU) diikuti dengan prostaglandin atau progesteron/sinkronisasi estrogen telah diterapkan untuk sapi jenis Zebu (*Bos indicus*), dengan hasil yang bervariasi (Dias et al., 2009; Butler et al., 2011). Penggunaan hCG terbukti menguntungkan dalam meningkatkan angka kebuntingan untuk transfer embrio dengan waktu yang tetap, protokol independen yang digunakan untuk sinkronisasi (Bo et al., 2011).

Diketahui bahwa hCG menampilkan aktivitas dari FSH dan LH, dan kedua hormon ini diperlukan untuk pematangan peri-ovulasi dari folikel mamalia. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa pemberian hormon ini meningkatkan frekuensi ovulasi dan menghasilkan peningkatan sirkulasi progesteron, namun, dalam beberapa studi, peningkatan progesteron tidak berkorelasi dengan peningkatan angka kehamilan (Nogueira et al., 2004). Namun, dalam beberapa protokol, peningkatan regulasi hCG terinduksi dari sintesis progesteron telah menghasilkan peningkatan keberhasilan kehamilan (Baruselli et al., 2010). Saat ini, mekanisme yang hanya diketahui untuk meningkatkan fertilitas dengan pemberian hCG dosis rendah adalah peningkatan regulasi dari fungsi luteal. Dalam arti, efek ini meniru efek yang dihasilkan oleh hCG kuda betina, yaitu dukungan dari corpus luteum aksesori sehingga meningkatkan dukungan dari ovarium terhadap uterus pada awal kehamilan (Allen, 2001).

Meskipun telah banyak dilakukan studi tentang biologi hCG sejak penemuannya sekitar 80 tahun yang lalu, banyak aspek yang masih belum diketahui atau kurang dipahami. Misalnya, tidak sepenuhnya yakin apakah sebenarnya peran hCG pada kuda. Peningkatan teknologi telah dilakukan untuk memahami aktivitas biologis ganda dari hCG pada spesies non-equid, tetapi penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengkonfirmasi dan memperluas temuan saat ini. Teka-teki yang rumit ini tidak mengurangi kegunaan dari hCG dalam mendorong folikulogenesis, memajukan pubertas, membalikkan anestrus menjadi estrus dan menginduksi superovulasi untuk gertak birahi pada sejumlah spesies.

Tujuan

Tujuan jangka panjang yang akan dicapai dalam penelitian ini adalah: Memproduksi hormon hCG untuk penanganan ovulasi pada sapi

Beberapa Tinjauan Pustaka Yang Mendukung hCG

Beberapa penelitian pendahuluan Sebagian besar sapi dan sapi yang diovlasi setelah pemberian hCG dibandingkan dengan mereka yang diobati dengan GnRH. Ada kecenderungan untuk proporsi yang lebih besar dari sapi berovulasi folikel setelah pemberian hCG pada awal PO gagal untuk menjalani regresi luteal oleh Hari 3 pasca-PGF2 administrasi dibandingkan dengan ovu yang melekat pada folikel sebagai respon terhadap GnRH. Proporsi sapi dan sapi yang disinkronkan dengan PO tidak berbeda antara perlakuan, tetapi sapi yang berovulasi ke hCG memiliki penurunan tingkat sinkronisasi yang signifikan ke PO dibandingkan dengan mereka yang berovulasi ke GnRH. Dalam Experiment 2, banyak parameter reproduksi yang diukur pada dairy sapi dipengaruhi oleh usia dan berkembang biak dan kemungkinan karena beberapa dara pra pubertas sebelum onset PO. Oleh karena itu, tidak ada keuntungan yang signifikan untuk menggantikan suntikan pertama GnRH PO dengan hCG baik untuk sapi atau sapi pada karakteristik dan respon ovarium, serta kesuburan berikutnya (Binversie et al, 2012). Stimulasi fungsi luteal yang kemungkinan akan meningkatkan sekresi progesteron melalui hCG pada hari ke 4 atau GnRH pada hari ke 12 pasca-AI tidak menghasilkan pengurangan tingkat kematian embrio. Ini tampaknya menguatkan temuan terbaru dari Royal et al. (2000) menunjukkan bahwa penurunan kesuburan yang diamati pada tahun-tahun terakhir dikaitkan dengan luteolysis yang tertunda menghasilkan peningkatan panjang fasa luteal rata-rata dan tidak terhadap defisiensi luteal atau konsentrasi progesteron yang rendah. Data ini menunjukkan bahwa pada sapi perah produksi tinggi dalam kondisi sedang, defisiensi luteal setelah IB bukan merupakan sumber utama mortalitas embrionik (Tefara et al, 2001). Kesimpulannya, awal dari protokol Ovsynch dengan hCG tidak meningkatkan ovulasi dan

tingkat konsepsi pada sapi perah laktasi. Dengan demikian, hCG bukan pengganti yang sesuai untuk GnRH pertama Ovsynch. Bagaimana pernah, peningkatan tingkat ovulasi dalam menanggapi pemberian hormon Ovsynch pertama dapat memiliki efek signifikan pada tingkat konsepsi (Keskin et al., 2010). Tindakan langsung hCG pada ovarium tidak menimbulkan perbedaan dari GnRH, menunjukkan bahwa jumlah FSH dan LH di kolam yang dapat dilepaskan setelah injeksi GnRH pada sapi pada 55 hari atau lebih setelah partus selesai untuk menginduksi sinkronisasi estrus. (Rensis et al., 1998).

Menurut hasil keseluruhan dari penelitian ini, ada efek abenefisial untuk menerapkan hCG pasca TAI melalui peningkatan P / AI dan PL yang karena efeknya pada peningkatan konsentrasi P4. Selain itu, disarankan untuk menerapkan hormon hCG untuk mengulang pembiakan sapi perah selama tekanan panas musim panas karena dapat mengatasi masalah P4 rendah melalui rute yang sama. Akhirnya, administrasi hCG pada Hari ke-6 menunjukkan sedikit keunggulan selama Hari 4 tetapi perlu penyelidikan lebih lanjut. (Alnimer dan Shamoun, 2013)

Ada indikasi bahwa dosis hCG intrafollicular yang tidak memadai untuk induksi ovulasi pada sapi yang diberikan dapat menghasilkan folikel cystic. Cystic follicles (~ 20 mm) terjadi pada 3 heifers yang tidak berovulasi sebagai respons terhadap dosis 0,1 dan 0,01 intrafollicular. Sebaliknya, folikel kistik tidak terbentuk pada 12 sapi yang tidak terkena hCG. Folikel kistik Gelombang I memiliki diameter pasca perawatan maksimal 24, 26, dan 31 mm dibandingkan dengan diameter maksimal 13 hingga 19 mm pada dara nonovulasi lainnya. Pada akhir interval interovulasi, folikel kistik adalah 18 dan 27 mm (1 folikel pecah selama pemeriksaan), sedangkan pada sapi dara tanpa ovulasi yang diinduksi folikel dominan dari Gelombang 1 telah mengalami kemunduran hingga 3 sampai 8 mm pada akhir interval interovulasi. Tidak ada indikasi ultrasonik bahwa folikel kistik menjadi luteinized, dan panjang interval interovulasi tidak berubah. Dengan demikian, injeksi intrafollicular memiliki potensi penggunaan dalam studi ovarium kistik; lebih jauh lagi, pendekatan ini mungkin berguna secara klinis, karena pengembangan antibodi terhadap molekul pengobatan dapat dinegasikan atau diminimalkan dengan rute injeksi lokal. (Kot et al., 1995)

Gelombang Pertumbuhan Folikel Setelah Penyuntikkan hCG dengan USG

Gelombang Pertumbuhan Folikel pada sapi di FKH pertama kali dipaparkan tahun 1999. Dengan penyuntikan PGF 2α dan hCG dengan pantauan USG Sonovet (Hariadi et al, 1997 ; Bintara S, 1999).

Berbagai tingkat perkembangan folikel dijumpai tersebar pada permukaan kedua ovarium pada setiap waktu dari siklus birahi pada sapi. Biasanya hanya satu folikel yang mencapai masak dan diovulasikan pada setiap Siklus. Banyak diantara folikel yang tidak tumbuh dan mengalami degenerasi tanpa disertai perkembangan dari sel telur akan berkurang karena mengalami proses degenerasi. Banyak faktor yang mempengaruhi jumlah folikel yang berkembang selama siklus birahi, misalnya spesies hewan, fase reproduksi, keadaan lingkungan, umur induk dan genetik (Hardjopranto, 1995).

Pertumbuhan folikel sampai menjadi folikel de Graaf meliputi perubahan-perubahan pada ukurannya, jumlah lapisan sel granulosa, pertumbuhan sel teka, dan posisi sel telur keliling sel granulosa. Banyaknya folikel de Graaf yang terbentuk dalam siklus birahi tergantung pada sifat – sifat genetik dan keadaan lingkungan dari hewan. Pada sapi, biasanya terbentuk satu folikel de Graaf dari folikel primer dalam satu Siklus birahi sehingga pada waktu birahi hanya satu sel telur dilepaskan. Folikel lain yang sedang tumbuh akan mengecil dan berat tapi setelah pada siklus birahi terjadi ovulasi.

Pengetahuan mengenai perkembangan folikel pada mamalia semakin meningkat dengan digunakannya peralatan Ultrasonografi (USG). Ultrasonografi dapat memonitori fungsi ovarium dan menambah pengetahuan kita mengenai gelombang folikel. Pada ternak sapi ultrasonografi dapat mendeteksi gelombang folikel selama siklus birahi, dan dekade terakhir ini telah ditemukan pada sapi adanya 2 – 3 pergantian gelombang folikel selama siklus birahi yang lamanya 22 hari, dengan folikel tunggal pada tiap gelombangnya. Jadi, dua atau tiga pergantian folikel dominan terjadi selama satu siklus birahi (Ashar et al, 1997 : Skidmore et al, 1996).

Siklus birahi yang dikombinasikan dengan hCG dengan dua gelombang pertumbuhan folikel, gelombang pertama terlihat pada saat ovulasi atau hari ke-0 dengan diameter folikel 40 sampai 50 mm. Sedangkan untuk gelombang yang kedua akan terlihat pada hari ke-10 (Ginther et al, 1989).

Penemuan akhir – akhir ini menunjukkan bahwa gelombang pertumbuhan folikel dapat diperpendek maupun diperpanjang dengan melakukan manipulasi terhadap folikel dominan. Estradiol mempunyai pengaruh menyebabkan atresia, sedangkan hCG menyebabkan ovulasi dari folikel dominan. Atresia folikel pertumbuhan yang maksimal

sampai pertengahan fase statik. Demikian pula pada fase tersebut pemberian hCG dapat merangsang timbulnya ovulasi (Fricke et al, 1993). Baik atresia maupun ovulasi folikel dominan dapat merangsang timbulnya gelombang pertumbuhan folikel yang baru (Hariadi et al, 1997).

Pengertian Umum Ilmu Kemajiran atau Infertility

Ilmu kemajiran dapat dibagi menjadi 2 pengertian yaitu *stetrility* yaitu kasus kemajiran yang tidak bisa diobati dan *infertility* yaitu kasus kemajiran yang bisa diobati dan masih mempunyai harapan sembuh, merupakan satu matarantai dan tak dapat dipisahkan dari ilmu-ilmu reproduksi lainnya. Kegiatan penanggulangan penyakit reproduksi yang didasarkan pada ilmu kemajiran, memberi informasi terakhir dalam penentuan tampilan reproduksi ternak. Tanpa usaha penanggulangan kegagalan reproduksi, tampilan reproduksi yang diperoleh adalah suatu gambaran yang semu yang tidak mencerminkan kemampuan reproduksi nyata dan optimal suatu kelompok ternak. Kemampuan reproduksi yang optimal hanya dapat dicapai sesudah kegiatan penanggulangan kemajiran yang dilaksanakan secara berkesinambungan.

Setelah dihadapkan pada beRBCagai masalah reproduksi yang dimanifestasikan dalam angka-angka penurunan populasi ternak yang mengkhawatirkan di negeri ini, kini disadari bahwa penanggulangan kemajiran harus dipadukan dengan kegiatan pemeriksaan kebuntingan dan inseminasi buatan. Kesadaran ini harus diisi dengan kegiatan-kegiatan nyata dalam program pemberantasan penyakit reproduksi secara nasional.

Gangguan atau kegagalan reproduksi adalah berkurangnya kemampuan atau ketidak mampuan individu untuk menghasilkan anak secara normal, hal ini mungkin hasil dari salah satu atau atau kombinasi dari beberapa penyebab. Bergantung pada latar belakang, pengalaman dan pendidikannya, masing masing orang mungkin mempunyai pendapat yang beRBCeda-beda terhadap penyebab dari suatu kegagalan reproduksi dari suatu kelompok ternak dan mungkin mengabaikan pada kemungkinan yang lain. Misalnya saja rendahnya tampilan reproduksi pada kelompok ternak didaerah tropis oleh seorang ahli ilmu faal mungkin hal ini diakibatkan oleh karena stres panas (*heat stress*), oleh ahli genetika hal ini mungkin akibat dari kelainan genetik, atau oleh seorang mikrobiologis kelainan tersebut mungkin diakibatkan oleh adanya penyakit infeksius dan seterusnya

Sebagai dokter hewan, kita mempunyai tanggung jawab untuk melakukan pendekatan yang sebenarnya dan meletakkan masalah tersebut pada proporsi yang

sebenarnya dengan melakukan identifikasi terhadap penyebab penyakit yang mengakibatkan gangguan reproduksi pada ternak – ternak tersebut. Dengan demikian kita dapat memberikan jawaban yang tepat tentang penyebab gangguan reproduksi tersebut. Kemudian selanjutnya memberikan solusi yang tepat untuk melakukan tindakan baik untuk pencegahan maupun pengobatannya. Beberapa tindakan pencegahan dan pemberantasan yang relatif efektif sudah dikembangkan terhadap beberapa penyakit kelamin menular termasuk dalam hal ini adalah brucellosis dan IBR (*Infectious Bovine Rhinotracheitis*). Peternak dan para dokter hewan perlu mengenal, menghayati dan melaksanakan pemanfaatannya. Sudah jelas bahwa penyebab rendahnya produktivitas ternak di negeri kita salah satunya adalah akibat rendahnya reproduktivitas ternak. Oleh karena itu diperlukan peningkatan efisiensi reproduksinya, namun demikian peningkatan efisiensi reproduksi adalah suatu hal yang cukup rumit karena banyaknya faktor yang terlibat di dalamnya. Cara penanggulangan yang baik terhadap berbagai macam gangguan reproduksi yang mengakibatkan rendahnya efisiensi reproduksi tersebut memerlukan diagnosis yang tepat, penanganan atau pengobatan yang sesuai, dan penasehat yang trampil, ulet dan jujur.

Pada dasarnya sebab-sebab gangguan reproduksi pada ternak dapat meliputi hal-hal sebagai berikut : iklim/musim, bangsa, abnormalitas genetik, gangguan perkembangan kongenital, gangguan hormonal, intoksikasi, penyakit infeksius, kondisi patologik, gangguan tingkah laku dan kesalahan manajemen.

Reproduktivitas Sapi di Jawa Timur Mewakili Populasi Nasional

Mengutip dari ulasan Dahlan Iskan (Jawa Pos 23 Februari 2014) Soal populasi sapi dan kebutuhan daging yang diibaratkan Dokter Hewan salah resep. Ini tidak pernah dibahas dalam pusat pengambilan keputusan, saat menjadi Menteri BUMN tidak pernah terfikirkan ternyata inilah polemik pangkal penyebab mahalanya harga daging. Kalau boleh kita menengok kebelakang sebetulnya kecerdasan suatu bangsa dapat dihitung dari seberapa banyak mereka mengkonsumsi daging atau protein setiap harinya. Dia ingat ketika terjadi lonjakan harga daging dan susu. Pembahasannya selalu sangat ilmiah, ilmu *supply and demand*, ilmu dagang, ilmu hewan dan peternakan, ilmu logistic dan carut marut ilmu ilmu lainnya yang tidak pernah menyelesaikan masalah. Kesimpulan yang sangat Ilmiah Indonesia hanya cocok untuk penggemukkan sapi tidak cocok untuk Pembibitan Sapi. Di Indonesia membuat anak sapi hingga umur 6 bulan biayanya 6 juta rupiah,

sedangkan di Australia hanya 2 juta, tetapi biaya penggemukan sapi di Indonesia bisa ditekan jauh lebih murah karena banyaknya produk – produk limbah pertanian yang masih bisa dikonsumsi ternak. Maka logikanya sangat ilmiah beli saja bibit sapi dari Australia dibesarkan di Indonesia, akan tetapi dengan kurs dolar melewati 13.000 rupiah apa yang terjadi?. Alasan lain luas wilayah di Australia memungkinkan untuk memelihara sapi di padang penggembalaan. Di Indonesia tidak kalah luasnya kalau terjadi reklamasi bekas tambang di Kalimantan , Sulawesi Irian Jaya dan Sumba. Pernyataan ini harus hati hati dilontarkan jangan sesekali mengatakan siapa yang salah. Akibatnya, masuklah oknum – oknum yang tidak bertanggung jawab yang dapat menentukan kuota harus berapa sapi potong dan sapi perah diimpor dari Australia yang banyak melibatkan beberapa politisi tanpa didasari data base yang jelas. Kalau seperti ini peternaklah yang dirugikan begitu saat sapi lepas panen menjadi telat panen dan biaya pemeliharaan semakin tinggi maka memelihara Rojokoyo menjadi Rojorugi. Banyak Petani terutama di Pulau Jawa yang mempunyai lahan semakin sempit telah beralih menjadi Petani Peternak dengan memanfaatkan lahan sempitnya dengan mengupayakan beRBCbagai teknologi memanfaatkan hasil limbah pertanian untuk meningkatkan pendapatan mereka, tetapi sering mengalami kerugian akibat kebijakan yang berubah–ubah. Kalau kebijakan impor ini dilakukan maka kita harus waspada terhadap kemungkinan besar penyakit *zoonosis* yang mengikutinya seperti *Medcow* (Sapi Gila), *Brucellosis*, *Anthrax*, *Rinderpest*, *Shipping Diseases*, *Blue tongue*, *TBC* dan *Foot and Mouth disease* serta Penyakit yang beRBCahaya lainnya harus kita waspadai. Disinilah peran Dokter Hewan Karantina sangatlah besar. Jangan sampai terjadi kecolongan penyakit *zoonosis* itu mengikuti ternak yang kita impor tersebut. Karena sering penyakit tersebut diatas muncul saat–saat tidak terduga seperti terjadinya penyakit *anthrax* beberapa waktu terakhir ini (tahun 2014) di Kabupaten Blitar, hal ini bisa meracuni generasi kita di masa yang akan datang.

Untuk mendeteksi penyakit–penyakit tersebut tidaklah mudah, diperlukan ketelitian yang tinggi. Penyelenggaraan perkarantinaan di sektor pertanian di Indonesia diperkenalkan oleh pemerintah Hindia Belanda sejak tahun 1877. Menurut UU No. 16/1992, Karantina didefinisikan sebagai tempat pengasingan dan/atau tindakan sebagai upaya pencegahan masuk dan tersebarnya Hama dan Penyakit Hewan Karantina (HPHK) Mencegah masuk dan tersebarnya HPHK, penyakit hewan peliharaan, eksotik, *zoonosis* dan penyakit beRBCahaya lainnya mendukung/ mempertahankan status bebasnya Indonesia dari

penyakit hewan eksotik-zoonosis-berbahaya dan melindungi sumber daya alam hayati Indonesia hewan lain dan manusia.

Sebagai solusinya perjalanan panjang impor sapi kita maksimalkan sumber daya manusia kita terutama BBIB (Balai Besar Inseminasi Buatan) dan BIBD (Balai Besar Inseminasi Buatan Daerah) seperti yang dimiliki oleh Universitas Airlangga untuk menciptakan sapi sapi yang berkualitas baik sapi potong maupun sapi perah.

Secara nasional maka akan lahir setiap tahunnya ternak sapi paling sedikit 2.307.084 ekor, hal ini bukan tidak mungkin karena Provinsi Jawa Timur adalah merupakan provinsi padat ternak, lebih kurang sepertiga ternak sapi seluruh Indonesia berada di Jawa Timur. Peningkatan taraf hidup, kecerdasan dan kesejahteraan rakyat merupakan tujuan pembangunan nasional. Pengembangan dan perbaikan produksi ternak adalah salah satu faktor penunjang dalam usaha pencapaian tujuan tersebut.

Pengelolaan reproduksi merupakan bagian yang amat penting dalam suatu usaha peternakan. Tujuan dari pengelolaan reproduksi yang baik pada ternak, adalah untuk memperoleh produksi ternak yang sebanyak-banyaknya sehingga diperoleh keuntungan yang setinggi-tingginya bagi peternak. Produksi yang secara langsung dapat dinikmati peternak adalah berupa susu dan daging yang meningkat, disamping memperoleh anak setiap tahun. Demikian pula biaya pemeliharaan, biaya pengobatan gangguan reproduksi, dan biaya operasional inseminasi buatan (IB) dapat ditekan serendah-rendahnya, agar dapat dicapai efisiensi reproduksi yang baik, sehingga produksi ternak dalam bentuk daging dan susu dapat dicapai, maka diperlukan pengelolaan reproduksi yang baik pula. Dengan produktivitas ternak yang tinggi, keuntungan diharapkan dapat diperoleh oleh peternak dalam jumlah yang memadai. Kesalahan pengelolaan reproduksi dapat mendorong terjadinya penurunan kesuburan pada ternak, dan mengakibatkan kerugian. Dalam pengelolaan reproduksi ternak yang baik, dapat menghasilkan keuntungan yang besar, faktor produksi yang harus mendapat perhatian antara lain adalah : Pemberian pakan yang berkualitas baik dan cukup. Lingkungan serasi yang mendukung perkembangan ternak. Tidak menderita penyakit khususnya penyakit menular kelamin. Tidak menderita kelainan anatomi alat kelamin yang bersifat menurun, baik sifat yang berasal dari induknya maupun berasal dari pejantannya. Tidak menderita gangguan keseimbangan hormonal khususnya hormon reproduksi cukup kadarnya di dalam darah, serta sanitasi kandang yang baik.

Perlu kiranya dibuat suatu program kesehatan reproduksi pada ternak yang efektif agar dapat menghasilkan efisiensi reproduksi yang lebih baik sehingga lebih meningkatkan

pendapatan peternak yang berlipat daripada sebelumnya. Dalam menanggulangi suatu kasus gangguan reproduksi pada ternak khususnya pada sapi perah, usaha yang perlu digalakkan adalah melaksanakan program kesehatan reproduksi. Dalam program kesehatan reproduksi, kegiatan yang dilakukan adalah meningkatkan ketrampilan dan kesadaran beternak bagi peternak antara lain adalah :

- Memberikan penyuluhan yang intensif tentang teknik peternakan
- Memberi latihan dan pendidikan tentang pencegahan atau tehnik penanggulangan gangguan reproduksi secara dini, yang diberikan secara tidak terlalu mendalam.
- Meningkatkan kesadaran peternak dengan memberi contoh di lapangan, bahwa daya reproduksi yang baik tanpa ada kasus kemajiran dapat meningkatkan efisiensi reproduksi.

Dengan demikian, selanjutnya akan meningkatkan produktivitas ternak mereka, berarti memberi keuntungan dan pendapatan yang lebih tinggi. Semua ini tergantung pada kemampuan peternak akan hasil latihan dan pendidikan yang telah diperoleh seperti siklus birahi, gejala birahi, deteksi birahi, ransum pakan, cara pertolongan kelahiran, praktek beternak yang baik, program vaksinasi, penanganan pedet, pengelolaan sapi dara, dan lain-lain.

