

Evaluasi Pengaruh Level Kandungan Protein dalam Pakan terhadap Respons Super Ovulasi: Kajian Meta-Analisis

Evaluation of Protein Level Effect in Feed on Super Ovulation Response: A Meta-Analysis Study

O Ponsania¹, H A Sukria^{1*}, I Wijayanti¹, S T Risyahadi¹, M I Shiddieqy²

Corresponding email:
hasukria@apps.ipb.ac.id,

¹Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University, Jl. Agatis Kampus IPB University, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

²Pusat Riset Peternakan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jl Raya Jakarta-Bogor, Bogor 16915

Submitted: April 10, 2023

Accepted : July 26, 2023

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate and analyze the effect of the level of protein content in feed on the superovulation response in cattle through a meta-analysis study. The meta-analysis study was performed with OpenMEE application and used scientific articles from international journals according to the topic of the study. The superovulation parameters used in this study were the number of corpus luteum, the number of collected embryos, the number of viable embryos, degenerated embryos, unfertilized embryos, and the proportion of viable embryos. The results of a meta-analysis of 37 research results in 20 scientific articles showed feed protein level had a significant effect on increasing the number of corpus luteum, collected embryos, viable embryos, and the proportion of viable embryos. Meanwhile, the feed protein level had no significant effect on degenerated embryos and unfertilized ovum. It could be concluded that an increase in feed protein content had a positive effect on several reproductive quality parameters.

Key words: cow, embryo, feed, protein, reproduction, superovulation

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi dan menganalisis pengaruh tingkat kandungan protein dalam pakan terhadap respon super ovulasi pada sapi dengan kajian meta-analisis. Kajian meta-analisis dilakukan dengan OpenMEE dan menggunakan artikel ilmiah dari jurnal internasional sesuai topik kajian. Peubah super ovulasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jumlah *corpus luteum*, jumlah embrio terkoleksi, jumlah embrio layak transfer, jumlah embrio tidak layak transfer, jumlah embrio tidak dibuahi, dan proporsi embrio layak transfer. Hasil meta-analisis terhadap 37 hasil penelitian dalam 20 artikel ilmiah menunjukkan kadar protein pakan berpengaruh nyata terhadap peningkatan jumlah *corpus luteum*, jumlah embrio terkoleksi, jumlah embrio layak transfer, dan proporsi embrio layak transfer. Sementara itu, kadar protein pakan tidak berpengaruh nyata terhadap embrio tidak layak transfer dan embrio yang tidak dibuahi. Simpulan hasil studi meta-analisis terlihat bahwa peningkatan kandungan protein pakan berpengaruh positif terhadap beberapa parameter kualitas reproduksi.

Kata kunci: embrio, pakan, protein, reproduksi, sapi, superovulasi

PENDAHULUAN

Kandungan nutrisi mempengaruhi berbagai aspek reproduksi termasuk datangnya pubertas, periode non estrus pasca beranak, gametogenesis, laju konsepsi, mortalitas embrio, pertumbuhan prakelahiran, dan tingkah laku seksual. Kandungan nutrisi yang tidak memadai akan berujung pada penurunan jumlah anak yang dihasilkan. Dari semua faktor nutrisi, konsumsi energi dan protein dilaporkan memiliki dampak terbesar pada kesuburan pada individu ternak sapi tunggal dan super ovulasi hewan. Pengaruh konsumsi protein terhadap reproduksi sapi telah diteliti sejak lama, serta diteliti pengaruhnya terhadap pedet yang dihasilkan (Rodrigues et al. 2021) dan pengukuran urea darah masih digunakan sebagai variabel parsial untuk menilai hubungan antara status metabolisme dan proses reproduksi (Raboisson et al. 2017).

Nitrogen urea darah tinggi sebagai konsekuensi dari kelebihan pakan protein memiliki korelasi dengan penurunan kesuburan pada sapi (Raboisson et al. 2017), dan banyak penelitian telah berfokus pada mekanisme di balik efek ini. Salah satu tempat yang mungkin terjadi di mana kelebihan protein kasar makanan menurunkan kesuburan adalah gangguan perkembangan embrio, yang disebabkan oleh perubahan fisiologi uterus, lingkungan oviduktal, atau kualitas oosit.

Efek dari faktor nutrisi seperti konsumsi energi, level protein, dan suplementasi asam lemak, vitamin dan mineral pada produksi embrio telah dipelajari secara ekstensif. Dari semua faktor nutrisi, konsumsi energi dan protein dilaporkan memiliki dampak terbesar pada kesuburan pada individu ternak sapi tunggal dan superovulasi hewan. Kekurangan pakan secara langsung akan berpengaruh pada kurangnya protein, sedangkan protein berfungsi untuk memproduksi hormon yang ada di dalam tubuh termasuk hormon reproduksi. Protein yang kurang menyebabkan kurangnya hormon reproduksi sehingga akan menyebabkan gangguan reproduksi seperti: *silent heat* dan gangguan ovarium (Pranata et al. 2016). Protein dalam pakan berperan dalam produksi hormon dan perkembangan folikel ovarium yang diperlukan dalam proses superovulasi. Kadar protein yang tepat dalam pakan dapat mempengaruhi kualitas sel telur yang dihasilkan selama superovulasi. Protein yang cukup membantu dalam sintesis DNA dan pembelahan sel yang tepat dalam folikel ovarium, yang pada gilirannya dapat meningkatkan kualitas dan jumlah sel telur yang dihasilkan (Pranata et al. 2016).

Tinggi asupan protein atau bentuk protein yang lebih terdegradasi dalam pakan yang mengakibatkan konsentrasi darah urea yang tinggi telah dikaitkan dengan gangguan kesuburan pada sapi yang tidak mengalami superovulasi (Machado et al. 2020). Demikian juga, sapi superovulasi laktasi yang diberi rumen berlebihan protein terdegradasi atau menunjukkan konsentrasi serum urea yang tinggi menunjukkan penurunan persentase oosit yang dibuahi

dan embrio yang dapat dipindahkan (Machado et al. 2020).

