

APLIKASI TRANSFER EMBRIO PADA TERNAK SAPI



Aplikasi bioteknologi reproduksi pada ternak sapi yang sekarang dilakukan masyarakat adalah pelaksanaan Inseminasi Buatan dan Transfer Embryo.

Kedua teknik ini dikombinasikan dengan sistem pengawetan gamet dan embryo, untuk mendapatkan suatu individu yang genotipnya luar biasa guna memberikan sumbangan yang lebih besar terhadap zigote dari suatu populasi ternak sapi.

SEJARAH TRANSFER EMBRIO

1980

- Walter Heape Berhasil Mengoleksi Embrio Kelinci Angora

1952

- Willet dari USA Memanfaatkan Embrio dari RPH Untuk Melakukan Transfer Embrio

1965

- Prof Sugie Dari Jepang Berhasil Melaksanakan TE Dengan By Pass (Non Surgical Method)

1900

- TE mulai dikomersialkan di Amerika
- 1980 Bilton di USA Berhasil Melakukan Freezing Embrio
- 1989 Lahir 1000 pedet dari hasil Transfer Embrio

1987

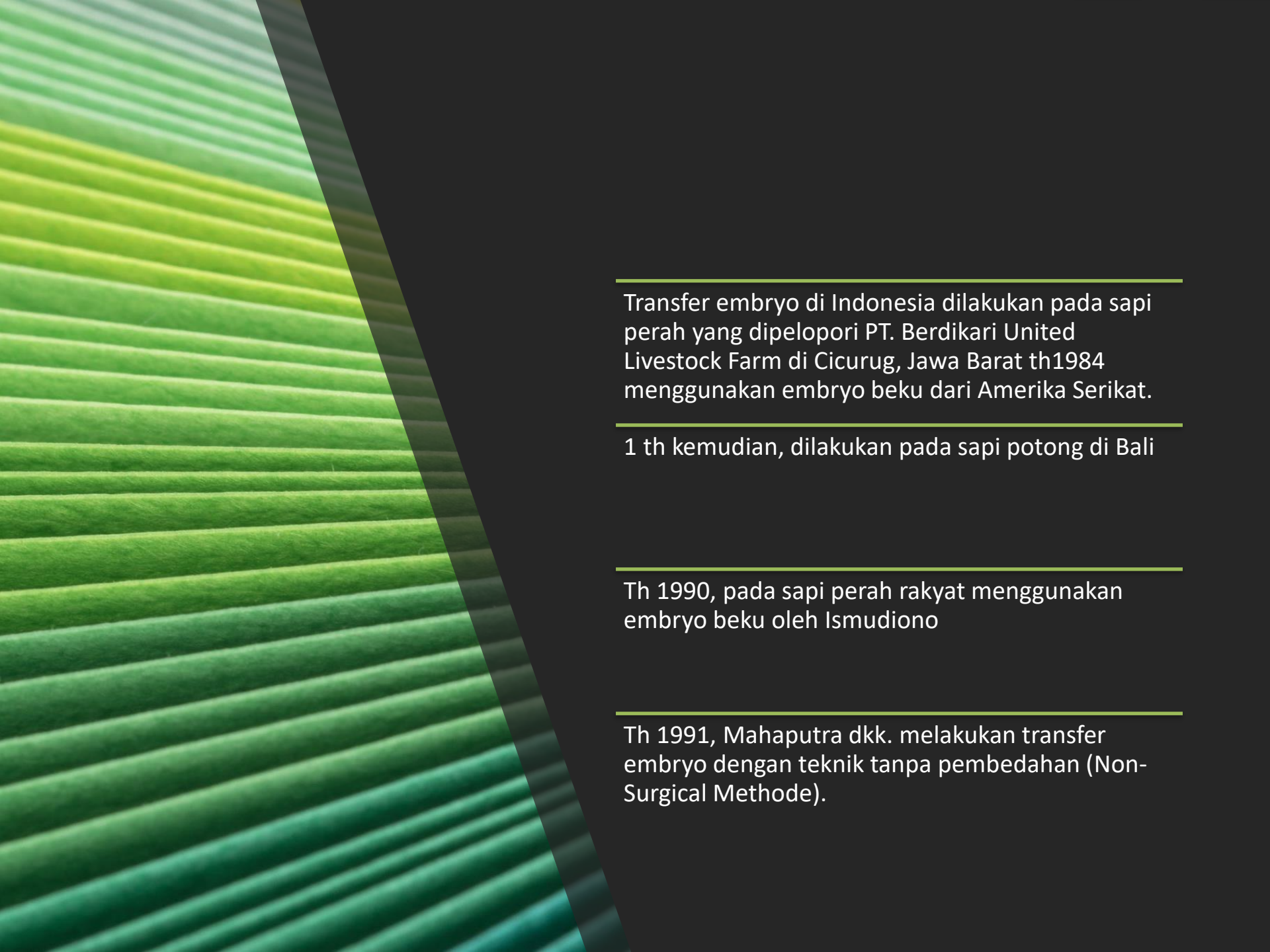
- di Indonesia PT. Berdikari United Livestock Indonesia (BULI), mendatangkan embrio beku sapi perah dan potong asal Texas, AS untuk ditransferkan melalui teknik pembedahan (Toelihere, 1987).
- PT. Berdikari United Livestock Indonesia (BULI), mendatangkan embrio beku sapi perah dan potong asal Texas, AS untuk ditransferkan melalui teknik pembedahan (Toelihere, 1987).

1994

- BET Cipelang berdiri, awalnya merupakan pindahan dari BPT-HMT Cisarua yang telah berdiri sejak tahun 1978. Merupakan UPT pertama di bidang transfer embrio.

Transfer embryo adalah sebuah teknik menggunakan embryo (ovum yang sudah dibuahi) yang dikoleksi dari saluran reproduksi betina sebelum nidasi (implantasi) kemudian dipindahkan ke saluran reproduksi betina resipien agar dapat dibuntingkan dan dilahirkan secara normal dan sehat.

Di Jepang, penelitian tentang peningkatan teknik embryo beku dilakukan secara intensif dan berhasil mencapai angka kebuntingan 60% pada aplikasi transfer embryo di tahun 1988.

