

## EFEKTIVITAS PROTEIN B SPESIFIK (PSPB) SEBAGAI DIAGNOSA KEBUNTINGAN DINI PADA SAPI PO INDUK

*Yeni Widyaningrum, Lukman Affandhy, dan D. Ratnawati*

Loka Penelitian Sapi Potong

Email : drh.yeni@yahoo.com

### ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah menentukan awal kehadiran protein B spesifik (PSPB) untuk diagnosa kebuntingan dini pada sapi PO induk bunting. Materi penelitian menggunakan 30 ekor Sapi Ongole (PO) induk dengan status fisiologis (bunting, tidak bunting, pasca partus). Tiga puluh ekor sapi induk dibagi menjadi tiga kelompok yaitu Kelompok A terdiri dari 10 ekor Sapi PO induk yang dipelihara di kandang kelompok, dilakukan penggertakan birahi dengan penyuntikan pgf2  $\alpha$  secara intra muskuler (IM) dosis 5 mg, sapi induk betina dicampur dengan sapi pejantan dan dilanjutkan pengamatan perkawinan. Setiap sapi induk yang sudah kawin diambil sampel darahnya pada hari ke 7, 14, 21,30 dan 40. Kelompok B terdiri dari 10 ekor sapi induk PO pasca melahirkan diambil darahnya pada hari ke-0 (saat partus), minggu ke 1, 2, 3 dan 4. Dan kelompok C terdiri dari 10 ekor sapi induk tidak bunting. Waktu penelitian selama 8 bulan tahun 2016 dan parameter yang diamati kadar hormon PSPB. Hasil analisis protein B spesifik dengan metode elisa kompetitif kadar protein B spesifik terdeteksi pada hari ke-7 sebesar  $1.5 \pm 0.2$  ng/ml, pada umur kebuntingan ke-14 hari sebesar  $1.7 \pm 0.4$ , umur kebuntingan ke-21 hari  $1.9 \pm 0.3$  ng/ml, dan terus ada pada umur kebuntingan 30 dan 40 sebesar  $2.0 \pm 0.5$  ng/ml dan  $1.9 \pm 0.2$  ng/ml. Keberadaan PSPB hanya dapat dideteksi pada sapi bunting umur kebuntingan 7 hari berfluktuasi sampai umur kebuntingan ke-40 hari, dan keberadaan PSPB masih dapat dideteksi pada sapi pasca partus sebesar  $57.2 \pm 14.9$  ng/ml masih ada terus sampai minggu ke-4 sebesar  $92 \pm 9.7$  ng/ml, sedangkan pada sapi yang tidak bunting tidak dapat teridentifikasi keberadaan PSPB. Oleh sebab itu PSPB dapat digunakan sebagai biomarker kit tes dan efektif untuk diagnosis kebuntingan dini pada Sapi PO.

**Kata kunci : Sapi PO Induk, Diagnosa Kebuntingan, PSPB**

### ABSTRACT

*The purpose of this study was to determine the initial presence of a specific protein B (PSPB) for early pregnancy diagnosis in cattle PO pregnant mother. The material of study used 30 heads of Ongole creising (PO) with physiological status (pregnant, not pregnant and post-parturition). Thirty cows divided into three groups: Group A consisted of 10 head cows, bullying is done by the injection of PGF2  $\alpha$  lust intra muscular (IM) at a dose of 5 mg, cow mixed with bulls and continued observation the mating. Furthermore, any mated cows a blood sample on day 7, 14, 21,30 and 40. Group B consisted of 10 PO cows postnatal kept in individual cages and have blood drawn at day 0 (time of parturition), Week 1, 2, 3 and 4. and the group C consists of 10 cows not pregnant. The research was 8 months and the observed parameters PSPB hormone levels. The results of the analysis of the B protein specific to the method elisa competitive levels of protein specific B was detected on the 7th day of  $1.5 \pm 0.2$  ng / ml, in gestation to 14 days amounted to  $1.7 \pm 0.4$  ng/ml, gestation to 21 days  $1.9 \pm 0.3$  ng / ml, and continues on 30 and 40 of gestation of  $2.0 \pm 0.5$  ng / ml and  $1.9 \pm 0.2$  ng / ml. The existence PSPB can only be detected in cows pregnant gestation 7 days fluctuate*

*until gestation to 40 days, and the existence of PSPB still be detected in cows after parturition in week-1 amounted to  $57.2 \pm 14.9$  ng / ml still continue until week 4 amounting to  $92 \pm 9.7$  ng / ml, but the cows that are not pregnant can not be identified PSPB concentration. Therefore PSPB can be used as a biomarker test kit and effective for the diagnosis of early pregnancy in cows PO.*