Pemberian pakan protein tinggi diharapkan dapat meningkatkan jumlah dan kualitas embrio yang dihasilkan. Beberapa jenis pakan tersebut adalah bungkil kedelai (*soybean meal*), alfalfa (*alfalfa hay*), silase jagung, dan tepung jagung (*corn gluten meal*) yang tinggi kandungan protein dan asam amino yang seimbang (Kahyani et al. 2019). Super ovulasi merupakan suatu prosedur untuk memberikan perlakuan pada ternak betina agar terjadi peningkatan jumlah ovulasi. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi dan menganalisis pengaruh level protein pada pakan terhadap keberhasilan super ovulasi pada sapi dengan menggunakan metode meta-analisis.

METODE

Materi Penelitian

Sumber artikel yang diperoleh dari indeks Scopus sebanyak 62 artikel dan Semantic Scholar sebanyak 184 artikel, sehingga total hasil pencarian artikel sebanyak 246 artikel. Setelah dilakukan pengecekan terhadap duplikasi dan relevansi, maka terpilih 190 artikel. Evaluasi terhadap metode dari masing-masing artikel menghasilkan 56 artikel yang layak analisis. Pengecekan terhadap kriteria analisis, diperoleh 20 artikel untuk meta-analisis.

Metode Penelitian

Pembuatan *database* disusun dari beberapa artikel ilmiah yang telah dipublikasi dalam jurnal. Pengumpulan data dilakukan dengan mencari artikel ilmiah dalam jurnal dari yang terindeks oleh *Scopus*, *Web of Science*, *PubMed* dan *Google Scholar* tentang kajian pemberian level protein dalam pakan terhadap respon super ovulasi pada sapi. Tahapan dalam analisis adalah identifikasi (*identification*), penyeleksian (*screening*), mengecek kesesuaian (*eligibility*), dan penetapan artikel ilmiah terpilih (*included*). Artikel ilmiah terpilih yang digunakan dalam penelitian meta-analisis disajikan pada Tabel 1.

Analisis Data

Analisis diawali dengan tabulasi yang dilakukan melalui penyeragaman satuan dan pembobotan data berupa peubah reproduksi yang digunakan dalam studi meta-analisis.

Forest Plot digunakan dalam meta-analisis untuk memvisualisasikan dan menyajikan hasil dari studi yang diikutsertakan dalam analisis tersebut. Forest Plot membantu dalam mengidentifikasi heterogenitas atau variasi antara hasil studi yang berbeda. Jika terdapat variasi yang besar antara hasil studi, Forest Plot akan menunjukkan kotak hitam yang lebih tersebar dan interval kepercayaan yang lebih lebar.

Tabel 1 Artikel ilmiah terpilih pada penelitian meta-analisis pengaruh level protein terhadap parameter kualitas reproduksi

Referensi	Tahun	Lokasi	Klasifikasi Ternak		Peubah*	Level Protein (%) **	
			Jenis	n		C	T
Mikkola et al.	2005	Finlandia	Ayrshire	37	CL, OE, VE, DE, UF, PR	14	18
Pranata et al.	2016	Indonesia	Simmental	20	CL, OE, VE, DE, UF, PR	16	18
Hardiyanto et al.	2005	Indonesia	Simmental	31	OE, VE, DE, UF	15	16; 17;
			Limousin	33			18; 20
Hutagaol et al.	2016	Indonesia	Limousin	18	OE, VE, DE, UF, PR	16	18; 20
Garcia-Bojalil et al.	1994	USA	Holstein	22	CL, DE, VE, UF	12.3	27,4
Siddiqui et al.	2002	Bangladesh	Zebu	10	CL, OE, VE	8	11
Darlihan et al.	2021	Indonesia	Belgian Blue	24	CL, OE, VE, DE, UF, PR	16	17,6
Kang et al	2020	Korea	Hanwoo	38	OE, VE, DE, UF, PR	16.2	11,75; 23,63
Cushman et al.	2000	USA	Angus	35	OE, VE, PR	14	14
Affandhy et al.	2021	Indonesia	Crossbred	24	VE	10	12
Silva et al.	2020	Brazil	Nellore	40	OE, VE, PR	10	12
Kraisoon et al.	2018	Thailand	Holstein	42	OE, VE, PR	16.4	16,5; 16,6
Bottini-Luzardo et al.	2016	Mexico	Holstein	24	CL	11.9	19,8
Eborn et al.	2013	USA	Angus	24	OE	11.81	12,97
Petit & Twarigamungu	2006	Canada	Holstein	44	OE, VE	16.6	17,45; 17,65
Albuquerque et al.	2012	Brazil	Nellore	32	CL, OE, DE, UF	9.09	9,10; 9,44
Thangavelu et al.	2007	Canada	Holstein	24	CL, OE, VE, PR	18.10	18,10
Bader et al.	2005	USA	Beef Cattle	40	OE, VE, DE, UF, PR	35.9	41,8
Coban & Erdogan	2021	Turkey	Holstein	20	CL, OE, VE, DE, UF, PR	15.10	15,10
Guardieiro et al.	2016	Brazil	Zebu	80	CL, OE, VE, DE, UF, PR	15	15,4

* CL=Jumlah *corpus luteum*, OE=Jumlah embrio terkoleksi, VE=Jumlah embrio layak transfer, DE=Jumlah embrio tidak layak transfer, UF= jumlah embrio tidak dibuahi, PR=Proporsi embrio layak transfer.

** C=Kontrol, T=Perlakuan

Data yang diperoleh melalui database dari Microsoft Excel 2019 dianalisis dengan *OpenMEE*, yaitu perangkat lunak ini dirancang untuk membantu para peneliti dalam menggabungkan data dari berbagai studi ilmiah yang relevan, melakukan analisis statistik gabungan, dan menyajikan hasilnya dengan menggunakan berbagai metode dan teknik statistik.