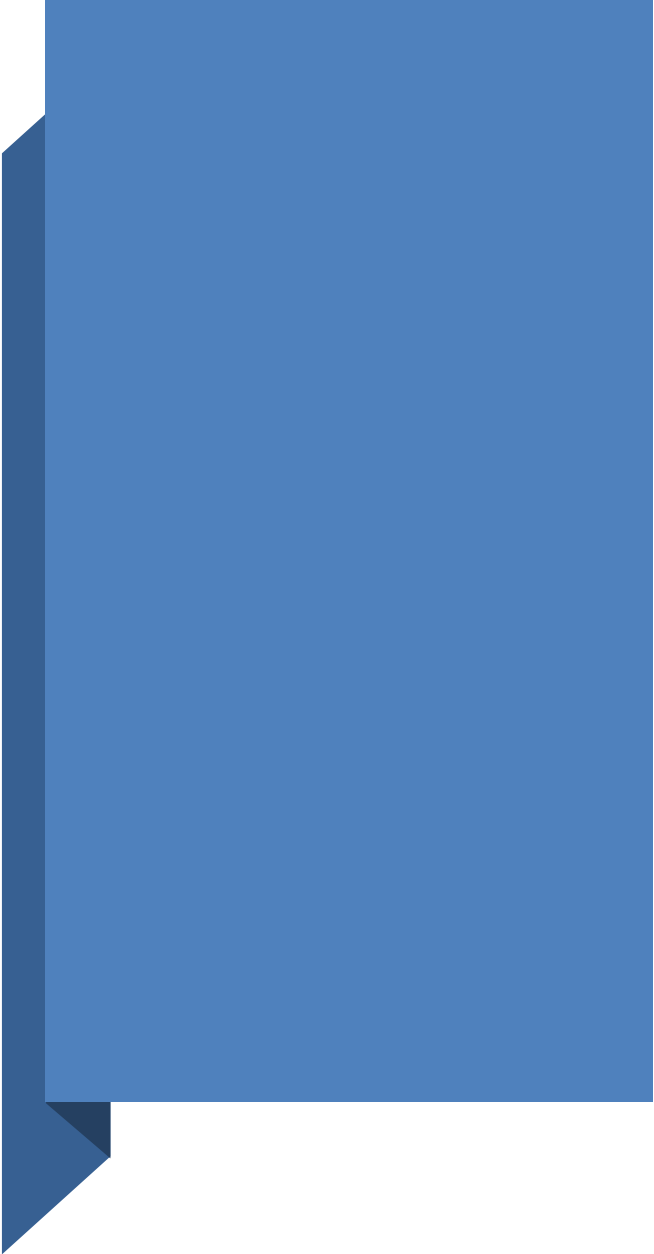


Transfer embryo di Indonesia dilakukan pada sapi perah yang dipelopori PT. Berdikari United Livestock Farm di Cicurug, Jawa Barat th1984 menggunakan embryo beku dari Amerika Serikat.

1 th kemudian, dilakukan pada sapi potong di Bali

Th 1990, pada sapi perah rakyat menggunakan embryo beku oleh Ismudiono

Th 1991, Mahaputra dkk. melakukan transfer embryo dengan teknik tanpa pembedahan (Non-Surgical Methode).



Th 1991, di Indonesia, muncul gagasan pengembangan aplikasi bioteknologi reproduksi, pertama kalinya disampaikan oleh Dirjen Peternakan (drh. Soehadji).

Pusat Aplikasi Bioteknologi Peternakan di Unit Pelaksana Teknis Balai Pembibitan Ternak-Hijauan Makanan Ternak di Cisarua dikembangkan menjadi Balai Embryo Ternak (BET) Cipelang yang diresmikan 4 Mei 1994.

SK Menteri Pertanian No. 464/KPTS/T.210/6/94
→ tugas dan fungsi Balai Embryo Ternak adalah melakukan produksi, penyediaan dan penyebaran embryo, sekaligus penerapan teknik embryo transfer ternak.

Definisi Transfer Embrio

Transfer embrio adalah suatu metode buatan dalam perkawinan dengan cara membentuk embrio dari seekor betina induk unggul, yang disebut donor, kemudian dipindahkan dan dicangkokkan ke dalam saluran reproduksi induk betina lainnya dalam spesies yang sama, yang disebut resipien

(Bedirian et al. 1977)



Tujuan Transfer Embrio

- ✓ memanfaatkan elite bull dan betina superior semaksimal mungkin, untuk dipergunakan dalam memperbaiki mutu genetik amupun tujuan konservasi → membentuk bibit unggul
- ✓ meningkatkan pendapatan dan menghemat penggunaan devisa negara khususnya dalam mengimport sapi-sapi bibit unggul dari luar negeri.

Embrio yang di transferkan dapat berasal dari hasil fertilisasi in vivi, in vivo, ICSI, Manipulasi embrio dll.

PERAN TEKNOLOGI TRANSFER EMBRIO (TE)

Teknologi TE, generasi kedua bioteknologi reproduksi setelah teknologi IB

- **Terobosan untuk peningkatan kualitas ternak sapi perah dan potong melalui peningkatan mutu genetik .**
- **Terlaksananya percepatan peningkatan mutu genetik ternak nasional**
- **Pemenuhan kebutuhan bibit sapi yang berkualitas**
- **Pemenuhan Calon Pejantan untuk BIB Nasional/Daerah**
- **Mendukung kebijakan pemerintah terutama dalam mengurangi Import bibit sapi (Bull dan Donor) dari Luar negeri (harganya sangat mahal).**
- **Menunjang upaya permuliaan dan pemurnian ternak lokal (Plasma Nutfah)**
Tersedianya bibit ternak lokal dengan mutu genetik unggul



PERATURAN MENTERI PERTANIAN

nomer : 36/Permentan/OT.140/8/2006

tanggal 31 Agustus 2006

tentang Sistem Perbibitan Ternak Nasional

- **Insemenasi Buatan (IB)**

Suatu teknik memasukkan mani/semen ke dalam alat reproduksi ternak betina sehat (aseptor) supaya dapat membuahi sel telur dengan menggunakan alat insemenasi untuk tujuan agar

ternak bunting

- **Mani/semen** adalah *spermatozoa* dan plasma seminalis yang berasal dari pejantan sehat dan dapat digunakan untuk proses pembuahan

- **Transfer Embrio (TE)**

Suatu teknik memasukkan embrio ke dalam alat reproduksi ternak betina sehat (resipien) dengan alat tertentu untuk tujuan agar **ternak bunting**

- **Embrio** adalah hasil pembuahan *spermatozoa* dan sel telur yang terjadi secara alami maupun buatan (in vivo maupun in vitro)

Embrio.....

Embrio adalah hasil pembuahan *spermatozoa* dan sel telur yang terjadi secara alami maupun buatan (in vivo maupun in vitro) yang dipanen (flushing) pada umur 7 hari dan bisa ditransferkan ke induk sapi lainnya (resipien).



