

Konsentrasi Mineral Serum saat Produksi Embrio dan Hubungannya dengan Kualitas dan Kuantitas Embrio pada Sapi Peranakan Ongole

(Serum Mineral Concentration during Embryo Production and its correlation with Embryo Quality and Quantity in Peranakan Ongole Donor Cows)

Putri Indah Ningtias^{1*}, Sus Derthi Widhyari², Retno Wulansari²

¹Pasca Sarjana Ilmu Biomedis Hewan, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Divisi Penyakit Dalam, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

Jl. Agathis, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

*Penulis untuk korespondensi: ningtias.putri@gmail.com

Diterima 10 Januari 2022, Disetujui 10 Juni 2022

ABSTRAK

Mineral merupakan salah satu nutrisi yang memiliki peran penting dalam reproduksi. Perubahan konsentrasi mineral akan menyebabkan masalah reproduksi termasuk mempengaruhi produksi embrio. Penelitian bertujuan untuk menganalisis konsentrasi mineral serum selama produksi embrio dan menganalisis hubungan antara konsentrasi mineral serum dengan kualitas dan kuantitas embrio pada sapi donor Peranakan Ongole (PO). Sampel darah dikoleksi dari 10 ekor sapi donor PO sebelum superovulasi dan saat melakukan panen embrio. Darah diambil melalui vena *coccygea* kemudian disentrifugasi untuk diambil serumnya. Serum dianalisis terhadap parameter kalsium (Ca), fosfor (P), dan magnesium (Mg) dengan prinsip fotometer menggunakan kit komersial. Data diuji secara statistik menggunakan uji nonparametrik *Wilcoxon* untuk membandingkan konsentrasi mineral serum sebelum superovulasi dan saat panen embrio. Hubungan antara konsentrasi mineral serum dengan kualitas dan kuantitas embrio dianalisis menggunakan uji korelasi nonparametrik *Rank Spearman*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi embrio tidak mempengaruhi konsentrasi mineral serum. Konsentrasi Mg secara signifikan berhubungan dengan embrio morula, tetapi tidak signifikan dengan total embrio (TE), embrio layak transfer (LT), embrio degenerasi (DG), oosit *unfertile* (UF), dan embrio blastosis. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi Ca dan P dengan TE, embrio LT, DG, oosit UF, embrio morula, dan blastosis.

Kata kunci: mineral serum, produksi embrio, sapi Peranakan Ongole

ABSTRACT

Minerals are one of the nutrients that have an important role in reproduction. Changes in mineral concentrations will cause reproductive problems including affecting embryo production. The aims of this study were to analyse the concentration of mineral serum during embryo production and to analyse the correlation between the serum mineral concentration and the number and quality of Peranakan Ongole (PO) donor cows embryos. Blood samples were collected from ten PO donor cows before superovulation treatment and when collecting the embryo. Blood samples are taken through the coccygeal vein and were then centrifuged to collect serum. Serum mineral parameters were analysed by photometer principle using a commercial kit. Data were statistically evaluated by Wilcoxon nonparametric test to compare the serum mineral concentration before superovulation treatment and when collecting the embryo. Correlation between serum mineral concentrations and embryo quality and quantity was analysed using the Spearman Rank nonparametric correlation test. The results showed that embryo production did not affect serum mineral concentrations. Magnesium (Mg) were significantly associated with morula embryos but not with total embryo (TE), transferrable (LT) embryo, degenerated (DG) embryos, unfertile (UF) oocytes, and blastocyst embryos. There was no significant correlation between calcium (Ca) and phosphorus (P) with TE, LT embryos, DG embryos, UF oocytes, morula, and blastocyst embryos.

Key words: serum mineral, embryo production, Peranakan Ongole cattle

PENDAHULUAN

Perbaikan mutu genetik ternak dapat dilakukan dengan *Multiple Ovulations and Embryo Transfer* (MOET) (Faizah et al., 2018). Metode MOET adalah teknik manipulasi genetik yang merupakan teknologi dalam bidang reproduksi (Herren, 2000). Metode MOET berhubungan dengan produksi embrio melalui superovulasi pada sapi donor. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Imron et al. (2016) memperlihatkan jumlah produksi embrio pada sapi PO masih bervariasi walaupun telah diberikan perlakuan superovulasi dengan penyuntikan FSH secara intramuskular maupun epidural. Hasil produksi embrio pada sapi PO (*Bos indicus*) lebih kecil dibandingkan sapi eksotik jenis *Bos taurus* (Sartori et al., 2016). Metode superovulasi, hewan donor, dan lingkungan merupakan faktor yang dapat mempengaruhi keberhasilan produksi embrio secara *in vivo* (Bo & Mapletoft, 2020). Beberapa hal yang berhubungan dengan faktor hewan donor yaitu jumlah folikel dalam ovarium, kondisi kesehatan, nutrisi, manajemen pemeliharaan, bangsa sapi, umur, genetik, status laktasi, sejarah reproduksi, dan stress (Afriani et al., 2018; Bo & Mapletoft, 2020; Mikkola et al., 2020).