Nilai *effect size* yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan *Hedge's d*. Ukuran efek *Hedge's d* untuk mengukur peubah antara kandungan level protein dan responnya terhadap superovulasi sapi. Metode ini dipilih karena kemampuannya untuk menghitung ukuran efek terlepas dari heterogenitas ukuran sampel, unit pengukuran, dan hasil uji statistik. Ukuran efek merupakan estimasi *standardized mean difference* dari studi-studi yang menggunakan dua kelompok independen yaitu kelompok kontrol dan eksperimen

HASIL DAN PEMBAHASAN

Meta-Analisis dan Statistika Deskriptif

Level protein pakan memberikan pengaruh signifikan terhadap peningkatan jumlah *corpus luteum*, jumlah embrio terkoleksi, jumlah embrio layak transfer, dan proporsi embrio layak transfer. Sementara, level protein pakan tidak berpengaruh pada jumlah embrio tidak layak transfer dan jumlah embrio tidak dibuahi (Tabel 2). Dalam Tabel 2 tersebut, r^2 menunjukkan ukuran variabilitas antara hasil studi individual yang disebabkan oleh heterogenitas, yaitu variasi yang tidak dapat dijelaskan oleh faktor-faktor acak. *Q* adalah ukuran statistik yang digunakan untuk menguji hipotesis nol bahwa tidak ada heterogenitas antara hasil studi individual. Jika nilai *Q-statistics* signifikan (*p-value* rendah), maka hipotesis nol ditolak dan menunjukkan adanya heterogenitas yang signifikan. *Heterogeneity p-value (Het.p-value)* adalah nilai *p* yang terkait dengan uji heterogenitas, yang mengindikasikan apakah terdapat

Tabel 2 Meta-analisis efek level kandungan protein dalam pakan terhadap parameter kualitas reproduksi sapi

Aspek	Peubah					
	CL	OE	VE	DE	UF	PR (%)
n	12	32	33	21	21	18
Estimate	1,15	1,23	1,30	0,54	-0,26	1,18
Lower bound	0,45	0,68	0,63	-0,33	-1,19	0,41
Upper bound	1,84	1,77	1,97	1,41	0,67	1,96
Standard Error	0,36	0,28	0,34	0,44	0,47	0,40
p-value**	0,001	<0,001	<0,001	0,22	0,58	0,003
τ^2	1,18	1,92	3,43	3,38	4,24	2,55
Q	79,19	384,99	570,26	251,81	320,14	276,61
Het.p-value	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
I ²	86,11	91,95	94,39	92,46	93,75	93,85

*CL=Jumlah *corpus luteum*, OE=Jumlah embrio terkoleksi, VE=Jumlah embrio layak transfer, DE=Jumlah embrio tidak layak transfer, UF= jumlah embrio tidak dibuahi, PR=Proporsi embrio layak transfer. **Signifikan apabila p-value < 0,05 berdasarkan uji Tukey Post-Hoc test

heterogenitas yang signifikan antara studi-studi dalam meta-analisis. Nilai I^2 (*I-squared*) yang tinggi menunjukkan tingkat heterogenitas yang tinggi antara hasil studi individual, sedangkan nilai *I-squared* yang rendah menunjukkan tingkat heterogenitas yang rendah. Nilai *I-squared* juga memberikan perkiraan persentase variasi antara studi-studi yang disebabkan oleh faktor-faktor lain selain acak. Berdasarkan uji signifikansi tersebut, peningkatan kandungan protein pakan berpengaruh positif terhadap parameter kualitas reproduksi. Statistika deskriptif dari masing-masing peubah dapat dilihat pada Tabel 3.

Jumlah Corpus Luteum

Super ovulasi bertujuan untuk menghasilkan ovum dalam jumlah yang banyak melebihi kemampuan alami seekor sapi. Jumlah *corpus luteum* yang terbentuk setelah penyuntikan hormon FSH merupakan indikator keberhasilan super ovulasi karena CL dijadikan acuan

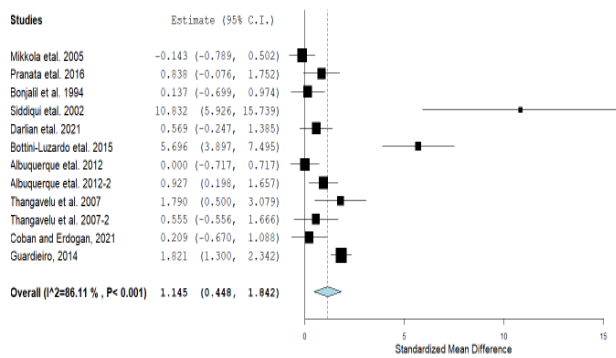
untuk mendeteksi jumlah ovum yang diovolasikan seekor sapi betina (Abdelatty et al. 2018). Berdasarkan hasil meta-analisis pada 12 studi mengenai pengaruh level protein pakan terhadap jumlah *corpus luteum* menunjukkan, peningkatan kandungan protein dalam pakan berpengaruh secara signifikan terhadap jumlah CL (P-value = 0,001). Hasil analisis menggunakan *funnel plot* menunjukkan titik-titik studi tidak simetris antara kuadran kiri dan kanan di area segitiga. Hal ini menunjukkan adanya bias publikasi dalam parameter jumlah CL. Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap jumlah CL disajikan di Gambar 1.

Penelitian Mikkola et al. (2020) menunjukkan, meskipun peningkatan level protein tidak mempengaruhi respons super ovulasi, namun peningkatan moderat jangka panjang dalam kandungan protein kasar pakan sapi dara mungkin menguntungkan terhadap kualitas embrio.