Pemeriksaan ternak betina produktif yang akan disembelih di rumah potong hewan oleh petugas seharusnya dilakukan secara rutin setiap hari karena hal ini ada payung hukum nya, pemeriksaan tersebut dilakukan terutama pada rumah potong hewan yang berlokasi di kantong-kantong ternak betina. Pemeriksaan secara rutin setiap bulan pada ternak betina oleh petugas kesehatan meliputi pemeriksaan melalui palpasi rektal, pengobatan pada tiap induk yang menderita gangguan reproduksi, dan lain-lain. Hasil pemeriksaan dicatat, misalnya adanya siklus birahi yang abnormal, keluarnya kotoran dari alat kelamin, sapi induk yang bunting dari hasil pemeriksaan, induk sapi yang sudah tiga kali di IB tidak menjadi bunting, dan lain-lain. Selain data reproduksi yang dicatat, sekurang-kurangnya dua kali setahun "*pedet*" atau sapi dara harus diukur kecepatan pertumbuhan badannya, tinggi badan, berat badan, dibandingkan dengan nilai baku yang normal untuk masing-masing pengukuran. Pencatatan dilakukan pula terhadap prestasi reproduksi, seperti jarak antar melahirkan, waktu antara melahirkan sampai bunting kembali, jumlah perkawinan untuk satu kebuntingan, angka kebuntingan, prosentase induk yang birahi setelah 60 hari melahirkan, dan rata-rata umur sapi dara yang bunting. Penilaian terhadap prestasi reproduksi induk. Petugas mengadakan evaluasi tentang data

reproduksi yang telah diperoleh, dan dipakai untuk menentukan baik tidaknya efisiensi reproduksi pada kelompok ternak tersebut. Berdasar evaluasi data yang diperoleh, dapat disarankan perubahan-perubahan pengelolaan reproduksi yang mungkin diterapkan pada kelompok ternak tersebut. Pelaksanaan perubahan pengelolaan reproduksi menuju keuntungan yang lebih baik yang terdiri dari : ransum pakan induk yang sedang laktasi atau menyusui anak. Ransum yang diberikan pada induk sapi perah dipakai selain untuk proses reproduksi seperti untuk memelihara kebuntingan juga untuk laktasi dan pertumbuhan badan. Oleh karena itu, induk yang sedang bunting dan laktasi akan membutuhkan ransum yang lebih banyak daripada ransum untuk induk yang sedang laktasi tetapi tidak bunting, sedangkan induk yang sedang laktasi akan membutuhkan ransum yang lebih banyak daripada sapi betina yang sedang tumbuh. Kondisi lingkungan yang kurang serasi, sapi perah sesuai dengan asalnya harus hidup di udara yang dingin sehingga proses reproduksi dapat berjalan normal. Sebaliknya, sapi potong yang ada di Indonesia pengaruh suhu lingkungan tidak terlalu mempengaruhi daya reproduksi. Di daerah tropis dimana suhu udaranya panas sepanjang tahun, produktivitas dan daya reproduksi sapi perah sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan khususnya suhu udara. Deteksi birahi kurang baik, seperti telah diketahui, tanda-tanda birahi pada ternak khususnya pada induk sapi adalah adanya kemerahan, kebengkakan dan alat kelamin luar yang hangat, disertai lendir yang kental dan bersih/transparan yang menggantung keluar dari alat kelamin, dan diikuti dengan tingkah laku homoseks dan suara bengah-bengah pada betina tersebut. Namun kadang-kadang tanda-tanda birahi ini tidak dapat dilihat dengan jelas, bahkan tidak tampak sama sekali. Bila sapi induk selalu ada dalam kandang maka dapat digolongkan sebagai sapi induk yang menderita birahi tenang. Birahi tenang ditandai adanya ovulasi pada ovarium, tanpa diikuti oleh gejala birahi secara klinis yang jelas. Deteksi birahi yang hanya dilakukan didalam kandang sering kali hasilnya nihil, apalagi bila hanya dilakukan sekali dalam sehari. Menentukan waktu yang tepat untuk dikawinkan merupakan faktor penting, karena dapat menghasilkan keuntungan yang besar bagi peternak bila terjadi kebuntingan pada waktu yang tepat. Sebaliknya, waktu perkawinan yang salah cenderung menyebabkan gangguan reproduksi karena dapat menunda kebuntingan. Pengelolaan terhadap uterus pasca melahirkan perlu mendapat perhatian yang serius. Walaupun proses kelahiran berjalan secara normal, pencemaran dari beRBCagai jasad renik pada uterus tetap dapat terjadi. Sanitasi lingkungan khususnya kandang pada waktu melahirkan, sangat menentukan tingkat pencemaran uterus oleh kuman baik kuman spesifik maupun yang

non-spesifik penyebab infertilitas atau sterilitas setelah melahirkan.

Tujuan utama beternak adalah untuk menghasilkan ternak yang dapat tumbuh dan berproduksi cepat secara ekonomi. Pertumbuhan dan reproduksi, keduanya dikendalikan oleh kerja hormon. Supaya reproduksi tersebut efisien, semua hormon harus berfungsi secara baik. Salah satu faktor yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan kesuburan atau kemajiran pada ternak adalah ketidak-seimbangan hormon reproduksi. Hormon reproduksi adalah hormon yang mempunyai sasaran akhir pada alat reproduksi dan dapat terjadi pada setiap periode dari satu siklus reproduksi. Siklus reproduksi sendiri terdiri dari fase birahi, ovulasi, fertilisasi, kebuntingan dan diakhiri dengan kelahiran

Pada sapi perah dikatakan menderita kemajiran sementara atau infertil bila sapi tersebut mengalami gangguan reproduksi yang bersifat sementara (*temporer*), artinya gangguan tersebut cukup ringan dan masih dapat diobati, biasanya tidak menunjukkan gejala birahi yang teratur atau harus dikawinkan beberapa kali sebelum menjadi bunting. Oleh karena itu, kelompok sapi ini tidak dapat beranak pada waktu yang diharapkan. Namun, bila pengobatan dapat dilakukan dengan cara yang tepat dan dalam waktu yang lebih cepat, maka proses reproduksi yang normal makin cepat kembali dan produksi ternak cepat pula. Pada ternak sapi khususnya sapi perah, kelompok yang menderita gangguan reproduksi pada derajat ini meliputi 20-25% dari seluruh sapi betina dewasa..

Derajat yang paling berat bila induk berada pada kondisi majir dimana sebagai induk tidak dapat bereproduksi dan bersifat permanen, artinya gangguan reproduksi ini sudah sedemikian berat sehingga tidak dapat diobati atau ditanggulangi lagi. Ternak kelompok ini harus dikeluarkan dari peternakan karena sangat merugikan peternak, dan pakan yang diberikan tidak diimbangi dengan produksi yang memadai.

Fisiologi Hormonal Pendukung hCG (human Chorionic Gonadotropin)

Regulasi fungsi kelenjar hypofisa, khususnya hypofisa anterior, diawali dari sekresi GnRH oleh hipotalamus dan disebut *releasing factor*. *Luteinizing Releasing Hormone* (LH-RH) merupakan protein yang tersusun dari 10 asam amino (*decapeptide*). Hormon ini menginduksi pelepasan LH atau setara dengan hCG fungsinya dan FSH dari *hypofisa anterior*. Siklus birahi diatur oleh mekanisme endokrin dan neuroendokrin yaitu hormon-hormon yang disekresi oleh hypotalamus, hypofisa anterior dan ovarium. Hormon yang disekresi oleh hypofisa anterior dan terlibat pada mekanisme ini adalah FSH, LH, dan *Luteotrophic Hormone* (LTH). Hormon yang disekresi oleh ovarium adalah *estrogen* dan

progesteron, inhibin, follistatin, serta activin yang semuanya memiliki fungsi khusus dalam pengendalian siklus birahi .

Faktor pelepas (*releasing factor*) yang selanjutnya dikenal sebagai GnRH secara langsung dilepaskan dari hipotalamus ke hipofisa anterior melalui sistem portal. Hipofisa anterior akan melepaskan dua hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH. Hormon FSH berfungsi merangsang pertumbuhan dan pematangan folikel ovarium dengan cara menstimulasi proses sintesis protein dan meningkatkan aktivitas mitosis sel-sel granulosa. FSH berperan pada pembentukan antrum folikuli dan merangsang aktivitas sel-sel granulosa, serta pembentukan cairan folikel. Cairan folikel mengandung estrogen yang meningkatkan fungsi FSH untuk merangsang sel granulosa yang pada akhirnya jumlah reseptor sel granulosa menjadi lebih banyak sehingga akan lebih peka terhadap LH. Salisbury dan VanDemark menyatakan, FSH merupakan hormon yang mengawali siklus birahi, sebab secara normal siklus birahi tidak akan terjadi sebelum folikel tumbuh dan masak. Sebaliknya sekresi FSH dihambat oleh hormon *progesteron* yang dihasilkan oleh korpus luteum, dan *estrogen* yang banyak dijumpai dalam cairan folikuler melalui umpan balik negatif terhadap kelenjar *hypofisa anterior*. Fungsi LH pada hewan betina adalah merangsang sel granulosa dan sel theca pada folikel yang masak (maturasi) untuk mensintesis hormon estrogen, sehingga menyebabkan ovulasi dan pembentukan korpus luteum. LH bekerja sama dengan FSH menggerakkan pemasakan folikel dan pelepasan estrogen. Sesudah pemasakan folikel, LH memicu ovulasi dengan cara menggerakkan pemecahan dinding sel dan pelepasan ovum. Stimulasi pelepasan hormon estrogen dikontrol oleh hormon gonadotropin yang disekresi oleh kelenjar adenohipofisa. Kadar FSH-LH dalam darah dikontrol oleh kadar hormon estradiol dan progesteron. Apabila kadar estradiol dalam darah cukup tinggi maka akan terjadi umpan balik negatif terhadap hipofisa dan menghambat pelepasan FSH. Menjelang ovulasi, konsentrasi estradiol dalam tubuh tinggi dan akan menekan produksi FSH, serta menstimulus pelepasan LH yang akan diikuti oleh terjadinya ovulasi dan saat ini memasuki fase luteal .

Lebih lanjut, Hadley menyatakan, pelepasan FSH juga dihambat oleh inhibin yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa ovarium melalui umpan balik negatif terhadap kelenjar hipofisa dan hipotalamus. FSH dan *FSH like* adalah hormon yang berperan di dalam menumbuhkan gelombang pertumbuhan folikel mulai dari seleksi pertumbuhan folikel hingga menjadi folikel dominan yang akhirnya dapat menjadi ketergantungan terhadap LH ketika kadar FSH mulai menurun. Disinilah letak pelepasan kerja sekresi dua

gonadotropin hormon dimana keduanya dihasilkan dalam satu sel yang sama di bawah kontrol GnRH. Sintesa gonadotropin disimpan dalam granula sekretoris di dalam sitoplasma. Waktu penyimpanan LH di dalam granula sekretoris lebih lama bila dibandingkan dengan FSH.

Siklus gelombang pada pertumbuhan folikel, banyak folikel yang timbul secara simultan, namun banyak pula yang menjadi atresia selama fase luteal. Walaupun demikian, masih ada folikel yang menjadi folikel dominan. Perubahan biokimia selama perkembangan folikel subordinat menjadi folikel dominan sangat tergantung pada konsentrasi FSH-LH dan reseptor yang ada.

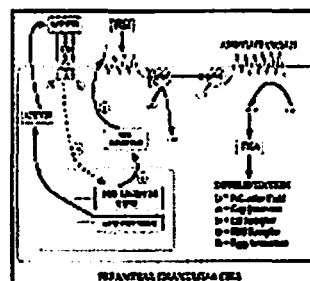
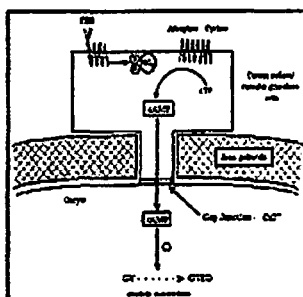
Konsentrasi hormon FSH tidak secara langsung mempengaruhi proses folikulo-genesis. Namun, saat antrum folikel terbentuk, konsentrasi FSH sangat berperan. Aktivitas sel granulosa dan theca dalam folikel dipengaruhi oleh komposisi protein-protein intrafolikuler seperti Inhibin, Aktivin, *Insulin Like Growth Factor Binding Protein* (IGFBP) dan *Insulin Like Growth Factor I* (IGF I), baik secara langsung maupun tidak langsung. Protein-protein tersebut dapat merangsang pertumbuhan folikel dan steroidogenesis lebih lanjut hingga mencapai folikel dominan .

Inhibin dalam cairan intrafolikuler memicu sintesis androgen yang berdampak pada terbentuknya reseptor LH dalam sel theca ovarium. Pada kondisi ini dimungkinkan terjadi mekanisme lokal *feed back* (*feed back loop*) diantara individual folikel yang terkait dengan perubahan inhibin, aktivin, dan ikatan protein (*binding protein*) di bawah pengaruh lingkungan sistemik gonadotropin dan *Growth Hormon*. Pertumbuhan folikel dominan dan perubahan kadar estradiol dipengaruhi oleh kadar inhibin, aktivin, dan IGF *binding protein*. Dugaan ini dibuktikan dengan uji *immunoblot quantitative* terhadap konsentrasi IGF1, IGFBP 2 (IGF *binding protein* 2) dalam cairan intrafolikuler pada fase seleksi (hari 2-4 dari siklus estrus), fase dominasi (terbentuknya folikel dominan pada hari ke 5 siklus estrus) dan fase "*loss of dominance*" (hilangnya folikel dominan dan kembali ke fase seleksi, pada hari ke 8-12 dari siklus estrus) .

Cairan folikel dari folikel dominan berisi *aromatase inhibitor* yang tidak mempengaruhi aktivitas FSH. Protein inhibitor ini diproduksi oleh sel granulosa dan disimpan di dalam cairan folikel. Sintesa protein yang dapat ditera dengan SDS-PAGE di dalam cairan folikel hingga 90 kDa. Protein yang dimaksud adalah IGF-*binding protein*, inhibin, aktivin, dan *proteoglycans*. Senyawa lain dijumpai *tissue inhibitor metallo proteinase* (TIMP), IGFBP3 dan IGFBP4. Inhibin dan estradiol secara langsung mempengaruhi

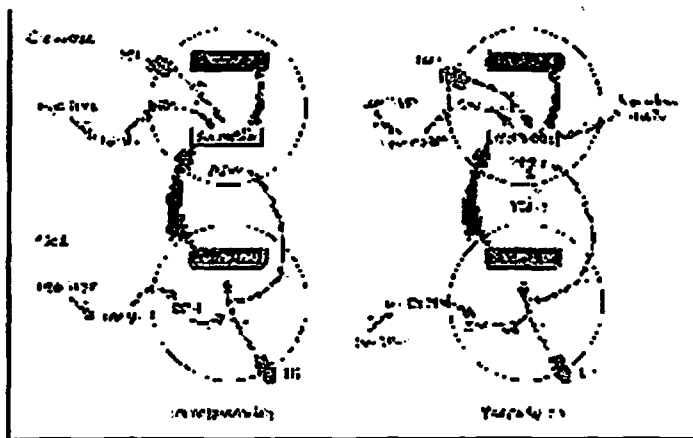
aktivitas hypofisa anterior. Kedua hormon tersebut akan mereduksi proses transkripsi dan stabilitas mRNA yang berkaitan dengan aktivitas GnRH terhadap pelepasan FSH. Estradiol dan inhibin menyebabkan penurunan FSH.

Seleksi dominasi folikel pada sapi terjadi selama gelombang pertumbuhan folikel. Aktivitas korpus luteum di dalam kondisi ini menghasilkan progesterone. Terdapat korelasi antara produksi estradiol dengan pertumbuhan folikel dan gelombang pertumbuhannya. Gelombang pertumbuhan folikel dilihat dari siklus birahi terjadi satu seleksi dimana folikel sub ordinat berkembang menjadi dominan folikel dan yang lain berubah mengalami atresia. Awal dan pada pertengahan fase luteal, folikel dominan yang tidak diovulasikan akan atropi namun yang mengalami ovulasi berkembang menjadi korpus luteum. Setelah FSH berada di dalam folikel, 2–3 hari dari siklus birahi, folikel akan tumbuh. Hari ke 4 dan pada ke 5 dari siklus birahi, folikel menjadi folikel dominan dan terjadi penurunan kadar FSH. Kondisi pada folikel subordinat, hormon estrogen dalam keadaan inaktif karena kadar hormon progesteron tinggi dan kehilangan FSH reseptor. Rendahnya konsentrasi FSH menyebabkan atresia folikel. Folikel dominan, aktivitas reseptor FSH di dalam sel granulosa menurun, karena sel granulosa banyak menghasilkan estradiol. Akhir fase dominan, LH menjadi dependen, dimana folikel bisa menjadi atresia atau justru terjadi ovulasi. Hari ke 3 siklus birahi semua folikel menghasilkan estrogen yang aktif dan pada hari ke 5 hanya folikel dominan saja yang berkembang, kondisi ini folikel sub ordinat lainnya tidak akan berkembang menjadi folikel dominan. Produksi estradiol akan meningkat dan bersama inhibin menyebabkan aktivitas reseptor FSH menurun. Berat molekul inhibin adalah 34 kDa. Model interaksi antara *growth factor* di dalam cairan folikel, steroidogenesis, *Putative Aromatase Inhibiting Peptide* (PAIP) dan granulosa sel dari folikel *mature* dan *immature* dapat dilihat pada gambar 2.6. Pada folikel *immature* terlihat adanya kosentrasi TIMP dan IGFBP yang tinggi, serta rasio aktivin : inhibin rendah dalam cairan folikel. TIMP menghambat pembelahan proteolitik IGF1 dari IGFBP.



Gambar 1. Mekanisme kerja FSH-like secara seluler dan molekuler. Sumber: Roche (1996)

Besarnya produksi TIMP di dalam folikel *immature* mengakibatkan kecilnya bioavailabilitas IGF1 sinergi dengan LH yang merangsang androgen yang diproduksi oleh sel theca dan dengan FSH untuk menstimulir aromatase di dalam sel granulosa. Besarnya kadar aktivin menurunkan produksi androgen oleh sel theca, sebaliknya, TIMP menurunkan kadar IGFBP, IGFBP2 dan IGFBP4 pada folikel yang *mature*, terdapat rasio inhibin : aktivin besar didalam cairan folikel. Aktivitas inhibin pada sel theca merangsang produksi androgen oleh LH. Tingginya IGF1 karena konsekuensi dari penurunan TIMP dan IGFBP juga merangsang produksi androgen oleh sel theca. Kadar androgen yang tinggi memicu aromatisasi pada sel granulosa. Aromatisasi akan berjalan sempurna bila FSH ada di dalam sel granulosa. Androgen di produksi dalam jumlah besar dan aktivitas *aromatase* oleh sel granula-granula berkorelasi dengan produksi estradiol sebagai keluaran dari folikel dominan dan setelah itu *aromatase inhibitor* terjadi setelah aktivitas sel granulosa berakhir.



Gambar 2. Skema folikulogenesis secara molekuler. Sumber: Roche (1996)

Fase seleksi, penghambatan dari folikel dominan dan semua blok diterangkan tentang perubahan estradiol dan formasi inhibin terjadi secara spontan selama 3–5 hari. Peningkatan aktivin pada folikel sub ordinat tidak diblokir. FSH berperan dalam mekanisme inhibin dimana terjadi penurunan kadar setelah hari pertama proses pertumbuhan folikel dan terjadi penurunan pula pada kadar FSH dalam serum darah. Setelah hari ke 5 terjadi kehilangan faktor dominasi, estrogen aktif menjadi estrogen inaktif.

Hari ke 5-8 siklus birahi, folikel dominan kehilangan aktivitas FSH-LH *receptor* karena ada peningkatan produksi estradiol dan *inhibin precursor (Ip)*, *activin* dan *IGFBP2*.

Pemberian progesteron dan prostaglandin dengan dosis rendah dapat digunakan untuk meningkatkan *LH pulsative* jika pada gelombang pertumbuhan folikel yang pertama kadar estradiol, inhibin, IGFBP2 tidak menurun.

Kebutuhan Kombinasi Hormon FSH-LH dan hCG untuk Gangguan Reproduksi pada Sapi

Gangguan reproduksi merupakan salah satu aspek utama yang mengganggu pengembangan peternakan sapi di Indonesia. Beberapa teknologi mutakhir yang telah diciptakan digunakan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak dan mengatasi gangguan reproduksi. Teknologi yang dimaksud adalah induksi birahi, penanganan kasus infertilitas, inseminasi buatan, super ovulasi dan embrio transfer. Dampak gangguan reproduksi yang nyata adalah populasi sapi dan produksi susunya yang rendah. Gangguan reproduksi pada sapi yang paling sering terjadi adalah hipofungsi ovarium karena kesalahan manajemen pakan (Hardjopranjoto, 1995).

Hypofungsi ovarium merupakan kondisi patologik karena gangguan sekresi hormon FSH-LH, sehingga konsentrasi FSH-LH tidak seimbang. Gangguan keseimbangan FSH-LH terjadi karena kesalahan manajemen pakan, stres lingkungan dan defisiensi hormon. Semua kondisi negatif ini menyebabkan terganggunya poros hypothalamus-hypofisa-ovarium dan berdampak pada penurunan sekresi GnRh oleh hipotalamus dan diikuti menurunnya hormon gonadotropin FSH-LH serta mengakibatkan tidak tumbuhnya folikel pada ovarium. Sapi yang menderita hypofungsi ovarium menunjukkan gejala anestrus dalam jangka waktu lama. Ukuran ovarium normal namun permukaannya licin, karena tidak terjadi pertumbuhan folikel. Cara menanggulangi gangguan reproduksi karena hypofungsi ovarium diperlukan perbaiki faktor manajemen penyebabnya disamping pemberian preparat hormonal *FSH-LH like*. Bila keadaannya sudah menjadi lebih baik dapat disusul dengan penyuntikan preparat kombinasi FSH-LH atau *FSH-LH like* seperti, PMSG dan *hCG*.

Kerugian Ekonomi akibat Gangguan Reproduksi pada Ternak

Ada beberapa ukuran yang dipakai untuk menyatakan adanya gangguan reproduksi pada kelompok ternak perah, yaitu:

- Jarak antar beranak melebihi 400 hari,
- Jarak antar melahirkan sampai bunting kembali melebihi 120 hari,
- Angka kebuntingan kurang dari 50%.

- Rata-rata jumlah perkawinan per kebuntingan lebih besar dari dua.
- Jumlah induk sapi yang membutuhkan lebih dari tiga kali IB untuk terjadinya kebuntingan melebihi 30%.

Gangguan reproduksi yang terjadi di dalam suatu kawasan peternakan sapi perah, keadaan ini akan diikuti oleh menurunnya angka kelahiran dan produktivitas ternak dalam bentuk susu. Ini merupakan satu kerugian yang besar bagi peternak. Banyak faktor yang dapat menyebabkan terjadinya kemajiran pada ternak. Faktor penyebab gangguan reproduksi dapat dibagi menjadi :

- Gangguan keseimbangan hormon reproduksi, korpus luteum persisten, kista ovarium, hipofungsi ovarium dan lain-lain
- Pengelolaan kurang baik atau salah urus oleh pemiliknya
- Deteksi birahi kurang baik, pemberian pakan kurang, ternak selalu di kandangkan, Penyakit pada alat kelamin khususnya penyakit kelamin menular. . Bakteri (*Brucellosis, Vibriosis, Leptospirosis, Listeriosis*). Virus (*Infectious Bovine Rhino – tracheitis* atau *Infectious Pustular Vulvovaginitis (IBR-IPV)*, *Bovine Viral Diarrhea, (BVD)*, *Blue Tongue* dan *Epididymitis Vaginitis (EpiVag)* Infeksi protozoa (*Trichomoniasis*).
- Kelainan anatomi pada alat kelamin yang bersifat menurun (genetik), hipoplasia ovarium, hipoplasia uterus, kista pada lantai vagina, selaput dara (*hymen*) yang persisten, freemartin, dan lain-lain.
- Kelainan/patologi pada alat kelamin, patologi pada ovarium dapat berupa radang ovarium atau tumor.
- Pada uterus dapat berupa endometritis, mucometra, hidrometra, maserasi fetus, abses, perimetritis, piometra, retensi sekundinarum, mumifikasi fetus, involusi uterus yang terlambat, tumor uterus.
- Pada serviks, berupa servicitis, abses, dan tumor serviks.
- Pada vagina dapat berupa vaginitis, abses vagina, haematoma, leukorru, pneumovagina, dan lain-lain.
- Lingkungan yang kurang serasi, dan berbagai stres yang lain seperti suara yang terlalu bising, suhu udara terlalu panas dan lembab
- Sanitasi kandang dan sekitarnya yang kurang baik, kandang yang terlalu panas. aliran udara dalam kandang yang terganggu, kandang yang terlalu sempit dan

tertutup, kandang yang di dalamnya terlalu berdesak-desakan ternaknya dan lain-lain.

Dalam perhitungan ekonomi, kemajiran pada ternak dapat memberikan kerugian yang cukup besar kepada peternak. Oleh karena itu, bila tidak segera diadakan penanggulangan, dapat menyebabkan peternak menderita kerugian yang berkelanjutan. Besar kecilnya kerugian ekonomi peternak, tergantung kepada derajat gangguan reproduksi yang diderita ternaknya dari majir yang bersifat permanen sampai yang bersifat sementara. Pada sapi perah, kerugian ekonomi yang diakibatkan oleh adanya gangguan reproduksi dapat dihitung dari komponen– komponen berikut :

- Berkurangnya "pedet" yang lahir dalam satu tahun sehingga jumlah "pedet" yang dihasilkan dalam satu kawasan peternakan menjadi lebih sedikit.
- Bahkan kalau "pedet" yang dilahirkan dari induk yang mengalami penyakit menular kelamin, dapat menjadi sumber penularan penyakit.
- Produksi susu menurun atau tidak keluar sama sekali atau produksinya menurun karena periode laktasi yang lebih pendek.
- Biaya pemeliharaan, khususnya dalam bentuk pemberian pakan tetapi tanpa ada produksi air susu.
- Perawatan, pengobatan, tenaga kebersihan kandang, pemerah, dan pengantar susu, yang cukup besar.
- Apabila gangguan reproduksi disebabkan oleh penyakit kelamin menular, maka program vaksinasi untuk penyakit tersebut membutuhkan biaya yang cukup besar.
- Biaya operasional inseminasi buatan (IB) untuk wilayah yang telah melaksanakan IB khususnya sapi perah, menjadi cukup mahal. kebutuhan biaya untuk mengadakan penggantian ternak yang menderita gangguan reproduksi.
- Selain biaya untuk memilih ternak yang baik juga untuk biaya pengangkutan, penyiapan kandang, vaksinasi, bagi ternak yang baru datang.
- Untuk ternak potong kerugian yang lain berupa penurunan berat badan, sehingga menurunkan harga jual dan penurunan prestasi kerja di sawah.
- Kerugian karena kelambatan pengembangan sifat genetik yang unggul untuk produksi susu dan daging

Gangguan reproduksi dapat terjadi apabila pelepasan hormon reproduksi di bawah kadar normal atau di atas kadar normal. Hormon – hormon FSH, LH, LTH, PMSG dan HCG

mempunyai sasaran pada kelenjar gonad sehingga disebut hormon gonadotropin. Beberapa hormon yang dianggap memegang peranan penting dan sering dijumpai di lapangan dan menimbulkan terjadinya gangguan reproduksi pada ternak adalah hormon yang dihasilkan oleh kelenjar hipofisa anterior (FSH,LH,LTH) dan ovarium (estrogen dan progesterone).Gangguan keseimbangan hormonal sering menyebabkan menurunnya kesuburan ternak dan kemajiran dan dipercepat oleh banyak faktor misalnya proses seleksi yang terlalu jauh, produksi susu yang terlalu tinggi, kurang pergerakan, stress yang berat, kurangnya pakan atau pakan yang berlebihan, maupun faktor genetik. Sapi perah sering mengalami gangguan hormonal dibandingkan sapi potong maupun ternak lain. Gangguan reproduksi karena ketidak-seimbangan hormonal dapat terjadi pada setetiap fase birahi dengan gejala klinis anestrus, nymphomani (birahi berlebihan), *silent estrus* (birahi tenang) , sub estrus (birahi pendek). Pada periode kebuntingan dapat terjadi abortus, sedangkan pada periode kelahiran dapat terjadi distokia. Berbagai kegiatan telah dilakukan untuk meningkatkan produktifitas ternak, akan tetapi penambahan penduduk yang besar dan peningkatan daya beli rakyat menyebabkan permintaan akan daging dan susu jauh melampaui produksi. Pada dekade '80 an yakni selama Pelita II populasi ternak sapi menurun, masing – masing 1,46% pertahun. Hal ini disebabkan karena angka pemotongan terutama pemotongan ternak betina produktif dan kematian ternak karena penyakit besarnya melampaui angka kelahiran. Rendahnya angka kelahiran dan penurunan populasi ternak dan kematian perinatal.Angka kelahiran dan penambahan populasi ternak adalah masalah reproduksi atau perkembangbiakan ternak.