Nutrisi memegang peranan penting dalam meningkatkan efisiensi reproduksi (Bindari et al., 2013). Nutrisi mempengaruhi konsentrasi hormon dan metabolit yang bersirkulasi dalam tubuh dan intrafolikular (Sartori et al., 2017). Kondisi kesehatan, seperti penyakit, perubahan nutrisi, dan perubahan manajemen pemeliharaan berhubungan dengan perubahan kimiawi dalam tubuh (Overton et al., 2017; Singh et al., 2020).

Perubahan kimiawi yang terjadi di dalam tubuh dapat dilihat dengan melakukan pemeriksaan konsentrasi parameter biokimia. Pemeriksaan biokimia darah dalam kedokteran hewan dilakukan untuk memprediksi dan mendiagnosis penyakit (Samanc et al., 2011; Madreseh-Ghahfarokhi et al., 2020). Salah satu pemeriksaan biokimia darah yang dapat dilakukan yaitu pemeriksaan konsentrasi mineral. Mineral merupakan salah satu nutrisi yang memiliki peran penting dalam reproduksi. Mineral dapat mempengaruhi aktivitas ovarium karena terlibat dalam sintesis hormon reproduksi (Boland, 2003). Perubahan homeostasis konsentrasi Ca-P-Mg dapat menyebabkan masalah reproduksi (Ahuja & Parmar, 2017).

Peningkatan produksi embrio pernah dilaporkan dari segi fisiologi reproduksi sapi donor (Bo et al., 2019) dan metode superovulasi (Mapletoft et al., 2015). Penelitian terkait konsentrasi mineral pada sapi yang dihubungkan dengan produksi embrio telah dilakukan

oleh Chorfi et al., (2007) dan Fernandez-Sanchez et al., (2014). Penelitian-penelitian tersebut sebagian besar menggunakan sapi perah dengan kondisi geografis dan manajemen yang berbeda dengan di Indonesia.

Pemeriksaan mineral darah pada sapi donor penting untuk dilakukan karena dapat mengetahui status nutrisi dan kesehatan sapi saat produksi embrio. Sapi donor yang memiliki status nutrisi dan kesehatan yang baik diharapkan dapat menghasilkan jumlah dan kualitas embrio yang baik. Penelitian mengenai konsentrasi mineral pada sapi donor lokal yang dihubungkan dengan hasil produksi embrio masih terbatas di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini akan menganalisis konsentrasi mineral serum saat produksi embrio serta hubungan antara konsentrasi mineral serum dengan jumlah dan kualitas embrio sapi donor PO saat produksi embrio.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Sapi Donor

Sebanyak 10 ekor sapi PO berumur 4–8 tahun dengan BCS 2,5–4 (skala 1–5) yang digunakan dalam penelitian merupakan sapi donor PO milik BET Cipelang. Pakan sapi donor yang diberikan adalah hijauan *king grass* dan konsentrat. Total konsumsi bahan kering per ekor sapi adalah 12,5 kg dengan kandungan protein kasar sebesar 12,8%. Sapi donor PO diberikan air minum secara *ad libitum*. Sapi donor dipelihara dalam kandang dengan sistem *free stall*. Pada sapi donor dilakukan pemeriksaan kesehatan secara fisik dan penggunaan *ultrasonografi* (USG) untuk pemeriksaan pada saluran reproduksi sebelum dilakukan penelitian. Sapi donor yang dinyatakan sehat berdasarkan hasil pemeriksaan klinis dan USG digunakan dalam penelitian ini.

Prosedur Superovulasi dan Panen Embrio

Sapi donor yang lolos seleksi pemeriksaan kesehatan dipasang preparat progesteron intravaginal (Cue-Mate[®], mengandung 1,56 mg progesteron dalam dua *pod silicon*, Bioniche Animal Health (A/Asia) Pty.Ltd., Australia) pada hari ke-0. Penyuntikan hormon FSH (Follitrophin[®] V, terdiri dari 400 mg NIH-FSH-P1 dan 20 mL pelarut bakteriostatik natrium klorida, Bioniche Animal Health (A/Asia) Pty.Ltd., Australia) dilakukan dengan dosis menurun secara intramuskular interval 12 jam pada hari ke-9, 10, dan 11. Penyuntikan prostaglandin F2 α (PGF2 α) (Estrumate[®], 500 mcg cloprostenol per 2 mL; Merck Animal Health, USA) dilakukan pada hari ke-11 bersamaan dengan pelepasan preparat progesteron intravaginal di sore

hari. Sapi dilakukan deteksi berahi setelah penyuntikan PGF 2α . Pada hari ke-13 dan ke-14, sapi diinseminasi menggunakan semen dari pejantan unggul.

