

OVSYNCH DAN INSEMINASI BUATAN PADA INDUK KUDA WARBLOOD YANG DIINDUKSI OVULASI DENGAN HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN DOSIS JAMAK

Ovsynch and Artificial Insemination in Warmblood Mares Induced Ovulation using Multiple Doses of Human Chorionic Gonadotropin

Amrozi¹, Ligaya ITA Tumbelaka¹, Ade Ocktaviani¹, Bondan Achmadi¹, dan Juli Melia²

¹Unit Rehabilitasi Reproduksi Bagian Reproduksi dan Kemajiran Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi
Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Laboratorium Reproduksi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
E-mail: amrozi217@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengamati pola pertumbuhan folikel dan keberhasilan inseminasi buatan dengan semen cair pada induk kuda *warmblood* yang disinkronisasi estrus dan ovulasi (*ovsynch*). Induk kuda berjumlah lima ekor berumur 6-18 tahun digunakan dalam penelitian ini. Sinkronisasi estrus dilakukan pada induk kuda yang memiliki korpus luteum berdiameter minimal 3,0 cm dengan injeksi prostaglandin 7,5 mg secara intramuskular. Induksi ovulasi dilakukan dengan memberikan hCG 1500 IU secara intravena 48 jam setelah sinkronisasi estrus dan diulang setiap 24 jam sampai terjadinya ovulasi folikel (dosis jamak) yang diamati dengan *ultrasound*. Inseminasi buatan dilakukan berulang mengikuti setiap pemberian hCG sampai terjadinya ovulasi dengan dosis inseminasi $1,5 \times 10^9$ spermatozoa. Sinkronisasi estrus dan ovulasi dengan menggunakan hCG dosis jamak menghasilkan ovulatori dominan folikel berdiameter $4,81 \pm 0,92$ cm dan korpus rubrum berdiameter $3,82 \pm 0,45$ cm serta menghasilkan 60% kebuntingan. Kesimpulan sinkronisasi ovulasi dengan pemberian hCG dosis jamak pada kuda *warmblood* yang diinseminasi buatan dengan semen cair efektif menghasilkan kebuntingan yang tinggi.

Kata kunci: inseminasi buatan, kuda *warmblood*, *ovsynch*, *ultrasound*

ABSTRACT

The aims of this research are to observe development of the dominant follicles and artificial insemination with cooled semen in *warmblood* mares. Five mares aged 6-18 years old were used in this study. Mares with a functional corpus luteum ≥ 3.00 cm in diameter were synchronized using 7.5 mg prostaglandin im. Ovulation were induced with 1500 IU hCG iv 48 hours after synchronization and repeated daily till ovulations were observed by *ultrasound*. Inseminations were performed daily following hCG injection with 1.5×10^9 spermatozoa. Ovsynch with multiple doses of hCG induced development of the ovulatory dominant follicles 4.81 ± 0.92 cm in diameter and development of corpus rubrum 3.82 ± 0.45 cm in diameter and resulted in 60% pregnancy rate. As the conclusions ovsynch with multiple doses of hCG in *warmblood* mares which inseminated with cooled semen effectively resulted high pregnancy rates.

Key words: artificial insemination, *ovsynch*, *ultrasound*, *warmblood* mares

PENDAHULUAN

Kuda *warmblood* di Indonesia jumlahnya sangat terbatas. Kuda jenis ini diimpor dari Eropa dan Australia untuk memenuhi kebutuhan olah raga berkuda, terutama *jumping* dan *dressage*. Peningkatan jumlah kuda *warmblood* di Indonesia sangat penting untuk menunjang akses atlet olah raga berkuda terhadap kuda yang lebih berkualitas sehingga dapat meningkatkan prestasi olah raga berkuda. Peningkatan populasi telah diusahakan melalui inseminasi buatan menggunakan semen beku impor yang telah dilakukan pada tahun 1997 di Artayasa Stable. Pada tahun 2005 juga telah dilakukan inseminasi buatan dengan semen cair dan semen beku produksi dalam negeri di Detasemen Kavaleri Berkuda Parongpong pada kuda *crossbred* dengan tingkat keberhasilan yang masih rendah (Arifiantini, 2008).