Tinggi rendahnya efisiensi reproduksi ditentukan oleh indeks fertilitas yaitu : angka kebuntingan (*Conception rate*), jarak antar melahirkan (*Calving interval*), jarak waktu antara saat melahirkan sampai bunting kembali (*Service period*), jarak waktu antara saat melahirkan dengan munculnya birahi yang pertama (*day open*), Angka perkawinan per kebuntingan (*Service per Conception*), angka kelahiran (*Calving rate*). Di negara-negara yang sudah maju peternakannya, efisiensi reproduksi pada sapi dianggap baik bila angka kebuntingan dapat mencapai 65%-75%, jarak antar melahirkan tidak melebihi 12 bulan atau 365 hari, waktu melahirkan sampai terjadinya kebuntingan kembali 60-90 hari, angka perkawinan per kebuntingan 1,65 dan angka kelahiran 55% -65%. Setiap induk ternak yang dimiliki oleh peternak mempunyai tiga kemungkinan status reproduksinya yaitu :

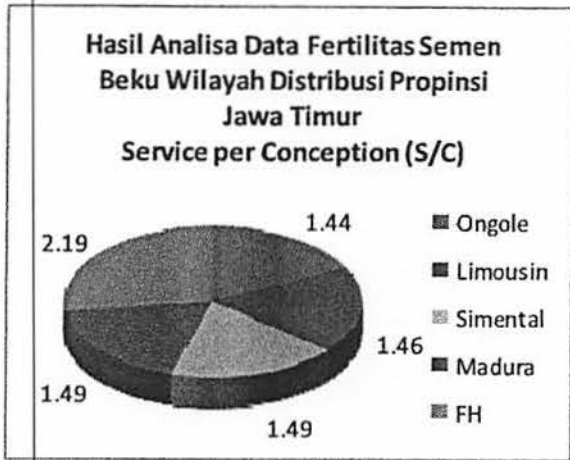
- o Kondisi kesuburan yang normal
- o Kondisi kemajiran ringan atau infertil

- o Kondisi kemajiran yang tetap (steril).

Kelompok ternak subur adalah kelompok ternak betina yang tidak menderita kemajiran, dapat bereproduksi secara baik bila pengelolaannya dilakukan secara baik meliputi 60-70% dari seluruh betina dewasa.

Data di lapangan ketika Tim Penanggulangan Kemajiran di Jawa Timur berhadapan dengan para peternak sapi baik potong maupun perah dalam keluhannya mereka sebagian besar selalu mengatakan : “Sapi yang di IB sekian kali kembali birahi, banyak sapi-sapi hasil pemeriksaan tidak bunting tetapi juga tidak birahi alias anestrus, sapi setelah di IB mengeluarkan darah atau *met estrus bleeding*”. Gejala keluhan-keluhan tersebut amat penting dan dapat bidang kedokteran hewan dapat dikatakan suatu gejala yang merupakan salah satu tanda atau bahkan merupakan sarana yang penting bagi kita sebagai dasar untuk melakukan pemeriksaan dan selanjutnya menetapkan dasar diagnosisnya. Keluhan-keluhan tersebut seharusnya kita catat. Jika modal awal peternak sapi diperoleh secara kredit tentu akan sulit untuk dapat mengembalikan uang jika ternyata sapi yang dimiliki ternyata anestrus, sedangkan pedetnya kalau dijual harganya juga “murah!”. Beberapa hal tersebut diatas kiranya perlu dilakukan pembenahan secara integral terutama masalah pencatatan atau *recording* sehingga data yang diperoleh bisa lebih akurat dan realistis, yang pada gilirannya reproduktivitas ternak di lapangan dapat diketahui dengan benar melalui catatan indeks fertilitas yang akurat. Jumlah sapi betina dewasa secara teoritis, dalam suatu kelompok ternak idealnya sebanyak 42% dari populasi sapi secara keseluruhan, apabila kasus gangguan reproduksi diperkirakan rata-rata sebesar 17,5% (Tabel 1, 12,35% tahun 2009 vs 22,72% tahun 2010) maka sapi betina yang subur hanya 24,5%. Data hasil inseminasi buatan di Jawa Timur menunjukkan bahwa besarnya S/C rata-rata adalah 1,35 (standar internasional 1,65 dengan CR 60,1%) maka secara normal seharusnya 74% hewan betina dewasa atau $0,74 \times 25\% = 18,13\%$ dari populasi menjadi bunting per tahun. Hasil sensus ternak terakhir menunjukkan bahwa populasi ternak di Jawa Timur diperkirakan 4,7 juta ekor, maka akan ada 852.110 ekor sapi bunting dan melahirkan 809.504 ekor pedet setiap tahunnya, dari jumlah tersebut pedet yang dapat mencapai dewasa kira-kira 769.028 ekor. Secara nasional maka akan lahir setiap tahunnya ternak sapi paling sedikit 2.307.084 ekor, hal ini bukan tidak mungkin karena Provinsi Jawa Timur adalah merupakan provinsi padat ternak, lebih kurang sepertiga ternak sapi seluruh Indonesia berada di Jawa Timur. Tetapi untuk memenuhi kebutuhan konsumsi daging dalam negeri mengapa kita masih impor?

Tabel 1. Hasil Analisa Data Fertilitas Semen Beku Agustus 2014

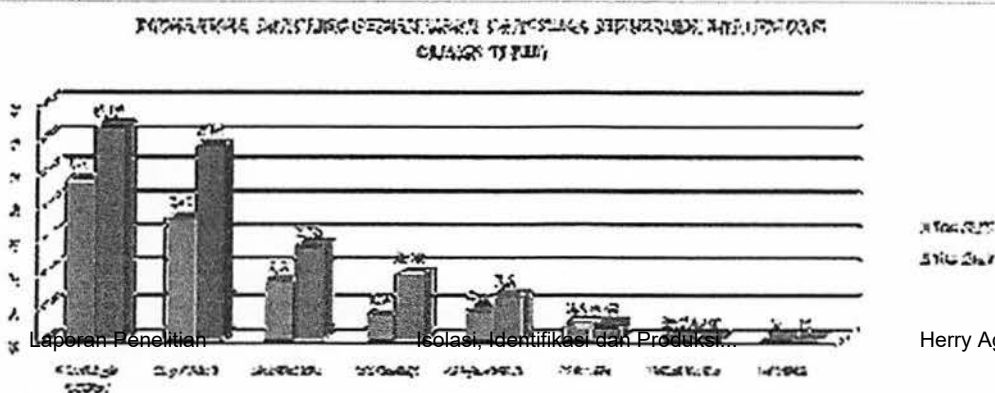


Sumber BIB Singosari 2014

Kasus-Kasus Gangguan Reproduksi Di Jawa Timur dan peran hCG

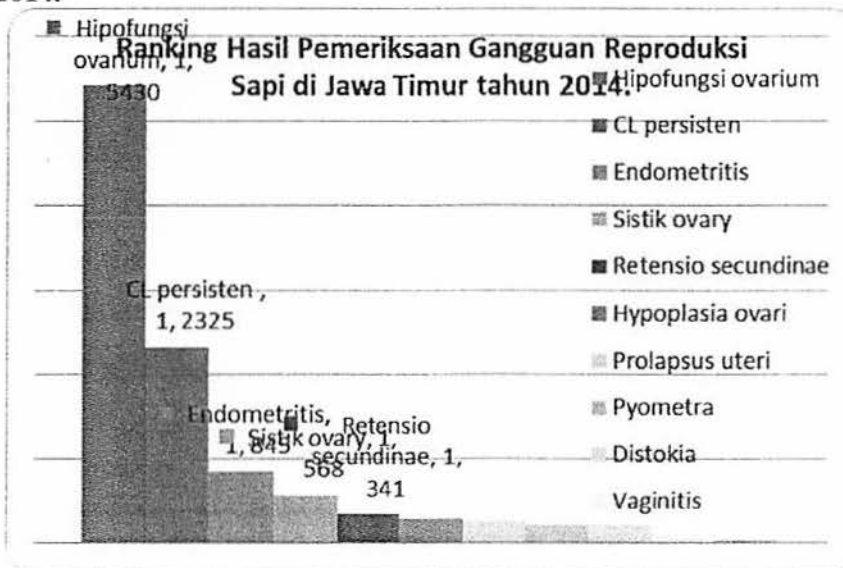
“Team Sterility Control” Kerjasama antara Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur dan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga telah dirintis sejak tahun 1970-an. Khusus untuk penanggulangannya gangguan reproduksi dibentuk tim “Pemberantasan Kemajiran”, sampai sekarang tim tersebut sudah berganti nama beberapa kali dan saat ini rupanya lebih terkenal dengan sebutan tim “Penanggulangan Gangguan Reproduksi”, penanganan kasus-kasus gangguan reproduksi di lapangan dirasakan masih sangat kurang, karena hanya terBCatas melakukan diagnosis sedangkan pengobatan dan pemantauan hasil pengobatan tidak ikut melakukannya. Dalam hal ini partisipasi team di lapangan dari tahun ke tahun khususnya diagnosis gangguan reproduksi kurang dari 10% dari target yang diharapkan. Tabel 1 memuat hasil-hasil pemeriksaan gangguan reproduksi di Jawa Timur tahun 2009 dan 2010.

Tabel 2. Ranking Hasil Pemeriksaan Gangguan Reproduksi Sapi Potong di Jawa Timur tahun 2009 dan 2010. Sumber : Hariadi dkk (2012)



Dari hasil pemeriksaan gangguan reproduksi tersebut (Tabel 1) maka kasus hipofungsi ovarium menduduki tempat tertinggi disusul dengan korpus luteum persisten dan kemudian endometritis.

Tabel 3. Ranking Hasil Pemeriksaan Gangguan Reproduksi Sapi di Jawa Timur tahun 2014.



Sumber Dinas Peternakan 2014

Dari dua tabel diatas nampaknya ada sedikit perbedaan kejadian kasus kemajiran Adapun analisis pendapat pribadi kami di masa mendatang perlu penekanan

pemeriksaan kejadian beRBCagai kasus mengenai kemajiran di Indonesia dapat dideteksi dapat dibagi menjadi **Brucellosis, Repeat breeder, Hipofungsi Ovari, Corpus luteum Persisten, Endometritis, Sistik Ovary, Retensio Secundinae, Hypoplasia Ovary, Prolapsus Uteri, Pyometra, Distokia, Vaginitis dan angesti ovary**. Sedangkan kasus **Infectius Micro organism** dan defesiensi unsur pakan serta **Mastitis**. semua kejadian di lapangan dapat didukung dengan USG dan analisis laboratorium dengan mengambil sampel darah untuk mengetahui factor infeksi apa yang terjadi pada populasi sapi di Indonesia. Kemudian hasil kita ciptakan **data base** pemetaan berdasarkan peta lokasi kejadian, yang jelas sebagai dasar terapi dimasing masing daerah dan tidak kalah pentingnya **penyakit infeksius strategis anthrax** yang disebabkan oleh *Bacillus anthracis*.

Repeat Breeder kawin berulang dan peran hCG

Repeat breeder, lebih dikenal dengan kawin berulang. Sebernarnya kalau kita perhatikan kasus – kasus gangguan reproduksi dan laporan hasil dari inseminasi di Jawa Timur, maka ada kasus yang justru penting untuk diketahui tetapi tidak pernah dilaporkan yaitu kejadian kawin berulang atau "*repeat breeding*". Berapa persen jumlah sapi – sapi "*repeat breeders*" sampai sekarang belum ada data yang pasti, padahal keluhan peternak tentang kejadian inseminasi buatan yang gagal atau beberapa kali IB baru bunting cukup tinggi. Kesulitan yang kita alami terutama adalah di dalam memperoleh data perihal besarnya kejadian kawin berulang adalah :

- 1) Peternak tidak membawa kartu "IB" pada saat pemeriksaan kasus–kasus gangguan reproduksi di lapangan, sehingga peternak tidak tahu atau lupa waktu dan sudah berapa kali di inseminasi.
- 2) Kesulitan berikutnya adalah ternak yang dibawa seringkali bukan ternak dengan keluhan menderita gangguan reproduksi atau dengan perkataan lain tidak tepat sasaran disamping sarana yang kurang memadai.

Selanjutnya akan disampaikan secara garis besar beberapa kasus hasil pemeriksaan tim Penanggulangan Gangguan Reproduksi di beberapa Kabupaten di Jawa Timur, dan beberapa macam penyakit pada ternak sapi yang dapat ditularkan melalui inseminasi Buatan. Gangguan reproduksi merupakan salah satu aspek utama yang mengganggu pengembangan peternakan sapi di Indonesia. Beberapa teknologi mutakhir yang telah diciptakan digunakan untuk meningkatkan efisiensi reproduksi ternak dan mengatasi gangguan reproduksi. Teknologi yang dimaksud adalah induksi birahi, penanganan kasus

infertilitas, inseminasi buatan, super ovulasi dan embrio transfer. Dampak gangguan reproduksi yang nyata adalah populasi sapi dan produksi susunya yang rendah. Gangguan reproduksi pada sapi yang paling sering terjadi adalah hipofungsi ovarium karena kesalahan manajemen pakan. Sapi betina yang normal secara klinis yang memperlihatkan berahi pada interval yang normal (18–24 hari) tapi gagal menjadi bunting setelah tiga kali atau lebih perkawinan diistilahkan sebagai *repeat breeder*. Berdasarkan defenisi tersebut seseorang dapat berharap bahwa sekitar 6% sapi betina yang dinyatakan layak kawin pada permulaan musim kawin dapat mengalami *repeat breeder*, karena sapi sapi betina tersebut memiliki lama siklus berahi yang normal, kegagalan menjadi bunting pasti dapat disebabkan oleh salah satu dari adanya **kegagalan fertilisasi atau kematian embrio dini** (sebelum hari ke 16 siklus birahi). Beberapa kemungkinan masalah kegagalan fertilisasi pada sapi betina *repeat breeder* dapat disebabkan oleh :

- Ovulasi tertunda atau anovulasi,
- Semen yang tidak subur (*infertile*),
- Inseminasi pada waktu yang tidak tepat,
- Abnormalitas organ kelamin yang bersifat congenital yang mengganggu transpor gamet,
- Infeksi uterus dan endometritis,
- Reaksi imunologis dan
- Temperatur lingkungan yang tinggi.

Sedangkan pada kematian embrio dini dapat disebabkan oleh :

- Fertilisasi sel telur yang tua (*an aged ovum*),
- Anomali kromosom yang bersifat lethal,
- Temperatur lingkungan yang tinggi,
- Defisiensi zat zat gizi yang khusus diperlukan untuk perkembangan janin,
- Ketidakseimbangan estrogen : progesteron,
- Defisiensi progesteron
- Infeksi uterus dan endometritis.

Beberapa kemungkinan penyebab sindroma repeat breeder tidak dapat didiagnosis langsung dilapangan, bahkan jika bisa dilakukan, kemungkinan sulit untuk ditanggulangi. Transpor sel telur yang telah dibuahi menyusuri oviduct merupakan proses yang sangat terinci dengan melalui urutan–urutan yang tepat dan keseimbangan sekresi progesteron dan estrogen menjamin bahwa konseptus memasuki uterus yang siap menerima pada hari ke 4.

Jika terjadi kelebihan estrogen (yang menghambat transpor tuba) atau adanya kelebihan progesteron (yang mempercepat transpor tuba), konseptus tersebut akan mengalami suatu lingkungan uterus yang merusak dimana konseptus tersebut akan mati. Kemungkinan bahwa sekresi progesteron yang tidak cukup dapat menjadi penyebab semacam embrio antara hari 8 dan 17 siklus. Terdapat beberapa laporan penelitian yang saling bertentangan mengenai apakah konsentrasi progesteron serum lebih tinggi yang terjadi antara hari ke-10 dan 18 siklus ketika seekor sapi betina bunting dibandingkan konsentrasi hormon ini setelah adanya perkawinan yang *fertile*. Walaupun demikian ada suatu kepastian bahwa pemberian progesteron eksogen cenderung meningkatkan persentase kebuntingan pada sapi betina *repeat breeder*. Hal ini membutuhkan dosis terapi progesteron yang tepat mengingat adanya hambatan pelepasan LH akibat tingginya kadar progesteron di dalam sirkulasi.

Inseminasi pada waktu yang tidak tepat meliputi tiga waktu : Inseminasi selama fase luteal, Inseminasi terlalu cepat atau terlalu terlambat selama fase berahi, Inseminasi terlalu cepat setelah melahirkan. Seekor sapi betina kemungkinan diinseminasi selama fase lutealnya tidak baik dikarenakan peternak telah salah melihat gejala tingkah laku berahi yang diperlihatkan ternaknya seolah-olah sebagai gejala berahi atau karena sapi betina tersebut salah pilih ketika diinseminasi yang menggantikan sapi betina yang lain yang sebenarnya sedang berahi. Banyak dilaporkan bahwa sapi betina yang dikawinkan sebelum hari ke-42 post partum lebih memungkinkan mengalami tingkat konsepsi yang lebih rendah dibandingkan sapi-sapi betina yang dikawinkan lebih dari 60 hari partum, suatu interval waktu yang membolehkan sapi-sapi betina tersebut menunjukkan berahi sebanyak dua atau tiga kali sebelum perkawinan. Baik kegagalan fertilisasi dan kematian embrio dini telah memberi dampak terhadap penurunan fertilisasi yang terjadi selama periode adanya temperatur lingkungan yang tinggi di daerah-daerah yang beriklim tropis dan subtropis. Efek dari temperatur lingkungan yang tinggi ini lebih parah dirasakan oleh sapi betina yang sedang laktasi dibandingkan sapi dara. Banyak sekali laporan hasil penelitian mengenai efek dari *intake* energi dan defisiensi zat-zat nutrisi tertentu terhadap kegagalan reproduksi pada ternak sapi. Infertilitas dihubungkan dengan hypoglycaemia dan juga karena defisiensi fosfor, copper, cobalt, mangan, yodium, vitamin A, beta carotin. Defisiensi khas seperti ini, biasanya bertanggung jawab terhadap tampilan beberapa gejala-gejala klinis dan unsur-unsur zat gizi berpengaruh langsung terhadap kejadian *syndrome repeat breeder* sapi betina.

Abnormalitas organ fisik alat kelamin yang bersifat congenital yang dapat menghambat transpor gamet. Lesi-lesi utama yang diperoleh setelah lahir yang dapat menghambat transpor gamet adalah adhesi ovarobursal yang parah, salpingitis hydrosapinx dan pyosalpinx. Keadaan abnormalitas alat kelamin betina ini dapat didiagnosis melalui palpasi rektal bahkan terhadap kasus-kasus yang lebih parah sekalipun. Endometrium memiliki kemampuan untuk memproduksi antibodi lokal yang akan melawan komponen antigen dari spermatozoa, plasma seminalis, pelarut semen, antibiotika dan mikroorganisme. Peranan yang sebenarnya, walaupun ada dari antibodi-antibodi tersebut pada sapi betina yang mengalami *syndrome repeat breeder* belum diketahui..walaupun begitu, cukup bijaksana mendorong untuk tidak memberikan infus antibiotik secara intrauterin yang merupakan unsur utama dalam bahan pembuatan semen beku kecuali ada penegasan indikasi yang tepat untuk penggunaannya. Juga, apabila seekor sapi betina telah beberapa kali diinseminasi buatan, maka sebenarnya sapi betina tersebut kemungkinan akan menjadi bunting apabila dikawinkan secara alami. Specimen biopsy dari uterus sapi betina *repeat breeder* sering memperlihatkan sejumlah besar sel-sel plasma dan limposit yang akan mendorong diagnosis endometritis kronis. Biasanya reaksi yang ditimbulkannya bersifat ringan. Etiologi dari sindroma *repeat breeder* tidak dapat diidentifikasi untuk menggunakan infusa yodium intra uterus sebanyak 3-5 ml larutan yodium lugol dalam 30-50 ml air steril pada kira-kira 24jam setelah inseminasi. Jika sapi betina tidak bunting setelah inseminasi, akan merekomendasi bahwa sapi betina ini akan dikawinkan lagi pada berahi berikutnya. Waktu pemberian infus yodium lugol intrauterus ini sangat penting. Prosedur yang direkomendasikan adalah memasukkan larutan tersebut kedalam uterus setelah spermatozoa berada dalam keadaan aman didalam oviduct cukup berjarak sebelum kedatangan konseptus yang untuk menghilangkan resiko terjadinya efek embriotoksik langsung. Cairan infus ini tidak boleh diberikan setelah hari ketiga inseminasi/kawin karena kemungkinan efek letal terhadap konseptus dan karena hari ke-4 atau ke-5, cairan infuse ini bisa menyebabkan luteolisis prematur. Cairan infus yodium ini tidak boleh diberikan selama berahi karena dua alasan : Cairan ini akan menciptakan lingkungan uterus yang tidak baik terhadap transfer spermatozoa dan kelangsungan hidupnya. Larutan infus ini kemungkinan akan dibawa dari uterus menuju oviduct dan bursa ovarium dimana kemungkinan larutan ini akan menginduksi reaksi inflamasi yang dapat menyebabkan adhesi bursa ovarium dan penyumbatan oviduct. Volume larutan infus ini tidak boleh

melebihi 60-70 ml karena adanya resiko ruptura uterus, yang nantinya akan menyebabkan perimetritis dengan adhesi serosa dan penyumbatan oviduct.

2. Etiologi Repeat Breeder (RBC) Sindrom

Penyebab dari RBC sindrom bersifat multifaktoral dan belum diketahui secara jelas. Faktor lingkungan dan penanganan biasanya dicurigai sebagai salah satu dari penyebabnya.

2.1 Faktor Maternal

Birahi berulang sering berhubungan dengan kelainan pada induk sehingga mempersulit peneguhan diagnosa. Beberapa faktor lain yang mempengaruhi adalah umur, kelainan genetik, infeksi saluran reproduksi, kelainan hormonal, kematian embrio, dan gangguan nutrisi.

2.1.1 Pengaruh Umur Induk

Sapi dengan umur tua lebih rentan terhadap RBC sindrom. Hal ini disebabkan karena adanya perubahan hormon yang dihasilkan hipotalamus, ketidakmampuan respon dari ovarium, selain itu rendahnya kualitas oosit yang dihasilkan menyebabkan penurunan kesuburan. Pada sapi perah kesuburan meningkat setelah partus pertama dan kedua dan menurun pada partus keempat dan kelima. Namun faktor lain seperti adanya gangguan involusi uteri perlu diperhatikan.

2.1.2 Faktor Genetik

Kelainan pada individu dapat diturunkan dari induknya melalui genetik atau kromosomnya. Selain itu kelainan dapat terjadi akibat adanya abnormalitas yang terjadi selama proses diferensiasi. Pemilihan pejantan unggul untuk menghasilkan anak dengan ukuran besar yang disertai dengan masalah distokia atau penyakit post partus lainnya seperti metritis juga menjadi salah satu penyebab yang harus diperhatikan.

2.1.3 Infeksi Uterus dan Siklus Birahi Berulang

Lingkungan uterus dipersiapkan untuk mendukung kehidupan embrional dari fetus. Apabila terjadi kelainan maka kemampuan fetus untuk bertahan akan menurun dan memicu terjadinya RBC sindrom. Siklus birahi berulang terjadi setelah sapi mengalami metritis. Infeksi uterus akan mempengaruhi indeks reproduksi karena adanya pembesaran

uterus dan serviks postpartum oleh perubahan perkembangan folikel dan oleh meningkatnya kematian embrio serta estrus yang berulang.

Endometritis subklinis harus dicurigai ketika terjadi kegagalan kebuntingan atau adanya birahi berulang. Namun, sulit untuk mendeteksi melalui tanda-tanda klinisnya, tidak mudah untuk melakukan diagnosa melalui palpasi rektal dan analisis bakteriologis lendir serviks juga tidak mencerminkan status endometrium. Biopsi endometrium dan kultur mikrobiologis dapat membantu peneguhan diagnosis. Infiltrasi leukosit dengan jumlah sedang yang disertai dengan ditemukannya limfosit, neutrofil, plasmosit, eosinofil, dan makrofag pada histopatologi endometrium yang menderita RBC sindrom.

