



UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5992785, 5993016 Fax (031) 5993015

Laman: <http://www.fkh.unair.ac.id>, e-mail: info@fkh.unair.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 1883/UN3.1.6/KP/2023

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH
NIP : 196201151988031002
Pangkat/Golongan : Pembina (Gol. IV/a)
Jabatan : Wakil Dekan III

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Dr. Erma Safitri, drh., M.Si
NIP : 196907231999032001
Pangkat/Golongan : Penata Tk. I (Gol. III/d)
Jabatan : Lektor

Telah melaksanakan penelitian dengan judul sebagai berikut :

No	Judul Karya Ilmiah	Tahun Pelaksanaan Penelitian
1	Immunomodulatory Activity of Black Jinten Oil (<i>Nigella sativa</i>) as Macrophage Activator for <i>Salmonella typhimurium</i> Infected Rat	2020
2	Screening the Reproductive Tract of Dairy Cattle for Pathogenic Micros	2019
3	Human Chorionic Gonadotropin (hCG) from Urine of Pregnant Women to Manipulate in vivo Ovulation and Pregnancy of Madura Cows	2019
4	Anti Early Embryonic Protein (EEP) for Pregnancy Test by Microtiter Strip in Dairy Cows	2019
5	The Effect of Feeding High Level of Protein on Reproductive Performance of Bali Starling.	2019
6	Antisperm Antibody in Repeat Breeder Friesian Holstein Cows at KPSP Setia Kawan Nongkojajar, Tutur District, Pasuruan, Indonesia.	2019
7	Diagnosis of Single and Twin Pregnancy, and Early Embryo Mortality Through Progesterone Level Test on Local Does.	2019
8	Improvement of Pregnancy Rate in Bali Cows with the Combination of Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) from Local Pregnant Mare with PGF2α.	2019
9	Progesterone Profile of Dairy Cows which Experienced the Failure of Pregnancy to Artificial Insemination (AI).	2019
10	Effect of Heat Shock Protein (HSP) in Post Thaw Baluran Bull Semen	2018
11	Potency of Mycotoxin Binders on MDA Level, Expressions of Caspase 9 and Caspase 3 in The Uterus of Mice Exposed to Zearalenone	2017





UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5992785, 5993016 Fax (031) 5993015

Laman: <http://www.fkh.unair.ac.id>, e-mail: info@fkh.unair.ac.id

12	Polymorphism of Growth Hormone Gene in The Artificial Insemination Result of Madura Cattle with Limousin Semen as a Reference for Genetic Selection	2018
13	Implementation of fotogrametry techniques as body mass estimation of indo-pacific bottle nose dolphin (<i>Tursiops aduncus</i>) in bali dolphin lodge	2020
14	Uji Sensitivitas Kebuntingan Sapi Perah Menggunakan Pregnancy Specific Protein B (PSPB) Microtiter Strip dan Progesteron sebagai Gold Standard	2007
15	Estimation of Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) concentrate in the Blood Sera of Pregnant Mare	2014
16	Efek Pemberian L-Arginin Terhadap Gambaran Histologi Jumlah Spermatozit Primer pada Mencit (<i>Mus musculus</i>) Setelah Terpapar Suhu Panas	2019
17	Anti Prolactine Overcomes Heat Stress on Laying Hen.	2008
18	Unnatural Forced Moulting in The Laying Hen as Cause of Zoonosis from <i>Salmonella Enteritidis</i>	2009
19	Case Study: Dystocia on Beef Cattle in Kunir Regency of Lumajang District, East Java, Indonesia in 2015 and 2016	2017
20	Teratogenic Effect of Congenital Toxoplasmosis in Chicken Embryo	2017

Adapun penelitian tersebut layak dilakukan, meskipun belum ada **Ethical Clearance** karena menggunakan hewan coba yang minimal dan menghasilkan output yang sangat baik.

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dapat dipergunakan sebagai persyaratan pengusulan Jabatan Fungsional **Guru Besar**

Surabaya, 3 April 2023

Wakil Dekan III,

Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH
NIP 196201151988031002



ISSN 0215-8930

MEDIA Kedokteran Hewan

Veterinary Medicine Journal



MKH (Vet.Med.J.) Vol. 25 No. 1 Hal. 1 - 73 Surabaya, Jan 2009 ISSN 0215-8930

Akreditasi Dirjen Dikti No. 108/Dikti/Kep/2007
Tanggal 23 Agustus 2007

Media Kedokteran Hewan

Vol. 25, No. 1, Januari 2009

Media Kedokteran Hewan memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan Peternakan
Terbit pertama kali tahun 1985 dengan frekuensi terbit tiga kali satu tahun pada bulan
Januari, Mei dan September

SUSUNAN DEWAN REDAKSI

Ketua Penyunting:

Kusnoto

Sekretaris:

Erma Safitri

Bendahara:

Lilik Maslachah

Iklan dan Langganan:

Boedi Setiawan

Penyunting Pelaksana:

Sri Subekti Bendryman Soedjoko

Sri Agus Sudjarwo

Suwarno

Epy Muhammad Luqman

Tim Penerjemah:

Mas'ud Hariadi

Suzanita Utama

Muchammad Yunus

Musto Helmi Efendi

Penyunting Penyelia:

Susilowati

Alamat: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Kampus "C" Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992785; 5993016; Fax. (031) 5993015
e-mail: mkh_ua@yahoo.com

Rekening: Media Kedokteran Hewan, FKH Unair
Tabungan Bisnis Mandiri 1410007144132

Media Kedokteran Hewan diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Hewan Indonesia (PDHI) dan
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya
Akreditasi Dirjen Dikti No. 108/Dikti/Kep/2007.