**Sel telur
Sapi Donor**

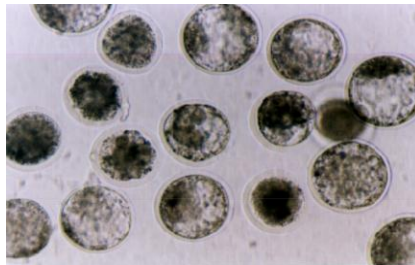
X



**Sperma
Pejantan Unggul**

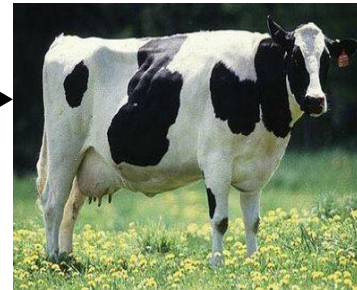


Resipien



Embrio umur 7 hari

TE



STANDAR APLIKASI TRANSFER EMBRIO DIDAEERAH

- a. Program aplikasi TE yang berkelanjutan**
- b. Program Kegiatan Monitoring dan Pengendalian mutasi dan keberadaan ternak hasil TE**
- c. Program penjarangan bibit ternak hasil TE untuk dijadikan sebagai bibit ternak daerah/nasional**
- d. Ternak betina hasil TE yang terpilih dijadikan donor untuk produksi embrio yang akan disebar/ditransfer guna memenuhi kebutuhan bibit di daerah.**
- e. Ternak jantan hasil TE yang terpilih dijadikan sebagai pejantan untuk kawin alam dan penghasil semen Nasional**

TAHAPAN APLIKASI TRANSFER EMBRIO (TE)

- **Seleksi Lokasi**
- **Seleksi Peternak**
- **Seleksi Resipien**



1. LOKASI

Lokasi yang akan mendapatkan pelayanan Transfer Embrio telah memenuhi kriteria sebagai berikut :

- a. Wilayah padat ternak (sapi) yang terkonsentrasi pada suatu kawasan**
- b. Kawasan yang telah intensif dalam pelaksanaan IB**
- c. Memiliki fertilitas kelompok yang tinggi, yang ditunjukkan adanya keberhasilan IB yang tinggi ($S/C < 1,7$)**
- d. Tersedia calon resipien yang memenuhi syarat teknis (sapi perah maupun sapi potong)**
- e. Kawasan ternak harus bebas dari penyakit hewan menular khususnya penyakit reproduksi (Brucellosis, IBR, Tricomoniasis dll)**
- f. Mudah untuk dilakukan monitoring dan evaluasi.**
- g. Mutasi ternak dapat dikendalikan.**

2. PETERNAK

- a. Pola usaha peternaknya sebagai usaha pokok dengan kepemilikan ternak diusahakan lebih dari 5 (lima) ekor**
- b. Bersedia mengikuti semua aturan/kesepakatan yang akan di tetapkan berkaitan dengan ternak hasil**
- c. Memiliki calon resipien yang memenuhi syarat yang akan diseleksi pada saat pelaksanaan Transfer Embrio (TE)**
- d. Memiliki sistem pencatatan/rekording yang baik**



3. RESIPIEN

- a. Umur relatif muda/dara atau dewasa telah beranak 1 (satu) kali.
- b. Memiliki performan tubuh yang baik (nilai BCS 2,5 – 3,0) atau 5-untuk s. potong.
- c. Berat badan minimal 300 Kg.
- d. bebas dari penyakit hewan menular khususnya penyakit reproduksi (Brucellosis, Tricomoniasis, dll).
- e. Siklus birahi normal 18-21 hari
- f. Tidak pernah mengalami gangguan reproduksi/kegagalan partu (distokia, abortus, mumifikasi, dll).
- g. Memiliki sejarah reproduksi yang baik, tidak menunjukkan adanya gejala infertilitas maupun sterilitas.



TAHAPAN TRANSFER EMBRIO

Teknik transfer embryo terdiri atas beberapa tahapan, dari tahapan seleksi sapi betina donor sampai ke transfer embryo ke betina resipien. Pada saat ini banyak dihubungkan dengan teknik seperti sexing, Micromanipulation, In Vitro Fertilization dan Transfer Inti Sel yang menjadikan lebih berguna.



TAHAPAN TRANSFER EMBRIO

- Seleksi induk donor dan resipien
- Superovulasi pada betina donor
- Sinkronisasi siklus estrus
- Inseminasi Buatan pada donor
- Pemanenan Embryo
- Klasifikasi embryo
- Penyimpanan embryo dan pengenceran
- Cryopreservasi
- Transfer embryo. Dihubungkan dengan teknik In Vitro Fertilization, micromanipulation, Sexing (Karyotyping, metoda DNA-PCR) dan Cloning.



Kriteria sapi donor untuk produksi embrio adalah :

- Memiliki genetika unggul (Genetik Superiority)
- Mempunyai catatan data individu (pedigree) yang jelas
- Bebas dari penyakit berbahaya dan menular.
- Mempunyai catatan reproduksi (siklus birahi)
- Mempunyai kemampuan reproduksi yang baik dan sehat
- Memiliki sejarah reproduksi yang baik yaitu beranak teratur dan tidak pernah mengalami kesulitan melahirkan
- Telah mengalami kelahiran minimal sekali
- Umur tidak terlalu tua.

SINKRONISASI ESTRUS

Menyamakan siklus antara donor dan resipien

Menggunakan hormon progesteron , PGF 2 alfa atau kombinasinya

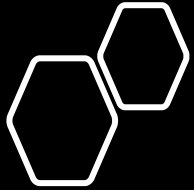
Agar suasana dalam uterus resipien sama dengan donor

SUPER OVULASI

Disebut juga Multiple
ovulation

Memperbanyak ovulasi
dengan meningkatkan
gonadotropin

Memperbanyak ovulasi
dengan mengurangi
folikel atresia



Hormon untuk induksi ovulasi

Pemberian PMSG → meniru FSH & stimulasi Folikel.

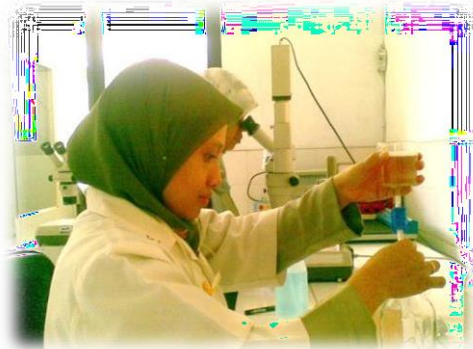
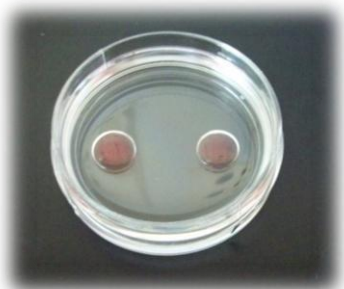
Pemberian hCG → Meniru LH & induksi ovulasi.