Beberapa peneliti mengidentifikasi bakteri yang ditemukan pada saluran reproduksi sapi yang menderita RBC sindrom:

- Sagartz y Hardenbrook (1971): *Stafilococos*, *Corinebacterium*.
- Hartigan et al. (1972): *Stafilococos aureus*, Gram+, *Streptococos β -haemolitic*, *Streptococos microaerofiles*.
- Murthy et al. (1974): *Pseudomonas*, *Aerobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Paracolobactrum sp*,
Proteus sp, *Micrococos sp*, *Stafilococos sp*, *Corinebacterium sp*, *Bacillus sp*.
- Palangala et al. (1978): *Streptococos sp*, *Escherichia coli*, *Bacillus sp*,
Corynebacterium sp; others less frequent as *Proteus sp*, *Klebsiella sp*, *Pasteurella sp*, *Neiseria sp*,
- *Branhamella sp*, *Actinobacter sp*, *Haemophilus sp*, *Kurthia sp*.
- Harvey (1993): *Nocardia*
- Singla et al., (1993): *Stafilococos aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*
- Vasconcelos et al. (1995): *Streptococos sp*, *Enterobacterias*, *Stafilococos*, *Yeast*.
- Santana et al. (1998a): *Escherichia coli*, *Stafilococos non-haemolitic sp*,
Acinetobacter sp,
Streptococos β -haemolitic, *Enterobacter cloacae*.

2.1.4 Kelainan Anatomi Saluran Reproduksi

Saluran reproduksi sapi menyediakan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan oosit, serta untuk transportasi sperma, fertilisasi dan implantasi. Uterus merupakan tempat yang cocok untuk perkembangan embrio dan janin. Hubungan yang kompleks antara hormon, protein, dll dibutuhkan untuk memperoleh keberhasilan reproduksi. Perubahan

anatomis atau fungsi dapat menyebabkan kegagalan kebuntingan dan infertilitas. Kelainan pada tuba falopii juga menghambat proses reproduksi. Adhesi antara ovarium, saluran tuba falopii, obstruksi unilateral atau bilateral, hydrosalping dan peradangan (perisalpingitis, peritonitis) tampak dalam sindrom RBC.

Perubahan uterus seperti metritis, sangat penting untuk dimulainya kembali siklus yang normal selama periode postpartum. Hal tersebut memicu sel terjadinya sindrom RBC. Kelainan non infeksius lainnya seperti degenerasi uterus dan neoplasia, juga bisa terlibat dalam hal ini meskipun jarang terjadi.

Serviks merupakan barrier defensif dan tempat untuk menampung sperma yang strukturnya juga dapat berubah akibat adanya peradangan. Stenosis akibat trauma serviks dan obstruksi, prolaps cincin serviks, perlekatan atau ketidakmampuan fungsional dapat terdeteksi terkait dengan sindrom RBC. Kelainan dapat mengubah pH vagina dan flora normal, memungkinkan terjadinya infeksi dan mengurangi daya hidup sperma.

2.1.5 Gangguan Hormonal dan peran hormone hCG

Berikut ini adalah beberapa perubahan yang mempengaruhi fungsi hormon reproduksi dan menyebabkan sindrom RBC, meskipun diagnosis nya terkadang sulit dan tidak pasti. CL yang mengalami hipofungsi memicu penurunan progesteron dan memberikan pengaruh negative pada kesuburan. CL kecil dan kurang berkembang, dengan produksi progesteron rendah dan puncak LH yang tidak sesuai. Oleh karena itu, lingkungan uterus yang tidak memadai terbentuk dan ini meningkatkan kelainan dan kematian embrio. Peningkatan kadar progesteron yang terlambat dapat menunjukkan keterambatan pembentukan korpus luteum yang mengikuti ovulasi atau fase luteal yang pendek. (Kimura et al., 1987). Shelton (1997) berpendapat bahwa kekurangan luteal, dikarenakan respon dari hormon luteotrophic yang berdedar berkurang. Kurva progesteron pasca-ovulasi yang tertunda berhubungan dengan tingkat konsepsi yang rendah pada sapi, serta kurva progesteron yang rendah terbukti berhubungan dengan berkurangnya produksi interferon yang signifikan pada embrio sapi di hari 16 kebuntingan.

Kadar progesteron paling rendah telah tampak pada sindrom RBC. Hal ini terkait dengan rendahnya gonadotropin disertai dengan regresi luteal yang tidak sempurna yang memperpanjang pertumbuhan folikel dan menyebabkan rusaknya oosit.

Anovulasi telah dilaporkan tampak pada sindrom RBC yang ditandai dengan kadar progesteron rendah yang berkepanjangan setelah estrus. Pola rilis LH berubah dan folikel

tidak mendapatkan rangsangan untuk terjadinya ovulasi. Folikel terus berkembang dan menghasilkan estradiol, yang menginduksi pembentukan folikel persisten dan menunda ovulasi. Hormon yang abnormal juga meningkatkan perkembangan yang berlanjut dari folikel yang dominan merusak fungsi folikel dan kualitas oosit, dan dengan demikian mengurangi kesuburan.

Ovulasi yang tidak teratur dan tertunda telah dikaitkan dengan ketidaksinkronan antara estrus dan ovulasi (Duchens et al., 1994), Ketidaksesuaian dari puncak LH dan ovulasi (Lee et al., 1983), atau ketidakmampuan untuk menghasilkan LH (Duchens et al., 1995). Karakteristik puncak LH yang berubah di sindrom RBC dan tanda-tanda estrus kurang intens pada sapi normal. Seperti dijelaskan di atas kadar progesteron suprabasal dapat terlibat.

Profil Progesteron	10 Hari	15 Hari	20 Hari	25 Hari	30 Hari
Normal	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
RBC	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Suprabasal	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

2.1.6 Kematian Embrio

Embrio sapi m
18 hari yang menceg

Kematian embrio dini

n) ke dalam uterus sekitar 16-18 hari yang menceg fungsi luteal dan kebuntingan. teratur dan profil progesteron

yang menyebabkan kegagalan dalam pemeliharaan CL (Swanson & Young, 1990).Kematian embrio dini juga dikaitkan dengan rendahnya kualitas gamet dan zigot, perubahan uterus, ketidakseimbangan hormon dan kelainan pada mekanisme immunity (Bruyas et al., 1993). Kematian embrio dini tersebut terjadi antara hari k-8 dan 16 pasca-kawin (Diskin& Sreenan, 1980), sebelum sapi kembali ke estrus. Akibatnya, tidak ada variasi pada interval antara estrus yang dapat diamati dan dokter tidak bisa membedakan antara resorpsi embrio dan kegagalan kebuntingan lainnya.

Kimura et al. (1987) menganggap bahwa kematian embrio dini dan kegagalan pembuahan adalah penyebab sindrom RBC, sedangkan genetik, pengaruh lingkungan dan endokrin merupakan faktor risiko yang terlibat. De la Fuente et al. (1988) mengamati produksi embrio yang lebih rendah pada sindrom RBC. Dalam studi ini, FSH-p adalah ditawarkan sebagai pengobatan superovulatory dan hasil yang baik menunjukkan bahwa non-ovarium faktor (hormonal, uterus ...) langsung mempengaruhi kegagalan reproduksi pada sindrom.Faktor intrinsik embrio juga terkait dengan sindrom ini. Ditetapkan bahwa pengurangan viabilitas embrio bias terkait dengan pengurangan kapasitas pertukaran nutrisi

dan pertukaran zat lainnya. Hal tersebut dapat mengganggu proses diferensiasi sel, memulai proses degeneratif, dan sedikit mengurangi jumlah sel cilliar di endometrium (Almeida et al., 1987, 1995).

Kadar estrogen yang tidak mencukupi dan interaksi abnormal dengan gonadotropin mengganggu proses pematangan oosit, sehingga terjadi perkembangan embrio yang tidak normal. Namun, penulis lain beranggapan bahwa mayoritas kelainan embrio terjadi selama perjalanan melalui saluran telur, meskipun kelainan tidak jelas sampai 6-7 hari pasca-AI (yaitu dalam tahap blastokista). Oosit dari sel darah merah kompeten untuk mencapai tahap blastokista dan untuk melanjutkan perkembangan, produksi embrio (melalui IVM-IVF-IVC-ET) dapat meningkatkan keberhasilan reproduksi pada hewan tersebut.

Kematian embrio dini biasanya tidak berpengaruh pada panjang normal dari siklus estrus. Tidak ada perbedaan yang signifikan mengenai durasi estrus, waktu ovulasi dan kejadian anovulasi atau silent estrus (Linares et al., 1984).

2.1.7 Pertumbuhan Folikel yang Tidak Memadai

Kegagalan kebuntingan pada sindrom RBC dapat dikaitkan dengan disfungsi dalam penentuan folikel besar selama paruh kedua siklus estrus, mengakibatkan tidak ada atau ovulasi abnormal, atau awal asynchrony embriosapi, kemudian terjadi kematian embrio dini dan RBC. Folikel dominan terus tumbuh ketika tingkat progesteron yang subluteal (atau suprabasal), dalam hal ini fungsi folikel terganggu dan kualitas oosit berkurang, kemudian memberikan pengaruh negative terhadap kesuburan (Odde, 1990; Stock & Fortune, 1993).

2.1.8 Pengaruh Nutrisi pada Sindrom RBC

Pentingnya gizi dalam semua proses vital tidak bisa dibantah, serta perbedaan kuantitatif dan kualitatif dalam ransum sapi perah dapat menyebabkan disfungsi reproduksi. Kekurangan gizi karena penurunan asupan makanan, berat badan dan kondisi tubuh menyebabkan ketidakseimbangan endokrin yang mempengaruhi kesuburan dan organ atau sistem lain. Kekurangan gizi yang disebutkan juga dapat mempengaruhi periode postpartum, menyebabkan keterlambatan dalam involusi uterus. McClure (1995) melaporkan bahwa gangguan reproduksi dapat terjadi pada 3 tingkatan: sintesis dan pelepasan LH dari hipotalamus, di fungsi ovarium, atau ovulasi, pemupukan dan pengembangan ovum yang dibuahi, serta embrio dan janin.

Keseimbangan nutrisi dapat dipertahankan melalui diet hewan yang benar (deficit atau kelebihan tergantung pada status produksi). Variasi gizi mungkin karena kelebihan atau kekurangan unsur-unsur tertentu atau ketidakseimbangan konsentrasinya dalam diet, dan memicu perubahan dalam penyerapan atau pemanfaatannya. Kekurangan nutrisi yang lebih signifikan terjadi pada hewan dengan produksi tinggi, seperti yang terjadi pada sapi perah.

2.2 Pengaruh Sapi Jantan

Faktor yang berhubungan dengan pejantan dan kualitas sperma juga harus diperhitungkan sebagai penyebab RBC syndrome. Hal ini penting untuk mengevaluasi fungsi sperma pada saat kawin alam maupun melalui IB. Kegagalan kebuntingan yang berulang dapat dikaitkan dengan faktor-faktor pejantan yang telah disebutkan, di mana birahi berulang dan jarak antar birahi memiliki durasi normal. Beberapa aspek yang relevan disebutkan berikut ini.

2.2.1 Pengaruh kesuburan pejantan dan kualitas semen pada perkawinan berulang

Kesuburan pejantan yang optimal (pada kawin alam maupun melalui IB) diperlukan untuk mencapai tingkat kebuntingan yang tinggi dan jarak melahirkan yang normal. Dosis semen untuk IB harus mengandung setidaknya 6 juta sel sperma motil setelah thawing, dan kesuburan menurun jika konsentrasi sperma berkurang. Saat ini, dosis semen beku yang dikemas berisi 15-25 juta sperma motil sebelum dibekukan, karena hanya sekitar 50% spermatozoa baru akan aktif setelah thawing. Peneliti menemukan bahwa embrio yang terbentuk dari sapi jantan dengan kesuburan yang tinggi akan mencapai fase S sintesis DNA dan fase 2-sel lebih awal, hal ini menunjukkan viabilitas blastokista yang tinggi. Embrio dari sapi jantan dengan kesuburan rendah menunjukkan fase G2 yang lebih panjang, hal ini berhubungan dengan adanya kelainan DNA sperma atau kegagalan replikasi DNA selama fase S3.

Pada kawin alami, perlu untuk menilai kinerja reproduksi sapi jantan setidaknya dua kali setahun, melaksanakan penilaian semen (mikroskopik dan makroskopik) dan evaluasi fisik semen. Selain itu perlu juga untuk mengevaluasi libido dan pola perilaku seksual selama kawin untuk mendiagnosa kegagalan reproduksi pada sapi jantan. Di sisi lain, penting juga untuk mempertahankan rasio jantan:betina yg sesuai untuk dikawinkan.

Untuk menjamin ejakulasi yang optimal, sapi jantan sebaiknya melakukan perkawinan sebanyak 10 kali seminggu.

2.2.2 Penempatan semen dan birahi berulang

Sperma yang baru saja diejakulasi ke dalam vagina oleh pejantan atau ditempatkan ke dalam uterus oleh inseminator harus mencapai oviduk, di mana pembuahan dapat terjadi. Sel sperma mulai bergerak ke atas melalui saluran tubular betina dan dalam beberapa menit mencapai tuba falopii untuk menemukan oosit. Telah dilaporkan bahwa isthmus bertindak sebagai reservoir sperma, membuat sel-sel ini naik secara bertahap menuju ampula, mencegah polispermia dan memastikan sperma dapat menemukan oosit di dalam oviduk. Interaksi sperma didalam saluran reproduksi betina menghasilkan penurunan drastis spermatozoa. Selain itu, faktor inseminasi yang rusak (misalnya penempatan semen di pintu serviks) dapat memicu RBC syndrome dan berpengaruh negatif terhadap tingkat kesuburan.

2.2.3 Waktu penempatan semen

Waktu pebempatan semen berkaitan erat dengan deteksi estrus dan dengan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi preovulasi LH. Sapi betina yang diam bila dinaiki oleh sapi jantan diketahui sebagai tanda-tanda birahi sapi. Perilaku ini bisa bertahan rata rata antara 13-17 jam dan kemudian ovulasi akan berlangsung sekitar 30 jam. Setelah mulai terjadi perkawinan, harus dipastikan bahwa semen ditempatkan sedekat mungkin dengan saluran betina. Inseminasi dilakukan pada pagi hari jika sapi itu birahi pada malam sebelumnya, atau inseminasi dilakukan pada sore hari jika birahi terdeteksi di pagi hari. Jika teknik palpasi ovarium dilakukan sebelum inseminasi dan kemungkinan bahwa tekstur folikel masih belum pantas untuk ovulasi, inseminasi ganda direkomendasikan dan dipisahkan 12 jam. Seperti disebutkan di atas, semen biasanya disimpan di dalam uterus, dan lingkungan sekitar uterus akan baik, tergantung pada tahap siklus estrus. Ini adalah salah satu masalah yang paling umum di RBC, di mana setiap perubahan pH, stroma dan kelenjar endometrium, flora endometrium dan lain lainnya dapat mempengaruhi reproduktivitas sapi.

2.3 Dampak Faktor Lingkungan dan Manajemen

Faktor yang ada sangatlah beraneka ragam, beberapa diantaranya yang memiliki hubungan antara RBC syndrome dengan variabel misalnya akibat stres pada saat laktasi,

banyaknya ternak pada satu kandang, dan musim beranak. Gustafsson and Emmanuelson (2000) menyatakan bahwa faktor resiko dari RBC syndrome yang pertama adalah masa laktasi, adanya distokia atau sulit melahirkan, adanya kelainan reproduksi sebelum IB pertama, tingginya produksi susu atau gambaran klinis dari estrus yang berulang. Sehingga faktor lingkungan dan manajemen ternak harus dipertimbangkan untuk mengurangi kejadian RBC syndrome.

2.3.1 Deteksi Estrus

Peternak kebanyakan sudah mengetahui siklus estrus sapi, tetapi mereka enggan untuk melihat perubahan tingkah laku tiap harinya saat sapi estrus. Pada hal pada saat mengetahui waktu estrus atau dengan ditandai dibagian vulva berwarna merah, bengkak, dan keluar lendir bening menunjukkan jam ke-0 waktu estrus. Hal tersebut dapat digunakan sebagai patokan untuk memberikan pelayanan IB yang pertama. Kenyataannya dilapangan banyak dari peternak baru melaporkan pada petugas inseminator saat sapi estrus setelah jam ke-6.

2.3.2 Kebersihan Saat Pelayanan IB

Pemberian pelayanan IB harus dilakukan dengan hati-hati, karena pada saat proses IB bila alat yang digunakan kurang bersih maka akan menjadi sumber penularan penyakit reproduksi pada sapi. Semua alat yang masuk pada uterus dilakukan pembaharuan sebelum dilakukan IB. Misalnya pada plastik sheet digunakan hanya sekali untuk satu ekor sapi, tidak boleh digunakan berulang-ulang.

2.3.3 Stres

Stres dapat menjadi faktor utama pada RBC Syndrome. Kapasitas produksi hormon kortisol dari kelenjar adrenal meningkat saat sapi mengalami stres. Panas adalah salah satu faktor stres pada ternak. Hal ini terlihat pada saat sapi mengalami peningkatan suhu tubuh meningkatkan kortikosteroid dan menghasilkan progesteron. Sehingga menghasilkan masa estrus yang lama.

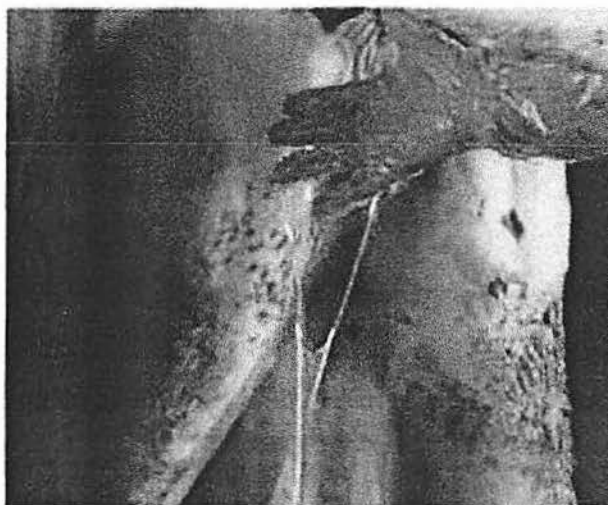
3. Diagnosis Sindrom RBC

Hal ini diperlukan untuk dapat mendiagnosa etiologi dari kegagalan reproduksi pada sapi yang memiliki riwayat klinis normal dan bisa mengurangi dampak ekonomis. Namun, meskipun banyak alat diagnostik yang tersedia, biasanya sulit untuk mendapatkan

diagnosis yang benar karena kadang-kadang tidak menguntungkan. Pertama-tama, riwayat klinis lengkap harus diperoleh pada kawanan dan tingkat individu. Usia, paritas, produksi susu, penyakit sebelumnya, indeks reproduksi, karakteristik siklus birahi, jadwal inseminasi, sapi jantan, deteksi birahi, hormon, makanan dan kebersihan peternakan harus terdaftar. Sekarang, anatomi, morfologi dan fungsional sapi harus diperiksa. Status reproduksi hewan harus sesuai dengan produksi mereka. Perilaku seksual harus dievaluasi untuk mendeteksi gangguan, seperti lemah otot atau kepincangan. Demikian pula, maka perlu mengkaji interaksi perilaku banteng dan banteng-sapi ketika pemuliaan alami dilakukan. Vulva, vagina, leher uterus, uterus, saluran tuba dan ovarium harus dievaluasi untuk diagnosis kelainan reproduksi.

3.1 Pemeriksaan Eksternal dan Evaluasi Vagina

Pemeriksaan eksternal dapat mengidentifikasi kelainan kongenital atau cacat anatomi seperti pneumovagina, cacat vulva, tumor atau cedera. Anatomi daerah, sekresi sekitar vulva atau ekor, dan warna vulva dan vagina harus dievaluasi. Dalam palpasi vagina, vulva dan fungsi vestibular dievaluasi meskipun terdapat tekanan struktur ini di sekitar tangan klinisi. Hal ini juga menilai adanya adhesi, struktur abnormal dan cacat serviks. Isi vagina harus diperiksa untuk mendeteksi urin (jika urovagina), nanah (jika endometritis, vaginitis ...), darah (pasca-ovulasi atau penyakit) atau leleran yang bersih dan jernih (terkait dengan panas) (Gambar 4).



Gambar 4. Lendir vagina transparan dan berlimpah menunjukkan saat birahi yang optimal dan lingkungan dalam uterus yang baik dan saat ini peran hCG untuk ovulasi

Vaginoscopy sangat membantu untuk memvisualisasikan rongga vagina dan leher uterus. Tinja dikeluarkan dari rektum sebelum daerah perineum, ruang depan dan fossa klitoris dibersihkan dan dikeringkan. Spekulum harus bersih, kering, steril, dan terlumasi dimasukkan dalam arah rongga pelvis. Setelah menyeberangi ruang depan, tekanan negatif di dalam memungkinkan udara menembus. Hiperemia dapat terjadi selama 30-60 detik, yang menghambat penilaian warna mukosa vagina. Vestibulum bertindak sebagai penghalang defensif dari saluran kelamin betina, dan menghalangi masuknya spekulum. Jika ini tidak terjadi, disfungsi dapat terjadi (misalnya di pneumovagina). Demikian pula, jika bahan diakumulasi ke dalam vagina, spekulum membantu melokalisasi asalnya. Pemeriksaan organ dalam (uterus, saluran telur dan ovarium) membutuhkan teknik lain, seperti palpasi manual dan USG.

3.2 Palpasi Rektal Pada Sapi

Palpasi rektal adalah metode diagnostik yang banyak digunakan pada sapi dengan akurasi yang tinggi, mudah untuk diimplementasikan dan murah dibandingkan dengan teknik canggih lainnya. Plastik sarung tangan dilumasi dan kemudian kotoran ditarik keluar. Air tidak harus dimasukkan ke rektum untuk mendapatkan mukosa yang lebih rileks dan mudah memanipulasi struktur bawah. Serviks digambarkan sebagai struktur yang solid, tubular, berserat, dengan 3-4 lipatan diproyeksikan dalam dan terlokalisasi di lantai pelvis pada sapi normal yang tidak bunting. Serviks berbentuk silinder, dengan panjang 5-10 cm dan diameter 1,5-7,0 cm. Bagian depan uterus dapat diraba. Pada saat birahi, uterus dalam keadaan menegang, tegak dan melingkar. Namun, lembut dan lembek selama fase luteal dan palpasi adalah sedikit lebih sulit; itu merupakan konsekuensi dari aktifitas progesteron yang dibebaskan dari CL. Palpasi membantu untuk mendiagnosis anomali seperti infeksi uterus. Setelah itu, hal yang menarik adalah meraba ovarium. Mereka berada ventrolateral kelantai pelvis, dan kadang-kadang berada di bawah tulang. Selama anestrus, ukuran ovarium berkisar dari 2 sampai 3 cm sekitar. Folikel (pada berbagai tahap pertumbuhan) dan CLS (hemoragik, matang dan/atau albicans) yang dikembangkan di ovarium dan ukurannya bisa menggambarkan beberapa penyakit.

3.3 Ultrasonografi (USG)

Deskripsi pertama kebuntingan sapi oleh real-time USG dilakukan oleh Chaffeux et al. (1982). Kemudian, Pierson & Ginther (1984) menunjukkan gambar USG dari ovarium yang normal struktur di sapi superovulasi. Juga Reeves et al. (1984) menggambarkan kistik echogenic CL. Baru-baru ini, teknologi USG telah digunakan untuk mengembangkan lebih

efektif superovulasi, koleksi embrio dan sinkronisasi recipient's. Seks janin dapat ditentukan oleh ultrasonografi (US) dari hari 50 dan seterusnya, menekankan bahwa hal itu dapat akurat didirikan sekitar 60 hari kebuntingan. Ultrasonografi anatomi kelamin janinorgan, dari tuberkulum genital (GT) untuk sepenuhnya perkembangan organ, telah banyak dijelaskan di seluruh perkembangan mereka. Genitalia eksternal awalnya dibentuk pada caudoventral yang permukaan dinding perut, antara anggota belakang. Struktur primordial terlihat digambarkan dengan elevasi yang buruk dan merupakan GT, lipatan urogenital dan kelamin pembengkakan, yang berkembang menjadi gonad jantan atau betina. Pada jantan, GT menjadi memanjang untuk membentuk penis, lipatan urogenital melampirkan penis untuk membentuk preputium dan genital pembengkakan membesar untuk mengembangkan ke dalam skrotum. Pada betina, GT membentuk klitoris, pembengkakan genital benar-benar hilang dan lipatan urogenital mengembangkan kemelampirkan GT, membentuk labia (Quintela et al., 2011). Aplikasi USG lainnya adalah aspirasi oosit, atau "ovum pick-up" (OPU) (Pieterse et al., 1988). Hal ini kurang traumatis dan invasif dibandingkan laparoskopi, tidak mempengaruhi ovarium yang aktivitas dan dapat memberikan banyak utilitas lainnya. Di antara mereka pengobatan sindrom RBC adalah yang paling penting, karena memungkinkan mengumpulkan oosit yang akan dimatangkan secara in vitro, dibuahi dan dikembangkan.

Diagnosis transrektal USG telah meningkatkan kemampuan kita untuk menilai organ reproduksi pada sapi dan untuk mengikuti interaksi dinamis antara kohort folikel ovarium. Bahkan 2-3 mm folikel dapat dilihat, diukur dan dimonitor secara berurutan, yang memungkinkan pengembangan rejimen superovulasi, praktek penting untuk industri transfer embrio. USG kegunaan praktis mencakup penilaian rutin folikel dan pengembangan luteal, dan diagnosis diferensial dari kista ovarium, abses ovarium dan tumor, yang dapat faktor yang dianggap berhubungan dengan sindrom RBC. USG membantu untuk mengevaluasi uterus, mendeteksi perubahan bentuk dan echotexture terkait dengan sirkulasi konsentrasi hormon selama siklus estrus, dan dengan demikian mendeteksi ketidak seimbangan hormon. Hal ini juga berguna untuk mendeteksi kondisi patologis seperti metritis, pyometra, maserasi atau mumifikasi, dan itu adalah alat penting untuk mendiagnosis penyakit cystic ovarian (Rajamahendran, 1994).