Media Kedokteran Hewan

Vol. 25, No. 1, Januari 2009

KETENTUAN UNTUK PENULISAN NASKAH

1. Ketentuan Umum
 - a. Media Kedokteran Hewan memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan Peternakan, berupa hasil penelitian, artikel ulas balik (*review*) dan laporan kasus baik dalam Bahasa Inggris.
 - b. Naskah/makalah harus orisinal dan belum pernah diterbitkan. Apabila diterima untuk dimuat dalam Media Kedokteran Hewan, maka tidak boleh diterbitkan dalam majalah atau media yang lain.
2. Standar Penulisan
 - a. Makalah diketik dengan jarak 2 spasi, kecuali Judul, Abstrak, Judul tabel dan tabel, Judul gambar, Daftar Pustaka, dan Lampiran diketik menurut ketentuan tersendiri.
 - b. Alinea baru dimulai 3 (tiga) ketukan ke dalam atau (*First line 0.3"*) dari format paragraf.
 - c. Huruf standar untuk penulisan adalah Book Antiqua 11.
 - d. Memakai kertas HVS ukuran kuarto (8,5 x 11").
 - e. Menggunakan bahasa Indonesia atau bahasa Inggris.
 - f. Tabel/Illustrasi/Gambar harus amat kontras, juga menyertakan *file scanning* (foto) terpisah dengan makalah dengan format file JPG. Keterangan Tabel, Gambar atau Penjelasan lain dalam Lampiran diketik 1 (satu) spasi.
3. Tata cara penulisan naskah / makalah ilmiah
 - a. Tebal seluruh makalah sejak awal sampai akhir 12-14 halaman.
 - b. Penulisan topik (Judul, Nama Penulis, Abstrak, Pendahuluan, Metode dst.) tidak menggunakan huruf kapital tetapi menggunakan *Title Case* dan diletakkan di pinggir (sebelah kiri).
 - c. Sistematika penulisan makalah adalah Judul (Bahasa Indonesia dan Inggris), Nama Penulis dan Identitas, Abstract dengan Key words, Pendahuluan, Metode Penelitian, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terima Kasih (bila ada), Daftar Pustaka dan Lampiran (bila ada).
 - d. Judul harus pendek, spesifik, tidak boleh disingkat dan informatif, yang ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris.
 - e. Nama penulis di bawah judul, identitas dan instansi penulis harus jelas, tidak boleh disingkat dan ditulis di bawah nama penulis.
 - f. Abstrak maksimal terdiri dari 200 (dua ratus) kata, diketik 1 (satu) spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris.
 - g. Kata kunci (*key words*) maksimum 5 (lima) kata setelah abstrak.
 - h. Metode Penelitian memuat peralatan / bahan yang digunakan (terutama yang spesifik), prosedur penelitian dan analisis statistik (bila ada).
 - i. Daftar Pustaka disusun secara alfabetik tanpa nomor urut. Singkatan majalah/jurnal berdasarkan tata cara yang dipakai oleh masing-masing jurnal. Diketik 1 (satu) spasi dengan paragraf *hanging 0.3"* dan before 3.6 pt. Proporsi daftar pustaka, Jurnal/Majalah Ilmiah (60%), dan *Text Book* (40%). Berikut contoh penulisan daftar pustaka berturut-turut untuk *Text Book* dan Jurnal.

Roitt I, Brostoff J, and Male D. 1996. Immunology. 4th Ed. Black Well Scientific Pub. Oxford. pp. 23-41