Tingkat keberhasilan inseminasi buatan pada kuda dipengaruhi berbagai faktor, antara lain jenis semen yang digunakan (Sieme *et al.*, 2004), intensitas pelaksanaan inseminasi (Sieme *et al.*, 2003), dan tempat deposisi semen pada organ reproduksi (Squires

et al., 1998; Sieme *et al.*, 2004). Waktu yang tepat ketika menempatkan semen pada uterus juga memengaruhi keberhasilan inseminasi buatan, sehingga induksi ovulasi dan pengamatan pertumbuhan folikel dengan *ultrasound* banyak digunakan dalam pelaksanaan inseminasi buatan pada kuda (Samper, 2001) di negara subtropis. Untuk mendukung keberhasilan inseminasi buatan pada kuda *warmblood* di Indonesia maka perlu penelitian tentang sinkronisasi estrus, lisis korpus luteum, dan pertumbuhan folikel. Penelitian ini bertujuan mengamati pola pertumbuhan folikel dan keberhasilan inseminasi buatan dengan semen cair pada kuda *warmblood* yang disinkronisasi estrus dan ovulasi dengan menggunakan prostaglandin dan *human chorionic gonadotropin* (hCG) dosis jamak.

MATERI DAN METODE

Induk Kuda Warmblood

Induk kuda *warmblood* yang diinseminasi adalah kuda impor dari Eropa yang telah satu tahun lebih berada di Indonesia. Induk kuda *warmblood* berjumlah

lima ekor, berumur 6-18 tahun dan sudah pernah beranak. Induk kuda tersebut memiliki siklus estrus yang teratur berdasarkan catatan status reproduksi dan pengamatan awal sebelum program inseminasi dilakukan. Pakan dengan kandungan protein 18% diberikan dengan jumlah dan waktu pemberian yang teratur. Air minum diberikan secara ad libitum.

Ultrasonography dan Sinkronisasi Estrus

Korpus luteum dan folikel serta endometrium uterus diamati dengan menggunakan *ultrasonography*. *Ultrasound* yang digunakan adalah Sonoscap Vet A6 yang dilengkapi *linear probe* 7,5 MHz. *Linear probe* dimasukkan per rektal mengarah ke kantung kemih dilanjutkan ke bagian dorsal kiri dan kanan sehingga diperoleh gambaran organ reproduksi secara lengkap sampai ke bagian ujung kornua uteri. Sinkronisasi estrus dilakukan pada induk kuda yang memiliki korpus luteum fungsional berdiameter minimal 3,0 cm dengan injeksi prostaglandin (PGF_{2α}, Noroprost®, Norbrook) 7,5 mg per kuda secara intramuskular. Perubahan diameter korpus luteum dan folikel serta keberadaan lendir estrus di dalam uterus diamati setiap hari sekali sampai dengan terjadinya ovulasi folikel. Pemeriksaan kebuntingan dilakukan pada hari ke-45 setelah inseminasi yang terakhir dengan menggunakan *ultrasound*.