3.4 Tes Fungsi Hormonal

Hormon seks, neurotransmitter dan zat lainnya yang terlibat dalam regulasi dari siklus seksual pada sapi. Sintesis, rilis, aktualisasi atau interaksi ketidakseimbangan zat ini dapat dikaitkan dengan perubahan reproduksi sebagai estrus berulang dan mengurangi kesuburan. Progesteron dapat dianggap sebagai sensor dari kapasitas reproduksi, baik untuk informasi tentang siklus estrus dan untuk penentuannya. Uji progesteron adalah tes obyektif dan akurat untuk mengevaluasi fungsi ovarium dan untuk mendiagnosa penyakit tertentu yang lain tidak dapat ditentukan dengan benar, seperti ovulasi tertunda, aktivitas luteal persisten, kista ovarium atau tingkat progesteron suprabasal (Lamming et al., 1989; Waldmann et al., 2000). Ketika sapi berada pada masa estrus, penilaian ini bisa mengkonfirmasi bahwa lingkungan hormonal adalah dalam kerangka hormonal yang benar. Kemudian, jika progesteron diukur sekitar 19-21 hari setelah IB, itu bisa menjadi metode yang efektif untuk mendeteksi betina dengan kegagalan kebuntingan. Radioimmunoassay (RIA) dan enzim immunoassay (ELISA) adalah teknik analisis yang biasa untuk menentukan steroid dalam cairan biologis.

3.5 Patensi Oviduct

Penentuan permeabilitas oviductal sangat menarik, meskipun sulit untuk membawa di luar. Suntikan 500 ml larutan steril yang mengandung 30 gr tepung telah digambarkan oleh Kessy & Noakes (1979). Disuntikkan intra peritoneal dan pati mencapai saluran telur dan turun ke lendir serviks jika saluran tuba yang permeabel. Dibutuhkan sekitar 12 jam untuk sampai pada lendir serviks, di mana ia akan tetap antara 2 dan 4 hari. Sampel lendir dikumpulkan, diwarnai dengan Lugol dan diamati di bawah mikroskop. Prosedur lainnya untuk mempelajari saluran telur secara individual menanamkan phenolsulphonfthalein ke tanduk uterus. Sebuah kateter Foley dimasukkan melalui uterus dan balon mengembang pada akhir tanduk sebelum dye diresap. Jika saluran telur normal, pewarna akan menyeberang, mencapai rongga perut, dan dikeluarkan melalui urin. Kandung kemih kateter 20 menit kemudian dan urine berubah menjadi kemerahan jika saluran telur normal. Setelah 4 jam, tes dapat diulang dalam saluran telur lainnya (Gambar 5).

Teknik diagnostik lain untuk memeriksa patensi oviduct adalah mengumpulkan oosit atau embrio, baik dengan atau tanpa perlakuan superovulasi. Selain itu, jika mereka dikumpulkan, adalah mungkin untuk mentransfernya ke sapi tanpa masalah reproduksi, dalam hal ini juga menjadi alat terapi untuk mengatasi sindrom ini

3.6 Sitologi Endometrium dan Kultur Bakteri Uterus

Banyak kuman patogen bisa dilokalisasi di saluran reproduksi betina, yang mempengaruhi keberhasilan pembuahan. Penyakit menular bisa memprovokasi vulvitis, vaginitis, servisititis atau endometritis, dan sangat menarik untuk mendiagnosis gangguan ini. Biasanya, radang uterus, gangguan dimulai dengan kontaminasi bakteri ke dalam lumen uterus, dan dilanjutkan dengan adhesi patogen pada mukosa, kolonisasi atau penetrasi epitel, dan / atau pelepasan endotoksin. Peradangan uterus, bahkan tanpa adanya infeksi bakteri aktif, dapat mengganggu kelangsungan hidup embrio dan memprovokasi sindrom RBC. Diagnosis bakteriologis pada endometrium dilakukan untuk mendeteksi kuman patogen yang terlibat dalam infertilitas pada sapi, terutama karena anatomi serviks, sampel dapat diambil menggunakan kateter terhubung ke jarum suntik yang mengandung 30-60 ml saline steril. Cairan ini dimasukkan ke dalam uterus dan kemudian dikeluarkan dan dikultur. Klinis atau subklinis endometritis dapat didiagnosis. Sampel juga bisa diambil oleh sikat sitologi (65 cm, 4 mm Ø) dilindungi oleh tabung logam steril (50cm, 5 mm Ø). Sitologi endometrium adalah teknik praktis untuk mendiagnosa endometritis subklinis, ketika tanda-tanda klinis yang absen. Jumlah neutrofil menunjukkan jenis dan kelas peradangan endometrium.

4. Terapi dan Pengendalian Sindrom RBC untuk Mengurangi Dampak Negatif pada Profitabilitas Peternakan

Untuk mengurangi dampak negatif *repeat breeding* pada profitabilitas peternakan, maka perlu adanya terapi yang efektif setelah ditegakkan diagnosa yang tepat. Suplementasi pakan harus diberikan untuk memperbaiki ketidakseimbangan tersebut. Teknik reproduksi seperti reproduksi *in vitro* atau transfer embrio telah memiliki terapi baru yang menguntungkan untuk menyelesaikan masalah ini. Pengobatan alternatif juga dikembangkan untuk mengatasi gejala ini seperti moxibisi atau akupunktur. Namun pengobatan hormonal dengan progestin, GnRH, gonadotropin eksogen, dan prostaglandin telah digunakan secara tradisional.

4.1 Perawatan Gizi

Kekurangan gizi telah digambarkan sebagai penyebab RBC. Pakan yang mengandung konsentrasi yodium anorganik tinggi 8-12 hari sebelum estrus meningkatkan stimulasi kelenjar pituitari, pada saat yang sama juga mengurangi tingkat RBC (McDonald

et al., 1961). Ternak dengan masalah estrus berulang yang dilengkapi dengan tembaga dan magnesium, meminimalkan masalah kesuburan (Ingraham et al., 1987). Kekurangan mineral ini memiliki hubungan dengan infertilitas, anemia atau penekanan kekebalan. Konsentrasi mineral ini dapat dimodifikasi dalam diet sebagai akibat dari musim atau praktik pertanian, atau sebagai konsekuensi dari perubahan ketersediaan mineral terkait dengan beberapa komponen diet (misalnya diet yang mengandung tingkat tinggi protein mengurangi konsentrasi tembaga dalam plasma). Beta karoten, prekursor vitamin A, baru-baru ini diselidiki untuk keterlibatannya dalam pembentukan dan fungsi CL. Meskipun tidak ada hasil yang konklusif, disarankan beta karoten karena dapat meningkatkan sintesis progesteron dan mengurangi hipofungsi luteal (Wang et al., 1988). Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menegaskan peran terapeutik atau positif efek pada reproduksi. Pada tahun 1992, Marai et al. melaporkan bahwa pemberian berulang dari 40 g / hewan / hari monobasa natrium fosfat (dalam diet) ditambah 500 ppm seng (dalam air) meningkatkan kesuburan. Kekurangan fosfor dan seng dikaitkan dengan rendahnya tingkat progesteron, yang bisa menjadi penyebab kegagalan dalam pembuahan atau kematian embrio dini. Konsekuensi lain yang terkait dengan diet kekurangan yang hipoglikemia, mengurangi koenzim NAD (penting untuk sintesis progesteron), konsentrasi menurun karbohidrat atau meningkat kreatinin. Diet asam lemak tak jenuh meningkatkan produksi susu dan perkembangan embrio bila diberikan pada periode kering dan postpartum, juga menjadi menguntungkan di RBCs.

Kesimpulannya, penting untuk mempertimbangkan ketidakseimbangan gizi pada sindrom RBC, apalagi disapi perah dengan kebutuhan gizi yang lebih tinggi. Namun, hal ini tidak praktis untuk menganalisis mineral atau komposisi kimia dalam darah. Hal ini lebih masuk akal untuk memantau jatah makanan untuk menghindari gangguan fungsi reproduksi.

4.2 Teknik Reproduksi Terbantu dengan Gonadotropin termasuk hCG

Abnormal implantasi dan transportasi gamet yang berhubungan dengan kelainan endometrium, mengakibatkan sindrom RBC. Dengan bantuan teknik reproduksi tertentu, seperti produksi in vitro embrio atau inseminasi intraperitoneal, telah diusulkan untuk memecahkan sindrom ini. Inseminasi intraperitoneal bisa menjadi prosedur alternatif untuk deposisi semen normal di saluran kelamin sapi (Lopez-Gatius, 1995). Hal ini dianggap bahwa antara 36 dan 89% dari RBC menunjukkan adanya penyakit uterus namun

seringkali sulit untuk mendeteksi dalam kondisi lapangan. Sebuah cara dengan *bypass* dari vagina ke daerah peritoneal (sekitar ovarium) adalah mungkin untuk menghindari efek negatif lingkungan uterus yang merubah kualitas sperma. Penulis lain (Tanaka et al., 1994) menganggap bahwa mayoritas kelainan embrio terjadi di saluran telur, tetapi tidak jelas sampai 6-7 hari pasca - perkawinan. Kemudian, oosit dari sel darah merah kompeten untuk mencapai tahap blastokista. IVM, IVF, IVC dan ET teknik diusulkan untuk meningkatkan keberhasilan reproduksi pada hewan tersebut.

4.3 pengobatan Intrauterine

Gangguan yang berhubungan dengan infeksi saluran reproduksi mungkin berhubungan dengan sindrom RBC dan sangat sering diabaikan oleh dokter hewan. Praktek profilaksis telah digunakan, sebagai uterus pemberian solusi antiseptik (Lugol) 24 h. setelah kawin / AI (Tanaka et al., 1994) meskipun hasil kesuburan rendah (Huszenicsa et al., 1994).

Studi tentang bakteriologi dan histologi uterus menyimpulkan bahwa Infeksi genital non-spesifik merupakan salah satu penyebab utama RBC, dan disarankan agar perawatan anti mikroba (kloramfenikol, gentamisin, enrofloxacin, tetracycline, atau nitrofurantine) dapat meningkatkan indeks reproduksi (Santana et al., 1998a).

4.4 Pengobatan Alternatif

Kontribusi ilmiah melaporkan kegunaan beberapa obat alternatif, seperti akupunktur atau moksibusi, untuk mengurangi timbulnya sindrom RBC. Moksibusi telah digunakan untuk mengurangi kegagalan reproduksi pada RBCs (Hosaha & Nakama, 2002). Moxas (bola dari sekitar 3 cm) yang mengandung 2 g *Artemisia* spp. Diterapkan pada sembilan poin dari kulit dan dibakar selama 15 menit. Perlakuan yang diterapkan selama 3 hari berturut-turut, dan kemudian diulang selama birahi. Penulis menggambarkan peningkatan darah mengalir di arteri uterus, yang dianggap meningkatkan kesuburan. Kami juga menemukan referensi dalam literatur tentang efek positif dari terapi aquapuncture (Lin et al., 2002), yaitu akupunktur dikombinasikan dengan suntikan. Sebuah volume 5-10 ml glukosa 50% disuntikkan pada titik-titik tertentu yang ditetapkan oleh akupunktur tradisional pada ternak. Penelitian ini melaporkan tingkat kesuburan yang baik, meskipun banyak kebuntingan yang gagal kemudian.

4.5 Terapi Hormonal kaitanya dengan hCG

Banyak perawatan hormonal telah digunakan untuk meningkatkan hasil di sindrom RBC. Literatur tentang perawatan di sindrom RBC sulit untuk mengkompilasi, karena kriteria untuk menentukan hewan disertakan pada sindrom ini adalah bervariasi. Hal ini melaporkan penggunaan progesteron, sendiri atau dikombinasikan dengan zat lain, pada waktu yang berbeda dari siklus estrus untuk melindungi kebuntingan dan untuk meningkatkan pengakuan ibu hamil. Sejumlah penelitian menggambarkan pengaruh GnRH (dan analog) untuk meningkatkan kesuburan pada sindrom RBC. HCG, sebuah gonadotropin eksogen, memiliki telah diberikan selama fase luteal dan pada saat IB. Referensi yang ada tentang penggunaan mare serum hamil untuk terapi RBC. Prostaglandin juga telah banyak digunakan untuk meningkatkan deteksi panas.

4.5.1 Progesteron (P4)

Progesteron adalah penting untuk implantasi dan pemeliharaan kebuntingan. Disfungsi CL menurun konsentrasi P4 dan kemudian secara negatif mempengaruhi kesuburan (Gustafsson et al., 1986; Kimura et al., 1987). Sebaliknya, beberapa penulis belum menemukan perbedaan antara konsentrasi P4 sapi normal atau kawin berulang (Ayalon, 1984). Telah dicatat bahwa pemberian progesteron pada 3 sampai 5 hari setelah inseminasi dan selama 2-3 minggu (atau lebih) meningkatkan tingkat konsepsi di sindrom RBC. Umakanthan (1995) memberikan 250 mg progesteron pada hari 4, 14, 24, 34, 44 dan 54 setelah inseminasi, menghasilkan tingkat kebuntingan 96% pada sindrom RBC dibandingkan 20% pada sapi kontrol. Kimura et al. (1987) berpendapat bahwa pembentukan CL tertunda menginduksi estrus pengulangan, dan kemudian menunjukkan bahwa terapi progesteron harus dimulai pada hari 4 – 5 setelah inseminasi. Bulman & Lamming (1978) memasukkan perangkat intravaginal (PRID) selama 14 hari di sindrom RBC, sebelumnya mengeluarkan kapsul estrogen. Pengobatan meningkatkan ovulasi dan memperpendek calving interval. Villaroel dkk.(2004) telah menggunakan pengobatan ini dari hari 5 setelah AI sampai hari 19, peningkatan kesuburan yang disarankan di sindrom RBC didasarkan pada munculnya tingkat progesteron diatas ambang minimum yang diperlukan untuk mempertahankan kebuntingan dan kenaikan reseptor progesteron. Perawatan progestagen intravaginal efektif beberapa hari setelah insersi, sementara injeksi progesteron (200 mg pada hari 5, 7, 9 dan 11 pasca-IB) gagal untuk meningkatkan konsentrasi plasma progesteron di RBC (Walton et al., 1990).

4.5.2 GnRH (Gonadotropin-releasing hormone)

Administrasi GnRH sekitar waktu inseminasi bertujuan untuk mempercepat dan memastikan ovulasi pada sapi, bertindak langsung pada hipofisis, merangsang sekresi dan pelepasan gonadotropin, seperti LH dan FSH, dan mempromosikan puncak preovulasi LH, yang penting untuk dehiscence folikel. Dalam banyak kasus, sindrom RBC dikaitkan dengan cacat ovulasi, sebagai anovulasi, tertunda ovulasi atau Gonadotropin kegagalan rilis. Jika kekurangan luteal diduga sebagai kegagalan reproduksi pada sapi, GnRH (100 mg) bisa digunakan pada hari ke-5 pasca-IB (Gonzalez-Stagnaro, 1993). GnRH menyebabkan LH dan FSH debit hipofisis, mempromosikan tingkat peningkatan progesteron dan mengerahkan luteoprotector sebuah (luteotrophic), meningkatkan kesuburan di sindrom RBC berhubungan dengan subfunctional CL atau ovulasi cacat. Perawatan disebutkan juga telah dikombinasikan dengan antibiotik intrauterine (infus 30-50 ml mengandung 300.000 IU penisilin dan 0,5 g streptomisin), meningkatkan kesuburan pada sindrom RBC. Perawatan ini bisa lebih tepat bila vulva normal.

Sebuah studi komprehensif yang dilakukan pada sindrom RBC menunjukkan bahwa pemberian GnRH diwaktu AI mungkin bermanfaat untuk meningkatkan kesuburan pada sapi tersebut (Stevenson et al., 1990). Penulis ini tidak merekomendasikan penggunaan inseminasi ganda di sindrom RBC, berbeda dengan Singh et al., (2005) yang menunjukkan bahwa tingkat kebuntingan dapat ditingkatkan dengan meningkatkan frekuensi inseminasi.

4.5.3 Eksogen Gonadotropin

Hormon-hormon ini telah digunakan pada sindrom RBC untuk menginduksi ovulasi dan mengerahkan luteotrophic yang efek pada CL. Pada tahun 1965, Roussel et al., diberikan mare serum intramuskuler hamil (PMS) pada hari 15 atau 16 dari siklus estrus, memperoleh tingkat konsepsi 73,9% di sindrom RBC dibandingkan dengan 44,4% dari sapi control. Namun, HCG adalah eksogen gonadotropin yang paling sering digunakan untuk mengobati sindrom RBC. Pengobatan dengan hCG pada hari ke 5 setelah inseminasi dapat mencapai tingkat yang lebih tinggi dari progesteron setidaknya 2 minggu, karena pengembangan aksesoris CL (Walton et al., 1990).

4.5.4 Prostaglandin

Efek luteolytic prostaglandin telah digunakan untuk mengobati sindrom RBC. Dalam hal ini, pengobatan bertujuan untuk mencapai deteksi birahi yang lebih baik dan untuk meningkatkan jumlah sapi yang estrus. Banyak sekali protokol yang digunakan dalam sapi, misalnya dua suntikan PGF_{2α} terpisah 11 hari dan inseminasi beberapa jam kemudian. Intravena PGF_{2α} (0,2 ml Cloprostenol) juga telah dilaporkan di sindrom RBC di waktu AI. Namun, penggunaan paling sering hormon ini telah dikombinasikan dengan zat lainnya, melayani sebagai pretreatment dan dengan tujuan akhir meningkatkan manajemen reproduksi.

4.6 Perbaikan Manajemen Reproduksi

Perawatan yang digunakan baru-baru ini untuk tetap tepat waktu inseminasi buatan, tanpa deteksi birahi. Protokol ini memungkinkan pengobatan sapi dengan memanaskan diam atau ovulasi masalah. Ovsynch adalah protokol berdasarkan administrasi GnRH, PGF_{2α} dan GnRH (Pursley et al., 1995) untuk menjadwalkan waktu inseminasi. Hal ini juga penting untuk meningkatkan semua aspek yang berhubungan dengan deteksi birahi, karena telah ditunjukkan bahwa kesalahan deteksi estrus melibatkan kerugian yang sangat signifikan dalam reproduksi dan produksi ternak. Oleh karena itu, bisa menarik untuk menerapkan metode yang berbeda untuk deteksi estrus seperti Kamar atau Bovine perangkat Heat-suar dan Pedometer.

Hypofungsi Ovary dan peran hCG, fungsi kelenjar hipofisis anterior yang dapat menyebabkan hipofungsi ovarium, yaitu tidak berkembangnya folikel subordinate menjadi folikel dominant dalam dua siklus birahi sehingga permukaan ovarium tampak licin walaupun ukuran dan bentuk ovarium masih normal. Hal ini disebabkan akibat menurunnya kadar LH dan FSH dalam darah serta manajemen pakan yang buruk sehingga sapi nampak kurus dengan BCS <2. Penentuan *Body Condition Scoring* didasarkan pada penonjolan tulang rusuk, processus transversus, processus spinosus, tuber coxae, dan legok lapar tampak sangat cekung. Gejala klinis yang nampak pada sapi yang mengalami hipofungsi ovarium adalah gejala anestrus. Diagnosa hipofungsi ovarium dapat dilihat dari gejala klinis yang tampak, kondisi fisik hewan, dan dengan cara rektal melalui rektum untuk meraba ovarium. Diagnosa penunjang untuk hipofungsi ovarium yaitu dilakukannya USG (Ultrasonografi) untuk melihat adanya folikel subordinate dengan ukuran < 5 mm

atau folikel dominan dengan ukuran > 10 mm. Kondisi fisik jelek akibat kekurangan pakan yang berkelanjutan dan tidak adanya perbaikan pakan menyebabkan hipofungsi ovarium berubah menjadi atropi ovarium. Atropi ovarium adalah ovarium yang ukurannya kecil dan permukaannya licin karena tidak tumbuhnya folikel sehingga proses reproduksi tidak berjalan sama sekali. Diagnosa banding hipofungsi ovarium adalah hypoplasia ovarium yang disebabkan oleh faktor genetik. Keduanya dapat menyebabkan gejala anestrus, dibedakan dengan melihat kondisi tubuh ternak dimana pada hypoplasia ovarium ternak tampak lebih gemuk dan belum pernah mengalami birahi sama sekali sejak awal serta tidak pernah beranak.

Penanganan pada keadaan hipofungsi ovarium dilakukan dengan cara perbaikan manajemen pakan yaitu memenuhi kebutuhan protein 18% diberikan 2% dari berat badan perhari dan hijauan sebanyak 10% dari berat badan perhari selama 1 bulan. Apabila dalam waktu 1 bulan tidak ada perbaikan kondisi atau ternak tetap dalam keadaan anestrus maka dibantu dengan terapi hormonal menggunakan PMSG Folligon 500-1000 IU yang berisi 75% FSH dan 25% LH serta ditambahkan Corulon yang berisi LH 500-1000 IU. Bahan pakan mengandung 6 zat yaitu : air, protein, karbohidrat, lemak, mineral dan vitamin dengan kebutuhan yang berbeda satu dengan yang lainnya, sehingga dalam pakan ternak harus mengandung zat tersebut. Semua zat dalam pakan sama pentingnya dan tidak ada yang lebih penting atau kurang penting dan harus tersedia dalam jumlah yang cukup dengan perbandingan yang serasi agar ternak dapat hidup, tumbuh dan berproduksi. Kekurangan salah satu zat makanan tersebut tidak dapat digantikan dengan zat makanan yang lain yang dapat berakibat pertumbuhan yang abnormal diikuti dengan produksi daging maupun susu akan terganggu. Selain itu dapat terjadi gangguan reproduksi yang dapat berakibat pada gangguan birahi, kebuntingan dan kelahiran. Bahan pakan digunakan untuk perawatan tubuh, pertumbuhan, penggemukan, reproduksi (birahi, konsepsi dan kebuntingan) serta laktasi. Bahan pakan dibagi menjadi 2 kelompok yaitu bahan berserat (jerami atau rumput) dan konsentrat (produk biji-bijian atau butiran). Kekurangan pakan pada ternak berarti bukan saja banyaknya pakan yang kurang tetapi juga mutu pakan yang rendah. Kekurangan pakan merupakan salah satu penyebab penurunan efisiensi reproduksi karena selalu diikuti oleh gangguan reproduksi yang dapat berakibat timbulnya kemajiran. Pakan sebagai penyebab gangguan reproduksi dan kemajiran sering bersifat majemuk, artinya kekurangan suatu zat dalam pakan akan diikuti oleh kekurangan zat dalam pakan yang lain. Hal ini sering terjadi pada musim kemarau, pakan

yang diberikan terdiri dari rumput yang sudah tua yang kualitasnya rendah, rumput kering atau jerami, ternak selalu dikandangkan dan kurang pergerakan. Gangguan reproduksi akan diperberat keadaannya bila kekurangan pakan juga disertai dengan pekerjaan yang berat, cahaya matahari yang kuat, suhu kandang yang panas dan sanitasi kandang yang rendah, atau lingkungan kurang serasi. Kekurangan pakan yang terjadi dalam waktu lama berakibat kemajiran yang diikuti oleh tubuh kurus, bulu suram, turgor kulit yang jelek, pertumbuhan badan lambat, daya tahan tubuh rendah. Kekurangan pada pada ternak yang masih muda ditandai dengan timbulnya masa remaja yang terlambat.. Kekurangan pakan akut pada perabaan ovarium melalui eksplorasi rektal akan terasa adanya hipofungsi ovarium yaitu ovarium besarnya normal tetapi permukaan licin karena tidak ada pertumbuhan folikel atau korpus luteum. Kekurangan pakan pada induk yang sudah pernah melahirkan akan terjadi anestrus, perabaan ovarium melalui eksplorasi rektal, akan terasa ovarium mengalami pengecilan (atrofi). Mekanisme kerja kurang pakan pada ternak dapat menyebabkan hipofungsi atau atrofi ovarium pada hewan betina yaitu fungsi semua kelenjar dalam tubuh menurun, terutama kelenjar hipofisa anterior menjadi hipofungsi, diikuti dengan penurunan sekresi hormon gonadotropin yaitu FSH dan LH. Hal ini menyebabkan aktivitas ovarium menurun dan tidak terjadi pertumbuhan folikel ditandai dengan timbulnya anestrus, gangguan ovulasi menghasilkan sel telur yang tidak normal dan gangguan pembuahan menghasilkan embrio yang tidak sempurna. Pada ternak bunting kekurangan pakan dapat mempengaruhi perkembangan embrio, sehingga dapat diikuti oleh kematian embrio dan penyerapan embrio oleh dinding uterus, perkembangan fetus sehingga dapat diikuti mumifikasi, maserasi dan emfisema, abortus atau kelahiran anak yang lemah, dan mati disebut kematian neonatal.