**Key Words: PO Cow Parent, Diagnosis of Pregnancy, PSPB**

## PENDAHULUAN

Diagnosa kebuntingan dini pada ternak sangat penting dalam manajemen reproduksi. Diagnosa kebuntingan dini akan memberikan informasi keberhasilan perkawinan secara cepat sehingga dapat dilakukan evaluasi dari kegagalan kebuntingan dan meningkatkan efisiensi reproduksi. Diagnosa imunologik merupakan alternatif untuk mendeteksi kebuntingan secara dini yaitu pada umur dibawah 20 hari setelah perkawinan/inseminasi, teknik ini menggunakan sampel serum, susu dan darah. Menurut Hafez (2000), diagnosa kebuntingan dini pada ternak melalui identifikasi substansi yang terbentuk selama masa kebuntingan, atau yang dikenal sebagai *early pregnancy factor* (EPF), yaitu mendeteksi (a) substansi spesifik yang terdapat di dalam darah dan air susu induk seperti *Bovine Pregnancy Associated Glycoprotein* (bPAG) dan (b) substansi non spesifik yang ada di dalam darah, urine atau air susu selama kebuntingan seperti progesterone dan estrone sulphate.

Aulanni'am (2004) menyebutkan, antigen khusus yang dihasilkan dari isolasi EPF dan dikelompokkan sebagai substansi spesifik dari bPAG (bovine pregnancy-associated glycoproteins) dari sel trophoblas sapi bunting, adalah Protein B atau sering disebut sebagai *Pregnancy Specific Protein B* (PSP-B) (serum sapi bunting). Namun protein tersebut tidak tersedia secara komersial sehingga perlu mengisolasinya dari sapi. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui keberadaan PSPB pada sapi bunting atau tidak.

Selama ini metode deteksi kebuntingan pada sapi dilakukan secara konvensional melalui palpasi rectal, namun dibutuhkan umur kebuntingan tertentu (lebih dari 60 hari) dan tenaga ahli dibidang reproduksi (ATR). Oleh karena itu diperlukan suatu metode deteksi kebuntingan sapi pada awal umur kebuntingan dan dapat dilakukan oleh peternak secara umum. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui keberadaan PSPB pada sapi induk PO bunting secara dini.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di kandang percobaan Loka Penelitian Sapi Potong selama 8 bulan di mulai pada bulan April - Nopember 2015. Materi penelitian menggunakan 30 ekor Sapi Ongole (PO) induk dengan status fisiologis (bunting, tidak bunting dan pasca partus), berat badan  $\pm 350$  kg, Skor Kondisi Tubuh (SKT) 5,5 – 6. Terdapat tiga perlakuan dalam penelitian ini diantaranya:

Kelompok A terdiri dari 10 ekor Sapi PO induk yang dipelihara di kandang kelompok, dilakukan penggertakan birahi dengan penyuntikan pgf2  $\alpha$  secara intra muskuler (IM) dengan dosis 5 mg, agar sapi estrus / birahi dalam waktu bersamaan. Kemudian bila tidak terjadi estrus/birahi 48 - 72 jam setelah penyuntikan, dilakukan pengulangan penyuntikan pgf2 alfa pada hari ke-11. Sapi induk betina dicampur dengan sapi pejantan sebagai pemacek (INKA) agar terjadi perkawinan dan kebuntingan. Berdasarkan hasil penelitian Aryogi., et al pada tahun 2013 PSPB sudah dapat dideteksi pada hari ke-2 pasca fertilisasi, oleh sebab itu setiap sapi induk yang sudah kawin

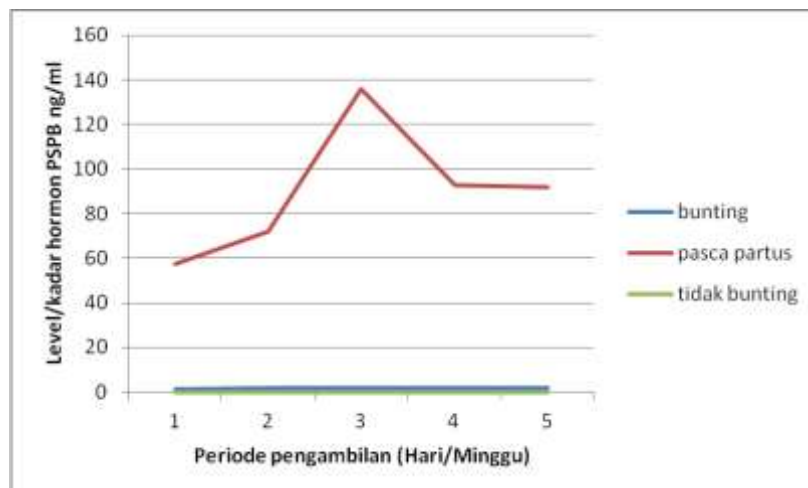
diambil sampel darahnya pada hari ke 7, 14, 21,30 dan 40. Kelompok B terdiri dari 10 ekor sapi PO induk pasca melahirkan dipelihara dikandang individu dan diambil darahnya pada hari ke-0 (saat partus), minggu ke 1, 2, 3 dan 4. Dan kelompok C terdiri dari 10 ekor sapi induk tidak bunting dipelihara dikandang kelompok dan tidak dikawinkan dengan pejantan.