Pemberian PMSG dan hCG → Kombinasi kerja FSH dan LH

Progesteron → meniru kerja CL

PROSES PRODUKSI EMBRIO

IN VITRO : Proses produksi embrio berlangsung di luar tubuh sapi(laboratorium) dengan tahapan-tahapan tertentu



IN VIVO : Proses produksi embrio berlangsung di dalam tubuh sapi dengan memberi perlakuan tertentu (Hormonal) pada sapi donor tersebut

Produksi Embrio In Vivo

Produksi embrio in vivo dilakukan dengan cara mengambil atau memanen embrio yang terdapat di dalam uterus (rahim) sapi betina donor (penghasil embrio), yang kemudian dipindahkan pada sapi betina yang lain (betina resipien) atau untuk disimpan dalam keadaan beku (freeze embryo).

A. Produksi Embrio In Vivo

Seleksi Sapi Donor



Superovulasi



Hormon FSH

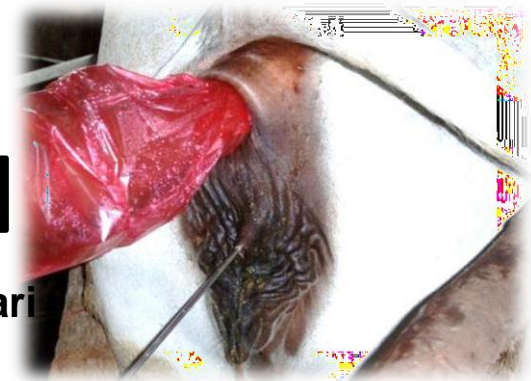
Penyerentakan
berahi



Kawin Buatan /IB



Semen Pejantan Unggul



7 hari

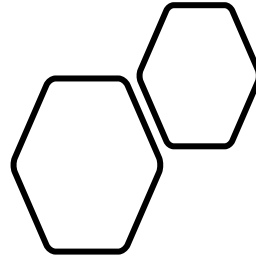
Inseminasi Buatan / IB 3 x

Pemanenan / flushing Embrio



Evaluasi dan Penyimpanan

Produksi Embrio In Vitro

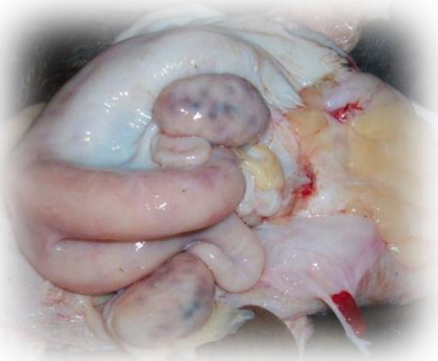


Produksi embrio in vitro adalah cara untuk melakukan fertilisasi antara sel benih jantan (spermatozoa) dengan sel benih betina (ovum) dalam laboratorium, sehingga disebut pembuahan terjadi di luar tubuh. Salah satu alat yang digunakan untuk proses ini adalah cawan petri atau tabung khusus.

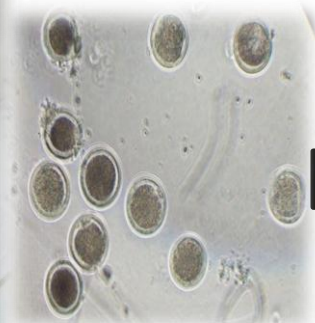
B. Produksi Embrio In Vitro

In Vitro Fertilisasi
5-18 jam

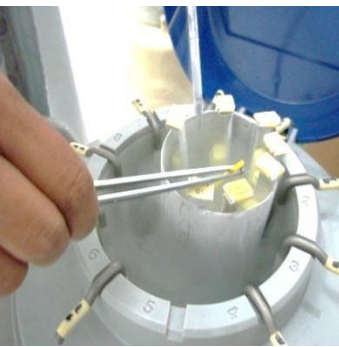
Koleksi Ovarium



Koleksi oosit/sel telur



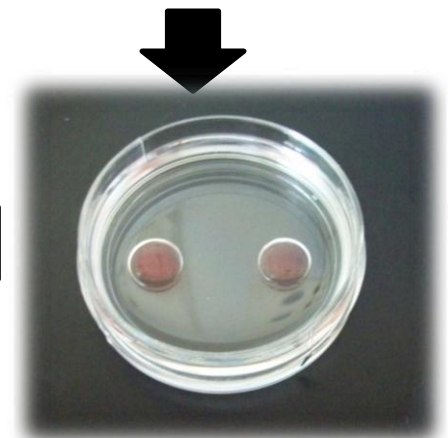
In vitro maturasi
24 jam



Evaluasi dan Penyimpanan



Inkubasi 7 hari



In vitro Culture

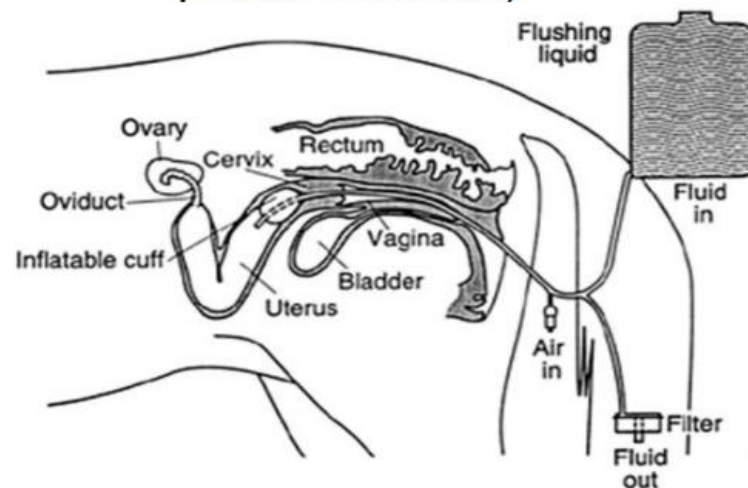
Koleksi Embrio

Cara pembedahan dan tanpa pembedahan

Pengambilan embrio sebelum implantasi

Sebelum hari ke sembilan (Fase morula sd blastocyte)

Flushing embrio
(koleksi embrio tanpa pembedahan)