Protein adalah suatu komponen yang mengandung unsur N,C,H dan unsur spesifik dalam protein adalah N, dan ada juga yang mengandung S dan P. Fungsi Protein adalah membentuk sel jaringan tubuh (daging, tulang, otot), mengganti sel tubuh yang rusak dan reproduksi. Komponen penyusun protein disebut asam amino yang terdiri dari 2 bagian yaitu 1) Asam amino essensial adalah asam amino yang dapat dibuat dalam tubuh, dan terdapat 10 macam asam amino. Asam amino tersebut adalah : arginine, histidine, leusine, isoleusine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan dan valine dan 2. Asam amino non essensial. Cystine dibutuhkan jika dalam makanan tidak terdapat cukup methionine, artinya methionine dapat menggantikan cystine tetapi tidak sebaliknya,

Phenylalanine dapat menggantikan tyrosine tetapi tidak sebaliknya. Karbohidrat adalah zat organik yang mengandung unsur C, H dan O dimana unsur H dan O biasanya tersedia dalam perbandingan yang hampir sama seperti dalam air. Karbohidrat dibagi 2 macam yaitu Bahan Ekstrak Tanpa Nitrogen (BETN) dan Serat kasar. Fungsi Karbohidrat adalah sebagai sumber energi dalam tubuh dan bahan pembentuk lemak tubuh. Sumber energi dalam pakan dapat diperoleh dari tanaman hijau seperti rumput dan daun-daunan, biji-bijian, limbah padi seperti dedak dan katul, limbah biji-bijian dalam bentuk berbagai bungkil atau minyak nabati. Pada musim kering, rumput yang tua bermutu rendah, sulit dicerna, menghasilkan energi yang rendah sehingga perlu tambahan pakan konsentrat. Kekurangan atau kelebihan sumber energi ini pada ternak dapat menimbulkan gangguan reproduksi. Provitamin A yang banyak terdapat dalam biji jagung, dapat dipecah menjadi vitamin A oleh dinding usus. Kekurangan vitamin A dalam pakan dapat menyebabkan gangguan kesuburan sampai pada tingkat kemajiran, disertai dengan penurunan produksi susu. Hati mempunyai kemampuan untuk menyimpan vitamin A, sehingga kekurangan vitamin A dalam pakan dapat menggunakan persediaan vitamin A dalam hati. Kekurangan vitamin A dapat menyebabkan: tidak timbulnya birahi, fertilisasi terganggu diikuti dengan angka kebuntingan yang rendah. Pada induk bunting muda dapat terjadi keratinisasi dari epitel uterus, sehingga proses implantasi terganggu diikuti kematian embrio. Pada induk bunting dapat terjadi abortus karena menjadi terganggu dan degenerasi plasenta. Pada periode pertengahan masa kebuntingan, dapat menyebabkan kelahiran anak yang lemah atau mati yang diikuti dengan retensi sekundiner. Kasus kawin berulang.

Gangguan fungsi kelenjar hipofisa anterior dapat menyebabkan salah satunya hipofungsi ovarium yaitu ovarium yang permukaannya licin karena tidak terjadinya pertumbuhan folikel maupun korpus luteum, walaupun ukurannya normal. Hal ini disebabkan karena menurunnya FSH dan LH dalam darah sangat rendah, pakan yang kurang, sanitasi kandang yang jelek maupun hewan terlalu lama dalam kandang. Gejala klinis yang terlihat adalah anestrus. Apabila kondisi tubuh jelek dan kekurangan pakan berjangka dalam waktu lama, maka hipofungsi ovarium akan berubah menjadi atropi ovarium. Atropi ovarium adalah ovarium yang ukurannya lebih kecil dari normal dan permukaannya licin karena tidak tumbuhnya folikel sehingga proses reproduksi tidak berjalan sama sekali. Kondisi fisik tubuh ternak sangat buruk disertai gejala klinis anestrus yang sangat panjang. Atropi ovarium dapat dibedakan dengan hipoplasia ovarium

yang disebabkan oleh factor genetik. Pada keadaan hipoplasia ovarium hampir sama dengan keadaan atropi ovarium yaitu ovarium sangat kecil tetapi keadaan fisik tubuh ternak jauh lebih gemuk. Penanganan pada keadaan hipofungsi ovarium dapat dilakukan dengan memperbaiki kualitas pakan, kandang harus sering dibersihkan dan hewan sering digembalakan. Bila keadaannya sudah membaik dapat diberikan preparat PMSG dan HCG secara intra muskuler.

Hypofungsi Ovarium pada sapi adalah menurunnya fungsi ovarium berakibat munculnya anestrus atau tidak munculnya gejala birahi lebih dari satu siklus birahi atau dalam waktu yang lama dan biasanya hewan mengalami kekurusan karena kekurangan pakan. Gangguan atau kegagalan reproduksi ini adalah berkurangnya kemampuan atau ketidak mampuan individu untuk menunjukkan gejala birahi atau anestrus secara normal, hal ini mungkin hasil dari salah satu atau kombinasi dari beberapa penyebab. Bergantung pada latar belakang, pengalaman dan pendidikannya, masing masing orang mungkin mempunyai pendapat yang berbeda – beda terhadap penyebab dari suatu kegagalan reproduksi dari suatu kelompok ternak dan mungkin mengabaikan pada kemungkinan yang lain. Misalnya saja rendahnya tampilan reproduksi pada kelompok ternak didaerah tropis oleh seorang ahli ilmu faal mungkin hal ini diakibatkan oleh karena kesalahan faktor manajemen seperti over populasi didalam kandang, stres panas (heat stress) atau penyebab lainnya. Oleh karena itu sebagai dokter hewan, kita mempunyai tanggung jawab untuk melakukan pendekatan yang sebenarnya dan meletakkan masalah tersebut pada proporsi yang sebenarnya dengan melakukan identifikasi terhadap penyebab penyakit yang mengakibatkan gangguan reproduksi pada ternak – ternak tersebut. Dengan demikian kita dapat memberikan jawaban yang tepat tentang penyebab gangguan reproduksi tersebut. Kemudian selanjutnya memberikan solusi yang tepat untuk melakukan tindakan baik untuk pencegahan maupun pengobatannya. Beberapa tindakan pencegahan Hypofungsi Ovarium pada Sapi yang relatif efektif sudah dikembangkan dokter hewan perlu mengenal, menghayati dan melaksanakan pemanfaatannya. Sudah jelas bahwa penyebab rendahnya produktivitas ternak di negeri kita salah satunya adalah akibat rendahnya reproduktivitas ternak. Oleh karena itu diperlukan peningkatan efisiensi reproduksinya, namun demikian peningkatan efisiensi reproduksi adalah suatu hal yang cukup rumit karena banyaknya faktor yang terlibat di dalamnya. Cara penanggulangan yang baik terhadap berbagai macam gangguan reproduksi yang mengakibatkan rendahnya efisiensi reproduksi tersebut memerlukan diagnosis yang tepat, penanganan

atau pengobatan yang sesuai, dan penasehat yang trampil, ulet dan jujur. Pada dasarnya sebab – sebab gangguan reproduksi Hypofungsi Ovarium pada Sapi dan ternak lainnya dapat meliputi hal – hal sebagai berikut : faktor pakan iklim/musim gangguan hormonal, dan kesalahan manajemen. Gangguan reproduksi tersebut diatas akan diterangkan lebih rinci pada bab – bab berikutnya dalam buku ini. Peningkatan taraf hidup, kecerdasan dan kesejahteraan rakyat merupakan tujuan pembangunan nasional. Pengembangan dan perbaikan produksi ternak adalah salah satu faktor penunjang dalam usaha pencapaian tujuan tersebut. Berbagai kegiatan telah dilakukan untuk meningkatkan produktivitas ternak, akan tetapi pertumbuhan penduduk yang besar dan peningkatan daya beli rakyat menyebabkan permintaan akan daging dan susu jauh melampaui produksi. Pada dekade '80 an yakni selama Pelita II populasi ternak sapi menurun, masing – masing 1,46% pertahun. Hal ini disebabkan karena angka pemotongan terutama pemotongan ternak betina produktif dan kematian ternak karena penyakit besarnya melampaui angka kelahiran. Rendahnya angka kelahiran dan penurunan populasi ternak dan kematian perinatal. Angka kelahiran dan pertumbuhan populasi ternak adalah masalah reproduksi atau perkembangbiakan ternak.

Hypofungsi ovarium merupakan kondisi patologik karena gangguan sekresi hormon FSH-LH, sehingga konsentrasi FSH-LH tidak seimbang. Gangguan keseimbangan FSH-LH terjadi karena kesalahan manajemen pakan, stres lingkungan dan defisiensi hormon. Semua kondisi negatif ini menyebabkan terganggunya poros hypothalamus-hypofisis-ovarium dan berdampak pada penurunan sekresi GnRH oleh hipotalamus dan diikuti menurunnya hormon gonadotropin FSH-LH serta mengakibatkan tidak tumbuhnya folikel pada ovarium. Sapi yang menderita hypofungsi ovarium menunjukkan gejala anestrus dalam jangka waktu lama. Ukuran ovarium normal namun permukaannya licin, karena tidak terjadi pertumbuhan folikel. Cara menanggulangi gangguan reproduksi karena hypofungsi ovarium diperlukan perbaikan faktor manajemen penyebabnya disamping pemberian preparat hormonal FSH-LH *like*. Bila keadaannya sudah menjadi lebih baik dapat disusul dengan penyuntikan preparat kombinasi FSH-LH atau FSH-LH *like* seperti, PMSG dan hCG.

Gejala hipofungsi ovarium adalah : anestrus, folikel subordinat tidak berkembang menjadi dominan folikel, BCS <2, pernah bereproduksi atau beranak. penyebab hipofungsi ovarium adalah kesalahan faktor manajemen, seperti overpopulasi, faktor lingkungan, dan kandang terlalu panas dan sesak. Diagnosis banding hipofungsi ovarium

adalah hipoplasia ovary, yaitu hewan penderita gemuk, infertil sejak kecil, vulva dan alat kelamin kecil karena faktor genetik. Bila HP tidak diobati ovarium akan menjadi mengecil disebut atropi. Diagnosis dapat dilakukan melalui palpasi rektal dan ultra sonografi. Perbaikan sistem manajemen, yaitu mencari letak kesalahannya dan memperbaiki faktor pakan dengan pemberian hijauan 10% berat badan per hari dan konsentrat protein 17% diberikan 2% dari berat badan per hari diberikan selama 1 bulan akan terjadi *natural recovery*. Untuk mempercepat birahi dan ovulasi preparat FSH LH Kombinasi PMSG Folligon intrevert 1000 - 500 IU i.m. hCG Menotropin organon 150 IU i.m. Gonaplas buatan Unair. FSH *Pure Recombinant* 1000 IU i.m. Preparat progesteron CIDR 1,25 g, PRID 1,2 g intra vaginal privasis buatan Unair berikan setelah BCS >2. Hipofungsi ovarium pada sapi periode postpartum disebabkan oleh kekurangan dan ketidakseimbangan hormonal sehingga terjadi anestrus atau birahi tenang (*silent heat*) dan estrus yang tidak disertai ovulasi. Pada keadaan hipofungsi, ovarium berukuran normal namun permukaannya licin sewaktu dipalpasi per rektal yang artinya tidak ada folikel dominant yang siap untuk ovulasi. Kondisi semacam ini menandakan bahwa pada ovarium tidak ada aktivitas pertumbuhan folikel apalagi corpus luteum. Untuk mengatasi kondisi ovarium seperti ini maka dapat dilakukan melalui penyuntikan hormon gonadotropin. Namun penggunaan preparat ini tidak ekonomis untuk ternak potong yang digembalakan karena memerlukan biaya yang relatif mahal sehingga sebagai penggantinya dapat dipakai hormone progesteron. Dasar fisiologik dari penggunaan progesteron adalah melalui reaksi umpan balik negatifnya terhadap hipotalamus yang bersifat sementara dan setelah efek hambatan hilang, maka akan terjadi sekresi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*LuteinizingHormone*) dalam jumlah yang lebih banyak dari biasanya disebut dengan *LH surge*. Dengan demikian akan terjadi proses pertumbuhan dan pematangan folikel menjadi *follikel de graaf* sehingga terjadi ovulasi. Cara terapi penanganan anestrus postpartum mengikuti mekanisme seperti dengan menggunakan berbagai *hormones* dan dikatakan bahwa cara yang paling efektif untuk menangani kasus hipofungsi *ovary* pada sapi perah, yaitu pemberian FSH yang diikuti dengan pemberian LH. Berdasarkan hal tersebut di atas, perlu dilakukan suatu penelitian untuk memperpendek masa anestrus postpartum yang sering dialami oleh sapi-sapi Bali betina yang digembalakan pada padang rumput alam di Timor Barat, NTT terutama pada musim kemarau. Penanganan secara hormonal dilakukan melalui penyuntikan hormon progesteron dan estrogen sehingga aktivitas reproduksinya dapat bangkit dan kemudian berjalan normal kembali. Penelitian ini bertujuan untuk

meningkatkan kesuburan induk sapi Bali pada peternakan rakyat yang digembalakan dan telah mengalami anestrus lebih dari tiga bulan sesudah melahirkan.

Hipofungsi Ovarium dan Atropi Ovarium, gangguan fungsi kelenjar hipofisa anterior dapat menyebabkan salah satunya hipofungsi ovarium yaitu ovarium yang permukannya licin karena tidak adanya pertumbuhan folikel maupun corpus luteum, pada keadaan ini besarnya ovarium normal. Hal ini disebabkan karena menurunnya FSH dan LH dalam darah sangat rendah, hewan terlalu lama dalam kandang dengan pemberian pakan yang kurang baik kualitas maupun kuantitasnya. Gejala klinis yang terlihat adalah anestrus. Apabila kondisi tubuh jelek dan kekurangan pakan berjalan dalam waktu lama, maka hipofungsi ovarium akan berubah menjadi atropi ovarium. Atropi ovarium adalah ovarium yang ukurannya lebih kecil dari normal dan permukannya licin karena tidak tumbuhnya folikel sehingga proses reproduksi tidak berjalan sama sekali. Kondisi tubuh ternak kurus disertai gejala klinis anestrus yang sangat panjang. Diagnosis dapat dilakukan melalui palpasi rektal dan ultrasonografi. Perbaiki system manajemen, yaitu mencari letak kesalahannya dan memperbaiki kualitas. Apabila BCS sudah meningkat > 2 , maka dilakukan palpasi rektal untuk melihat struktur dan perkembangan pada ovarium, kemudian agar ternak cepat bersiklus kembali dan untuk mempercepat timbulnya birahi dan ovulasi dapat dibantu dengan pemberian preparat FSH dan LH atau preparat progesteron (CIDR atau PRID). Atropi ovarium dapat dibedakan dengan hipoplasia ovarium yang disebabkan oleh faktor genetik.

Kista Ovarium dan peran hCG, Penyakit ini merupakan kausa utama infertilitas pada sapi perah. Hampir 25 % sapi mengalami gangguan reproduksi karena sistik ovarium. Sistik ovarium atau kista ovarium. pada sapi ditandai dengan kista folikel atau degenerasi dari folikel de Graf, kista luteal dan kista korpus luteum. Kista folikuler dan kista luteal adalah kista anovulatorik, sedangkan kista korpus luteum adalah kista ovulatorik. Sering terjadi folikel ovari membesar melampaui stadium ovulasi dan tetap demikian untuk waktu lama di dalam ovarium, hal ini biasanya menyebabkan siklus reproduksi tidak normal dan terjadi infertilitas. Keadaan ini disebabkan karena ketidakseimbangan hormonal karena gangguan pelepasan hormon gonadotropin. Pada kista ovarium, hipofisa ovarium anterior gagal melepaskan hormon LH dalam darah tetapi hormone FSH yang dihasilkan dalam darah cukup normal, sehingga terjadi pertumbuhan folikel yang tidak normal. Folikel yang tidak mengalami ovulasi akan bertambah banyak

pada permukaan ovarium Keadaan ini yang disebut dengan kista ovarium. Kista ovarium banyak dijumpai pada sapi perah dan terjadi beberapa hari atau minggu setelah melahirkan. Faktor yang menyebabkan kadar hormon LH menurun dalam darah yaitu : (1) poros hipotalamus-hipofisa tidak responsive terhadap gertakan hormon estradiol 17β yang dihasilkan oleh folikel yang sedang berkembang pada minggu pertama setelah melahirkan. (2) kegagalan kelenjar hipofisa anterior untuk mengeluarkan LH. (3) kegagalan ovulasi.

Faktor lain yang menyebabkan gangguan pelepasan LH dari hipofisa anterior yaitu : (1). Pemberian hormone estrogen dosis tinggi. (2) apabila hormone estrogen diberikan dengan dosis tinggi dapat menyebabkan kista ovarium. Pemberian estrogen dengan dosis rendah yang diberikan berulang-ulang juga menyebabkan kista ovarium dengan gejala klinis terjadi nimphomania. (3) Kista ovarium dapat terjadi pada semua umur yang teranyak pada umur 4-6 tahun (4). Pada sapi perah dengan produksi susu tinggi sering menimbulkan kista ovarium. (5). Sapi perah yang mendapat ransum dengan kandungan protein yang tinggi akan mendorong terjadinya produksi susu yang tinggi disertai dengan pertumbuhan kista ovarium. (6). Sifat genetik

Kista folikuler dan peran hCG adalah folikel anovulatorik yang menetap pada ovarium selama 10 hari atau lebih, mempunyai diameter lebih dari 2,5 cm . Kista folikel ini terjadi karena kurangnya hormon LH tetapi hormon FSH mempunyai kadar yang cukup dalam darah sehingga mendorong terbentuknya folikel-folikel muda yang tidak pernah mengalami ovulasi sehingga disebut folikel anovulatorik. Kista folikel mempunyai dinding yang tipis sehingga mudah pecah bila ditekan secara palpasi rektal. Sesudah pecah kista akan hilang dan ditandai dengan adanya legokan pada permukaan ovarium. Gejala klinis sapi penderita kista folikel adalah nimphomani (birahi terus-menerus) dalam satu siklus birahi tapi tidak terjadi ovulasi. Hal ini terjadi karena kistanya terdiri dari banyak folikel sehingga terjadi akumulasi dari hormon estrogen dalam darah.

Gangguan sekresi Hormon Steroid oleh ovarium, terdapat dua hormon yang dihasilkan oleh ovarium yaitu estrogen yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa dan sel teka dari folikel de Graf sehingga menimbulkan birahi yang ditandai dengan kemerahan, bengkak, hangat pada alat kelamin luar dan induk bersifat homoseksual. Hormon lain yang dihasilkan ovarium adalah progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum pada ovarium yang berfungsi untuk memelihara kebuntingan seta mengurangi kontraksi uterus. Apabila sekresi hormon estrogen berlebihan akan menimbulkan gejala nimphomani yang disebabkan adanya kista folikel yang ganda sehingga hormon estrogen yang dihasilkan

mampu untuk menimbulkan birahi tanpa adanya ovulasi. Apabila sekresi hormon estrogen rendah di bawah nilai ambang dapat menyebabkan terjadinya anestrus, silent estrus (birahi tenang), sub estrus (birahi pendek).

Metode Aplikasi hCG

Kerangka Umum Pemecahan Masalah

Untuk memecahkan masalah dalam penelitian ini maka dibuat kerangka umum pemecahan masalah yang nantinya akan dijabarkan kedalam metode yang lebih khusus dan terperinci. Pada garis besarnya penelitian ini dilakukan secara bertahap yang terdiri atas tiga tahapan sebagai berikut :

I. Tahap Penelitian Pertama Tahun 2017

1. Melakukan ekstraksi hCG dengan charcoal dan melakukan pemisahan hCG dalam urine wanita hamil 92 jam sampai 9 bulan dengan sentrifugasi dan CM sephadex C-50 coloums chromatografi.
2. Melakukan karakterisasi dan identifikasi protein hCG dengan SDS-PAGE.
3. Melakukan isolasi dan purifikasi protein hCG dengan elektroelusi.
4. Uji Potensi Biologis hCG terhadap tingkat kematangan sel telur sapi

II. Tahap Penelitian Kedua (tahun II) tahun 2018

Menguji potensibiologis hCG terhadap perkembangan dan pertumbuhan folikel serta ovulasi secara invivo dengan pantauan USG (Uji lapangan)

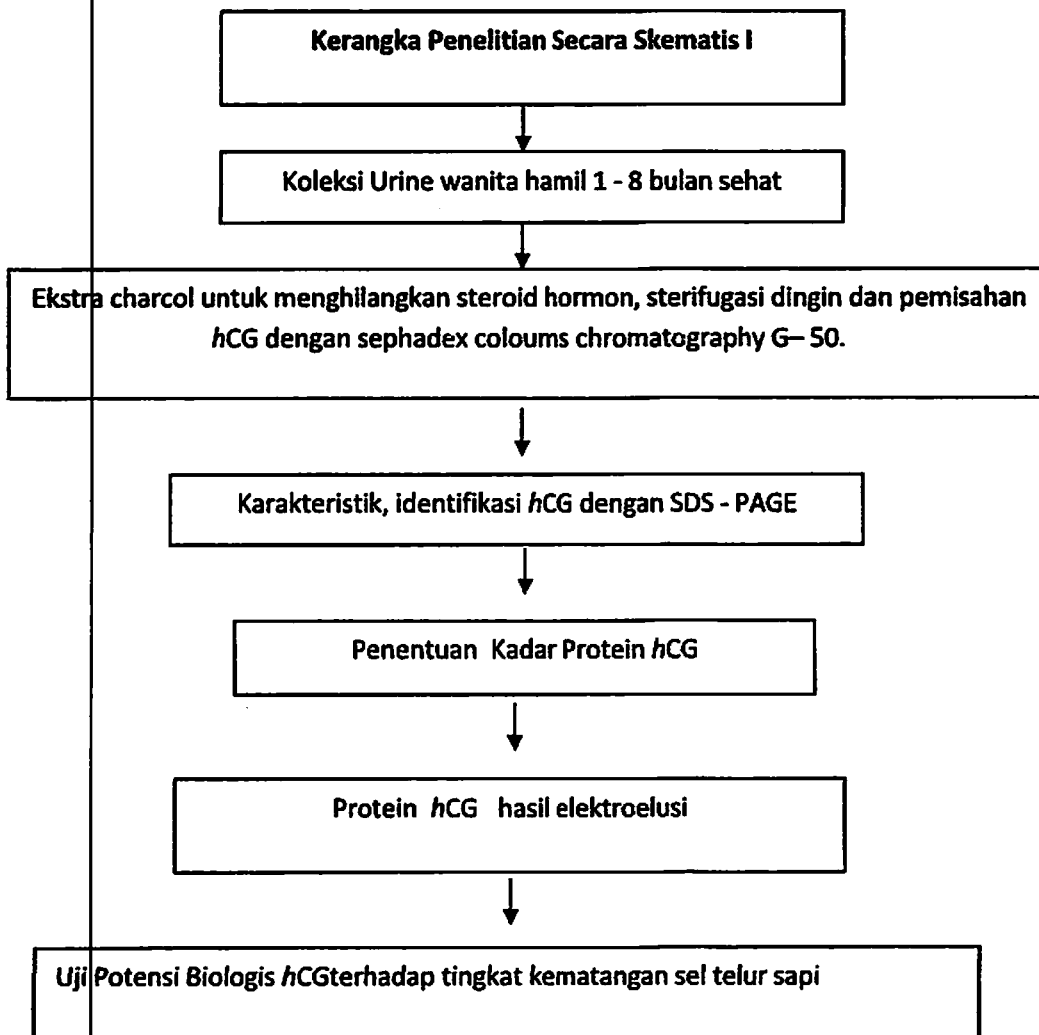
Bahan dan Peralatan Penelitian

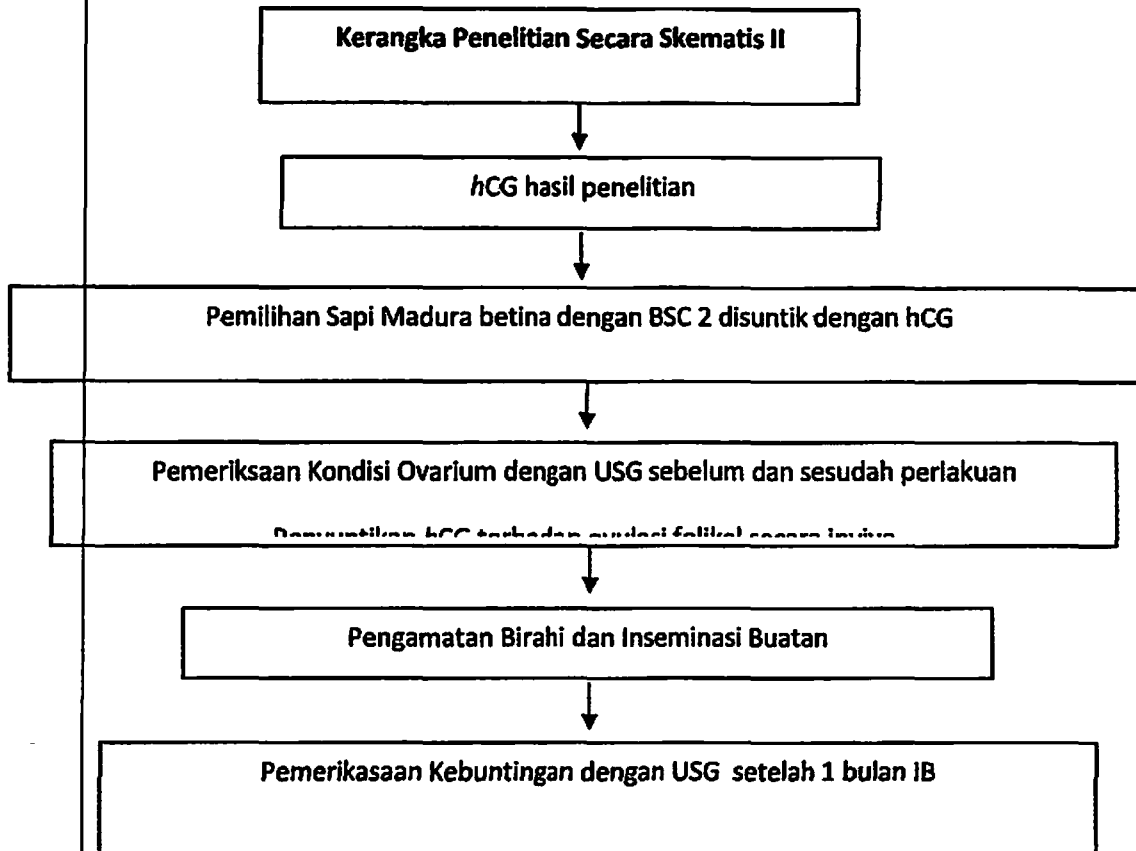
Pada penelitian ke – 1 memerlukan sampel urine hamil sehat yang diambil dari RS Dr. Soetomo Surabaya dan uji biologis Bahan dan reagen yang dipakai dalam penelitian kedua adalah isolat hCG yang diperoleh dari hasil ekstraksi urine hamil setelah melalui karakterisasi dan isolasi dengan teknik SDS-PAGE dan Elusi. membran nitroselulosa (Hybond-C pure, nitrocellulosa membrane, Amersham Life Science-England), kertas

tissue, carbonate-bicarbonate, BSA (Bovine Serum Albumin), $MgCl_2$, NaOH, TBS (Tris Buffer Saline), Glutaraldehyde 0,25% TCM (Tissue Culture Medium) Sedangkan peralatan yang digunakan adalah Blotter (Bio-Dot Apparatus, BIORAD-USA), microplate, Elisa reader, vacum pump, vortex, gunting, pipet eppendorf, pipet Pasteur, plastik tip, cawan petri, gunting, kantong selofan, sentrifus, tabung reaksi, magnetic stirrer, incubator CO_2 , refrigerated centrifuge, freezer, autoclaf, peralatan gelas, peralatan seksi, vacutainer.