Pengambilan sampel darah sapi dari *vena jugularis* menggunakan venoject dan tabung darah tanpa anti koagulan, kemudian sampel darah di centrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya serum darah dianalisis dengan metode ELISA *indirect* untuk mengetahui kadar PSPB.

Parameter yang diukur adalah kadar hormon PSPB. Data dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa PSPB menggunakan metode kompetitif Elisa pada sample serum darah sapi dengan tiga status fisiologis (bunting, tidak bunting, dan pasca partus) tertera dalam Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan bahwa konsentrasi hormon PSPB sapi bunting tidak menunjukkan pengaruh nyata ( $P>0.05$ ) terhadap sapi pasca partus. Konsentrasi PSPB ada pada saat kondisi sapi tersebut bunting dan meningkat secara fluktuatif sampai akhir kebuntingan.



Gambar 1. Konsentrasi PSPB pada tiga status fisiologis

Gambar 1. menunjukkan bahwa PSPB hanya terdeteksi pada sapi bunting dan bervariasi sampai akhir kebuntingan. Pada sapi PO yang tidak bunting tidak terdapat Protein B Spesifik dan konsentrasi protein B spesifik hanya dapat diidentifikasi pada sapi bunting saja. Oleh sebab itu PSPB dapat digunakan sebagai indikator untuk diagnosa kebuntingan dini, sehingga kebuntingan dapat diketahui seawal mungkin. Konsentrasi PSPB pada sapi PO bunting mulai dari usia kebuntingan hari ke-7 sebesar  $1.5 \pm 0.2$  ng/ml, pada umur kebuntingan ke-14 hari sebanyak  $1.7 \pm 0.4$ , pada umur kebuntingan ke-21 hari  $1.9 \pm 0.3$  ng/ml, dan ada terus sampai umur kebuntingan 30 dan 40 sebanyak  $2.0 \pm 0.5$  ng/ml dan  $1.9 \pm 0.2$  ng/ml. Dikenalnya PSPB pada kebuntingan umur 7 hari dapat disebabkan karena beberapa saat setelah terjadinya fertilisasi protein spesifik disekresikan (Smart, 1991).

Menjelang hari ke-7 zona pellucida disekitar blastosis hilang, sehingga sel trophoblas berkontak langsung dengan epitel uterus. Sel berkembang membentuk

perlipatan dinding trophoblast. Implantasi terjadi apabila embrio mamalia menempel pada uterus sehingga terjadi proliferasi, diferensiasi dan migrasi dari sel embrio maupun uterus (Gordon, 2004). Sebelum menempel embrio akan melayang-layang dalam lumen uterus dan terjadi pertautan pada sapi hari ke-11 samapi 40 pasca fertilisasi. Sedangkan menurut Damayanti (2006) pertautan endometrium pada hari ke-10 sampai hari ke-11 dan pada hari ke-30 proses plasentasi sempurna. Pada tahap ini granula-granula yang ada dalam sel binukleat disekresikan langsung ke dalam jaringan maternal, dan diantara produk sekresi merupakan substansi protein berupa PSPB. Keberadaan PSPB pada serum sapi bunting merupakan suatu respon imun sebagai akibat adanya kebuntingan (Barnea, 2000; Howard, 1998; Transom, 2001).

Konsentrasi PSPB pada umur kebuntingan 30 hari  $2.0 \pm 0.5$  ng/ml, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Mialon et al, (1994) pada usia kebuntingan 30 hari jumlah konsentrasi Pregnancy protein serum 0,6 ng/ml dan meningkat secara gradual sesuai dengan bertambahnya umur kebuntingan. Berdasarkan hasil penelitian Sasser et al, (1986) konsentrasi PSPB  $> 1$  ng/ml di 30 hari setelah pembuahan. Sedangkan menurut Aryogi et al, (2013) kadar PSPB sudah ada pada serum darah sapi induk bunting pada umur kebuntingan 2 hari (pasca fertilisasi) sebesar  $1,25 \pm 0,75$  ng/mg. Kadar protein B semakin tinggi dan mencapai puncaknya dikebuntingan sekitar 16 hari dan menurun di umur kebuntingan 30 hari sebesar  $8,24 \pm 7,64$  ng/ml.