Tabel 3 Statistika deksriptif dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap parameter kualitas reproduksi sapi

Aspek	Peubah*					
	CL	OE	VE	DE	UF	PR (%)
<i>Nilai Min.</i>						
Kontrol	1	0	0	0	0,27	39,56
Perlakuan	7	3	0	0	0,92	42,42
<i>Nilai Maks.</i>						
Kontrol	16,7	55	37	56	15	70,07
Perlakuan	22,6	245	79	12	33	90,63
<i>Nilai Mean</i>						
Kontrol	10,91	21,61	5,99	4,87	4,52	57,22
Perlakuan	13,24	37,97	9,79	2,88	4,6	64,64
<i>Nilai SD</i>						
Kontrol	4,51	17,73	7,64	11,79	3,98	10,6
Perlakuan	4,29	56,37	14,56	2,69	6,91	12,98

*CL=Jumlah *corpus luteum*, OE=Jumlah embrio terkoleksi, VE=Jumlah embrio layak transfer, DE=Jumlah embrio tidak layak transfer, UF=Jumlah embrio tidak dibuahi, PR=Proporsi embrio layak transfer.



Gambar 1 Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap jumlah *corpus luteum*. Kotak hitam menunjukkan *standardized mean difference study* dengan interval kepercayaannya (garis horizontal).

Pranata *et al.* (2016) menyebutkan, induk yang memperoleh pakan dengan kadar protein tinggi akan memperlihatkan peningkatan kadar nitrogen urea darah sehingga akan menyebabkan perubahan pH uterus dan meningkatnya sekresi PGF2 α yang berakibat pada menyusutnya CL.

Albuquerque (2012) menjelaskan, proporsi biji-bijian sereal yang tinggi dalam makanan ruminansia dapat mengubah populasi mikroorganisme saluran pencernaan, kemudian mengubah glukosa melalui glukogenesis dan meningkatkan kadar insulin sanguinis untuk merangsang proliferasi dan diferensiasi sel granulosa dan produksi progesteron.

Mekanisme pemanfaatan protein di dalam tubuh sapi dipengaruhi oleh ketersediaan dan keseimbangan asam amino. Hal ini disebabkan peran asam amino yang sangat penting untuk sintesis protein, yang esensial untuk pertumbuhan dan pembelahan sel selama perkembangan embrio. Ketidakseimbangan atau kekurangan asam amino dapat menyebabkan perkembangan embrio yang suboptimal, yang pada akhirnya dapat memengaruhi kualitas embrio (Wu *et al.* 2014). Misalnya, kekurangan asam amino tertentu seperti metionin atau lisin telah terbukti menyebabkan penurunan perkembangan embrio dan penurunan kualitas embrio pada sapi (Wu *et al.* 2014).

Asam amino merupakan komponen penting dalam pakan sapi dan keseimbangan asam amino dapat memengaruhi kualitas embrio sapi (Wu *et al.* 2014). Selain itu, mineral seperti seng, tembaga, dan selenium, yang penting untuk sintesis DNA, pembelahan sel, dan perkembangan sistem saraf, juga dapat mempengaruhi perkembangan dan kualitas embrio. Kekurangan mineral-mineral ini dapat menyebabkan kematian embrio, pengurangan perkembangan embrio, dan penurunan kualitas embrio pada sapi. Demikian pula, vitamin seperti vitamin E dan vitamin A memainkan peran penting dalam perkembangan embrio dan dapat

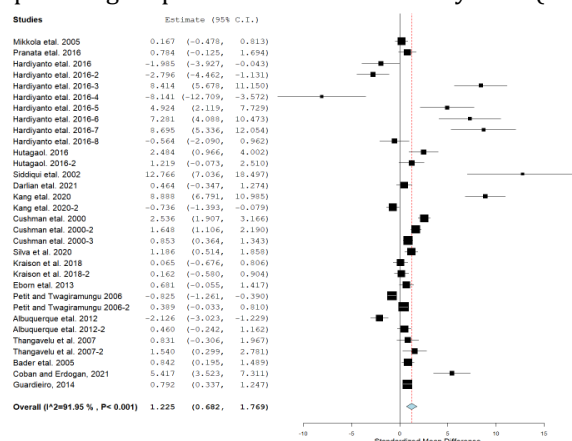
memengaruhi kualitas embrio (Wu *et al.* 2014). Kurangnya asupan vitamin ini dapat mengakibatkan pengurangan perkembangan embrio dan penurunan kualitas embrio.

Jumlah Embrio Terkoleksi

Pengaruh perbedaan level protein pakan terhadap jumlah embrio terkoleksi terdapat pada 32 studi pada 2005 hingga 2021 (Gambar 2). Analisis *funnel plot* menunjukkan titik-titik studi simetris antara kuadran kiri dan kanan di area segitiga. Hal ini menunjukkan tidak adanya bias publikasi dalam parameter jumlah embrio terkoleksi. Jumlah embrio terkoleksi mengalami peningkatan secara signifikan (P-value = <0,001) seiring penambahan level protein pada pakan.

Pranata *et al.* (2016) menyebutkan bahwa pengaruh pemberian pakan konsentrat dengan kadar protein 18% menghasilkan rataan jumlah embrio yang lebih optimal yaitu sebanyak 12,9 \pm 5,70, dibandingkan dengan pemberian pakan konsentrat protein 16,88% yang memiliki rataan jumlah embrio sebanyak 8,9 \pm 3,9. Kandungan protein yang memadai dalam pakan dapat memberikan sumber daya yang cukup untuk sintesis hormon reproduksi dan perkembangan folikel ovarium. Dengan demikian, peningkatan protein pakan dapat meningkatkan pertumbuhan dan kualitas folikel ovarium, yang pada akhirnya dapat meningkatkan jumlah embrio yang dikoleksi (Wu *et al.* 2014).

Abdelatty *et al.* (2018) menyebutkan, manajemen pemberian pakan sangat berperan penting dalam produksi embrio karena sapi dengan asupan energi berkurang memiliki folikel dominan lebih kecil dan siklus lebih dari tiga gelombang, dibandingkan dengan sapi pada asupan pakan yang lebih tinggi, sehingga pengaruh nutrisi terhadap efisiensi reproduksi adalah pada tingkat produksi embrio Abdelatty *et al.* (2018).