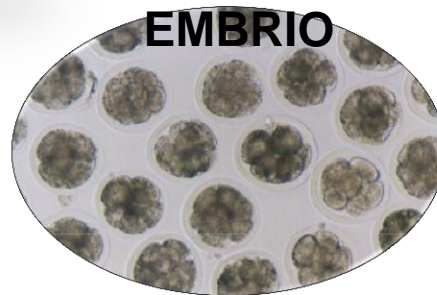
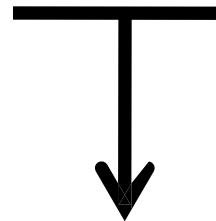




Sapi Donor



Semen Pejantan Unggul

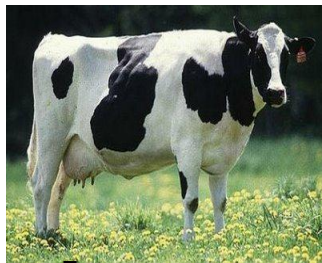


EMBRIO



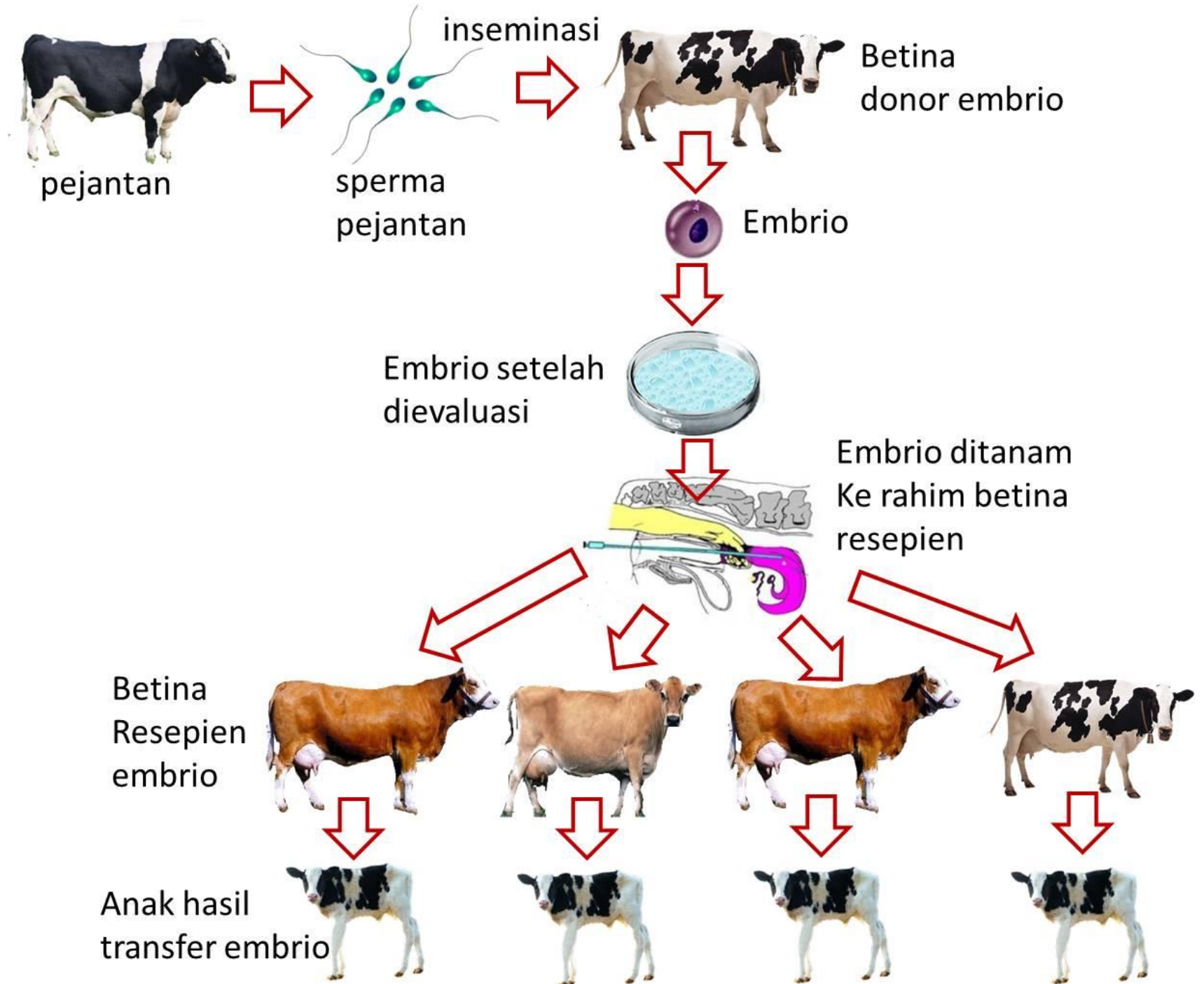
Transfer embrio

resipien

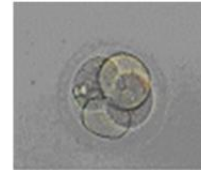
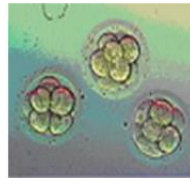