Staropoli I, Clement JM, Frenkiel MP, Hofnung M, and Deuble V. 1996. Dengue-1 virus envelope glycoprotein gene expressed in recombinant baculovirus elicits virus neutralization antibody in mice and protects them from virus challenge. Am.J. Trop. Med. Hygi. 45: 159-167.
4. Pengiriman makalah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan (*print out*) sebanyak 3 (tiga) eksemplar. Setelah ditelaah oleh Tim Editor MKH, makalah yang telah direvisi penulis segera dikembalikan ke redaksi dalam bentuk cetakan 1 (satu) eksemplar dengan menyertakan makalah yang telah direvisi dan 1 (satu) disket 3.5" (Program MS Word/IBM Compatible) dikirim ke alamat redaksi: **Media Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Kampus C Unair, Jalan Mulyorejo, Surabaya 60115, Telepon 031-599.2785; 599.3016; Fax. 031-599.3015; e-mail : mkh_ua@yahoo.com**
5. Ketentuan akhir
Terhadap naskah/makalah yang dikirim, redaksi berhak untuk:
 - a. memuat naskah/makalah tanpa perubahan
 - b. memuat naskah/makalah dengan perubahan
 - c. menolak naskah/makalah
6. Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah/makalah.
7. Makalah yang telah dimuat dikenai biaya penerbitan dan biaya pengiriman.
8. Penulis / pelanggan dapat mengirimkan biaya pemutaran makalah / langganan lewat **transfer-bank** pada **Media Kedokteran Hewan, FKH Unair Tabungan Bisnis Mandiri 1410007144132**.
9. Semua keputusan redaksi tidak dapat diganggu gugat dan tidak diadakan surat menyurat untuk keperluan itu.

Media Kedokteran Hewan

Vol. 25, No. 1, Januari 2009

Terbit tiap 4 bulan sekali, pada bulan Januari, Mei dan September

DAFTAR ISI

	Halaman
01 Mutasi Virus AI di Indonesia: Antigenic Drift Protein Hemagglutinin (HA) Virus Influenza H5N1 Tahun 2003-2006 (NLP Indi Dharmayanti dan Darminto)	1 - 8
02 Studi Penentuan Tipe dan Subtipe Virus Avian Influenza dengan Metode <i>Single Step Multiplex Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR) (Aris Haryanto, Medania Purwaningrum, Ratna Ermawati, Khrisdiana Putri, Michael Haryadi Wibowo, Charles Rangga Tabbu)	9 - 16
03 Ekspresi <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i> (TNFR)-1 di Trofoblas Mencit yang Diinfeksi <i>Toxoplasma gondii</i> (Lucia Tri Suwanti)	17 - 22
04 Pemeriksaan Radiologi untuk Menegakkan Diagnosis Pyometra pada Anjing (Diah Kusumawati)	23 - 28
05 Virgin Coconut Oil dan Olive Oil pada Kolesterol Darah Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) dengan Diet Tinggi Kolesterol (Setiawati Sigit, Setya Budi, Yuni Priyandari, Rohmah Kurnijasanti, dan Ratna Damayanti)	29 - 34
06 Kualitas Spermatozoa Epididimis Kerbau Belang dalam Pengencer Dasar Andromed dengan Penambahan Dekstrosa (H. Maheshwari, Yulnawati, Herdis, dan M. Rizal)	35 - 38
07 Kriopreservasi Spermatozoa <i>Macaca nemestrina</i> dengan Menggunakan <i>N-Triethylamine-Oxide</i> (TMAO) sebagai Stabilisator Protein (Pudji Astuti, Eric Hayes, Eliza Curnow, Kamil Riski Sidik, Joko Pamungkas, Dondin Sajuthi)	39 - 44
08 Suplementasi Tirosin Kinase Asal Spermatozoa ke dalam Pengencer Semen Meningkatkan Angka Kebuntingan (Pudji Srianto)	45 - 48
09 Ekspresi Tirosin Kinase Spermatozoa Sapi Perah FH setelah Perlakuan Suplementasi berbagai Dosis Tirosin Kinase (Sri Pantja Madyawati)	49 - 54
10 Uji Sensitivitas Kebuntingan Sapi Perah Menggunakan <i>Pregnancy Specific Protein B</i> (PSPB) <i>Microtiter Strip</i> dan Progesteron sebagai Gold Standard (Abdul Samik dan Erma Safitri)	55 - 60
11 Penggunaan Asam Laktat Cair dan Enkapsulasi sebagai Aditif Pakan pada Ayam Pedaging (Muhammad Halim Natsir)	61 - 66
12 Identifikasi Senyawa Antikanker dalam Ekstrak N-Heksan Spons Biru (<i>Strongylophora</i> sp.) dengan Kromatografi Gas Spektrum Masa (Anisyah Ahmad, Hanif Nasiatul Baroroh, Warsinah)	67 - 73

Uji Sensitivitas Kebuntingan Sapi Perah Menggunakan *Pregnancy Specific Protein B (PSPB) Microtiter Strip* dan Progesteron sebagai Gold Standard

Pregnancy Diagnostic Sensitivity Test of Dairy Cattle Using Pregnancy Specific Protein B (PSPB) Microtitre Strip and Progesterone as Gold Standard

Abdul Samik dan Erma Safitri

Departemen Reproduksi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya-60115, Tel. +62-031-5992785 Ext. 200, Fax. +62-031-5993015,
e-mail: samik_s3@yahoo.co.id