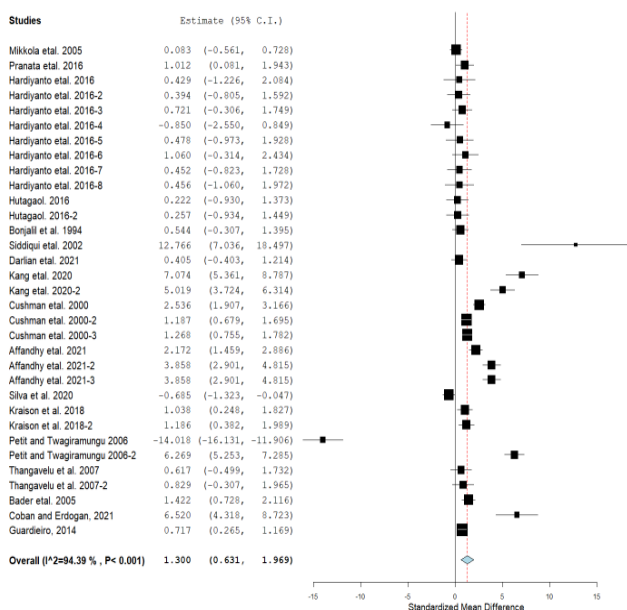


Gambar 2 Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap jumlah embrio terkoleksi. Kotak hitam menunjukkan *standardized mean difference study* dengan interval kepercayaannya (garis horizontal).

Yendraliza (2013) menyatakan bahwa penambahan konsentrat kaya akan protein dan karbohidrat serta campuran mineral akan menyebabkan masak kelamin dan kebuntingan lebih cepat dibandingkan sapi tidak mendapatkan tambahan energi. Protein dalam pakan akan dicerna dan diubah menjadi protein yang beredar di dalam darah (Kaneko et al. 2008). Menurut McGeady et al. (2013), apabila pakan yang diberikan memiliki kualitas yang rendah maka perolehan embrio dapat menurun karena saat sapi berumur muda diharapkan dapat memproduksi secara optimal.

Jumlah Embrio Layak Transfer

Level protein memberikan pengaruh signifikan terhadap jumlah embrio layak transfer (P -value = <0,001). Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap jumlah embrio layak transfer disajikan dalam Gambar 3. Dari 33 hasil studi, terdapat 17 hasil studi yang menunjukkan adanya penambahan jumlah embrio layak transfer akibat penambahan kadar protein dalam pakan. Analisis *funnel plot* menunjukkan titik-titik studi tidak simetris antara kuadran kiri dan kanan di area segitiga. Hal ini menunjukkan adanya bias publikasi dalam parameter jumlah embrio layak transfer. Hasil studi Hardiyanto et al. (2016) menunjukkan bahwa pada kadar protein pakan 17% perolehan embrio layak transfer mencapai optimum.



Gambar 3 Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap jumlah embrio layak transfer. Kotak hitam menunjukkan *standardized mean difference study* dengan interval kepercayaannya (garis horizontal).

Protein dalam pakan akan memberikan pengaruh langsung terhadap kadar protein dalam darah, karena protein dalam pakan akan dicerna dan diubah menjadi protein yang beredar di dalam darah (Kaneko et al. 2008). Menurut McGeady et al. (2013) fertilisasi merupakan proses bertemunya sel sperma dengan sel telur. Sel telur diaktivasi untuk memulai perkembangannya dan inti sel dari 2 gamet akan bersatu untuk menyempurnakan proses reproduksi seksual. Menurut Kang et al. (2020), tingkat pemberian pakan yang sesuai berpengaruh pada jumlah embrio layak transfer untuk Sapi Hanwoo. Level protein dalam pakan menghasilkan lebih banyak embrio yang dapat ditransfer. Hal serupa dilaporkan Siddiqui et al. (2002), untuk sapi dengan protein tinggi, jumlah embrio berkualitas yang dapat ditransfer juga mengalami peningkatan. Embrio yang layak transfer adalah 79,30% dari CL yang teraba (Siddiqui, et al. 2002).

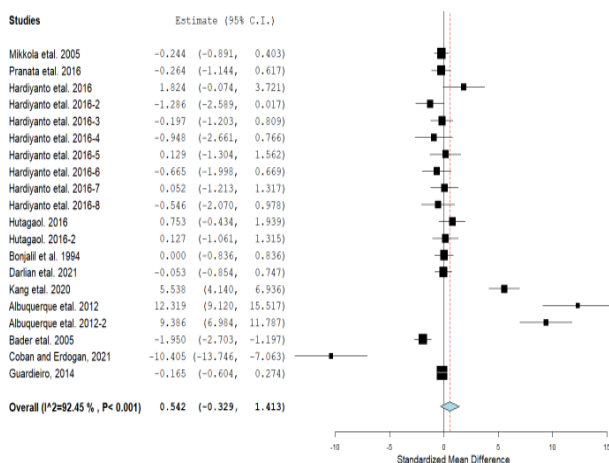
Meskipun level protein penting, namun proses sintesisnya memerlukan keseimbangan asam amino esensial, seperti glutathione (*glutathione*), yang berperan dalam melindungi sel dari kerusakan oksidatif selama perkembangan embrio (Wu et al 2014). Oleh karena itu, penting untuk memberikan sapi dengan komposisi pakan yang seimbang dalam asam amino untuk memastikan perkembangan embrio yang optimal dan embrio berkualitas tinggi. Hal ini terutama penting selama tahap awal kebuntingan ketika embrio paling rentan terhadap ketidakseimbangan dan kekurangan gizi (Wu et al. 2014). Selain itu, mineral dan vitamin juga merupakan faktor penting dalam perkembangan embrio pada sapi, misalnya mineral seperti seng (*zinc*), tembaga (*copper*), dan selenium memainkan peran penting dalam sintesis DNA, pembelahan sel, dan perkembangan sistem saraf. Kekurangan mineral ini dapat menyebabkan kematian embrio, penurunan perkembangan embrio, dan penurunan kualitas embrio pada sapi.