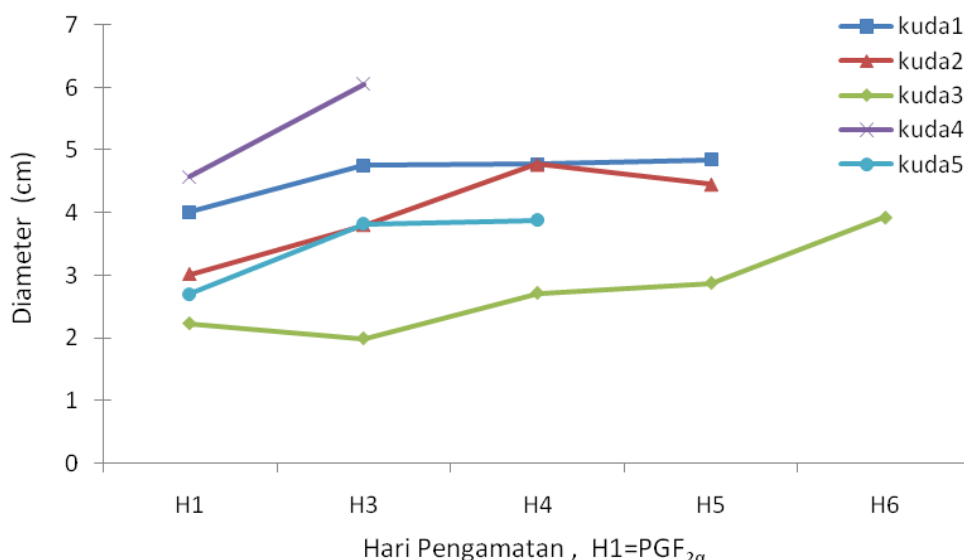
Induksi Ovulasi dan Inseminasi Buatan

Induksi ovulasi dilakukan dengan memberikan hCG (Chorulon®, Intervet) 1500 IU per induk kuda secara intravena 48 jam setelah sinkronisasi estrus. Pemberian hCG diulang setiap 24 jam sampai terjadinya ovulasi folikel (dosis jamak). Inseminasi buatan dilakukan berulang mengikuti setiap pemberian hCG sampai terjadinya ovulasi dengan dosis inseminasi 1,5x10⁹ spermatozoa per ekor kuda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sinkronisasi estrus dengan pemberian prostaglandin menginduksi lisis korpus luteum berdiameter 3,35±0,42 cm pada H1 menjadi 1,81±0,32 cm pada H3. Gejala estrus mulai terlihat pada H3 berupa ketertarikan induk betina terhadap jantan, pengangkatan ekor, *winked vulva* dan urinasi ketika didekati pejantan. Umumnya gejala estrus akan terlihat antara 2-5 hari setelah pemberian prostaglandin (Shepherd *et al.*, 1976; Hyland dan Bristol, 1979). Gejala berahi tersebut muncul seiring dengan pertumbuhan folikel dengan rata-rata mencapai 1,04±0,34 cm dalam dua hari pertama dan selanjutnya pertumbuhan folikel melambat.

Induksi ovulasi dengan dosis jamak hCG di samping menyebabkan pertumbuhan diameter folikel dominan juga menunjukkan perubahan bentuk folikel. Bentuk folikel berubah dari oval menjadi bulat dan terakhir membentuk angka delapan pada saat menjelang ovulasi (Gastal *at al.*, 1999; Atayde dan Rocha, 2011). Hal ini juga diikuti dengan peningkatan jumlah lendir estrus di uterus (Gambar 2a dan 2b) (Witt *et al.*, 2012). Pemberian hCG dosis jamak menghasilkan ovulasi folikel dominan pada empat ekor kuda antara H3 dan H5 setelah sinkronisasi. Tiga ekor kuda mengovulasikan satu folikel dan satu ekor kuda mengovulasikan dua folikel dengan rata-rata diameter folikel dominan sehari sebelum ovulasi adalah 4,81±0,92 cm dan diameter korpus rubrum yang terbentuk adalah 3,82±0,45 cm (Gambar 1). Diameter folikel dominan tersebut tidak berbeda dibanding diameter kuda di daerah subtropis (Gastal *et al.*, 2008). Hal ini membuktikan bahwa perubahan lingkungan subtropis ke daerah tropis tidak memengaruhi fertilitas kuda *warmblood* sebagaimana yang dikhawatirkan selama ini.