Abstract

The development of early pregnancy diagnosis method in mammals can be undertaken by observing the specific substance present within mother's blood, the Pregnancy Specific Protein B (PSPB). This study was conducted through the following stages: Diagnosis of dairy cattle pregnancy with PSPB microtitre strip on day 21 post-artificial insemination and Pregnancy test by determination of serum progesterone level was carried out to confirm the pregnancy diagnostic by PSPB microtitre strip. PSPB protein level of dairy cattle blood serum obtained in days 21 of post-artificial insemination was 320.375–557.875 ug/ml. The result of dairy cattle blood serum progesterone on day 21 post-artificial insemination revealed that 32 dairy cattle had progesterone level of > 1 ng/ml (1.18–5.96 ng/ml) and 18 dairy cattle had progesterone level of <1 ng/ml (0.07–0.93 ng/ml). The result of PSPB microtitre strip with blood serum progesterone level test revealed sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value, and negative predictive value of 94.29 %, 80%, 91.67%, 87.71% and 90%. Based on the results of the study and data analysis, a general conclusion could be drawn as follows: anti-PSPB can be employed to diagnose pregnancy in dairy cattle by means of PSPB microtiter strip method.

Key words: Anti-PSPB, PSPB microtiter strip, progesterone, sensitive test

Pendahuluan

Peta populasi ternak nasional diwarnai oleh laju pertumbuhan yang beragam, pertumbuhan ternak selama 20 tahun terakhir (1987-2006) secara umum menunjukkan laju pertumbuhan positif. Namun laju pertumbuhan ternak besar cenderung menurun terutama periode 10 tahun terakhir (1997-2006). Populasi sapi menurun -1,22 % rata-rata per tahun, kerbau menurun -3,17 % rata-rata per tahun (Ditjennak, 2006).

Upaya menghindari penurunan laju pertumbuhan ternak dan peningkatan produktivitas dengan melakukan perbaikan asas kelestarian sumberdaya ternak nasional (populasi), asas keseimbangan (suplai-permintaan) dan asas kemandirian (mengurangi impor). Asas kelestarian sumberdaya ternak akan terkait dengan aspek peningkatan kelahiran, memperpendek jarak antar kelahiran, penurunan kematian, pengendalian pemotongan betina dan pejantan unggul (Sudardjad, 2005).

Salah satu upaya untuk memperpendek *calving interval* adalah melakukan diagnosis kebuntingan

secepat mungkin setelah terjadinya perkawinan untuk identifikasi lebih awal sehingga kehilangan waktu produksi sebagai akibat infertilitas dapat dikurangi.

Secara laboratoris diagnosis kebuntingan dilakukan dengan melihat substansi non spesifik yang ada dalam darah, urin dan air susu induk selama kebuntingan seperti progesteron dan estron sulfat (Hafez, 2000). Namun pemeriksaan ini masih banyak kendala karena mahalnya biaya dan lamanya waktu diagnosis.

Sampai saat ini masih terus dilakukan pengembangan dan pencarian metode alternatif untuk diagnosis kebuntingan dini ternak yang relatif lebih cepat, akurat, murah dan mudah dilakukan di lapangan. Pengembangan metode diagnosis kebuntingan dini ternak dapat dilakukan dengan melihat substansi spesifik yang terdapat dalam darah induk yaitu *Pregnancy Specific Protein B (PSPB)* (Hafez, 2000).

Pregnancy Specific Protein B merupakan protein spesifik yang berperan penting pada proses implantasi dan kebuntingan dengan memelihara *corpus*

luteum graviditatum untuk menghasilkan hormon progesteron (Karnen, 2001).

Placentoma pada golongan mamalia tersusun atas *placenta maternalis* (*carunculae*) dan *placenta foetalis* (*cotyledon*). *Pregnancy Associated Substances* diproduksi oleh *placenta foetalis* (*cotyledon*) setelah proses implantasi dan tetap berada di dalam darah induk bunting sampai partus dan menghilang empat minggu setelah partus (DuPlants, 2000).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji peran antibodi terhadap PSPB sebagai bahan diagnostik kebuntingan dini pada sapi perah dan membuktikan bahwa diagnosis kebuntingan sapi perah dengan menggunakan PSPB *microtiter strip* lebih baik dari pemeriksaan kadar progesteron.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan 50 ekor sapi perah betina. Penelitian dilakukan di Fakultas Kedokteran Hewan Unair, Laboratorium Biomol FMIPA Unibraw, Peternakan sapi perah di UPT Ternak Dinas Peternakan Propinsi Jawa Timur di Tuban, Kediri dan Singosari Malang.

Diagnosis kebuntingan sapi perah dengan mengukur kadar PSPB serum darah

Diagnosis kebuntingan dengan mengukur kadar PSPB serum darah dilakukan pada hari ke 21 pasca inseminasi buatan. Mikrotiter strip didasarkan pada *Sandwich ELISA* dengan metode sebagai berikut: Anti-PSPB diproduksi pada kelinci dengan melakukan imunisasi berulang menggunakan antigen PSPB (bPSPB rec protein lot : 10731P707, MDBiomed), *Microplate* 96 well dilapisi dengan anti- PSPB sebanyak 100 µl, kemudian diinkubasi pada 4 °C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pencucian dengan 0,05 % PBS-Tween 20 sebanyak 6 kali dan di blok dengan BSA grade 5 dengan konsentrasi 1 %, kemudian dicuci dengan 0,05 % PBS-Tween 20 sebanyak 6 kali. Setelah itu direaksikan dengan PSPB (serum darah dari sapi perah yang diduga bunting) sebanyak 100 µl dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 jam. Selanjutnya dicuci 6 kali dan direaksikan dengan antibodi *konjugate alkalin fosfatase* dan diinkubasi pada 37 °C selama 1 jam kemudian dicuci. Setelah itu ditambahkan substrat PNPP dan jika warna pada kontrol sudah berubah menjadi kuning maka reaksi dihentikan. Hasil OD dibaca pada *ELISA reader* sistem BIO-RAD pada panjang gelombang 405 nm.