Pada penelitian ke II, dibutuhkan hewan coba sapi Madura betina 20 ekor yang telah diberi terapi pakan dengan BSC (Body Score Condition) 2 (dua) untuk diterapi dengan hCG hasil penelitian.

Metode Penelitian Digambarkan dalam kerangka penelitian secara skematis dua tahap dari tahun 2017 s/d 20018 adalah sebagai berikut :





3.1. Metode Penelitian Tahun Pertama 2017

Identifikasi, Isolasi dan Purifikasi hCG

hCG dan urine wanita hamil ditampung 100 ml dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C. Sentrifugasi ini bertujuan untuk memisahkan sel – sel metabolit. Selanjutnya urine ditambahkan serbuk arang aktif steril (charcoal) dengan dosis 30 mg/ml, kemudian dilakukan pengadukan dengan mini mixer pada suhu 4°C selama 12 jam (Hermadi, 2001).

Urine dilakukan centrifugasi ulang 3000 rpm 10 menit dilakukan filtrasi columns chromatography CM sephadex C-50 (*Pharmacia fine chemicals-uppsala Sweden*) 2 x 20 cm) di equilibrasi dengan 0,5 m pottasium phosphate buffer PH8 (buffer A). hCG dilakukan elusi dengan linear gradient NaCl 1-7 M dianalisa kembali Buffers A pada 4°C semalam kedalam CM sephadex C-50 (1 x 5 cm) dan dielusi dengan linier gradient Nacl 2

- 5 M (Setuji S Et all, 1989). Sebagian dari bahan hasil elusi hCG diperiksa lanjutan dengan SDS-PAGE dan elektroelusi.

Karakterisasi dan Identifikasi Protein hCG dengan SDS-PAGE

Masukkan running gel ke dalam alat SDS-PAGE melalui dinding kira – kira kurang dari batas atas. Selanjutnya tambahkan butanol kurang lebih 1 ml, biarkan selama 25 menit. Kemudian butanol dibuang setelah gel membeku dan dibersihkan dengan PBS, dikeringkan dengan Whatman paper. Selanjutnya comb diambil dan dibersihkan dan sisa – sisa gel dengan e buffer. Sampel penelitian berupa isolat protein membran spermatozoa sapi sebanyak 15 μ l dicampur dengan 5 μ l laimli buffer dan dipanaskan 100°C selama 5 menit. Kemudian 10 μ l sampel dimasukkan ke lubang cetakan menggunakan eppendorf 200 μ l. cetakan dimasukkan ke alat biorad, power supply di starter dengan kekuatan 125 V, 40 mA selama 1 jam. Jika reaksi gel sudah sampai bawah kemudian dimatikan dan plate dibuka dan dipisahkan. Setelah itu cuci dengan buffer dan hasilnya divisualisasikan dengan penawaran silver atau langsung ditransfer ke membran nitroselulose.

Isolasi Protein hCG dengan Teknik Elektroelusi

Gel SDS-PAGE yang tidak diwarnai dipotong sepanjang pita yang dikehendaki. Masing – masing potongan gel dimasukkan ke dalam kantong nilon. Selanjutnya dimasukkan dalam block glass yang mendukung PBS, setelah itu di stirer selama 24 jam. Setiap 6 jam dilakukan penggantian PBS. Untuk mengetahui bahwa protein sudah mengalami elusi maka potongan gel diwarnai dengan pewarnaan silver, bila tidak terdapat pita artinya protein sudah ter – elusi. warna biru / keungulan dengan intensitas yang jelas.

Uji Potensi Biologis hCG terhadap tingkat kematangan sel telur sapi

Koleksi oosit

Pengamatan pada oosit, sejumlah cairan folikel hasil pengisapan dituangkan kedalam cawan petri dan diperiksa dibawah mikroskop stereo dan apabila telah ditemukan oosit, selanjutnya oosit diambil dengan pipet pastur modifikasi yang berdiameter sama dengan oosit, dan diletakkan pada cawan petri yang lain yang berukuran lebih kecil yang berisi media pencuci. Selanjutnya oosit diperiksa lagi di bawah mikroskop untuk ditentukan kualitasnya (Mahaputra dkk., 1999).

Setelah diadakan penentuan kualitas oosit semua oosit terlebih dahulu dicuci dalam medium pencuci sebanyak 3-4 kali dan pencucian terakhir dengan *Tissue Culture Medium 199* (TCM 199) sebanyak 2,5–3,0 ml. Kemudian oosit yang tidak terdapat kumulus debris

dipindah ke dalam medium pematangan dalam bentuk tetes (drop) masing-masing 100 μ l dalam cawan petri masing - masing 20 oosit. Total oosit yang digunakan dalam penelitian ini 100 oosit yang telah disiapkan 2 jam sebelumnya dalam inkubator CO₂ 5%.

Medium-medium pematangan dibuat dalam cawan petri yang steril ukuran 35 mm dalam bentuk tetes sebanyak 4 tetes, yang masing-masing tetes volumenya 100 μ l. Dalam tiap tetes medium dapat dibiakkan sebanyak 5 oosit dan selanjutnya ditutup dengan minyak mineral. Pembiakan dengan ketiga medium dilakukan dalam inkubator yang mengandung 5% CO₂ dengan kelembaban 95-100% dan suhu 39°C. Masing-masing media yang diinkubasi dilakukan selama 24 jam (Mahaputra, 2007).

Pewarnaan *aceto orcein* 1% untuk mengetahui tingkat kematangan sel telur

Prosedur pelaksanaan pengambilan data tingkat kematangan sel telur adalah dengan cara melakukan pewarnaan *Aceto orcein* 1% sebagai berikut: sel telur yang telah dipanen, diletakkan pada gelas obyek dan ditutup dengan gelas penutup, selanjutnya difiksasi dalam larutan fiksatif selama 48 jam. Sediaan tersebut selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan *Aceto orcein* 1% selama 2-3 menit. Kemudian dilakukan pencucian dengan larutan pencuci dan sel telur yang sudah diwarnai kemudian dilihat dibawah mikroskop *inverted*. Penilaian tingkat kematangan sel telur dengan kriteria Germinal Vesicle (GV), *Germinal Vesicle Break Down* (GVBD), Metaphase I dan Metaphase II.

3.2. Uji Potensi Biologis

Uji Potensi Biologis *hCG* terhadap Ovulasi pada Sapi

Sebanyak 20 ekor sapi betina yang telah dipastikan menderita corpus luteum persisten. Berumur 2-3 tahun yang mempunyai bodi score minimal 2 sebelumnya diterapi dengan pakan konsentrat susu A protein 15 – 17 % (Phok Phand) 3 kg/hari/ekor selama 1 bulan dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok dengan masing – masing perlakuan mendapatkan 5 ulangan penyuntikan *hCG* (Seerum) dan *hCG* hasil penelitian (kelompok perlakuan) / kelompok kontrol.

Sinkronisasi birahi dilakukan dengan menyuntikkan PGF2 α .

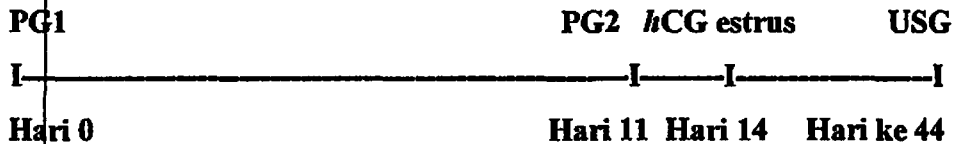
Jika birahi dilakukan inseminasi buatan 48 jam setelah penyuntikan PGF2 α (glandin) 25 mg. Penyuntikan ke dua dilakukan dengan interval 11 hari. 72 jam selanjutnya dilakukan penyuntikan *hCG*. Inseminasi dilakukan bila tanda – tanda birahi telah muncul.

Kelompok perlakuan adalah :

P₀ (kontrol) 5 ekor sapi : Disuntik 1000 IU *hCG chorulon* intra muscular.

- P₁ (perlakuan) 5 ekor sapi : Disuntik 500 iu hCG hasil penelitian intra muscular
 P₂ (Perlakuan) 5 ekor sapi : Disuntik 750 iu hCG hasil penelitian intra muscular.
 P₃ (perlakuan) 5 ekor sapi : Disuntik 1000 iu hCG hasil penelitian.

Jadwal Penyuntikan hCG pada penelitian 2



Rancangan dan Analisis Statistik

Data hasil ekstraksi, identifikasi, isolasi hCG dan karakteristik diolah secara deskriptif.

Data yang diperoleh dari jumlah sel telur yang telah dilakukan akibat penambahan hCG pada sapi diidentifikasi dengan adanya maturasi atau kematangan sel telur sapi dianalisis secara sidik ragam (Anova) bila terdapat perbedaan perlakuan dilakukan uji lebih lanjut dengan uji Tukey. Sedangkan data tingkat kematangan sel telur dianalisa dengan uji Khi-Kuadrat (Steel and Torrie, 1991)

Data yang diperoleh dari pertumbuhan folikel, birahi dan ovulasi serta kebuntingan pada sapi Madura juga dilakukan analisis yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

34. Hung Yu E. Estella Yee LL. William SBY and Pak Chung Ho 2000. hCG is as good as recombinant human FSH in term of oocyte and embryo quality : a prospective randomized trial Dept. of obstetrics and gynaecology, queen mary hospital, the University of Hongkong.
35. Loutradis.D. 2004. Folliculogenesis: Physiology and pathophysiology .Professor of Obstetrics and Gynaecology .Head of 1st Department of Obstetrics and Gynaecology University of Athens Medical School .Alexandra Hospital
36. Cole LA (2009). "New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin". *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 8. [doi:10.1186/1477-7827-7-8](https://doi.org/10.1186/1477-7827-7-8). [PMC 2649930. PMID 19171054](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19171054/).
37. Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, L. Pool, and M.W. Overton.2001.Effect of *human Chorionic gonatropin* on Luteal Function and Reproductive Performance of high Producing Lactating Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 79:2881-2894. *and induction of ovulation in the mated and non mated one-humped camel) (Camelus dromedarius)*. *J. Reprod. Fert.* 106:185-192
38. Steel, RGD dan JH Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedure Statistika Jakarta*. Penerbit PT. Gramedia Pustaka Jakarta.
39. Cole LA. 2010. In: Structures of free α -subunit and free β -subunit. In: Human chorionic gonadotropin (hCG) Cole LA, editor. Elsevier, Oxford; in press
40. Cole LA. 2010. In: Human chorionic gonadotropin (hCG) Cole LA, editor. Elsevier, Oxford;. Background hCG. in press

41. Butler SA, Khanlian SA, Cole LA (2001). "Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices". *Clinical Chemistry*. 47 (12): 2131–2136. PMID 11719477.23
42. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR (1999). "Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy". *New England Journal of Medicine*. 340 (23): 1796–1799. doi:10.1056/NEJM199906103402304. PMID 10362823.
43. Butler SA, Khanlian SA, Cole LA (2001). "Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices". *Clinical Chemistry*. 47 (12): 2131–2136. PMID 11719477. 25
44. Kirk E, Bottomley C, Bourne T (2013). "Diagnosing ectopic pregnancy and current concepts in the management of pregnancy of unknown location". *Human Reproduction Update*. 20 (2): 250–61. doi:10.1093/humupd/dmt047. PMID 24101604.
45. Hermadi H.A; Adikara RT and Sunaryo H.W.2017. Isolation, Identification and Production of human Chorionic Gonadotropin (hCG) from Urine Pregnant Women.
46. Alcivar. A.A, R.R Maurer and L.L Anderson 1992. Endocrine changes in beef Heifers Suprovulated Gonotropin. Departmen of Animal Science Iowa State University and Roman Lhruskaus. Dept. of agriculture clay enter. *J. Anim Sci* 70:224-231.
47. Roche FJ, 1996 Control and regulation of folliculogenesis-a symposium in perrpective. Revierws of Reproduction (1996) 1, 19-27 Departement of Animal Husbandry and Production, Faculty of Veterinary Medicine, university College, Dublin 4, Ireland.
48. Daya, S., Gunby, J., Hughes, E.G. et al. (1995). Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotrophin for in c vitro fertilization cycles : a metaanalysis. *Fertil. Steril.*, 64, 347-354 □ISI□ □Medline□.
49. Guibourdenche, J.; Fournier, T.; Malassine, A.; Evain-Brion, D. Development and hormonal functions of the human placenta. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2009, 47, S35–S40. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
50. Hermadi H.A; Adikara RT and Sunaryo H.W.2017. Isolation, Identification and Production of human Chorionic Gonadotropin (hCG) from Urine Pregnant Women to Manipulate Maturation of Invitro and Invivo Ovulation in Madura Cows. Research department. Airlangga University
51. Hermadi HA ; Hariadi.M and Adikara R.T. S. 2017. Deskripsi Patent Gambaran Teknik Sendimentasi dan SDS – Page untuk mengetahui Berat Molekul dan kadar Urine human Chorionic Gonadotrophin (hCG) pada Ibu Hamil Usia Kehamilan 1.5–3.5 Bulan pada wanita IndonesiaUniversitaas Airlangga Indonesia.
52. Choi, J.; Smitz, J. Luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin: Origins of difference. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2014, 383, 203–213. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
53. Nwabuobi, C.; Arlier, S.; Schatz, F.; Guzeloglu-Kayisli, O.; Lockwood, C.J.; Kayisli, U.A. hCG: Biological functions and clinical applications. *Int. J. Mol. Sci.*2017, 18, 2037. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
54. Wurlina, Mulyati S. Meles, D.K Anom A, 2014. Sinkronized of estrus Using PGF2α and Superovulation Using PMSG and HCG and AI Against Lust, Number of

- Pregnant, Number and Gender of Etawa Crossbred Goat Kids. *Ovozoa E-Journal*, 3 (1). pp. 186-191. ISSN 2302
55. Ginther, O.J., J.P. Kastelic and L. Knopf, 1989. Intraovarian relationships among dominant and Subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. *Theriogenology* 32:787-795.
 56. Imthurn, B., Macas, E., Rosselli, M. et al. (1996). Nuclear maturity and oocyte morphology after stimulation with highly purified follicle stimulating hormone compared to human menopausal gonadotrophin. *Hum. Reprod.*, 11, 2387-2391. □ Abstract □
 57. Fricke, P.M., L.P. Reynolds and D.A. Ridmer, 1993. Effect of human chorionic gonadotrophin administered early in the estrous cycle on valuation and subsequent luteal function in cows. *J. Anim. Sci.* 71 : 1242 – 1246.
 58. Agrawal, R. Holmes, J and Jacobs, H.S. (2000). *Follicle-stimulating hormon or human monopausal for ovarium stimulation in in vitro fertilization cycles : a metaanalysis. Fertil. Steril*, 73, 338-343. [ISI] [Medline]
 59. Alcivar. A.A, R.R Maurer and L.L Anderson 1992. *Endocrine changes in beef Heifers Supewrovulated Gonodotropin. Departmen of Animal Science Iowa State University and Roman Lhruskaus. Dept. of agriculture clay enter. J. Anim Sci* 70:224-231.
 60. Alnimer M. A. and Shamoun A. I. 2015. Treatment with hCG 4 or 6 days after TAI to improve pregnancy outcomes in repeat-breeding dairy cows. *Animal Reproduction Science* 157 (2015) 63–70
 61. Anonimus. 1994. IIMS Manual for hCG. *Personal Seruvo Singapore MIMS Asia*. 135. Cecil street.
 62. Binversie J., A. Pfeiffer K., E. and Larson J.E. 2012. Modifying the double Ovsynch protocol to include human chorionic gonadotropin to synchronize ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 78 (2012) 2095–2104
 63. Cole LA (2009). "New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin". *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7: 8. doi:10.1186/1477-7827-7-8. PMC 2649930. PMID 19171054.
 64. Critser, E. S., J. K. Critser, R.P. Winch, and C. Eilts. 1982. *Efficacy of Pergonal as a superovulatory drug in cattle. Theriogenology* 17:83.
 65. Daya, S., Gunby, J., Hughes, E.G. et al. (1995). *Follicle-stimulating hormone versus human menopausal gonadotrophin for in clvitro fertilization cycles : a metaanalysis. Fertil. Steril.*, 64, 347-354 [ISI] [Medline].
 66. Fricke, P.M., L.P. Reynolds and D.A. Ridmer, 1993. *Effect of human chorionic gonadotrophin administered early in the estrous cycle on valuation and subsequent luteal function in cows. J. Anim. Sci.* 71 : 1242 – 1246.
 67. Ginther, O.J., J.P. Kastelic and L. Knopf, 1989. *Intraovarian relationships among dominant and Subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. Theriogenology* 32:787-795.
 68. Gonzalez, A.J.G. Lussier, T. D. Charruters, B.D. Murphy, and R.J. Mapletoft. 1990. *superovulation of beef heifers with folltropin : a nem FSH preparation containing reduced LH activit. Theriogenology* 33:519

69. Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction In Farm Animal. Lea and Febiger. Philadelphia.* 98-99. 161 – 162. 392 – 404.
70. Hardjopranjoto, S., 1995. *Ilmu Kemajuan Pada Ternak.* Airlangga University Press, Surabaya.
71. Hariadi, M., and P.J. Wright, 1997. *The effect of oestradiol benzoate, HCG or aspiration of the dominant follicle on follicular wave and synchrony of PG-induced oestrus in cows.* Proc. 29th Annu Conf. Aust. Soc. Reprod. Biol. Adelaide.
72. Hung Yu E. Estella Yee LL. William SBY and Pak Chung Ho 2000. *hCG is as good as recombinant human FSH in term of oocyte and embryo quality : a prospective randomized trial* Dept. of obstetrics and gynaecology, Queen Mary Hospital, the University of Hongkong.
73. Imthurn, B., Macas, E., Rosselli, M. et al. (1996). *Nuclear maturity and oocyte morphology after stimulation with highly purified follicle stimulating hormone compared to human menopausal gonadotrophin.* *Hum. Reprod.*, 11, 2387-2391. [Abstract].
74. Jacob, S., Drudy, L., Conroy, R. et al. (1998). *Outcome from consecutive in-vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection attempts in the final group treated with urinary gonadotrophins and the first group treated with recombinant follicle stimulating hormone.* *Hum. Reprod.* 13, 178-1787. [Abstract].
75. Keskin A. Yilmazbas-Mecitoglu G. Gumen A. Karakaya E. Darici R. Okut H. 2010. *Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows.* *Theriogenology* 74 (2010) 602–607
76. Knight PG (1991) *Identification and purification of inhibin and inhibin-related proteins* *Journal of Reproduction and Fertility* 43 111-123
77. Kot K. Gibbons J. R. And Ginther O. J. 1995. *A Technique For Intrafollicular Injection In Cattle: Effects Of Hcg.* *Theriogenology* 44:41-50, 1995
78. Lauria, A.A., A. Genazzani, O. Oliva, P. Inandi, F. Cremonesi, and C. M. Barbetti.. 1982b *Improved method to induce superovulation in cattle using human chorionic gonadotropin (HCG).* *Theriogenology* 18:357.
79. Mather JP, Woodruff TK and Krummen LA (1992) *Paracrine regulation of reproductive function by inhibin and activin* *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 201 1-15
80. Mercan, R., Mayer, J.F., Walker, D. et al. (1997). *Improved oocyte is obtained with follicle stimulating hormone alone than with follicle stimulating hormone/human menopausal gonadotrophin combination.* *Hum. Reprod.*, 12, 1886-1889. [Abstract].
81. Rensis F. D. Allegri M. Saidel G. E. 1998. *Estrus Synchronization And Fertility Inpost-Partum Dairy Cattle After Administration Of Human Chorionic Gonadotrophin (HCG) And Prostaglandin Fza Analog.* *Theriogenology* 52:259-269.
82. Roche FJ, 1996 *Control and regulation of folliculogenesis-a symposium in perspective. Reviews of Reproduction (1996) 1, 19-27* Departement of Animal Husbandry and Production, Faculty of Veterinary Medicine, university College, Dublin 4, Ireland.

83. Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, L. Pool, and M.W. Overton. 2001. Effect of *human orionic gonatropin* on Luteal Function and Reproductive Performance of high Producing Lactating Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 79:2881-2894.
84. Schmidt E.J.P., T. Diaz, M. Drost, and W.W. Thatcher. 1996. Use of a Gonadotropin Releasing Hormone Agonist or Human Chorionic Gonadotropin for Timed Insemination in Cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1084-1094.
85. Skidmore, J.A., M. Billah and W.R. Allen, 1996. *The ovarian follicular wave pattern and induction of ovulation in the mated and non mated one-humped camel* (*Camelus dromedarius*). *J. Reprod. Fert.* 106:185-192
86. Steel, RGD dan JH Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedure Statistika Jakarta*. Penerbit PT. Gramedia Pustaka Jakarta.
87. Tefera M. Chaffaux S. Thibier M. Humblot P. 2001. A short note: lack of effect of post-AI hCG or GnRH treatment on embryonic mortality in dairy cattle. *Livestock Production Science* 71 (2001) 277-281
88. Weissman, A., Meriono, J., Ward, S. et al. (1990). *Intracytoplasmic sperm injection after follicle stimulation with highly purified human follicle-stimulating hormone compared with human menopausal gonadotrophin*. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 16, 63 – 68 [ISI] [Medline).

Lampiran 3

SUSUNAN ORGANISASI PELAKSANA PENELITIAN

Peneliti Utama :

Nama Lengkap dan Gelar	: Herry Agoes Hermadi, M.Si, drh.
Jenis Kelamin	: Pria
Unit Kerja	: Kemajiran Reproduksi Veterine
Bidang Keahlian	: Kemajiran Hewan
Tugas dalam penelitian	: Koordinator kegiatan penelitian
Pendidikan Akhir	: S3
Alokasi Waktu	: 20 jam/minggu
Lembaga	: Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Peneliti I :	
Nama Lengkap dan Gelar	: Masud Hariadi drh.,M.Phil Ph.d
Jenis Kelamin	: Laki - Laki
Unit Kerja	: FKH Unair
Bidang Keahlian	: Reproduksi
Tugas dalam penelitian	: Ekstraksi, isolasi dan identifikasi hCG
Pendidikan Akhir	: S3
Alokasi Waktu	: 15 jam/minggu
Lembaga	: Fakultas Kedokteran Hewan Unair
Peneliti I :	
Nama Lengkap dan Gelar	: Prof. Dr.RTS Adikara Drh. MS
Jenis Kelamin	: Laki - Laki
Unit Kerja	: FKH Unair
Bidang Keahlian	: Anatomi Reproduksi dan IB
Tugas dalam penelitian	: Ekstraksi, isolasi dan identifikasi hCG
Pendidikan Akhir	: S3
Alokasi Waktu	: 15 jam/minggu
Lembaga	: Fakultas Kedokteran Hewan Unair

Lampiran 5. BIODATA ANGGOTA PENELITI**DAFTAR RIWAYAT HIDUP**

Nama : Prof. Dr. Herry Agoes Hermadi, drh., MSi.
NIP : 195908231987031003
Pangkat : Pembina Tk I / IVb
Jabatan : Lektor Kepala
Tempat/Tanggal Lahir : Surabaya/ 23-8-1959
Alamat Rumah : Gunung Sari Indah AZ 21 Surabaya
Np. Tlp. : (031) 7661219
Kantor/Unit Kerja : Departemen Reproduksi FKH Unair
Alamat Kantor : FKH Unair Kampus C Mulyorejo Surabaya
No. Tlp. : (031) 5992785 , Fax (031) 5993015

RIWAYAT PENDIDIKAN TINGGI

No.	Macam Pendidikan	Tempat	Lulus Tahun	Bidang	Titel Ijazah
1	S1	Unair	1985	Kedokteran Hewan	Drh
2	S2	Unair	2001	Program Studi Ilmu Bilogi Reproduksi	M.S.
3	S3	Unair	2009	Ilmu Kedokteran	Dr.