Panen embrio dilakukan pada hari ke-20. Panen embrio dilakukan dengan metode non bedah (Imron *et al.*, 2016). Sapi donor ditempatkan pada kandang jepit. Anestesi epidural dilakukan dengan menyuntikkan Lidocain HCl 2% dosis 0,2 mg/kg BB. *Folley catheter* (FHK Fujihara, Japan) ukuran 18FR dimasukkan ke dalam badan uterus menggunakan *stillet* kemudian *stillet* dikeluarkan. *Folley catheter* dimasukkan udara 10–15 mL kemudian disambungkan dengan infus set menggunakan konektor Y. Panen embrio dilakukan dengan membilas uterus menggunakan 500 mL larutan Ringer Laktat yang ditambahkan 1% serum (Sigma-Aldrich, USA) dan antibiotik penisilin-streptomisin 100 IU/mL (Sigma-Aldrich, USA). Panen embrio dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada uterus kanan, uterus kiri, dan badan uterus (Imron *et al.*, 2016).

Evaluasi Embrio

Hasil panen embrio disaring dengan filter embrio dan dituang ke dalam cawan petri. Evaluasi embrio dilakukan menggunakan mikroskop stereo (Olympus SZ61, Japan). Embrio dinilai sesuai dengan fase perkembangan embrio (kode 1-9) dan kualitasnya (kode 1-4) merujuk pada standar yang ditetapkan dalam *Manual of the International Embryo Transfer Society* (IETS) (IETS, 2010; Phillips & Jahnke, 2016; BET, 2016). Evaluasi embrio meliputi penghitungan jumlah total embrio (TE) yang dihasilkan dari setiap individu donor, penilaian fase perkembangan embrio, dan penilaian kualitas embrio.

Kualitas embrio dibedakan menjadi 4 kode kualitas yaitu kode kualitas 1 untuk *excellent or good*, kode kualitas 2 untuk *fair*, kode kualitas 3 untuk *poor*, dan kode kualitas 4 untuk *dead or degenerate* (IETS 2010). Kualitas embrio ditentukan oleh penilaian visual karakteristik morfologi embrio, seperti bentuk, ukuran dan warna blastomer; keberadaan vakuola di antara sel; keberadaan sel yang terekstrusi; dan bentuk zona pelusida. Embrio dikelompokkan ke dalam 3 kategori yaitu embrio layak transfer (LT), embrio degeneratif (DG), dan oosit tidak terbuahi (*unfertile/UF*). Embrio LT adalah embrio yang mencapai perkembangan fase 4 sampai dengan fase 9 dan memiliki kode kualitas 1, 2, dan 3 (BET, 2016; Sartori *et al.*, 2002). Embrio DG adalah embrio berumur 7 hari yang memiliki dua hingga dua belas sel dengan perkembangan sel yang sangat lambat sehingga dianggap mati atau degenerasi dan memiliki kualitas 4 (Phillips & Jahnke, 2016). Oosit UF

adalah sel yang hanya memiliki satu inti tanpa terlihat adanya tanda-tanda pembelahan sel (Sartori *et al.*, 2002; Phillips & Jahnke, 2016).

Pengambilan dan analisis sampel darah

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke-0 (Ho) dan hari ke-20 (H20). Sampel darah diambil melalui vena *coccygea* kemudian dimasukkan ke dalam tabung *vacutainer* tanpa antikoagulan. Sampel darah disentrifugasi pada 3000 rpm selama 12 menit untuk memperoleh serum (Chorfi *et al.*, 2007). Serum disimpan dalam suhu -20°C sebelum dianalisis. Serum dianalisis terhadap parameter mineral darah yang meliputi konsentrasi kalsium (Ca), fosfor (P), dan magnesium (Mg). Parameter Ca, P, dan Mg dianalisis dengan prinsip fotometer (Vetscan® VS2, Abaxis, Jerman) menggunakan kit komersial (Abaxis® *Large Animal Profile*).

Analisis Data

Perbandingan antara konsentrasi mineral serum pada Ho dan H20 produksi embrio diuji secara statistik menggunakan uji nonparametrik Wilcoxon. Hubungan antara konsentrasi mineral serum dengan produksi embrio diuji secara statistik menggunakan uji korelasi nonparametrik *Rank Spearman*. Data dianalisis menggunakan software IBM® SPSS® versi 23.

HASIL

Produksi Embrio

Sepuluh sapi PO donor pada penelitian ini menghasilkan total embrio (TE) sebanyak 120 embrio dengan rata-rata 12,00±12,44 embrio. Hasil produksi embrio sapi PO donor serta persentase perolehannya tersaji pada Tabel 1 dan Gambar 1. Jumlah embrio layak transfer (LT) yang dihasilkan sebanyak 70 embrio, jumlah embrio degenerasi (DG) sebanyak 21 embrio, dan jumlah oosit *unfertile* (UF) sebanyak 29 embrio. Rataan embrio LT, DG, dan UF berturut-turut 7,00±8,15; 2,10±2,47; dan 2,90±4,93. Embrio LT yang dihasilkan dikelompokkan ke dalam kelompok embrio blastosis sebanyak 64 embrio (91,43%) dan kelompok morula sebanyak 6 embrio (8,57%).