Diagnosis kebuntingan sapi perah dengan mengukur kadar progesteron serum darah

Diagnosis kebuntingan dengan mengukur kadar progesteron serum darah dilakukan pada hari ke 21

pasca inseminasi buatan. Kadar Progesteron serum darah diukur dengan *Enzyme Immunoassay* (EIA) (Progesterone EIA test kit CA 2077, Diagnostic Azutomation Inc). Pada masing-masing *well* dimasukkan 25 µl larutan standar, sampel dan kontrol. Kemudian dicampur dengan 100 µl reagen *Progesterone-HRP conjugate*. Selanjutnya pada masing-masing *well* dimasukkan 50 µl reagen *rabbit anti-progesterone*, dan dikocok (*shaker*) selama 30 detik. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 18-25 °C selama 90 menit, kemudian dicuci 5 kali dengan *aqua distilata*. Setelah itu dimasukkan 100 µl *stop solution* (1 N HCl) pada masing-masing *well* dan dikocok (*shaker*) selama 30 detik. Nilai absorbansi dibaca pada *ELISA reader* setelah 15 menit dengan absorbansi 450 nm.

Analisis data

Data penelitian yang didapat berupa kadar PSPB serum darah perah pada 21 hari pasca inseminasi buatan dan kadar progesteron pada 21 hari pasca inseminasi buatan disajikan dalam bentuk deskriptif. Data mikrotiter strip (kadar PSPB serum darah) dan kadar progesteron pada hari ke 21 pasca inseminasi buatan diuji validitasnya (Broadbuss and de Vries, 2005) dengan menghitung persentase sensitifitas, spesifitas, predksi negatif dan positif, akurasi (Tabel 1).

Tabel 1. Uji Validitas Kebuntingan Sapi Perah (Sensitivitas, Spesifitas dan Akurasi)

Kadar PSPB	Kadar Progesteron		Total
	Bunting (+)	tidak bunting (-)	
Bunting	A	b	a + b
Tidak bunting	C	d	c + d
Total	a+c	b+d	

a = *true positives* (hasil kadar PSPB positif atau kadar progesteron > 1 ng/ml); b = *false positives* (hasil kadar PSPB negatif atau kadar progesteron > 1 ng/ml); c = *false negatives* (hasil kadar PSPB positif atau kadar progesteron ≤ 1 ng/ml); d = *true negatives* (hasil kadar PSPB negatif atau kadar progesteron ≤ 1 ng/ml).

$$\text{Sensitivity} = \frac{a}{a+b} \quad \text{Spesificity} = \frac{d}{c+d}$$

$$\text{Positive predictive value} = \frac{a}{a+c}$$

$$\text{Negative Predictive Value} = \frac{d}{b+d}$$

$$\text{Accuracy} = \frac{a+d}{a+b+c+d}$$

Hasil dan Pembahasan

Diagnosis kebuntingan sapi perah dengan mengukur kadar PSPB serum darah

Diagnosis kebuntingan dilakukan dengan mikrotiter strip, pemeriksaan progesteron dan palpasi rektal. Prinsip kerja mikrotiter strip didasarkan pada *Sandwich ELISA* (antibodi penangkap antigen). Hasil mikrotiter strip positif bila terjadi perubahan warna kuning dari larutan yang ada didalam sumuran mikrotiter.

Perubahan warna yang terjadi mengindikasikan bahwa protein ada dalam serum darah. Perubah warna dibaca dengan spektrofotometer dengan λ 450 nm dan hasil *optical density* nya (OD) dikonversikan dengan kurva standar protein PSPB seperti terlihat pada Tabel 2.

Kurva standar protein PSPB dan nilai absorbansinya dapat dilihat pada Gambar 1.

Sebanyak 36 ekor sapi perah (72%) di dalam darahnya sudah ada PSPB. Pada hari ke 21 pasca inseminasi buatan. Kadar protein PSPB hasil penelitian sebesar 320,375-557,875 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan gambarannya dapat dilihat pada Gambar 2.