Protein dalam pakan memainkan peran penting dalam sintesis dan fungsi sel-sel reproduksi, termasuk oosit. Peningkatan protein pakan dapat memberikan asam amino esensial yang diperlukan untuk sintesis protein yang tepat pada oosit, yang pada gilirannya dapat meningkatkan kualitas oosit yang akan dibuahi dan berkembang menjadi embrio yang layak transfer (Wu et al. 2014).

Jumlah Embrio tidak Layak Transfer

Keberadaan embrio tidak layak transfer dikarenakan kegagalan fertilisasi dan degenerasi embrio di dalam saluran reproduksi hewan donor. Banyaknya embrio yang tidak berkembang secara normal akan berpengaruh terhadap tingginya persentase embrio yang tidak layak transfer. Faktor yang dapat menyebabkan tingginya tingkat embrio yang tidak layak transfer adalah kondisi ovum, tingkat fertilisasi, dan perkembangan embrio yang terganggu.

Penggunaan kadar protein diharapkan dapat mencegah terjadinya gangguan reproduksi sehingga dapat menurunkan tingkat embrio tidak layak transfer. Hasil meta-analisis menunjukkan level kandungan protein dalam pakan tidak memiliki pengaruh signifikan terhadap jumlah embrio tidak layak transfer (P -value = 0,22). *Forest plot* dari hasil meta-analisis tersebut ditampilkan pada Gambar 4. Analisis *funnel plot* menunjukkan titik-titik studi tidak simetris antara kuadran kiri dan kanan di area segitiga. Hal ini menunjukkan adanya bias publikasi dalam parameter jumlah embrio tidak layak transfer. Hasil studi Bonjalil *et al.* (1994) mengungkapkan, tidak semua embrio yang ditemukan selama super ovulasi dapat hidup. Embrio tidak layak transfer jumlahnya tidak ada perbedaan signifikan antara sapi dengan pakan tinggi protein dan rendah protein. Jumlah embrio tidak layak transfer yang dievaluasi menggunakan mikroskop cahaya dan dinilai berdasarkan karakteristik morfologi menunjukkan tidak ada perubahan dengan perlakuan ransum. Protein yang tidak seimbang atau berlebihan dalam pakan sapi dapat menyebabkan gangguan dalam perkembangan embrio, perubahan lingkungan reproduksi, dan ketidakseimbangan hormon yang dapat mempengaruhi kualitas embrio. Namun, studi Hardiyanto *et al.* (2016) menunjukkan, hasil perolehan embrio tidak layak transfer dengan kadar protein pakan 16% menunjukkan rata-rata hasil yang tinggi. Hal ini dimungkinkan perawatan sapi donor selama program super ovulasi telah dilakukan dengan pemeliharaan dan manajemen yang baik terutama kesehatan individu sapi.



Gambar 4 Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap jumlah embrio tak layak transfer. Kotak hitam menunjukkan *standardized mean difference study* dengan interval kepercayaannya (garis horizontal).

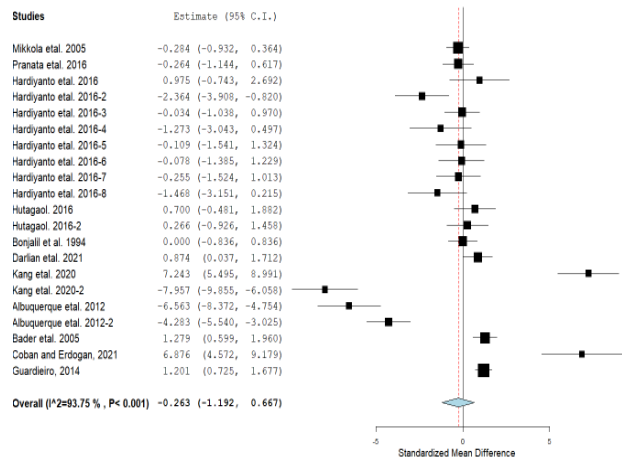
Jumlah Embrio tidak Dibuahi

Hasil meta-analisis menunjukkan level kandungan protein dalam pakan tidak memiliki pengaruh signifikan terhadap jumlah embrio tidak dibuahi (P -value = 0,58). *Forest plot* dari hasil meta-analisis tersebut ditampilkan pada Gambar 5. Analisis *funnel plot* menunjukkan titik-titik studi simetris antara kuadran kiri dan kanan di area segitiga. Hal ini menunjukkan tidak adanya bias publikasi dalam parameter jumlah embrio terkoleksi.

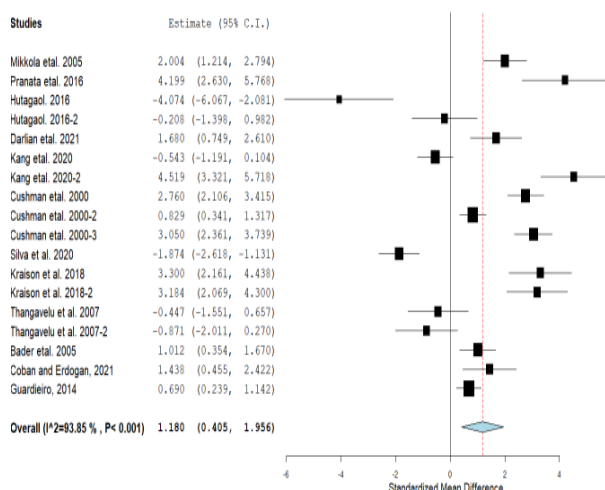
Dari 21 hasil studi mengenai embrio atau oosit yang tidak fertil, 13 hasil studi menunjukkan pengaruh yang tidak signifikan antara jumlah embrio atau oosit yang tidak dibuahi dengan level protein dalam pakan. Coban & Erdogan (2021) mencatat jumlah oosit yang tidak dibuahi tercatat 4 pada kelompok eksperimen dan 9 pada kelompok kontrol. Hasil yang diperoleh dari kedua kelompok penelitian dibandingkan dengan uji Chi-Square menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik antara kedua kelompok (Coban & Erdogan 2021). Hal yang sama dilaporkan Garcia-Bojalil *et al.* (1994), persentase embrio tidak terfertilisasi yang dihasilkan oleh sapi yang mendapat ransum dengan kandungan protein 12,3% tidak berbeda dengan yang dihasilkan oleh sapi yang mendapat ransum dengan kandungan protein 27,4%.