resipien

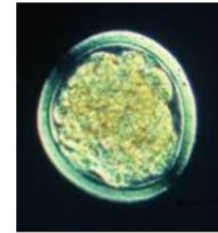




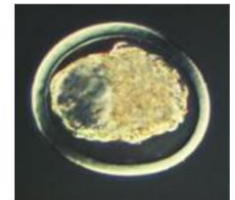
Evaluasi Embrio



Morula dan Blastosit

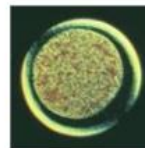


Morula

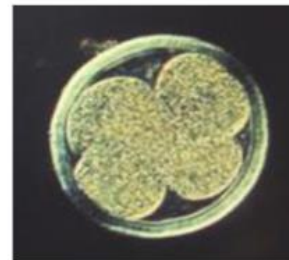


Blastosit

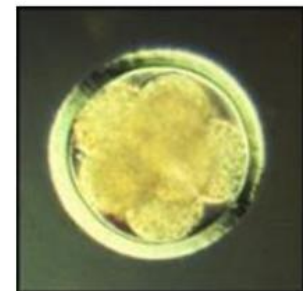
Embrio 1 sel , 4 sel dan 8 sel



1 sel

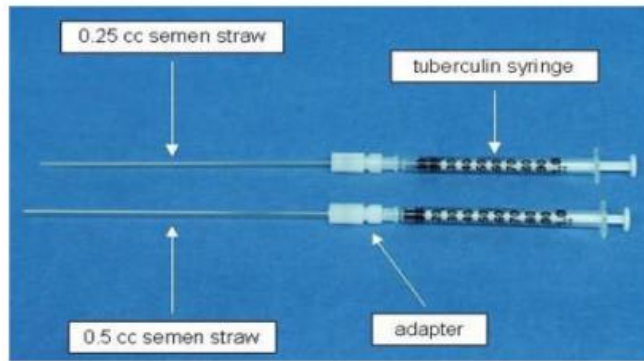


4 Sel

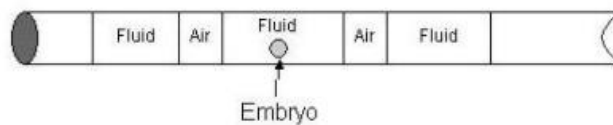


8 sel

Peralatan dan penempatan embryo dalam straw



Penempatan embrio



Embryo disimpan sebelum di transferkan



Pengambilan embrio dari petri untuk di transferkan atau dibekukan



Embryo yang didapat Dimasukkan tabung dan di tutup Parafilm

Transfer embrio

Meletakkan embrio
pada uterus

Pada umumnya embrio
yang ditransferkan
sebelum fase blastosit.

METODE TRANSFER EMBRIO

1. Segar

- Resipien disiapkan bersamaan dengan program sapi donor.
- Resipien yang akan di TE disiapkan terlebih dahulu dengan mengecek keberadaan Corpus Luteumnya (CL).
- Embrio yang telah dipanen dan dengan kualitas A,B,C, kemudian diloading ke dalam straw dengan media PBS + 20% Calf Serum (CS).
- Straw yang telah siap dimasukkan ke dalam gun TE, kemudian segera ditransfer ke resipien.

2. Direct

- Embrio yang digunakan adalah embrio yang telah dibekukan.
- Thawing dilakukan dengan cara, straw diambil dari container, diamkan di udara/ suhu ruang selama kurang lebih 10 detik, baru dimasukkan ke dalam air bersuhu 38°C selama 5 detik.
- Straw diambil dimasukkan ke dalam gun TE dan segera ditransfer ke resipien.

3. Kultur

- Metode stepwise digunakan untuk mengecek kembali embrio yang telah dibekukan, sebelum embrio ditransfer ke resipien.
- Alat dan Bahan yang digunakan dalam metode ini adalah : PBS, Ethylene glikol, CS, pipet pasteur, petridish 10x35mm, mikroskop stereo.
- Ambil Straw dari container, dithawing seperti cara direct.
- Potong straw pada kedua sisinya untuk mengeluarkan embrio, lalu ditampung pada petridish 10x35mm.
- Embrio diambil dengan menggunakan pipet pasteur, dimasukkan ke dalam media mPBS untuk short kultur (1-2 jam) atau medium kultur (TCM atau CR1aa) untuk long kultur (>3 jam).
- Setelah itu embrio di evaluasi. Jika embrio viable dapat dilanjutkan dengan loading kedalam straw untuk dilakukan transfer embrio

PERSIAPAN TRANSFER EMBRIO

- Seleksi calon resipien, berkaitan dengan performance, kesehatan
- Lakukan pengamatan berahi selama 2 siklus (normal), catat tanggal dan intensitas berahinya, tanpa dilakukan IB (Berahi = hari - 1).
- Dapat juga dilakukan sinkronisasi berahi
- Pemeriksaan keberadaan CL fungsional pada hari ke 6-8 setelah terlihat tanda birahi
- Calon resipien penerima TE dihindarkan dari faktor stress

Aplikasi Transfer Embrio

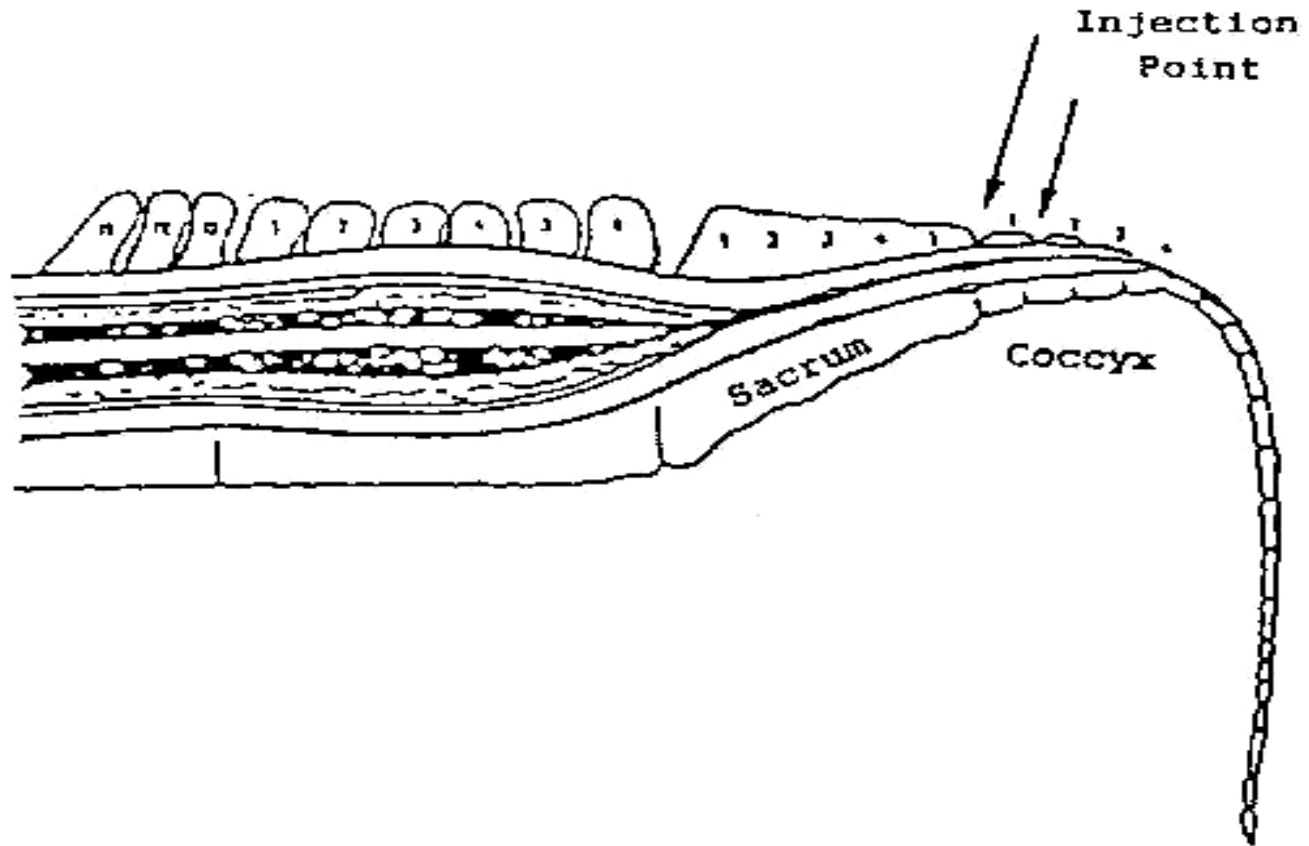
- Persiapan bahan dan alat (Embrio, gun TE, sheat TE, gloves, gunting, tissue, tali tambang, *syringe*, *needle* 18G, kapas alkohol, pinset, Lidocaine, air hangat, sheet TE, alat tulis)
- Fiksasi resipien yang akan di TE
- Lakukan anastesi epidural
- Lakukan thawing embrio
- Masukkan straw embrio pada gun TE kemudian masukkan gun TE ke dalam sheet TE yang telah dilengkapi dengan *outer sheat*
- Bersihkan vulva dengan air, kemudian lap dengan dengan tissue dan kapas beralkohol
- Buka vagina dengan jari dan masukkan gun TE kedalam alat reproduksi betina sampai ujung gun mencapai $\frac{1}{3}$ bagian apex cornua kanan atau kiri. Pastikan prosedur ini dilaksanakan dengan hati-hati untuk meminimalisasi iritasi dinding uterus/cornua yang disebabkan oleh ujung gun TE.
- Lakukan transfer embrio pada cornua yang ipsilateral dengan CL.
- Aplikasi transfer embrio harus dilakukan secara aseptis untuk menghindari adanya kontaminasi.