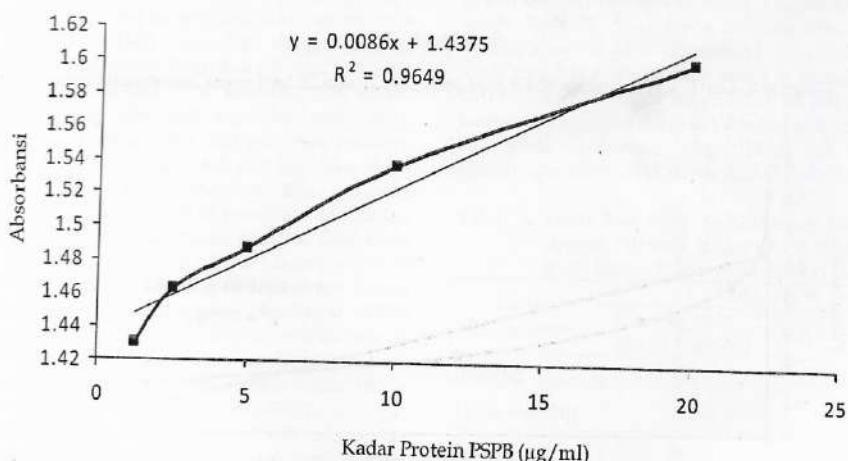
Xie *et al.* (1996) mendeteksi PSPB pada induk sapi sejak umur kebuntingan tiga minggu. Konentrasi PSPB dilaporkan mencapai optimal sebelum proses kelahiran. Gonzales *et al.* (2000) menemukan bahwa konsentrasi PSPB sapi mencapai maksimal pada usia kebuntingan 8 minggu dan mulai menurun pada minggu ke 12-14 yang selanjutnya konstan sampai partus. Sementara itu, Vandaele *et al.* (2005)

berhasil mendeteksi substansi ini pada umur kebuntingan tiga sampai empat minggu. Dilaporkan pula konsentrasi PSPB mulai menurun drastis setelah empat minggu post partum.

Tabel 2. Konsentrasi dan Nilai Absorbansi Protein PSPB Standar

Konsentrasi $\mu\text{g}/\text{ml}$	Absorbansi
20	1,601
10	1,537
5	1,488
2,5	1,463
1,25	1,431

Deteksi kebuntingan secara dini sangat bermanfaat digunakan sebagai alat untuk mengelola ternak lebih lanjut. Ternak yang tidak bunting dipisahkan dengan yang bunting lebih awal untuk mendapatkan perlakuan sesuai dengan status fisiologisnya. Ternak yang bunting diberi makanan sesuai dengan kebutuhan perkembangan fetus yang ada dalam kandungan, sedangkan ternak yang tidak bunting segera dievaluasi status kesehatan reproduksinya. Bila ternak masih memungkinkan untuk diperbaiki status reproduksinya maka perlu penanganan khusus agar secepatnya bisa bunting kembali. Namun bila hasil evaluasi tidak memungkinkan untuk dipelihara lebih lanjut maka ternak bisa digemukkan untuk diambil dagingnya atau langsung di potong.



Gambar 1. Grafik kurva baku protein PSPB.

Dekripsi kebuntingan lebih awal pada ternak khususnya ternak penghasil susu akan bermanfaat secara ekonomis karena apabila ternak tidak bunting maka akan mempengaruhi kelangsungan dan jumlah produksi susu. Jarak kelahiran yang panjang sangat tidak efisien karena akan menurunkan efisiensi reproduksi dalam hal menghasilkan keturunan yang secara tidak langsung akan menghambat perkembangan populasi.

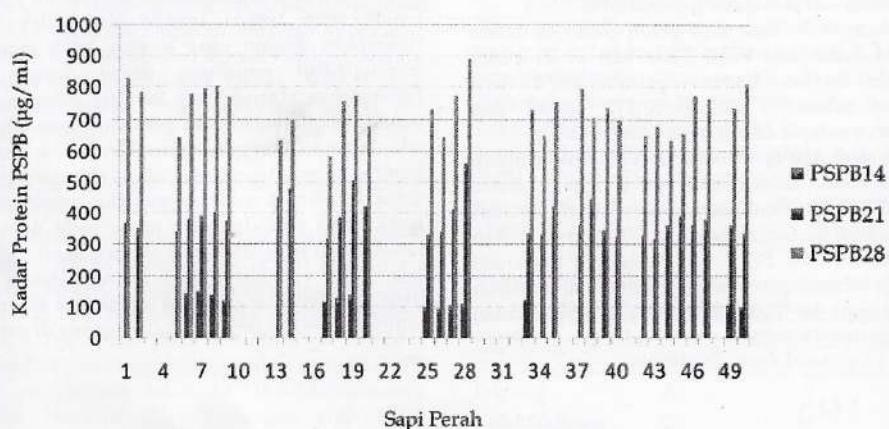
Diagnosis kebuntingan sapi perah dengan mengukur kadar progesteron serum darah

Pemeriksaan kadar progesteron dilakukan pada 21 hari pasca inseminasi buatan. Gambaran absorbansi progesteron standar dan kadar progesteron darah dapat dilihat pada Tabel 3.

