

## RINGKASAN

Judul : PRODUKSI KIT DIAGNOSTIK EQUINE CHORIONIC  
GONADOTROPIN (eCG) MICROTITRE STRIP

KETUA PENELITIAN : Prof. Mas'ud Hariadi, Ph.D., M.Phil., Drh.

ANGGOTA PENELITIAN : Tri Wahyu Suprayogi, M.Si., Drh.  
Tjuk Imam Restiadi, M.Si., Drh.

TAHUN : Desember 2005, 62 halaman

### PRODUKSI KIT DIAGNOSTIK EQUINE CHORIONIC GONADOTROPIN (eCG) MICROTITRE STRIP UNTUK TES KEBUNTINGAN DINI PADA KUDA

Perkembangan populasi kuda di Indonesia belum mencapai keadaan yang menggembirakan bahkan Di Jawa Timur pada tahun 2001 terjadi penurunan populasi ternak kuda sebesar 5,66 % (Anonymous, 2001).

Kendala yang sering dihadapi peternak kuda adalah menyangkut bidang reproduksi, seperti panjangnya calving interval dan rendahnya tingkat kebuntingan sehingga upaya untuk mencapai tingkat reproduktivitas yang tinggi sulit dicapai. Diagnosa kebuntingan dini diperlukan setelah terjadinya perkawinan untuk identifikasi lebih awal sehingga kehilangan waktu produksi sebagai akibat infertilitas dapat dikurangi.

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah : mengidentifikasi *Equine Chorionic Gonadotropin* (eCG) dari serum kuda bunting umur 7-19 minggu dan menentukan tingkat keberhasilan diagnosa kebuntingan berdasarkan adanya eCG dalam serum kuda.

Penelitian ini dilakukan di peternakan kuda di surabaya untuk mendeteksi dan mengidentifikasi eCG pada kuda yang diperkirakan bunting. Serum darah diambil dari vena jugularis dan serum dipisahkan untuk digunakan dalam identifikasi adanya eCG. Pemisahan protein dengan steroid yang ada pada serum darah dilakukan dengan penambahan methanol (1:5). Protein serum yang sudah

bebas dari steroid diidentifikasi adanya eCG dengan menggunakan SDS-PAGE. Setelah ditemukan protein eCG pada pita SDS-PAGE yang disesuaikan dengan berat molekul dari protein marker maka dilanjutkan untuk memotong protein eCG dengan teknik elektroelusi. Hasil dari elektroelusi diuji spesifisitasnya dengan Western Blot ditera kadar proteinnya dengan metode biuret. Peubah yang diamati adalah adanya eCG serum darah kuda dan tingkat keberhasilan dalam deteksi kebuntingan. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji BNT.

Pita-pita protein serum darah kuda bunting muda yang muncul pada pemeriksaan dengan SDS-PAGE setelah dibandingkan dengan protein marker ada tiga pita yaitu 42,7 kDa, 55,6 kDa dan 66,4 kDa, sedangkan pada uji spesifitas dengan Western Blot diperoleh berat molekul 55,6-66,4 kDa. Pita-pita protein tersebut sesuai dengan berat molekul eCG yang berkisar 45-65 kDa. Rataan kadar protein eCG serum darah kuda bunting pada umur kebuntingan 7 minggu, 11 minggu, 15 minggu dan 19 minggu masing-masing adalah  $7412 \pm 1865,94 \mu\text{g/ml}$ ,  $9112 \pm 1532,88 \mu\text{g/ml}$ ,  $16696 \pm 1885,02 \mu\text{g/ml}$  dan  $5636 \pm 1245,67 \mu\text{g/ml}$ . Titer antibodi poliklonal anti-eCG sudah nampak mulai hari ke 14 setelah penyuntikan eCG dalam CFA. Titer ini makin meningkat setelah dilakukan *booster* 1, 2 dan 3. Uji kebuntingan kuda bahwa dari 7 ekor kuda yang diduga bunting 2 dan 3 bulan menunjukkan hasil 5 ekor dinyatakan positif dan 2 ekor negatif (100%).

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa *Equine Chorionic Gonadotropin* (eCG) dapat dideteksi pada kuda bunting pada umur kebuntingan 7 -19 minggu dengan kadar tertinggi pada umur kebuntingan 15 minggu dan dapat digunakan untuk deteksi kebuntingan dini pada kuda.

Saran yang dapat diajukan adalah keberadaan eCG dapat digunakan pemeriksaan kebuntingan secara laboratoris, namun supaya pemeriksaan kebuntingan dapat lebih praktis diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membuat tes kebuntingan paper strip berdasarkan reaksi imunologis dari eCG dan anti-eCG yang dapat digunakan dengan mudah dilapangan.

## SUMMARY

### **PRODUCTION OF DIAGNOSTIC KIT OF EQUINE CHORIONIC GONADOTROPIN (eCG) MICROTITRE STRIP FOR EARLY PREGNANCY DETECTION IN MARE**

The population of horses in Indonesia have been decreasing gradually, and in 2001 their population have reduced as high as 5.66%. This reduction was particularly related to the problems in management of reproduction such as long calving interval, infertility, poor estrous detection and poor of pregnancy detection. Early and accurate detection of pregnancy will contribute to shorten calving interval and preventing the lost of time due to the infertility problems. This research was aimed to identify equine chorionic gonadotropin (eCG) from serum of 7 to 19 weeks of pregnancy in mares, and to determine the success rate of pregnancy detection based on the level of eCG in the serum of pregnant mares.

The research was carried out at stud around Surabaya, and the laboratory works were held in the Faculty of Veterinary Medicine Airlangga University. Initially 2 to 5 months pregnancy of 5 mares were used for identifying the level of eCG in the serum. Blood samples were collected from jugular vein of the mares and serum were separated and then stored frozen until used. Equine chorionic gonadotropin in serum was prepared using SDS-PAGE, then it was identified by Western Blott technique. The eCG then was isolated by using electroelution, total protein in the isolate was determined by biuret reaction. In the 2<sup>nd</sup> step, polyclonal antibody anti-eCG was developed in the rabbits and it was purified with saturated ammonium sulphate (SAS). This purified antibody anti-eCG was determined by indirect sandwich ELISA for the production of kit diagnostic of early pregnancy in mares.

The results showed that from the SDS-PAGE was found protein bands in between molecular weight (MW) 42.7 to 66.4 KD, result test of western blott showed that there was a protein band with MW 55.6 KD. The results from biuret method showed that the protein level in was increase garadually from week 7 to weeks 11, 15 by  $7412 \pm 1865,94 \mu\text{g/ml}$ ,  $9112 \pm 15.3288 \mu\text{g/ml}$ ,  $16696 \pm 1885.02$

$\mu\text{g/ml}$  and then decreasing sharply in week 19 by  $5636 \pm 1245.67 \mu\text{g/ml}$ . Titer of polyclonal antibody anti-eCG increased after 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> booster. The result of pregnancy detection for 7 mares with suspected 2 and 3 months pregnancy were all positively right.

It was concluded that the level of eCG in serum of 7 to 19 weeks of pregnancy in mares was useful for the detection of pregnancy, and the success rate was 100%.