Thawing Embrio

- Persiapan bahan dan alat (Air hangat dengan suhu 38°C, thermometer, wadah air, tisu, kontainer berisi embrio)
- Siapkan air hangat dalam wadah yang dapat merendam straw embrio
- Pilih straw embrio yang akan dithawing
- Ambil straw embrio dari kontainer dengan menggunakan pinset dan biarkan diudara selama 7-10 detik
- Celupkan embrio kedalam air hangat sampai kristal es didalam straw meleleh dengan sempurna
- Ambil dan keringkan straw embrio dengan tisu
- Straw embrio siap digunakan
- Buat Laporan

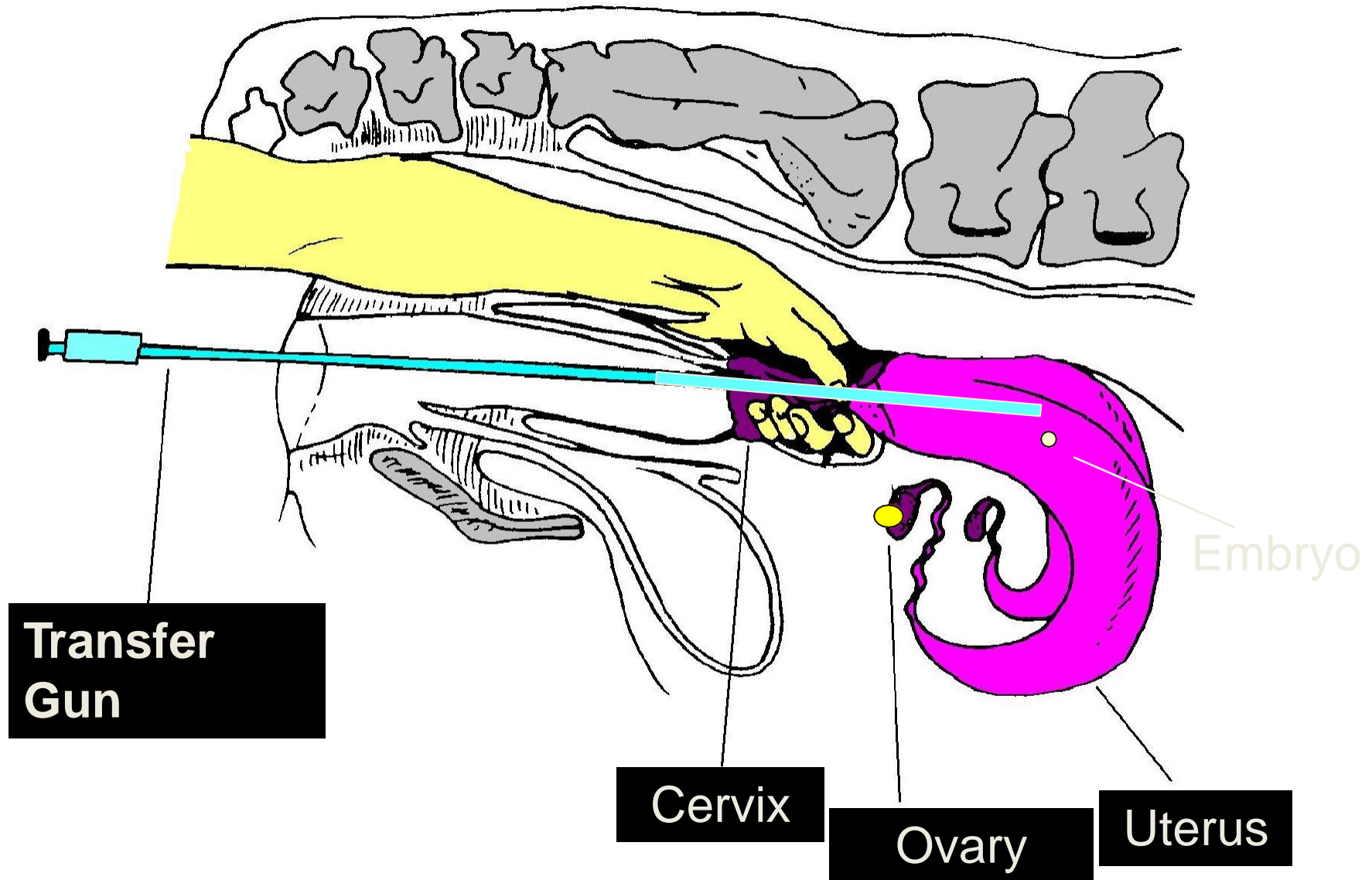
Posisi anastesi epidural

Epidural Anesthesia





Embryo Transfer



Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan TE

➤ Kualitas Embrio → tanggung jawab BET Cipelang

➤ Petugas :

a) Disiplin, bertanggung jawab

b) keterampilan dalam aplikasi TE:

1. Memastikan resipien memiliki CL fungsional umur 6-8 hari

2. Anestesi dilakukan dengan benar dengan respon anestesi yang jelas

3. Thawing embrio beku dilakukan dengan benar, sesuai SOP

4. Menyiapkan semua peralatan TE sesuai SOP

5. Handling uterus dan memasukkan gun TE dengan hati-hati, tidak boleh ada iritasi pada dinding uterus → lihat ujung gun TE setelah aplikasi. Jika ada spot darah, tingkat keberhasilan jauh menurun

c.) Memiliki pengetahuan yang cukup dalam bidang TE

Lanjutan faktor TE.....