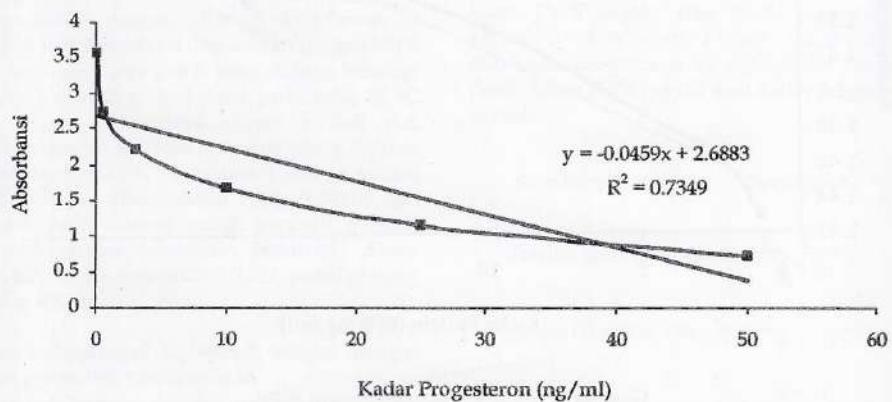
Tabel 3. Kadar Progesteron Standar dan Nilai Absorbansinya

Progesteron standar (ng/ml)	Absorbansi
0	3,576
0,5	2,73
3	2,215
10	1,679
25	1,148
50	0,718

Gambaran hubungan kadar progesteron standar dan nilai absorbansinya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Grafik kadar protein PSPB sapi perah 14, 21 dan 28 hari pasca inseminasi buatan.



Gambar 3. Grafik kurva standar progesteron.

Sebanyak 35 (70 %) ekor sapi perah menunjukkan kadar progesteron darahnya lebih dari 1 ng/ml yang berarti mengindikasikan bunting dan ada 15 ekor sapi perah dengan kadar progesteron dibawah 1 ng/ml atau tidak bunting. Kadar progesteron serum darah sapi perah hari ke 21 pasca inseminasi buatan sebesar 1,18-5,96 ng/ml (bunting) dan 0,07-0,93 ng/ml (tidak bunting).

Pada hewan bunting progesteron dihasilkan oleh *corpus luteum* gravidatum dan dipertahankan terus sampai menjelang kelahiran. *Corpus luteum* dibentuk setelah proses ovulasi terjadi. Proses ovulasi melibatkan reaksi umpan balik dari hormon-hormon yang diproduksi oleh ovarium yaitu estradiol dan progesteron. Menjelang hewan biring kadar estradiol dalam darah tinggi sehingga menyebabkan umpan balik positif untuk keluarnya LH-RH dari hipotalamus. Akibat rangsangan LH-RH menyebabkan hipofisis anterior memproduksi LH yang berfungsi untuk proses ovulasi (Hafez, 2000). Pre-ovulatory LH surge menginduksi hilangnya reseptor LH pada sel-sel folikel sampai terjadi proses desensitasi, tetapi dalam waktu beberapa hari oleh pengaruh prolaktin sel-sel *corpus luteum* berisi penuh dengan reseptor LH yang penting untuk produksi steroid (Austin and Short, 1984).

Luteinizing Hormon (LH) merupakan hormon protein dalam melakukan regulasi sel melalui pengikatan pada reseptor spesifik dari membran sel *corpus luteum* dengan mengontrol aktivitas enzim *adenylate cyclase*. Enzim ini bertanggung jawab terhadap katalisasi konversi *adenosin triphosphate* (ATP) menjadi *cyclic adenosin mono phosphate* (cAMP) dan *pyrophosphate*. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar cAMP. cAMP bereaksi dengan enzim *protein kinase* yang mempunyai dua sub unit yaitu sub unit regulator dan sub unit katalitik. Bila cAMP berikatan dengan sub unit regulator maka akan menyebabkan disosiasi dari dua sub unit tersebut. Bila cAMP berikatan dengan sub unit regulator maka sub unit katalitik akan dihambat. Bila sub unit katalitik bebas maka akan aktif untuk mengkatalisasi fosforilasi satu atau lebih protein spesifik. Fosforilasi yang terjadi dalam inti akan mempengaruhi informasi genetik DNA untuk memproduksi enzim spesifik yang mempengaruhi transkripsi RNA sehingga akan mempengaruhi sintesis mRNA baru di dalam sitoplasma dan akan mensintesis protein baru yang berperan penting dalam pembentukan enzim untuk biosintesis steroid (Ismudiono, 1999).

Pregnancy Specific Protein B (PSPB) selama kebuntingan berperan untuk memelihara *corpus luteum* dengan jalan menstimulasi produksi prostaglandin E2 (PGE2). Prostaglandin E2 akan meningkatkan sintesis cAMP sehingga akan meningkatkan produksi

progesteron di dalam *corpus luteum* selama kebuntingan (Karnen, 2001).