PUBLIKASI INTERNASIONAL

No.	Karya Ilmiah/Jurnal	Penulis
1	Isolation identification and purification of protein of human menopause gonadotrophin (hMG) from woman menopause using the level of protein and carbohydrate. Management strategy of animal health and production. UPM and Airlangga University ISBN 978 – 979 – 17677-1-2 2008	Author
2	Trans cervical intra ovarian PMSG for ovarian hypo function in cows. Management strategy of animal health and production. UPM and Airlangga University ISBN 978 – 979 – 17677-1-2 2008	Author
3.	Production of Frozen Dry Equine Choionic Gonadotrophin (HCG) from Pregnant Mare Sera The Role of Veterinary Science To support Millenium Development goal and 12th Asian Association of Veterinary Schools Congres ISBN 978 – 602 – 70438-0-0 September 2013	Author
4.	The production of plastic Progesteron Implants for Estrus Synchronization in Big Tail Sheep from Sapudi Island The Role of Veterinary Science To support Millenium Development goal and 12th Asian Association of Veterinary Schools Congres ISBN 978 – 602 – 70438-0-0 September 2013	Co-author
5.	The Biopotency of PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) from Local Horse Toward Pregnancy Totally in Madura Cattle The Role of Veterinary Science To support Millenium Development goal and 12th Asian Association of Veterinary Schools Congres ISBN 978 – 602 – 70438-0-0 September 2013	Co-author
6.	Molecular Genetic Analysis Based on Java Green Peacock (Pavo Muticus) Mitochondrial D-Loop Efforts as a Basis for Domestication in Probolinggo, East Java Indonesia J. Anim. Sci. Adv., 2014; 4(1): 668-67426 Januari 2014	Co-author

PUBLIKASI NASIONAL

No.	Karya Ilmiah / Jurnal	Penulis
1	Bioaktivitas <i>hMG</i> terdeglukosilasi (<i>hMGdG</i>) dari urin wanita menopause Indonesia terhadap terbentuknya cleavage oosit sapi <i>in vitro</i> untuk pengembangan bank embrio Hibah Kompetitif Kerjasama Internasional 2009	Author
2	Respos <i>hMG</i> terhadap perkembangan ovarium kambing PE DIPA PNB 2009	Author
3	Bioaktivitas <i>human</i> Menopause Gonadotropin (<i>hMG</i>) dan <i>hMG</i> terdeglukosilasi (<i>hMGdG</i>) dari Urin Perempuan Pascamenopause terhadap Terbentuknya Cleavage Embrio Sapi secara <i>In Vitro</i> Disertasi 2009	Author
4	Isolasi, identifikasi dan pemurnian human Menopause Gonadotropin (<i>hMG</i>) dari wanita menopause untuk memanipulasi pertumbuhan folikel dan <i>in vitro</i> maturasi pada sapi perah PHB XV-12007	Author
5	Identifikasi protein human Menopause Gonadotropin (<i>hMG</i>) dari urine wanita post menopause dengan SDS-PAGE sebagai sumber FSH-LH-like DIPA 2006	Author
6	Paket Teknologi Rancang Bangun Progesterone Intravaginal Silicon Sponge (Privasis) untuk Induksi dan Sinkronisasi Birahi pada Sapi dan Kambing. DUE Like 2003	Author
7	The Use Prostaglandin F2a Intraovary for Oestrus Synchronization in Dairy Cattle. DIPA 2003	Author
8	Potensi Cairan Folikel Bebas Steroid Sapi terhadap Timbulnya Antibodi Poliklonal Anti-Inhibin pada Kelinci DIPA 2002	Author
9	Uji Potensi Biologis Antibody Poliklonal Anti-Inhibin pada Peningkatan Jumlah Sel Telur Tikus Putih TESIS 2002	Author
10	Pengaruh Pemberian Antibodi Anti-Inhibin terhadap Timbulnya Antibodi Anti-Indotipik pada Mencit BBI 2001	Author
11	Profil Hormon Progesteron Sebelum dan Sesudah Penyuntikan Prostaglandin F2a Analog pada Sapi yang Mengalami Korpus Luteum Persisten DIPA 2001	Author
12	Uji Potensi Antibodi Poliklonal Anti-Inhibin pada Tikus Putih BBI 2001	Author
13	Pengaruh Pemberian Antibodi Anti-Inhibin terhadap Timbulnya Antibodi Anti-Idiotipik pada Mencit BBI 2001	Author
14	Profil Hormon Progesteron Sebelum dan Sesudah Penyuntikan PGf2a Analog Sapi Perah yang Menderita CLP DIPA 2000	Author
15	Pengaruh Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Aliran Listrik Searah terhadap Jenis Kelamin Anak Domba Setelah Dilakukan Inseminasi DP3M1999	Author
16	Pengaruh Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Aliran Listrik Searah terhadap Jenis Kelamin Anak Domba Setelah Dilakukan Inseminasi Buatan. BBI 1999	Author
17	Pengaruh Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Aliran Listrik Searah terhadap Jenis Kelamin Anak Domba Setelah Dilakukan Inseminasi Buatan BBI 1999	Author
18	Pengaruh aspirasi sistik folikel pasca superovulasi dengan PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin terhadap kejadian kebuntingan pada kambing kacang DP3M 1998	Author

19	Pengaruh Aspirasi Sistik Folikel Pasca Superovulasi dengan PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) terhadap Kejadian Kebuntingan pada Kambing Kacang DP3M1998	Author
20	Pengaruh Pemberian Antibodi Anti-Inhibin terhadap Timbulnya Antibodi Anti-Indotipik pada Mencit BBI 2001	Author
21	Profil Hormon Progesteron Sebelum dan Sesudah Penyuntikan Prostaglandin F2a Analog pada Sapi yang Mengalami Korpus Luteum Persisten DIPA 2001	Author
22	Uji Potensi Antibodi Poliklonal Anti-Inhibin pada Tikus Putih BBI 2001	Author
23	Pengaruh Pemberian Antibodi Anti-Inhibin terhadap Timbulnya Antibodi Anti-Idiotipik pada Mencit BBI 2001	Author
24	Profil Hormon Progesteron Sebelum dan Sesudah Penyuntikan PGf2a Analog Sapi Perah yang Menderita CLP DIPA 2000	Author
25	Pengaruh Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Aliran Listrik Searah terhadap Jenis Kelamin Anak Domba Setelah Dilakukan Inseminasi DP3M1999	Author
26	Pengaruh Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Aliran Listrik Searah terhadap Jenis Kelamin Anak Domba Setelah Dilakukan Inseminasi Buatan. BBI 1999	Author
27	Pengaruh Pemisahan Spermatozoa X dan Y dengan Aliran Listrik Searah terhadap Jenis Kelamin Anak Domba Setelah Dilakukan Inseminasi Buatan. BBI 1999	Author
28	Pengaruh aspirasi sistik folikel pasca superovulasi dengan PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin terhadap kejadian kebuntingan pada kambing kacang DP3M 1998	Author
29	Pengaruh Aspirasi Sistik Folikel Pasca Superovulasi dengan PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) terhadap Kejadian Kebuntingan pada Kambing Kacang DP3M1998	Author
30	The Comparison Effect of Laserpuncture and PMSG Superovulation and Sistik Follicle in Local Goats PUSLIT BIOENERGI 1997	Author
31	Pengaruh Injeksi Kombinasi PGf2a dengan PMSG Dosis Rendah terhadap Kejadian Timbulnya Birahi dan Kebuntingan pada Kambing Kacang OPF 1996	Author
32	Studi Tingkat Perkembangan Embrio Kambing Kacang Secara <i>In vivo</i> pada Hari Ke-1 sampai Hari Ke-3 Inseminasi Metoda Pencucian Uterus DP2M 1996	Author
33	Pengaruh Pemberian Hormon PMSG terhadap Perolehan Embrio dan Kejadian Sistik Folikel pada Domba Ekor Gemuk OPF 1995	Author
34	Daya Fertilisasi Spermatozoa Domba dalam Pengencer Sari Buah Pisang Sitrat dengan Pengujian Metoda Flushing Embrio OPF1993	Author
35	Pengaruh Ovariectomy terhadap Gambaran Histologi Kelenjar Hypofisa Kelinci Serta Perubahan Alat Kelamin Betina Bagian Dalam pasca Ovariectomi OPF1991	Author
36	Pengaruh Kastrasi dan Pemberian Testosteron Pasca Kastrasi terhadap Pertambahan Berat Badan Mencit OPF1990	Author
37	Ilmu Kemajiran Pada Ternak Airlangga University Press 2014	Co-Auth
38	Pengolahan limbah padat isi rumen sapi menjadi pakan ternak Bapeda Surabaya 2001	Co Author

39	Hasil pemisahan spermatozoa kambing, g tehnik column albumin (Y spermatozoa terhadap kejadian kebuntingan dan sex ratio kelahiran BBI 2001	Co Author
40	Peluang pengembangan potensi sumber daya alam dansumber daya manusia di Kecamatan Balong Panggang abupaten Daerah Tingkat II Gresik DIPA 2000	Co Author
41	Pengaruh penambahan cafein pada media pencucian dan kapasitas spermatozoa terhadap kejadian kebuntingan kambing iokal BBI 2000	Co Author
42	Upaya meningkatkan perfoman kambing kacang Iokal melalui tehnik inseminasi buatan menggunakan sperma beku kambing peranakan Etawa DIPA 2000	Co Author
43	Induksi kelahiran kembar melalui kombinasi tehnik transfer embrio dan inseminasi buatan pada sapi perah BBI 2000	Co Author
44	Penggunaan intra uterin Gum rakitan untuk tranfer embrio beku non bedah pada kambing hasil fertilisasi invitro terhadap kejadian kebuntingan BBI1999	Co Author
45	Pengaruh pengenceran media EBSS dan BO pada semen beku kambing Etawa terhadap kejadian kebuntingan kambing Iokal BBI1999	Co Author
46	Pengaruh tranfer embrio baku kambing kacang hasil fertilisasi in vitro terhadap kejadian kebuntingan DP2M1998	Co Author
47	Pengaruh waktu inseminasi buatan dengan menggunakan semen yang diencerkan dengan tris kuning telur terhadap kebuntingan pada kambing Iokal OPF1998	Co Author
48	Penaruh tranfer embrio dengan tehnik bedah dan non bedah terhadap kejadian kebuntingan pada kambing kacang DP2M 1998	Co Author
49	Pengaruh musim beranak dan cara beranak terhadap efisiensi reproduksi sapi perah FH lokal dan impor di Kecamatan Pacet OPF1998	Co Author
50	Pemanfaatan uterus kelinci sebagai natural incubator dalam proses perkembangan mudigah kambing yang berasal dari rumah potong hewan DP2M1998	Co Author
51	Pemanfaatan set kumulus pada medium kultur in vitro embrio mencit tahap satu sel DP2M1998	Co Author
52	Ketelitian cara diagnosa penyakit cacing Hook worms sp dengan menggunakan agar plate dan direct smear dan identifikasi jenis cacing dari saluran pencernaan anjing OPF1997	Co Author
53	Peningkatan kualitas kambing kacang melalui pemakaian tehnik transfer embrio DIKTI-ADB LOAN 1996	Co Author
54	Teknik Pembuatan Embrio beku, kembar identik dan viabilitasnya dalam upaya merintis pembangunan bank embrio sapi Madura Proyek Hi bah Bersaing H/41996-1997	Co Author
55	Teknik Pembuatan Embrio beku, kembar identik dan viabilitasnya dalam upaya merintis pembangunan bank embrio sapi Madura Hibah bersaing 11/1-3 1994-1996	Co Author
56	Pengaruh Superovulasi dengan PMSG dan HCG terhadap kualitas morfologi embrio kambing kacang DIP OPF Unair 1994	Co Author
57	Efek infertilitas daun manggis dalam upaya pencarian obat kontrasepsi wanita dan pria Hibah bersaing 11/11993-1994	Co Author
58	Inseminasi Buatan dan embryo transfer pada rusa timorensis seminar sarasehan satwa liar gembira loka sebagai pembicara Kebun Binatang	Co Author

	Surabaya1993	
59	Teknik pengumpulan air mani badak dan beberapa kendalanya dalam upaya pelestariaanya seminar sarasehan satwa liar gembira loka sebagai pembicara Kebun Binatang Surabaya1993	Co Author
60	Studi tentang daya tampung uterus terhadap embryo pada kambing kacang dengan teknik embryo transfer BBI1992	Co Author
61	Pemantauan kadar progesteron dalam darah rusa bawean (Axis Kuhlii) untuk deteksi kebuntingan dengan tehnik RIA Kebun Binatang Surabaya1992	Co Author
62	Daya fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah piasng sitrat dengan pengujian flushing embryo OPF1992	Co Author
63	Pengaruh pemberian PGF ₂ alfa terhadap kecepatan timbulnya birahi dan jumlah korpus luteum pada domba ekor gemuk BBI 1992	Co Author
64	Teknologi Pembibitan Dispet 2005	Co Author

PEMAKALAH SEMINAR

No	Nama Pertemuan ilmiah	Judul/artikel	Waktu/tempat
1	Seminar Sarasehan Satwa Liar Sebagai Pembicara	Teknik pengumpulan airmani badak dan beberapa kendalanya dalam upaya pelestariaanya	Gembira Loka Yogyakarta 1993
2	Seminar Sarasehan Satwa Liar Sebagai Pembicara	Inseminasi Buatan dan embryo transfer pada rusa timorensis	Gembira Loka Yogyakarta 1993
3	Potensi Cairan Folikel Bebas Steroid Sapi Terhadap Timbulnya Antibody Poliklonal Antiinhibin Pada Kelinci	Seminar Nasional : Biologi 3, tgl 17 Desember 2002	Unair Surabaya
4	Uji Potensi Biologis Antibody Poliklonal Anti Inhibin Pada Peningkatan Jumlah Sel Telur Tikus Putih	Seminar Nasional : Biologi 3 tgl. 17 Desember 2002	Unair Surabaya
5	Paket Teknologi Rancang Bangun Progesteron Intravaginal Silicon Sponge (Privasis) Untuk Induksi Dan Sinkronisasi Birahi Pada Sapi Dan Kambing	Seminar Nasional : Aplikasi Biologi Molekuler di bidang veteriner dalam menunjang pembangunan nasional, tgl 1 Mei 2003	Unair Surabaya
6	The Use Prostaglandin F ₂ α Intravary For Oestrus Synchronization In Dairy Cattle	Seminar internasional Biotechnology for sustainable agriculture, tgl. 7-8 Oktober 2003	Unair Surabaya

No	Nama Pertemuan ilmiah	Judul/artikel	Waktu/tempat
7	Pendidikan dan Pelatihan Memasyarakatkan Inseminasi Buatan pada Kambing/Domba	Pemakalah, 2007	LPPM Unair
8	Gertak Birahi pada Banteng di KBS dengan menggunakan PGF2alfa dan CIDR	Pembicara Symposium Nasional Satwa Liar, 25 April 1992	FKH Unair

KEANGGOTAAN DALAM ORGANISASI

- Anggota Badan Pertimbangan Fakultas (BPF) FKH Unair (2010-2015)
- Anggota Persatuan Dokter Hewan Indonesia (PDHI)

Demikian daftar riwayat hidup ini saya buat dengan sesungguhnya, dan apabila dikemudian hari terdapat keterangan yang tidak benar saya bersedia dituntut dimuka pengadilan, serta bersedia menerima segala tindakan yang diambil oleh pemerintah.

Surabaya, 19 April 2016
Yang membuat,

Prof. Dr. Herry Agoes Hermadi, drh, Msi
NIP. 1959 0823 198703

Biodata Anggota Pengusul Penelitian 1

A. Identitas Diri

1.	Nama Lengkap (dengan gelar)	Prof. H. Mas'ud Hariadi, MPhil., PhD., drh L
2.	Jabatan Fungsional	Staf Pengajar/Guru Besar
3.	Gol/Pangkat	IV/d Pembina Utama Madya
4.	Jabatan Struktural	-
5.	NIP/NIK/Identitas lainnya	195105021976031003
6.	NIDN	0005025103
7.	Tempat dan Tanggal Lahir	Malang, 2 Mei 1951
8.	Alamat Rumah	Jl. Wisma Permai V/18, Surabaya 60115
9.	Nomor Telepon/Faks/HP	031 – 5995048; 081357815959
10.	Alamat Kantor	Kampus C Mulyorejo, Surabaya 60115

11.	Nomor Telepon/Faks	031 – 5993016/Fax 031 – 5993015
12.	Alamat e-mail	masudhariadi@yahoo.co.id
13.	Lulusan yang telah Dihasilkan	S-1= ; S-2= ; S-3=
14.	Mata Kuliah yang Diampu	1. Ilmu Penyakit Reproduksi (D-3) 2. Ilmu Kemajiran Ternak (S-1) 3. Endokrinologi Reproduksi (S-2 dan S-3) 4. Agama Islam II (S-1)

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Airlangga	Murdoch University	Melbourne University
Bidang Ilmu	Kedokteran Hewan	Animal Reproduction	Animal Reproduction
Tahun Masuk-Lulus	1970-1977	1983-1987	1993-2000
Judul Skripsi/Thesis/Disertasi	Hubungan timbal balik antara uterus dan corpus luteum pada sapi	The use of milk progesterone EIA for evaluating dairy herd fertility	Study of ovarian follicular waves in cattle with special reference to the estrus synchronisation
Nama Pembimbing/Promotor	Dr. H. Soehartojo Hardjopranjoto, MSc., drh	Dr. P.E. Williamson, BVSc., PhD	Dr. P.J. Wright, BVSc., PhD Assoc. Prof. Dr. D.B. Galloway, BVSc., PhD

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta RP)
1.	2013	Pengaruh Penambahan Akrosin Terhadap Perolehan Embrio Domba Ekor Gemuk (EG) Pada Fertilisasi In-vitro (Anggota Peneliti)	DIPA BOPTN Tahun ke-1	Rp.50.000.000,-
2.	2014	Pengaruh Penambahan Akrosin Terhadap Perolehan Embrio Domba Ekor Gemuk (EG) Pada Fertilisasi In-vitro (Anggota Peneliti)	DIPA BOPTN Tahun ke-2	Rp.50.000.000,-
3.	2013	Peningkatan Reproduktivitas Jalak Bali Melalui Metoda DNA Sexing dan Perbaikan Mutu Pakan (Ketua Peneliti)	DIPA – UA Tahun ke-1	Rp. 80.000.000,-
4.	2014	Peningkatan Reproduktivitas	DIPA – UA	.

		Jalak Bali Melalui Metoda DNA Sexing dan Perbaikan Mutu Pakan (Ketua Peneliti)	Tahun ke-2	Rp. 80.000.000,-
--	--	--	------------	------------------

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta RP)
1.	2009	Pemeriksaan kasus gangguan reproduksi pada ternak sapi milik rakyat di Jawa Timur	APBD/Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur	N/A
2.	2010	Pemeriksaan kasus gangguan reproduksi pada ternak sapi milik rakyat di Jawa Timur	APBD/Dinas Peternakan Provinsi Jatim	N/A
3.	2011	Kegiatan Penanganan Kasus – kasus Gangguan Reproduksi pada Ternak Sapi Potong milik Rakyat di Jawa Timur	APBD/Dinas Peternakan Provinsi Jawa Timur	N/A
4.	2010	Pelatihan Teknik Sinkronisasi Birahi untuk Meningkatkan Keberhasilan Kawin Suntik Semen Beku pada Sapi Potong di Desa Ngepung Kecamatan Kedamean Kabupaten Gresik	DIPA-FKH UA	7.500.000,-
5.	2011	Upaya intensifikasi melalui IPTEK dan kemandirian agrobisnis bagi masyarakat peternakan itik di desa Poncokusumo Kab. Malang	IbM	50.000.000,-
6.	2008	Melipatgandakan Populasi dan Produk Daging Unggas Melalui Teknologi Kawin Suntik dengan Berbagai Macam Bahan Pengencer	DIPA-FKH UA	7.500.000,-
7.	2012	Program Perintisan Agrobisnis Sapi Potong melalui sistem Kemitraan (Inti-Plasma) Disertai Penerapan Bioteknologi Reproduksi di Desa Poncokusumo – Kab. Malang	IPTEKDA LIPI Tahun ke-1	130.000.000,-
8.	2013	Program Perintisan Agrobisnis Sapi Potong melalui sistem Kemitraan (Inti-Plasma) Disertai Penerapan Bioteknologi Reproduksi di Desa Poncokusumo – Kab. Malang	Tahun ke-2	130.000.000,-

E. Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah Dalam Jurnal Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Artikel Ilmiah	Volume/Nomor/Tahun	Nama Jurnal
1.	Aplikasi Human Menopause Gonadotropin (hMG) hasil Isolasi untuk Pertumbuhan Folikel Sapi Perah Penderita Hypofungsi Ovarium	Vol.4.No.3.Hal 171-174. Nopember 2011 ISSN 1979-1305	Jurnal Veterinaria Medika
2.	Aplikasi Human Menopause Gonadotropin (hMG) Hasil Isolasi untuk Pertumbuhan Folikel Sapi Perah Penderita Hipofungsi Ovarium	Vol. 2: hal 239-245; Tahun 2011	Jurnal Veterinaria Medika
3.	The effect of Prolactin Isolate of Duck in Moulting Phase on The appearance of Anti-prolactin Polyclonal Antibody in Goat	Vol. 2: hal 34-39; Tahun 2009	Journal of Poultry Science
4.	The Effect of Anti Prolactin on Moulting Period of Mojosari Duck (<i>Anas platyrhynchos javanicus</i>)	Vol. 1. No. 2. Desember/2008	Journal of Poultry Science. ISSN 1979-7222

F. Pengalaman Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/Seminar Ilmiah Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Nama Pertemuan Ilmiah/Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1.	International Seminar collaborated among Faculty Veterinary Medicine: UGM, IPB, Unair	Artificial insemination program for beef cattle in Madura island "targets, realisation and problems"	18-19 September, 2012 University Club Hotel UGM, Yogyakarta
2.	Workshop Penanganan Gangguan Reproduksi Sapi dan Sosialisasi Produksi Semen Beku Balai Inseminasi Buatan Daerah	Gangguan Reproduksi pada Sapi dan Penyakit yang Ditularkan Melalui Inseminasi Buatan	3 – 4 Maret 2012 di Fakultas Kedokteran Hewan Unair, Surabaya
3.	Workshop Program tentang "Sapi Berlian" dan Swasembada Daging Sapi dan Kerbau" 2014.	Optimalisasi Kinerja Inseminasi Buatan dlm Rangka Mendukung Program Sapi Berlian dan PSDSK	26-28 Nopember 2011

4.	International seminar and 2 nd Congress of SEAVSA	Pre-treatment with Oestradiol Benzoate Improved the Synchrony of Prostaglandin – induced Oestrus in Dairy Cows	21 – 22 Juni 2011 di Surabaya
5.	International Training Course of Artificial Insemination on Dairy Cattle for Developing Countries.	“Repeat Breeders” in Beef and Dairy Cattle	1 – 28 Nopember 2010, Balai Besar Inseminasi Buatan Jawa Timur

G. Pengalaman Penulisan Buku Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1.	Buku Ajar Ilmu Kemajiran pada Ternak	2011	180	Airlangga University Press

H. Pengalaman Perolehan HKI Dalam 5 – 10 Tahun Terakhir

No.	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
-	-	-	-	-

I. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Lainnya yang Telah Diterapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon Masyarakat
	Kemandirian Agrobisnis Bagi Masyarakat Peternak Itik Di Desa Poncokusumo – Malang	2010	Poncokusumo – Malang	Sangat Antusias & Mendukung

J. Penghargaan yang Pernah Diraih Dalam 10 Tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1.	Satya Lencana Karya Satya 20 tahun	Presiden Republik Indonesia	2004

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggung jawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima resikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi.

Surabaya, 1 April 2016
Ketua Pengusul,

Prof. H. Mas'ud Hariadi, MPhil., PhD., drh.
NIP.: 195105021976031003

Biodata Anggota Pengusul Penelitian 2

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Prof.Dr. R. Tatang Santanu Adikara, drh., MS., MS Tr.Akp.,
Drh.

Jabatan/Golongan : Guru Besar/IVC

Tempat/tanggal lahir : Bangkalan/ 16 Juli 1953

Alamat : Deltasari Indah blok BJ-16

Menerangkan dengan sesungguhnya :

1. Riwayat pendidikan

1. S1 Ilmu kedokteran hewan di FKH Unair, lulus tahun 1978
2. S2 Ilmu Biologi di IPB Bogor, lulus tahun 1982
3. S3 Ilmu Biologi di IPB Bogor, lulus tahun 1986

e. Pendidikan Tambahan

1. Pendidikan Melatonin RIA di MARDI, Malaysia 1985
2. Akupunktur tingkat trampil/SBPP di Surabaya, lulus tahun 1992
3. Master TOT pendidikan akupunktur, di Yogyakarta tahun 2003
4. Advanced study of akupuncture Xiamen Univ. 2002

2. Riwayat Pekerjaan

- a. Tahun 1978 – sekarang : staf pengajar/PNS di FKH Unair
- b. Tahun 1998 – 2005, Kapuslit Bioenergi lemlit Unair

3. Riwayat Jabatan

- a. Guru Besar Universitas Airlangga, 2007 – sekarang

- b. SekJend DPP Acasi
- c. Ketua Umum MASPATIN
- d. Guru dan Instruktur pada LPASS

4. Pengalaman lain

- a. Lecturer of Veterinary acupuncture overseas education, Xiamen Univ., 2002
- b. Menulis buku tentang Filosofi Akupunktur, Akupunktur pada ternak, Teknik Akupunktur dasar
- c. Memperoleh Master Trainer bidang Akupunktur dari Dirjen. Pendidikan Luar Sekolah dan Pemuda Dep.Dik.Nas, 2003
- d. Menulis buku Akupreser dasar dan buku Akupreser untuk Pengobatan.
- e. Menulis buku Akupreser untuk Kecantikan
- f. Instruktur pada Integrated Medicine fo Increase Quality of Life IDI Pusat
- g. Instruktur dan guru pada LPASS
- h. Instruktur dan Pengajar Pendidikan dan Pelatihan Terapi Komplementer dan Akupreser bagi tenaga Dokter, Perawat, bidan dan praktisi Akupreser di RSUD dr.H.Koesnadi Bondowoso
- i. Instruktur dan pengajar Diklat Terapi Komplementer dan Alternatif bagi Dokter2 sejawa Timur, 2013- sekarang

Demikian daftar riwayat hidup ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, April 2016
Yang menyatakan,

Prof.Dr. R. Tatang Santanu Adikara, drh., MS.,MS tr.Akp.