➤ Resipien:

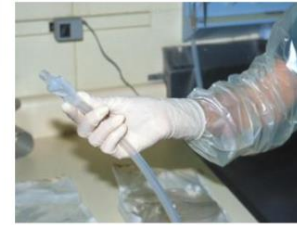
- a) Tidak ada infeksi terutama dalam organ reproduksi
- b) Kualitas “berahi”: harus yakin benar, bukan hanya leleran lendir
- c) Posisi transfer harus ipsilateral dengan CL
- d) Status nutrisi/pakan dalam kondisi cukup minimal 1 – 2 bulan terakhir
- e) Paritas: biasanya dara lebih susah untuk TE dibandingkan induk
- f) Prilaku: resipien yang tenang lebih baik dibandingkan yang tidak
- g) Masalah gangguan reproduksi

Flushing equipment



Folley catteter, Gun , petridish

Peralatan untuk flushing embrio



Folley catter terdapat baloon untuk Mengambil embrio



Peralatan penting untuk embryo



Inverted Microscope for Embryo evaluation

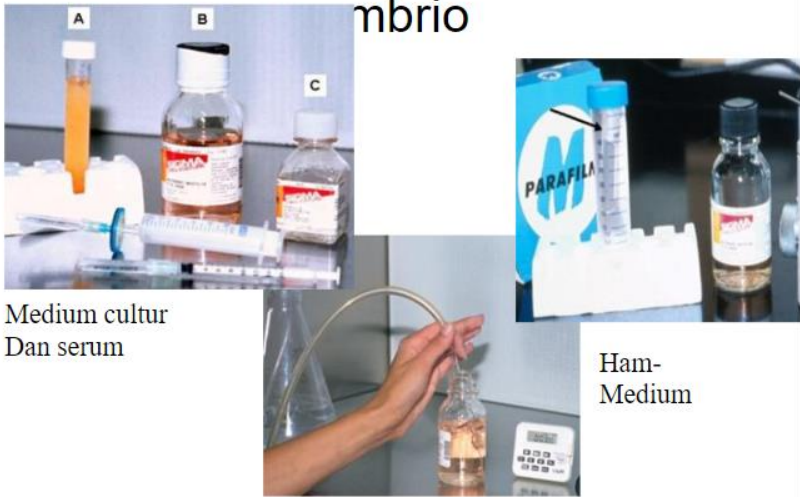


Mikroskop dimasukkan laminar



Incubator CO2

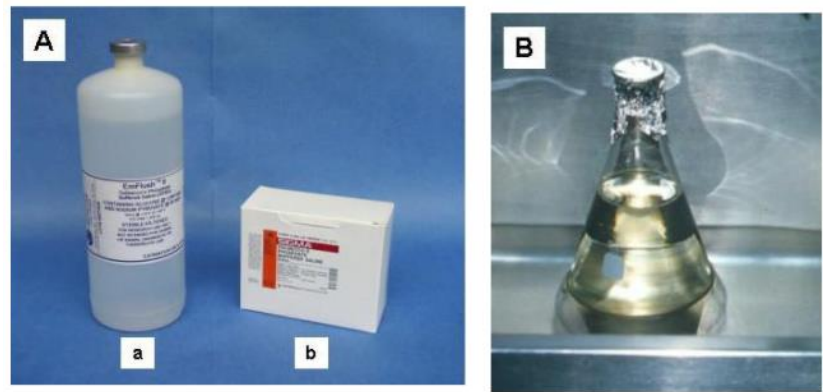
Pembuatan medium untuk embrio



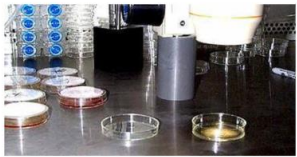
Medium kultur
Dan serum

Ham-
Medium

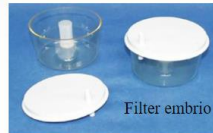
Medium for ET



Dari filter dimasukkan petridis untuk dicari embrionya



Filter for embryo yang didapat



Dituang
Ke petridis



Selanjutnya dilakukan evaluasi embrio untuk melihat kualitasnya



Keberhasilan Transfer Embrio

Transfer Embrio dipengaruhi oleh kualitas embrio, fase betina resipient harus sama dengan donor, dan yang terpenting adalah kondisi resipientnya, karena kegagalan terbesar dari Transfer Embrio adalah karena kondisi fisiologis dari resipientnya

Kelebihan Transfer Embrio

Dengan menggunakan teknologi transfer embrio, betina unggul tidak perlu bunting dan menunggu satu tahun untuk menghasilkan anak.

Embrio yang digunakan untuk transfer embrio dapat berupa embrio segar atau embrio beku (freezing embrio).

Embrio beku efisien untuk dipakai karena dapat disimpan lama sebagai stok dan dapat dibawa ke daerah-daerah yang membutuhkan.

Embrio segar hanya dapat ditransfer pada saat produksi di lokasi yang berdekatan dengan donor.

Perbaikan mutu genetik Transfer Embrio lebih efisien daripada dengan Inseminasi Buatan.

Perbaikan mutu genetik pada Inseminasi Buatan hanya berasal dari pejantan unggul sedangkan dengan teknologi Transfer Embrio, sifat unggul dapat berasal dari pejantan dan induk yang unggul.

Keuntungan transfer embryo bagi pembangunan peternakan di Indonesia diantaranya adalah :

Memperbanyak turunan dari induk jantan dan betina dengan kualitas genetik prima.

Peningkatan efisiensi reproduksi oleh karena peningkatan jumlah anak sekelaahiran.

Pemanfaatan sel telur dari induk superior yang dipotong oleh karena suatu sebab.

Menentukan jenis kelamin embryo sesuai keinginan.

Memungkinkan pemindahan gen dalam rangka pembentukan ternak transgenik.

Mengubah tipe peternakan dalam waktu singkat misalnya dari tipe potong ke tipe perah.

Hasil Kelahiran Ganda



Pedet Hasil TE





TERIMA KASIH