Uterus sangat membutuhkan peran progesteron untuk perlakuan embryo dan perkembangan membran fetus. Pada kambing dan tidak pada domba, *corpus luteum* merupakan sumber utama penghasil progesteron selama kebuntingan. Menurut Partodihardjo (1992) progesteron mempunyai tiga fungsi utama pada uterus. Pertama, progesteron menghambat kontraksi miometrium untuk menjamin kelangsungan hidup *blastocyst* dalam uterus. Elanjutnya progesteron menghambat fungsi *oxytocin* pada miometrium sehingga fetus yang berkembang di dalam uterus tidak dikeluarkan. Kedua, progesteron merangsang tumbuhnya kelenjar-kelenjar uterus untuk memproduksi susu uterus (*histotroph*) yang sangat dibutuhkan *blastocyst* sebelum implantasi. Ketiga, pada saat implantasi selalu diikuti oleh proses perkembangan sel-sel permukaan endometrium untuk menerima *blastocyst* yang disebut *deciduoma*. Tanpa adanya rangsangan progesteron *deciduoma* tidak akan terbentuk.

Identifikasi awal terjadinya kebuntingan dan tidak bunting pada ternak setelah perkawinan bermafaat untuk menentukan efisiensi reproduksi dan tingkat kebuntingan ternak dengan jalan memperpendek jarak antar beranak. Akurasi atau validitas dari suatu uji diukur dengan melihat sensitivitas, spesifitas, nilai prediksi positif dan negatif.

Hasil diagnosis kebuntingan kambing dengan uji mikrotiter strip pada 21 hari pasca IB menghasilkan angka akurasi sedikit lebih baik dari uji kebuntingan dengan mengukur kadar progesteron serum darah. Pada 21 hari pasca IB didapatkan hasil uji akurasi atau validitas yang tinggi dikarenakan pada umur tersebut plasenta sapi sudah terbentuk sehingga protein PSPB dapat dikeluarkan ke darah perifer maternal dan dapat dideteksi dengan anti-PSPB yang ada pada mikrotiter strip. Hasil uji validitas kebuntingan sapi perah dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Diagnosis Kebuntingan Sapi Perah dengan Melihat Kadar PSPB dan Progesteron Serum Darah pada 21 Hari Pasca IB

Kadar Progesteron	> 1 ng/ml (positif bunting)	≤ 1 ng/ml (tidak bunting)
Bunting	33	2
Tidak bunting	3	12
Total	36	14

Sensitivitas: 33/35 = 94,29%; Spesifitas: 12/15 = 80%;
Positive predictive value: 33/36 = 91,67%; Negative predictive value: 12/14 = 85,71%; Akurasi = 90 %.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang dilakukan dapat dibuat kesimpulan bahwa anti-PSPB dapat digunakan untuk diagnosis kebuntingan sapi perah dengan metode PSPB *microtiter strip* dengan kemampuan uji validitas lebih baik dari pemeriksaan kadar progesterone serum darah.

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini diucapkan terima kasih kepada Dirjen Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional karena telah berkenan mendanai penelitian ini melalui proyek Hibah Bersaing dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor 319/SP2H/PP/DP2M/III/2008, tanggal 5 Maret 2008.

Daftar Pustaka

- Austin CR, and Short RV. 1984. Mechanisms of Hormon Action in Cambridge University Press. London.
- Broadus B, and de Vries A. 2005. A Comparison of methods for early pregnancy diagnosis. Proceeding 2nd Florida Dairy Road Show.
- Direktur Jendral Peternakan. 2006. Statistik Peternakan. CV. Arena Seni. Jakarta
- DuPlants LJ. 2000. Pregnancy Specific Protein B. Lifeissues.net. Kochi, Japan. All Rights Reserved.
- Gonzales F, Sulon J, Garbayo JM, Batista M, Cabrera F, Calero PO, Gracia A, and Beckers JF. 2000. Secretory profiles of pregnancy-specific protein B at different stages of pregnancy in the goat. Reproduction in Domestic Animals, 35: 79.
- Hafez ESE. 2000. Reproduction in Farm Animals. 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Ismudiono. 1999. Fisiologi Reproduksi pada Ternak. Edisi Kedua. Diktat Kuliah Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Karnen GB. 2001. Imunology Dasar. Edisi 4. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Partodihardjo S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Cetakan ketiga. Mutiara Sumber Widya Jakarta.
- Sudardjad S. 2005. Operasional Program Terobosan Menuju Kecukupan Daging Sapi 2005. Direktorat Jendral Bina Produksi Peternakan.
- Vandaele L, Verberckmoes S, De Cat S, El Amiri B, Sulon J, Duchateau L, Van Soom A, and Beckers JF. 2005. 141 effect of number of lambs, their sex and birth weight on ovine pregnancy specific protein B (ov PSPB) concentrations. Reproduction, Fertility and Development, 16 (2): 192-193.
- Xie SC, Low BG, Nagel RJ, Kramer KK, Anthony RV, Zoli AP, Beckers JF, and Roberts RM. 1996. Identification on the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. Proc Natl Acad Sci USA, 88 (22): 10247-10251.