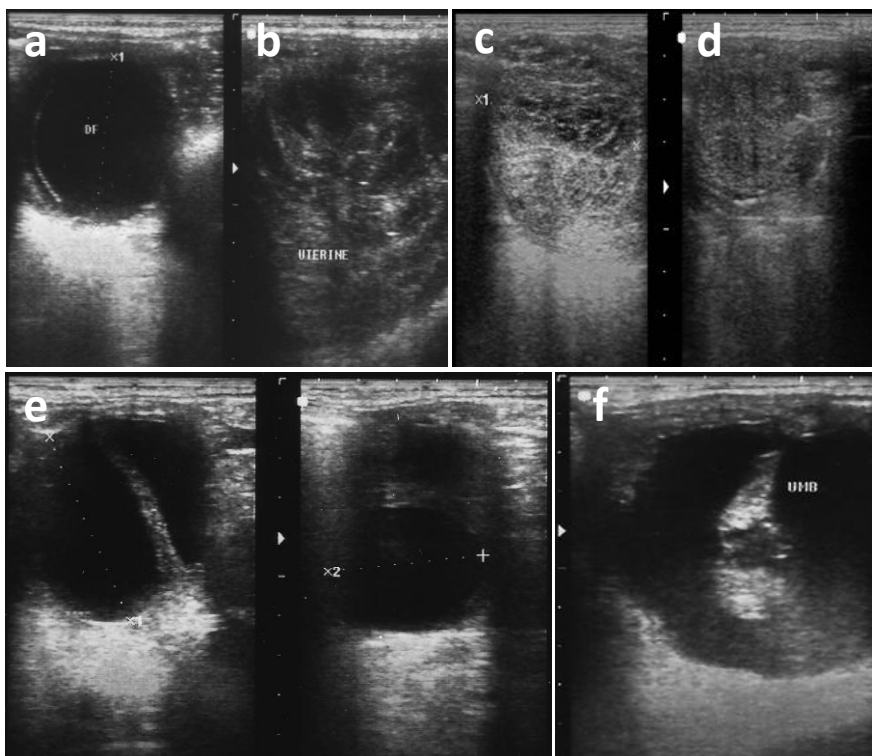


Gambar 1. Pertumbuhan diameter dominan folikel setelah sinkronisasi estrus dengan penyuntikan dosis tunggal PGF_{2α} pada H1 dan induksi ovulasi dengan penyuntikan hCG setiap 24 jam sampai terjadi ovulasi dominan folikel. Ovulasi dominan folikel terjadi pada H3 sampai dengan H6 yang ditandai dengan terbentuknya korpus rubrum dan satu dominan folikel tidak ovulasi sampai dengan H6.

Ovulasi ganda sangat tidak diharapkan dalam peternakan kuda karena dikhawatirkan akan terjadi kebuntingan kembar dan diikuti dengan abortus pada umur kebuntingan trimester akhir. Sinkronisasi estrus dan induksi ovulasi pada kuda sangat berisiko menimbulkan kebuntingan kembar (Veronesi *et al.*, 2003; Amrozi dan Tumbelaka, 2014). Pada umumnya induksi ovulasi dilakukan dengan pemberian hCG dosis tunggal atau ganda pada saat diameter folikel dominan minimal mencapai diameter 4 cm (Palmer dan Jousset, 1976). Satu kasus ovulasi ganda terjadi karena terdapat dua folikel yang berdiameter sama pada saat pemberian hCG sehingga kedua folikel tersebut tumbuh bersamaan dan keduanya diovulasikan (Gambar 2e). Kejadian ovulasi ganda juga berkaitan dengan kadar estrogen plasma darah ketika deviasi folikel terjadi, jika saat deviasi folikel kadarnya tinggi maka akan cenderung terjadi ovulasi ganda (Ginther *et al.*, 2009; Jacob *et al.*, 2009). Namun demikian, memprediksi ovulasi ganda dengan penetapan kadar hormon estrogen perlu waktu, sehingga tidak praktis dalam aplikasi di lapangan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tiga ekor kuda yang lain memiliki satu folikel dominan ketika hCG diberikan dan terjadi ovulasi tunggal. Dengan demikian untuk mencegah terjadinya ovulasi ganda sebaiknya induksi ovulasi dengan pemberian hCG dilakukan ketika folikel dominan dan subordinatnya telah berdeviasi.

Satu ekor kuda (kuda 3) dengan diameter folikel terbesar 2,23 cm pada saat sinkronisasi estrus mengalami pertumbuhan folikel yang lamban dan tidak ovulasi sampai dengan H7 pengamatan ultrasound. Demikian juga dengan lendir estrus di endometrium dan lumen uterus tidak terlihat sebagaimana kuda yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa induksi ovulasi dengan pemberian hCG tidak efektif dilakukan jika folikel belum mencapai diameter lebih dari 3 cm (Shore *et al.*, 1998; Sieme *et al.*, 2003). Ada kemungkinan bahwa folikel tersebut belum memiliki reseptor *lutinizing hormone* (LH) yang cukup sehingga tidak berespons terhadap hCG yang diberikan walaupun telah diberikan dengan dosis jamak (Ginther *et al.*, 2001; Beg dan Ginther, 2006; Checura *et al.*, 2010).