Pada sapi pasca partus/laktasi keberadaan PSPB masih dapat dideteksi pada minggu ke-1 yaitu sebanyak  $57.2 \pm 14.9$  ng/ml dan masih ada terus pada minggu ke-3 yaitu  $135.9 \pm 49.1$  ng/ml sampai minggu ke-5 sebesar  $92 \pm 9.7$  ng/ml. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Kiracofe (2014) bahwa konsentrasi PSPB tertinggi pada sapi pada saat melahirkan kemudian menurun terus, dengan konsentrasi PSPB 1 ng/ml. Variasi konsentrasi PSPB pada beberapa status fisiologis tidak dipengaruhi oleh Skor kondisi tubuh ternak dan bobot badan.

### **KESIMPULAN**

PSPB dapat digunakan sebagai antigen bahan marker kit tes yang efektif untuk diagnosa kebuntingan dini pada sapi PO, keberadaan PSPB hanya dapat diidentifikasi secara dini pada darah sapi bunting pada umur kebuntingan hari ke-7 dan meningkat secara gradual sesuai umur kebuntingan pada hari ke-40 dan masih dapat diidentifikasi pada sapi partus sampai minggu ke-5.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Ucapan terima kasih disampaikan kepada kepala Laboratorium Kebidanan dan Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan staff kandang di kandang percobaan Loka Penelitian Sapi Potong yang sudah mendukung kegiatan penelitian ini.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Aulanni'am. 2004. Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul. Cetakan Pertama. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Press, Malang. Hal. 28-45.
- Aryogi, D. Ratnawati, dan L. affandhy. 2013. Diagnosa Kebuntingan Dini Sapi Induk Melalui Identifikasi Protein B Spesifik. Laporan Akhir Tahun Anggaran 2013. Loka Penelitian Sapi Potong, Pasuruan.
- Barnea, E.R. 2000. Early Pregnancy: Biology and Medicine. Early Pregnancy Volume IV. pp. 166-175

- Clarke FM, Morton H, BE Ralfe and GJA Clunie. 1978. Partial Detection and Separation of Two Serum Factors Responsible for Depression of Lymphocyte Activity in Pregnancy. Clin. Exp. Immunol 32:318-323.
- Damayanti, T. 2006. Metode Deteksi Kebuntingan Ternak Sapi. Fakultas Peternakan Universitas Padjajaran. Bandung
- Dhasrul, CN Thasmi, dan A Harris. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Protein Spesifik Pregnancy Associated Substance (PAS) Serum Sebagai Kandidat untuk Test Kebuntingan Dini pada Sapi Lokal. Jurnal Kedokteran Siyah Kuala. Vol : 7. No : 3.
- DuPlants, LJ. 2000. Early Pregnancy Factor Lifeissues.net. Kochi, Japan. All Rights Reserved.pp. 1-2.
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi Pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Gordon, I. 2004. Reproductive Technologies In Farm Animals CABI Publishing. Cambridge. USA.
- Hafez, ESE. 2000. Reproduction in Farm Animals. Philadelphia: Lippincutt Williams and Wilkins. 395 – 404.
- Howard, P.J. 1998. Morning After Pills: How Do They Prevent Pregnancy ?. Lancet 352: 422-428
- Jainudeen MR and Hafez ESE. 2000. Pregnancy Diagnosis, dalam Hafez, E.S.E and Hafez, B. 2000. Reproduction in Farm Animals. 7ed.. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia.
- Kiracofe, GH Wright, JM Schalles, RR Ruder, CA Parish, and Sassert, RG. 2014. Pregnancy-Specific Protein B in Serum of Postpartum Beef Cows. J.Anim.Sci. 1993.71199:2199-2205.
- Mialon, M.M.; Renand, G.; Camous, S.; Martal, J. and Menissier, F. 1994. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy srum protein (PSP60) in cattle.eprod. Nutr. Dev. 1994;34: 65 – 72.
- Rantam, FA. 2003. Metode Immunologi. Airlangga University Press.
- Samik, A. 2010. Identifikasi Pregnancy Specific Protein B (PSPB) dari Placenta Foetalis (*Cotyledon*) Sapi Freishian Holstein. Jurnal Veterinaria Medika. Vol : 3. No : 1.
- Saser RG, Ruder CA, Ivani KA, Butler JE and Hamilton,WC. 1986. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. Biol.Reprod. 1986;35: 936 – 942.
- Smart YC. 1991. Detection Of an Immunosuppressive Factor in Human Preimplantation Embryo Culture. Ied J Aust PP 78-79.
- Transom, G. 2001. Early Pregnancy Factor (EPF)-Background and Prospects.Research Report, Cbio Limeted. pp. 1-9.