Konsentrasi Ca, P, dan Mg saat Produksi Embrio

Produksi embrio berlangsung selama 20 hari. Konsentrasi Ca, P, dan Mg sebelum perlakuan produksi embrio (Ho) dan saat panen embrio (H20) dapat

diamati pada Tabel 2. Rataan konsentrasi Ca darah sapi donor PO pada Ho lebih tinggi 0,75% dibandingkan pada H2o. Terdapat perbedaan rataaan konsentrasi Ca pada Ho dan H2o, tetapi secara perhitungan statistik tidak berbeda nyata ($p>0,05$). Rataan konsentrasi P sapi donor PO pada Ho lebih tinggi 1,01% dibandingkan dengan H2o. Namun, perbedaan rataaan konsentrasi P tersebut tidak signifikan secara statistik ($p>0,05$). Konsentrasi Mg sapi donor PO pada Ho memiliki rataaan yang lebih tinggi 3,7% dibandingkan pada H2o. Terdapat perbedaan konsentrasi Mg antara Ho dan H2o, tetapi tidak berbeda nyata secara statistik ($p>0,05$).

Hubungan Konsentrasi Ca, P, dan Mg dengan Kualitas dan Kuantitas Embrio

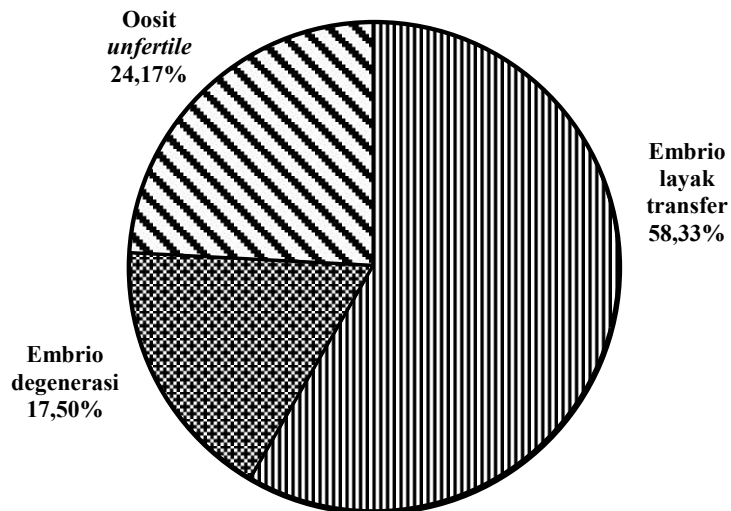
Hasil penelitian yang tersaji pada Tabel 3 menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi Mg pada saat panen embrio dengan embrio morula ($p<0,05$), tetapi tidak signifikan pada TE, embrio LT, embrio DG, oosit UF, dan embrio blastosis ($p>0,05$). Konsentrasi Ca dan P tidak berkorelasi dengan TE, embrio LT, embrio DG, oosit UF, embrio blastosis, dan embrio morula ($p>0,05$).

PEMBAHASAN

Mineral mutlak diperlukan oleh tubuh dalam konsentrasi yang seimbang. Mineral seperti Ca, P, dan Mg diatur secara ketat di dalam tubuh melalui berbagai proses homeostasis (Samanc et al., 2011). Interpretasi konsentrasi mineral-mineral tersebut dalam darah dikaitkan dengan kemampuan tubuh

dalam melakukan homeostasis (Samanc et al., 2011). Perubahan homeostasis konsentrasi Ca-P-Mg dapat menyebabkan masalah reproduksi (Ahuja & Parmar, 2017). Mineral dapat mempengaruhi aktivitas ovarium karena terlibat dalam sintesis hormon reproduksi (Boland, 2003).

Konsentrasi Mg sapi donor PO pada Ho dan H2o tidak berbeda nyata secara statistik ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan selama produksi embrio tidak mempengaruhi konsentrasi Mg pada sapi donor PO. Hasil penelitian pada sapi donor PO menunjukkan rataaan konsentrasi Mg dalam darah yang lebih tinggi dari nilai referensi (1,8–2,3 mg/dL) yaitu mencapai 2,6 mg/dL. Angka ini lebih tinggi 13,04% dari ambang batas atas nilai referensi yang digunakan (2,3 mg/dL) (Radostits et al., 2007; Kessel, 2015). Konsentrasi Mg dalam darah dapat dipengaruhi oleh jumlah mineral tersebut dalam pakan (Samanc et al., 2011). Magnesium mengatur dinamika dan homeostasis Ca dalam sel serta merupakan kofaktor enzim (Pilchova et al., 2017). Konsentrasi Mg yang tinggi dapat mempengaruhi keseimbangan Ca dalam tubuh (Ahuja & Parmar, 2017). Magnesium dapat mempengaruhi afinitas pengikatan Ca ke protein tertentu pengikat Ca, seperti kalmodulin, S100, troponin C, dan parvalbumin (Cates et al., 2002; Schwaller, 2009). Saat Ca darah rendah, tubuh akan melakukan mekanisme homeostatis dengan mengeluarkan *Parathyroid Hormone* (PTH) untuk menstimulasi resorpsi Ca pada tulang. Selain itu, PTH menstimulasi sekresi enzim renal 25-hidroksivitamin D 1 α -hidroksilase untuk reabsorpsi Ca di ginjal dan meningkatkan absorpsi Ca pada usus (Wilkens et al., 2020). Selain meningkatkan absorpsi Ca, PTH juga