Pada kuda diameter korpus rubrum yang terbentuk selalu lebih kecil dibandingkan dengan diameter folikel dominan yang diovulasikan. Korpus rubrum kuda tumbuh ke medial ovarium dengan pendarahan di bagian tengah. Korpus rubrum yang teramati berwarna hitam dengan sekat-sekat berwarna putih (Gambar 2c) dan berbatas jelas dengan bagian ovarium lain. Korpus rubrum dapat dibedakan dengan folikel anovulasi yang mengalami pendarahan berdasarkan ketebalan dinding dan keberadaan rongga sebagaimana yang telah diamati oleh Cuervo-Arango dan Newcombe (2013). Ovulasi folikel dominan diikuti dengan perubahan gambaran *ultrasound* uterus dimana lendir estrus tidak terlihat nyata tetapi menyebar di endometrium uterus sehingga terlihat berwarna abu-abu tanpa garis-garis hitam (Gambar 2d).



Gambar 2. Gambaran ultrasound folikel dominan, uterus, korpus rubrum dan fetus pada kuda. A= Folikel dominan (DF) dengan liquor folikuli yang jernih berwarna hitam dan sedikit debris berwarna abu abu dibagian ventral. b= Uterus (UTERINE) dengan belang hitam putih menunjukkan adanya lendir estrus dan bintik-bintik putih merupakan bahan pengencer semen. c= Korpus rubrum dengan sekat-sekat hitam putih. d= Uterus setelah ovulasi dengan lendir estrus yang telah menyebar dan belang hitam putih yang menghilang. e= Folikel dominan lebih dari satu pada kuda dengan kebuntingan kembar. f= Fetus pada usia kebuntingan 45 hari setelah inseminasi buatan. Skala antar titik dipinggir gambar adalah 1 cm.

Hasil inseminasi pada 5 ekor kuda *warmblood* tersebut menghasilkan 3 (60%) kebuntingan dengan satu diantaranya kebuntingan kembar. Hasil ini menunjukkan bahwa inseminasi buatan pada kuda *warmblood* sangat memungkinkan dilaksanakan di daerah tropis. Dengan metode sinkronisasi estrus dan ovulasi menggunakan hCG dosis jamak disertai inseminasi menggunakan semen cair secara berulang maka persentase kebuntingan yang dihasilkan tinggi. Persentase kebuntingan tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Sieme *et al.* (2003) yang melakukan sinkronisasi estrus dan ovulasi dengan dosis tunggal hCG disertai inseminasi berulang dengan kebuntingan tertinggi mencapai 43,9%. Inseminasi buatan pada kuda harus mempertimbangkan bahwa durasi estrus kuda yang mencapai lima hari sehingga memerlukan induksi ovulasi dominan folikel untuk mencapai ketepatan waktu inseminasi. Di samping itu, respons pemberian hCG sangat tergantung pada diameter folikel pada saat pemberiannya. Menurut Sieme *et al.* (2003) pemberian hCG dosis 1500 IU pada saat estrus dengan dengan folikel >4,00 cm menghasilkan ovulasi pada 97,5% induk kuda. Dengan demikian jika pertumbuhan folikel tidak diamati dengan menggunakan *ultrasound* maka metode sinkronisasi estrus dan ovulasi dengan hCG dosis jamak disertai inseminasi berulang dapat diaplikasikan untuk menghasilkan persentase kebuntingan yang tinggi.