Proporsi Embrio Layak Transfer

Level protein memberikan pengaruh signifikan terhadap jumlah proporsi embrio layak transfer (P -value = 0,003). Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap proporsi embrio layak transfer disajikan dalam Gambar 6.



Gambar 5 Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap jumlah embrio tidak dibuahi. Kotak hitam menunjukkan *standardized mean difference study* dengan interval kepercayaannya (garis horizontal)



Gambar 6 Hasil meta-analisis dalam *forest plot* dari efek level kandungan protein dalam pakan terhadap proporsi embrio layak transfer. Kotak hitam menunjukkan *standardized mean difference study* dengan interval kepercayaannya (garis horizontal).

Analisis *funnel plot* menunjukkan titik-titik studi simetris antara kuadran kiri dan kanan di area segitiga. Hal ini menunjukkan tidak adanya bias publikasi dalam parameter jumlah embrio terkoleksi.

Dari 18 studi mengenai efek level protein terhadap proporsi embrio layak transfer, 14 studi di antaranya memberikan pengaruh yang signifikan. Jumlah dan persentase embrio normal, jumlah dan persentase embrio terbelakang atau abnormal, dan jumlah dan persentase telur tidak terfertilisasi yang dihasilkan oleh sapi yang mendapat ransum CP 12,3% tidak berbeda dengan yang dihasilkan oleh sapi yang mendapat ransum CP 27,4% (Garcia-Bojalil *et al.* 1994). Lebih lanjut Pranata *et al.* (2016) menunjukkan, hasil proporsi embrio layak transfer pada perlakuan pakan konsentrat protein 18% lebih tinggi (67,44%) dibandingkan dengan perlakuan pakan protein 16% yang memiliki persentase lebih rendah (42,22%).

Pemberian pakan protein tinggi diharapkan dapat meningkatkan jumlah dan kualitas embrio yang dihasilkan. Beberapa jenis pakan tersebut adalah bungkil kedelai (*soybean meal*), alfalfa (*alfalfa hay*), rumput berkualitas, silase jagung dan tepung jagung (*corn gluten meal*) yang tinggi kandungan protein dan asam amino yang seimbang (Kahyani *et al.* 2019). Kadar protein optimum yang protein yang memberi pengaruh signifikan pada parameter reproduksi adalah 17-19,3% (Hardiyanto *et al.* 2016).

SIMPULAN

Hasil evaluasi dan analisis menggunakan meta-analisis pada 20 artikel yang terdiri dari 37 studi menunjukkan peningkatan level protein pakan seiring dengan peningkatan jumlah *corpus luteum*, jumlah embrio terkoleksi, jumlah embrio layak transfer, dan proporsi

embrio layak transfer. Level protein tidak berpengaruh terhadap jumlah embrio tidak layak transfer dan jumlah embrio tidak dibuahi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelatty AM, Iwaniuk ME, Potts SB & Gad A. 2018. Influence of maternal nutrition and heat stress on bovine oocyte and embryo development. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*. 13(6) (Suppl): S1-S5. doi: 10.1016/j.ijvsm.2018.01.005. PMID: 30761314; PMCID: PMC6161856.
- Affandhy L, Lufti M, Firdaus F, Ratnawati D & Antari R 2021. Improving the reproductive performance of cows suffering from ovarian hypofunction using herbal supplement. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 9(6): 862-868.
- Albuquerque KP, Prado IN, Prado RM, Cavallieri F, Rigolon LP & Barbosa OR. 2012. Superovulatory response, production and quality of embryos of cows fed on linseed or canola seed supplemented diets. *Acta Scientiarum Animal Science* 34(3): 321-327.
- Arik HD, Gulsen N, Armagan H & Alatas MS. 2018. Efficacy of megasphaera eldeni inoculation in subacute ruminal acidosis in cattle. *Journal of Animal Physiology of Animal Nutrition*. 2018: 1-11.
- Bader, JF, Kojima FN, Wehrman ME, Lindsey BR, Kerley MS, & Patterson DJ. 2005. Effects of prepartum lipid supplementation on FSH superstimulation and transferable embryo recovery in multiparous beef cows. *Animal Reproduction Science* 85 (1-2): 61-70.
- Garcia-Bojalil CM, Staples CR, Thatcher WW & Drost M. 1994. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 77(9): 2537-2548. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(94)77195-2.
- Bottini-Luzardo MB & Aguilar-Pérez CF. 2016. Milk yield and blood urea nitrogen in crossbred cows grazing *Leucaena leucocephala* in a silvopastoral system in the Mexican tropics. *Tropical Grasslands-Forrajeras Tropicales* 4(3):159-167.
- Cushman RA, Hedgpeth VS, Echternkamp, SE & Britt JH. 2000. Evaluation of numbers of microscopic and macroscopic follicles in cattle selected for twinning. *Journal of Animal Science*. 78: 1564-1567.
- Coban S & Erdogan Z. 2019. The Effects of Unsaturated fatty acid supplementation to ration on superovulation performance and embryo quality of donor cows. *The Journal of Agricultural Science* 27(2): 179-186.
- Darlian F, Wahjuningsih S, Rosmayanti A, Jodiansyah S, Jalaludin LA, Setiawan Y & Susilawati T. 2021. Superovulation responses of belgian blue crossbreed cattle treated with different superovulation methods. *Jurnal Agripet* 21(2): 178-186.
- Eborn DR, Cushman RA & Echternkamp SE. 2013. Effect of postweaning diet on ovarian development and fertility in replacement beef heifers. *Journal of Animal Science*. 91:4168-4179. DOI:10.2527/jas2012-5877.
- Guardieiro MM, Machado GM, Bastos MR, Mourao GB, Carrijo LHD, Dode MAN, LeRoy JLMR & Sartori R. 2014. A diet enriched in linoleic acid compromises the cryotolerance of embryos from superovulated beef heifers. *Reproduction, Fertility and Development*. 26: 511-520, <http://dx.doi.org/10.1071/RD12403>.
- Hansen PJ. 2013. Genetic control of heat stress in dairy cattle. *Proceeding 49th Florida Dairy Production Conference*. Florida (US): Department of Animal Sciences University of Florida.
- Hardiyanto, D, Sumantri, C & Zamanti, D. 2016. Kualitas embrio pada sapi simmental dan limousin dengan kadar protein pakan berbeda (The Embryo Quality on Simmental and Limousin Cattle with Different Feed Protein Levels). *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 4(2): 319-324.
- Hutagaol E, D. 2016. *Kualitas Embrio Sapi Limousin dengan Pemberian Kadar Protein Berbeda*. Bogor (ID): Bogor Agricultural University Library