Gambar 1 Persentase hasil produksi embrio sapi donor Peranakan Ongole (PO)

Tabel 1 Hasil produksi embrio sapi donor Peranakan Ongole (PO)

Kode Sapi	TE	LT	DG	UF	Embrio Blastosis	Embrio Morula
PO1	11,00	8,00	2,00	1,00	8,00	0,00
PO2	13,00	3,00	0,00	10,00	3,00	0,00
PO3	2,00	1,00	1,00	0,00	1,00	0,00
PO4	24,00	20,00	3,00	1,00	19,00	1,00
PO5	2,00	0,00	2,00	0,00	0,00	0,00
PO6	17,00	9,00	8,00	0,00	8,00	1,00
PO7	40,00	22,00	4,00	14,00	20,00	2,00
PO8	8,00	7,00	0,00	1,00	5,00	2,00
PO9	1,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00
PO10	2,00	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00
Total	120,00	70,00	21,00	29,00	64,00	6,00
Rataan ± ST Dev	12,00±12,44	7,00±8,15	2,10±2,47	2,90±4,93	6,40±7,56	0,60±0,84

Keterangan: TE: total embrio, LT: embrio layak transfer, DG, embrio degenerasi, UF: oosit *unfertile*

Tabel 2 Rataan konsentrasi Ca, P, dan Mg dalam serum sapi donor Peranakan Ongole (PO) saat produksi embrio

Parameter	Ho	H2o	Nilai referensi*	p
Ca (mg/dL)	9,39 ± 0,51	9,32 ± 0,64	9,7-12,4	0,478
P (mg/dL)	7,93 ± 0,95	7,85 ± 1,02	5,6-6,5	0,484
Mg (mg/dL)	2,70 ± 0,19	2,60 ± 0,26	1,8-2,3	0,232

Keterangan: Ca: Kalsium, P: Fosfor. Mg: Magnesium, Ho: sebelum superovulasi, H2o: setelah superovulasi/saat panen embrio, *) Sumber: Radostits *et al.* (2007); Kessel (2015), p: nilai signifikansi

Tabel 3 Hubungan konsentrasi Ca, P, dan Mg sapi donor Peranakan Ongole (PO) saat panen embrio (H2o) dengan kualitas dan kuantitas embrio

Kualitas dan Kuantitas Embrio	Ca (mg/dL)		P (mg/dL)		Mg (mg/dL)	
	ρ	ρ	ρ	ρ	ρ	ρ
Total Embrio	-0,309	0,386	0,324	0,361	-0,262	0,465
Embrio Layak Transfer	-0,568	0,087	0,274	0,443	-0,343	0,332
Embrio Degenerasi	-0,394	0,259	0,107	0,769	-0,367	0,297
Oosit <i>Unfertile</i>	-0,096	0,793	-0,016	0,965	-0,064	0,860
Embrio Blastosis	-0,610	0,061	0,259	0,469	-0,328	0,355
Embrio Morula	-0,457	0,184	0,475	0,165	-0,643	0,045*

Keterangan: Ca: Kalsium, P: Fosfor. Mg: Magnesium, ρ : koefisien korelasi *Rank Spearman*, p: nilai signifikansi, *: signifikan pada taraf nyata 0,05 ($p < 0,05$)

meningkatkan reabsorpsi Mg pada tubular ginjal. Hal ini diduga menjadi penyebab konsentrasi Mg pada darah sapi donor PO meningkat (Goff, 2000).

Berdasarkan hasil penelitian pada sapi donor PO yang diproduksi embrio, konsentrasi Mg dalam darah berkorelasi negatif dengan embrio morula. Embrio dalam fase morula dengan kualitas 1, 2, dan 3

termasuk ke dalam embrio LT. Hasil ini sejalan dengan penelitian Chorfi *et al.* (2007) yang menyebutkan bahwa konsentrasi Mg berkorelasi signifikan dengan jumlah embrio LT. Namun, pada penelitian ini konsentrasi Mg berkorelasi negatif terhadap jumlah embrio, sedangkan pada penelitian Chorfi *et al.* (2007) menyatakan bahwa konsentrasi serum Mg yang tinggi