KESIMPULAN

Sinkronisasi ovulasi dengan pemberian hCG dosis jamak pada kuda *warmblood* yang diinseminasi buatan dengan semen cair efektif menghasilkan kebuntingan yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrozi dan L.I. Tumbelaka. 2014. Persentase kebuntingan kembar dan enukleasi vesikel embrio dengan panduan *ultrasound* pada kuda. **J. Ked. Hewan.** 8(1):48-50.
- Arifiantini, R.I., B. Purwantara, T.L. Yusuf, D. Sajuthi, dan Amrozi. 2008. Angka konsepsi hasil inseminasi semen cair versus semen beku pada kuda yang disinkronisasi estrus dan ovulasi. **Media Peternakan.** 5(1):1-5.
- Atayde, L. and A. Rocha. 2011. Selected ovarian ultrasonographic characteristics during vernal transition are useful to estimate time of first ovulation of the year. **Reprod. Domest. Anim.** 46(2):240-246.
- Beg, M.A. and O.J. Ginther. 2006. Follicle selection in cattle and horses: Role of intra follicular factors. **Reproduction.** 132(3): 365-377.
- Checura, C.M., M.A. Beg, J.J. Parrish, and O.J. Ginther. 2010. Positive effect of FSH but not LH on early development of the dominant follicle in mares. **Reprod. Fertil. Dev.** 22(7):1092-1099.
- Cuervo-Arango, J. and J.R. Newcombe. 2013. Ultrasound confirmation of ovulation in mares: A normal corpus luteum or a haemorrhagic anovulatory follicle? **Reprod. Domest. Anim.** 48(1):105-111.
- Gastal, E.L., A.P. Neves, R.C. Mattos, B.P. Petrucci, M.O. Gastal, and O.J. Ginther. 2008. Miniature ponies: 1. Follicular, luteal and endometrial dynamics during the oestrous cycle. **Reprod. Fertil. Dev.** 20(3):376-385.
- Gastal, E.L., F.X. Donadeu, M.O. Gastal, and O.J. Ginther. 1999. Echotextural changes in the follicular wall during follicle deviation in mares. **Theriogenol.** 52(5):803-814.
- Ginther O.J., M.A. Beg, D.R. Bergfelt, F.X. Donadeu, and Kot K. 2001. Follicle selection in monovular species. **Biol. Reprod.** 65(3):638-647.
- Ginther, O.J., J.C. Jacob, M.O. Gastal, E.L. Gastal, and M.A. Beg. 2009. Development of one vs multiple ovulatory follicles and associated systemic hormone concentrations in mares. **Reprod. Domest. Anim.** 44(3):441-449.
- Hyland, J.H. dan F. Bristol. 1979. Synchronization of oestrus and timed insemination of mares. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** (27):251-255.
- Jacob, J.C., E.L. Gastal, M.O. Gastal, G.R. Carvalho, M.A. Beg, and O.J. Ginther. 2009. Follicle deviation in ovulatory follicular waves with one or two dominant follicles in mares. **Reprod. Domest. Anim.** 44(2):248-254.
- Palmer, E. and B. Jousset. 1976. Synchronization of oestrus in mares with a prostaglandin analogue and HCG. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** (23):269-274.
- Samper, J.C. 2001. Management and fertility of mares bred with frozen semen. **Anim. Reprod. Sci.** 68(3-4):219-228.
- Shepherd G.E., J.K. Findlay, M.J. Cooper, and W.R. Allen. 1976. The use of synthetic prostaglandin analogue to induce oestrus in mares. **Aust. Vet. J.** 52(8):345-348.
- Shore, M.D., M.L. Macpherson, G.B. Combes, D.D. Varner, and T.L. Blanchard. 1998. Fertility comparison between breeding at 24 hours or at 24 and 48 hours after collection with cooled equine semen. **Theriogenol.** 50(5):693-698.
- Sieme, H., A. Bonk, H. Hamann, E. Klug, and T. Katila. 2004. Effects of different artificial insemination techniques and sperm doses on fertility of normal mares and mares with abnormal reproductive history. **Theriogenol.** 62(5):915-928.
- Sieme, H., T. Schäfer, T.A. Stout, E. Klug, and D. Waberski. 2003. The effects of different insemination regimes on fertility in mares. **Theriogenol.** 60(6):1153-1164.
- Squires, E.L., J.K. Brubaker, P.M. McCue, and B.W. Pickett. 1998. Effect of sperm number and frequency of insemination on fertility of mares inseminated with cooled semen. **Theriogenol.** 49(4):743-749.
- Veronesi, M.C., M. Battochio, M. Faustini, M. Gandini, and F. Cairoli. 2003. Relationship between pharmacological induction of estrous and/or ovulation and twin pregnancy in the thoroughbred mares. **Domest. Anim. Endocrinol.** 25:133-140.
- Witt, M.C., H. Bollwein, J. Probst, C. Baackmann, E.L. Squires, and H. Sieme. 2012. Doppler sonography of the uterine and ovarian arteries during a superovulatory program in horses. **Theriogenol.** 77(7):1406-1414.