- Kahyani, A, Ghorbani, GR, Alikhani, M, Ghasemi E, Sadeghi-Sefidmazgi, A, Beauchemin, KA & Nasrollahi, SM. 2019 Performance of dairy cows fed diets with similar proportions of undigested neutral detergent fiber with wheat straw substituted for alfalfa hay, corn silage, or both. *Journal of Dairy Science*. 102(12): 10903-10915. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16869>.
- Kaneko, JJ, Harvey, JW & Bruss, ML. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th Edition, San Diego (US): Academic Press.
- Kang SS, Kim UH, Han MH & Cho SR. 2020. Nutrient requirements in Hanwoo cows with artificial insemination: effects on blood metabolites and embryo recovery rate. *Journal of Animal Science and Technology* 62(4): 449-459. 10.5187/jast.2020.62.4.449
- Kraisoon A, Navanukraw C, Inthamonee W & Bunma, T. 2021. Embryonic development, luteal size and blood flow area, and concentrations of PGF2 metabolite in dairy cows fed a diet enriched in polysaturated or polyunsaturated fatty acid. *Animal Reproduction Science* 195: 291-301.
- Machado AF, Guimarães SEF, Guimarães JD, Santos GM, Silva AL, Silva YFRS, Netto DSL, Correa PVF & Marcondes MI. 2020. Effect of protein supplement level on the productive and reproductive parameters of replacement heifers managed in intensive grazing systems. *PLoS One*. 15(10):e0239786. doi: 10.1371/journal.pone.0239786. PMID: 33027259; PMCID: PMC7540841.
- McGeady TA, Quinn PJ, FitzPatrick ES & Ryan MT. 2013. *Veterinary Embryology*. Dublin (IE): John Wiley & Sons. 392 p.
- Mikkola M, Mantysaari P, Tammiranta N, Peippo J & Taponena J. 2005. Effect of dietary protein on embryo recovery rate and quality in superovulated heifers. *Animal Reproduction Science*. 87: 193-202.
- Mikkola M, Hasler JF & Taponen J. 2020. Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle. *Reproduction, Fertility and Development*. 32: 104-124 DOI: 10.1071/RD19279
- Petit HV & Twagiramungu H. 2006. Conception rate and reproductive function of dairy cows fed different fat sources. *Theriogenology* 66(5): 1316-1324. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.029>
- Pranata, A, Kardaya, D & Harsi, T. 2016. Pemberian pakan konsentrat dengan kadar protein yang berbeda terhadap respon superovulasi sapi simmental *Jurnal Peternakan Nusantara* 2(1): 18-26
- Raboisson D, Albaaj A, Nonne G & Foucras G. 2017. High urea and pregnancy or conception in dairy cows: A meta-analysis to define the appropriate urea threshold. *Journal of Dairy Science* 100(9):7581-7587. doi: 10.3168/jds.2016-12009.
- Rodrigues LM, Schoonmaker JP, Resende FD, Siqueira GR, Neto ORM, Gionbelli MP, Gionbelli TRS, & Ladeira MM. 2021. Effects of protein supplementation on Nellore cows' reproductive performance, growth, myogenesis, lipogenesis and intestine development of the progeny. *Animal Production Science* 61(4): 371-380. DOI: 10.1071/AN20498
- Siddiqui MAR, Shamsuddin M, Bhuiyan MMU, Akbar MA, & Kamaruddin KM. 2002. Effect of feeding and body condition score on multiple ovulation and embryo production in zebu cows. *Reproduction in Domestic Animals* 37(1):37-41. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2002.00329.x>
- Silva LA, de Mello MRB, Piao DO, Silenciato LN, de Quadros TCO, de Souza AH, & Barbero RP. 2021. Effects of experimental exposure to zearalenone on reproductive system morphometry, plasma oestrogen levels, and oocyte quality of beef heifer. *Reproduction in Domestic Animals* 56(5): 775-782. doi: 10.1111/rda.13917.
- Thangavelu, G, Colazo, MG, Ambrose DJ, Oba M, Okine EK, & Dyck MK. 2007. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. *Theriogenology* 68 (7): 949-957.
- Wu, G, Bazer, FW, Dai, Z, Li, D, Wang, J & Wu, Z. 2014. Amino acid nutrition in animals: Protein synthesis and beyond. *annual review of animal bioscience* 2:387-417. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022513-114113>
- Yendraliza. 2013. Pengaruh nutrisi dalam pengelolaan Reproduksi Ternak (Studi Literatur). *Kutubkhanah*, 16 (1): 20-26.