berhubungan dengan jumlah embrio LT yang tinggi. Perbedaan tersebut terjadi karena pada penelitian yang dilakukan oleh Chorfi et al. (2007), konsentrasi Mg ($0,95 \pm 0,09$ mmol/L) masih berada dalam kisaran nilai referensi ($0,6-1,1$ mmol/L), sedangkan pada penelitian ini konsentrasi Mg melebihi nilai referensi. Magnesium berperan dalam perkembangan embrio. Hal ini dibuktikan dari penelitian yang dilakukan oleh An et al. (2019) pada media kultur embrio *in vitro*. Media kultur yang diberikan tambahan Mg dapat meningkatkan laju blastosis embrio *in vitro* (An et al., 2019). Namun, jika konsentrasi Mg terlalu tinggi maka dapat menurunkan tingkat blastosis (An et al., 2019). Konsentrasi magnesium dalam darah tidak berkorelasi dengan TE, embrio LT, DG, UF, dan embrio blastosis.

Rataan konsentrasi Ca darah sapi donor PO pada Ho dan H2o tidak berbeda nyata secara statistik ($p > 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan selama produksi embrio tidak mempengaruhi konsentrasi Ca dalam darah sapi donor PO. Kalsium memiliki peran penting pada tahap awal pembelahan embrio sehingga Ca mutlak harus terpenuhi selama proses produksi embrio (Whitaker, 2006). Rataan konsentrasi Ca sapi donor PO saat panen embrio lebih rendah dibandingkan nilai referensi yaitu $9,7-12,4$ mg/dL (Radostits et al., 2007; Kessel, 2015). Konsentrasi Ca dalam tubuh diatur oleh hormon paratiroid (PTH), kalsitonin, dan $1,25$ -dihidroksikolekalsiferol atau $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (calcitriol) (Wilkens et al., 2020).

Pengaturan Ca tersebut dilakukan dengan mengatur penyerapan Ca dari saluran pencernaan, mempengaruhi reabsorpsi dan deposit Ca pada tulang, dan mengatur ekskresi atau reabsorpsi Ca pada tubulus distal nefron (Wilkens et al., 2020). Konsentrasi Ca yang rendah dapat disebabkan karena kegagalan absorpsi Ca dalam saluran pencernaan, kehilangan Ca yang sangat besar melalui urin dan susu, serta ketidakmampuan mobilisasi Ca dari tulang (Ashmawy, 2015). Kegagalan absorpsi Ca dalam saluran pencernaan dan reabsorpsi Ca dalam ginjal dapat disebabkan oleh konsentrasi P yang tinggi dalam pakan (Goff, 2008).

Konsentrasi Ca dalam darah tidak berkorelasi dengan TE, embrio LT, DG, UF, embrio blastosis, dan embrio morula. Hasil ini sejalan dengan penelitian Chorfi et al. (2007). Hasil berbeda disampaikan oleh Boni et al. (2007) dan Swann (2018). Kalsium memainkan peranan penting dalam aktivasi oosit saat fertilisasi melalui mekanisme osilasi Ca^{2+} (Boni et al., 2007; Swann, 2018). Kegagalan fertilisasi yang terlihat dari jumlah oosit UF walaupun telah dilakukan injeksi sperma intra sitoplasma pada manusia terjadi karena kegagalan aktivasi oosit (Swann, 2018). Melalui mekanisme aktivasi oosit tersebut diduga

konsentrasi Ca yang rendah berhubungan dengan perolehan embrio LT atau oosit UF walaupun secara statistik tidak signifikan ($p > 0,05$). Walaupun hasil penelitian menunjukkan tidak adanya hubungan antara konsentrasi Ca dengan jumlah perolehan embrio, rendahnya konsentrasi Ca pada sapi donor PO diduga disebabkan karena penggunaan Ca yang tinggi pada sapi donor selama produksi embrio untuk aktivasi oosit (Boni et al., 2007). Sapi donor perlu diberikan tambahan Ca dalam pakan yang mencukupi kebutuhan Ca tubuh terutama saat dilakukan program produksi embrio.

Mineral P berperan dalam berbagai reaksi biokimia tubuh. Fosfor terdapat didalam ATP yang merupakan sumber energi untuk proses metabolisme (Ahuja & Parmar, 2017). Perlakuan selama produksi embrio tidak mempengaruhi konsentrasi P pada sapi donor PO. Rataan konsentrasi P sapi donor PO lebih tinggi dibandingkan nilai referensi yaitu $5,6-6,5$ mg/dL (Radostits et al., 2007; Kessel, 2015). Konsentrasi P yang tinggi pada sapi donor PO menunjukkan bahwa jumlah mineral P dalam pakan tinggi (Samanc et al., 2011). Konsentrasi P dalam darah berhubungan langsung dengan jumlah mineral tersebut dalam pakan (Samanc et al., 2011).

Pakan dengan kandungan P yang tinggi akan menurunkan produksi calcitriol melalui penghambatan enzim renal 25 -hidroksivitamin D 1α -hidroksilase (Goff, 2000; Goff, 2008). Produksi calcitriol yang terhambat menyebabkan absorpsi Ca dalam saluran pencernaan dan reabsorpsi Ca pada ginjal terganggu. Konsentrasi P yang tinggi dapat memperkecil rasio Ca:P. Perubahan rasio Ca:P dapat menghambat sekresi hormon reproduksi pada kelenjar pituitari sehingga mempengaruhi fungsi ovarium (Yasohtai, 2014). Kondisi Ca yang rendah dalam darah meningkatkan konsentrasi PTH sebagai mekanisme homeostasis Ca (Wilkens et al., 2020). Hormon paratiroid selanjutnya akan menyebabkan resorpsi Ca pada tulang. Selain Ca, mineral tulang yang lain juga ikut teresorpsi termasuk P (Goff, 2000). Fosfor ditemukan 80% di dalam tulang dan gigi sehingga mineral P yang ikut teresorpsi karena aksi PTH ikut meningkat. Hal ini dapat menyebabkan konsentrasi P darah meningkat selain karena kandungan P dalam pakan yang tinggi (Goff, 2000). Konsentrasi fosfor dalam darah tidak berkorelasi dengan TE, embrio LT, DG, UF, embrio blastosis, dan embrio morula. Hasil ini sejalan dengan penelitian Chorfi et al. (2007).

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa perlakuan selama produksi embrio tidak mempengaruhi konsentrasi Ca, P, dan Mg pada sapi donor PO. Konsentrasi Mg nyata berkorelasi negatif dengan embrio morula, tetapi tidak berkorelasi

dengan TE, embrio LT, DG, oosit UF, dan embrio blastosis. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi Ca dan P dengan kualitas dan kuantitas embrio. Pentingnya menjaga keseimbangan konsentrasi mineral dapat menjadi kunci keberhasilan produksi embrio.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Badan SDM Pertanian dan Balai Embrio Ternak yang telah memberikan bantuan dana penelitian dan izin untuk melakukan penelitian ini.

"Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini".

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani T, Hellyward J, Purwanti E, Jaswandi, Lyzmanto F, Mangku M. 2018. Manipulasi Embrio Pada Sapi. Andalas University Press. Padang.
- Ahuja A, Parmar D. 2017. Role of minerals in reproductive health of dairy cattle: a review. *International Journal of Livestock Research* 7(10): 16–26. <http://dx.doi.org/10.5455/ijlr.20170806042724>.
- An L, Marjani SI, Wang Z, Liu Z, Liu R, Xue F, Xu J, Nedambale TL, Yang L, Tian XC, et al. 2019. Magnesium is a critical element for competent development of bovine embryos. *Theriogenology* 140: 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.08.015>.
- Ashmawy NA. 2015. Blood metabolic profile and certain hormones concentration in Egyptian buffalo during different physiological states. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 10(6): 271–280.
- Bindari YR, Shrestha S, Shrestha N, Gaire TN. 2013. Effects of nutrition on reproduction – a review. *Advances in applied Science Research* 4(1): 421–429. <https://www.imedpub.com/articles/effects-of-nutrition-on-reproduction-a-review.pdf>.
- Bo GA, Cedero A, Mapletoft RJ. 2019. Strategies to increment in vivo and in vitro embryo production and transfer in cattle. *Animal Reproduction* 16(3): 411–422.
- Bo GA, Mapletoft RJ. 2020. Superstimulation of ovarian follicles in cattle: gonadotropin treatment protocols and FSH profiles. *Theriogenology* 150: 353–359. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.001>.
- Boland MP. 2003. Trace minerals in production and reproduction in dairy cows. *Advanced Dairy Science and Technology* 15: 319–330. <https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/wcdsarchive/Archive/2003/Manuscripts/Chapter%2025%20Boland%20.pdf>.
- Boni R, Gualtieri R, Talevi R, Tosti E. 2007. Calcium and other ion dynamics during gamete maturation and fertilization. *Theriogenology* 68S: S156–S164.
- Cates MS, Teodoro ML, Phillips Jr GN. 2002. Molecular mechanisms of calcium and magnesium binding to parvalbumin. *Biophysical Journal* 82(3): 1133–1146.
- Chorfi Y, Lanevski A, Dupras R, Girard V, Tremblay A. 2007. Serum biochemical parameters and embryo production during superovulatory treatment in dairy cattle. *Research in Veterinary Sciences* 83: 318–321.
- Faizah HMS, Richard F, Meena P, Stanley KL, Amriana H, Alhassany A, Yadav SB, Marie L, Crouch B, Saipul BAR. 2018. Multiple Ovulation Embryo Transfer (MOET) In Dairy Cattle in Gatton. *Malaysian Journal of Veterinary Research* 9: 109–116. http://www.dvs.gov.my/dvs/resources/user_16/MJVR%20Vol9%20No%202/MJVR-V9N2-p109-116.pdf.
- Fernandez-Sanchez FIF, Lopez MB, Arias Q, Gonzalez JJB, Martinez AIP, Bello DM, Herradon PJG, Marin CCP. 2014. Use of Endometrial cytology and metabolic profiles for selection of embryo donor cows. *Spanish Journal of Agricultural Research* 12(3): 664–671. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2014123-4948>.
- Goff JP. 2000. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 16(2): 319–337.
- Goff JP. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal* 176: 50–57.
- Herren R. 2000. *The Science of Animal Agriculture*. 2nd Ed. Delmar Thomson Learning. Albany.
- [IETS] International Embryo Transfer Society. 2010. *Manual of The International Embryo Transfer Society*. 4th Ed. Stringfellow DA, Givens MD, editor. International Embryo Transfer Society. Champaign.
- Imron M, Supriatna I, Amrozi, Setiadi MA. 2016. Respons superovulasi sapi Peranakan Ongole terhadap penyuntikan tunggal Follicle Stimulating Hormone ke dalam ruang epidural. *Jurnal Veteriner* 17(1): 78–87.
- Kessel A. 2015. Bovine haematology and biochemistry. Di dalam: Cockcroft PD, editor. *Bovine Medicine*. Ed ke-3. J Wiley. West Sussex. p146–160. <http://doi.org/10.1002/9781118948538.ch16>.
- Mapletoft RJ, Singh J, Guerra AG, Adams GP. 2015. In vitro and in vivo embryo production in cattle superstimulated with FSH for 7 days. *Animal Reproduction* 12(3): 383–388. <https://www.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/wcdsarchive/Archive/2003/Manuscripts/Chapter%2025%20Boland%20.pdf>.

- researchgate.net/publication/281438940_In_vitro_and_in_vivo_embryo_production_in_cattle_superstimulated_with_FSH_for_7_days/link/55e6ef4608aed3ee06b5642a/download. Download 21 September 2020.
- Medreseh-Ghahfarokhi S, Dehghani-Samani A, Dehghani-Samani A. 2020. Blood metabolic profile test at dairy cattle farms as useful tools for animal health management. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 23(1): 1–20.
- Mikkola M, Hasler JF, Taponen J. 2020. Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle. *Reproduction, Fertility and Development* 32: 104–124. <https://doi.org/10.1071/RD19279>. Download: 21 September 2020.
- Overton TR, McArt JAA, Nydam DV. 2017. A 100-year review: metabolic health indicators and management of dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 100(12): 10398–10417.
- Phillips Pe, Jahnke MM. 2016. Embryo transfer (techniques, donors, and recipients). *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 32: 365–385. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.008>.
- Pilchova I, Klacanova K, Tatarkova Z, Kaplan P, Racay P. 2017. The involvement of Mg²⁺ in regulation of cellular and mitochondrial functions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017:6797460. <https://doi.org/10.1155/2017/6797460>. Download: 16 Maret 2016.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats, and horses*. Ed ke-10. Elsevier Health Sciences. Philadelphia.
- Samanc H, Krovski D, Stojic V, Stojanovic D, Vujanac I, Prodanovic R, Bojkovic-Kovacevic S. 2011. Application of the metabolic profile test in the prediction and diagnosis of fatty liver in Holsteins cows. *Acta Veterinaria* 61(5–6): 543–553.
- Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC. 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of Dairy Science* 85: 2803–2812. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74367-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74367-1).
- Sartori R, Monteiro Jr PLJ, Wiltbank MC. 2016. Endocrine and metabolic differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* cows and implication for reproductive management. *Animal Reproduction* 13(3): 168–181. [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v13/v13n3/p168-181\(AR868\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v13/v13n3/p168-181(AR868).pdf).
- Sartori R, Spies C, Wiltbank MC. 2017. Effect of dry matter and energy intake on quality of oocytes and embryos in ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 29: 58–65. <http://dx.doi.org/10.1071/RD16395>.
- Schwaller B. 2009. The continuing disappearance of “pure” Ca²⁺ buffers. *Cellular and Molecular Life Sciences* 66(2): 275–300.
- Singh G, Singh R, Randhawa SNS. 2020. Metabolic profiling of dairy cattle during transition periode: a review. *Journal of Pharmaceutical Innovation* 9(7): 246–252. <https://doi.org/10.22271/tpi.2020.v9.i7Se.4989>.
- Swann K. 2018. The role of Ca²⁺ in oocyte activation during in vitro fertilization: insights into potential therapies for rescuing failed fertilization. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* 1865: 1830–1837. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.05.003>.
- Whitaker M. 2006. Calcium at fertilization and in early development. *Physiological Reviews* 86(1): 25–88.
- Wilkins MR, Nelson Cd, Hernandez LL, McArt JAA. 2020. Symposium review: transition cow calcium homeostasis-health effects of hypocalcemia and strategies for prevention. *Journal of Dairy Science* 103: 2909–2927. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17268>.
- Yasohtai R. 2014. Review Article: Importance Of Minerals On Reproduction In Dairy Cattle. *International Journal of Environmental Science and Technology* 3(6): 2051–2057. <https://www.ijset.net/journal/446.pdf>.