

# STANDAR OPERASIONAL PROSEDUR (SOP)

TIM KERJA PRODUKSI  
TAHUN 2025  
Revisi 1



**BALAI EMBRIO TERNAK CIPELANG  
2025**

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga Standar Operasional Prosedur (SOP) Tim Kerja Produksi tahun 2025 Revisi 1 Balai Embrio Ternak (BET) Bogor dapat diselesaikan dengan baik.

Standar Operasional Prosedur Tim Kerja Produksi tahun 2025 disusun sebagai penyempurnaan edisi sebelumnya agar kegiatan pelayanan teknis Produksi dan Aplikasi Transfer Embrio dapat berjalan lebih lancar. Tim Kerja Produksi merupakan salah satu subkelompok yang dimiliki oleh BET Cipelang mendukung kegiatan Balai dengan melaksanakan manajemen produksi embrio dan aplikasi transfer embrio yang baik. Pelaksanaan manajemen produksi embrio dan aplikasi transfer embrio yang baik diharapkan dapat menghasilkan benih dan bibit yang berkualitas.

Ucapan terima kasih penyusun sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dan berperan aktif dalam penyempurnaan SOP ini. Standar Operasional Prosedur ini diharapkan dapat dilaksanakan dengan sebaik-baiknya sehingga dapat mencapai tujuan yang telah ditetapkan dan bermanfaat bagi semua pihak. Akhir kata, semoga Allah SWT selalu meridhoi setiap kegiatan yang dilakukan dalam Tim Kerja Produksi.

Cipelang, Februari 2025  
Ketua Tim Kerja Produksi



Anny Rosmayanti, S,Pt

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
I PENDAHULUAN	
1. Latar Belakang	1
2. Tujuan	2
3. Sasaran	2
4. Ruang Lingkup	2
II PROSEDUR PRODUKSI DAN APLIKASI TRANSFER EMBRIO	
A. PRODUKSI EMBRIO <i>IN VIVO</i>	
1. Persiapan	3
2. Pelaksanaan Produksi Embrio <i>In Vivo</i>	4
B. PRODUKSI EMBRIO <i>IN VITRO</i>	
1. Persiapan	12
2. Pelaksanaan Produksi Embrio <i>In Vitro</i> melalui Koleksi Oosit dari RPH	12
3. Pelaksanaan Produksi Embrio <i>In Vitro</i> melalui Metode <i>Ovum Pick Up</i> (OPU)	16
C. STERILISASI ALAT	20
D. KALIBRASI ALAT	20
E. INSEMINASI BUATAN (IB)	
1. Persiapan	21
2. Pelaksanaan IB	21
F. TRANSFER EMBRIO (TE)	
1. Persiapan	22
2. Seleksi Resipien	22
3. Alat dan Bahan	22
4. Metode Transfer Embrio	22
5. Persiapan Transfer Embrio	24
6. Pelaksanaan Transfer Embrio	24
7. Program Kelahiran Kembar (Twinning)	25
8. Pemeriksaan Kebuntingan (PKb)	26

G.	SKEMA SISTEM PERKAWINAN DI BET	26
H.	PEMBERIAN SARAN TEKNIK PRODUKSI DAN TRANSFER EMBRIO	30
I.	JUSTIFIKASI PENGGUNAAN BAHAN-BAHAN KEPERLUAN PRODUKSI EMBRIO YANG KADALUARSA	30
J.	PENUTUP	32

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Contoh pengkodean embrio (label embrio)	9
Gambar 2. Bagan prosedur program donor dan produksi embrio <i>in vivo</i>	10
Gambar 3. Bagan <i>flushing</i> /panen embrio	11
Gambar 4. Contoh pengkodean straw embrio <i>in vitro</i>	16
Gambar 5. Contoh pengkodean straw embrio <i>in vitro</i> hasil OPU	20
Gambar 6. Skema perkawinan <i>Purebreed</i>	27
Gambar 7. Skema perkawinan <i>Crossbreed</i>	27
Gambar 8. Dasar penentuan komposisi darah ternak hasil perkawinan	28
Gambar 9. Skema 1 Pembentukan Benih dan Bibit	29
Gambar 10. Skema 2 Pembentukan Benih dan Bibit	29

## I. PENDAHULUAN

### 1. Latar Belakang

Balai Embrio Ternak (BET) Bogor merupakan salah satu Unit Pelaksana Teknis di Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian dengan SK Mentan No. 286/KPTS/OT.210/4/2002 yang disempurnakan dengan Peraturan Menteri Pertanian No. 12 Tahun 2023, BET mempunyai tugas dan fungsi salah satunya adalah produksi dan aplikasi transfer embrio. Sebagai salah satu Unit Pelaksana Teknis penyedia bibit ternak sapi unggul nasional, BET diharapkan mampu untuk melakukan peningkatan mutu genetik ternak sapi melalui teknik biologi reproduksi yaitu dengan kegiatan produksi dan aplikasi transfer embrio (TE) yang pada akhirnya akan mampu menyediakan kebutuhan akan bibit ternak sapi unggul nasional.

Salah satu pelayanan teknis (Yantek) di BET yang bertanggung jawab terhadap kegiatan produksi dan aplikasi transfer embrio adalah Tim Kerja Produksi. Dalam menunjang kelancaran kegiatan yang akan dilaksanakan di Tim Kerja Produksi maka diperlukan suatu Standar Operasional Prosedur (SOP) yang akan dijadikan acuan dalam pelaksanaan kegiatan yang ada selain mengacu pada standar penilaian yang ditetapkan *International Embryo Transfer Society* (IETS), IETS 4th Edition Tahun 2010. Standar Operasional Prosedur yang dituangkan meliputi SOP untuk pelaksanaan kegiatan produksi embrio secara *in vivo*, produksi embrio secara *in vitro*, aplikasi transfer embrio (TE) dan pemberian saran teknis produksi dan transfer embrio. Semua kegiatan yang dilakukan telah melalui suatu sistem manajemen mutu produksi sesuai ISO 9001:2015, hasil produk sesuai dengan SNI Embrio Ternak Sapi no SNI 7880:2013, dan untuk kegiatan pengadaan sesuai dengan sistem pengadaan yang diatur dalam peraturan yang dibuat pemerintah, sedangkan untuk lingkungan telah melalui sistem manajemen lingkungan sesuai dengan ISO 14001:2015.

### 2. Tujuan

Penyusunan SOP bertujuan untuk membuat suatu acuan kegiatan sehingga dapat menciptakan ukuran standar kerja yang dapat memberikan pegawai sebuah cara untuk meningkatkan kualitas kerja serta memudahkan instansi untuk melakukan evaluasi program atau kinerja.

### 3. Sasaran

Sasaran dari penyusunan SOP yaitu untuk memberikan acuan kegiatan dalam

produksi embrio, pelaksanaan transfer embrio dan IB, pelaksanaan sistem perkawinan, pemberian saran teknik produksi dan transfer embrio, dan justifikasi penggunaan bahan-bahan keperluan produksi embrio.

#### 4. Ruang Lingkup

Ruang lingkup dalam SOP ini yaitu seluruh fungsional yang ada di BET.

## II. PROSEDUR PRODUKSI DAN APLIKASI TRANSFER EMBRIO

Kegiatan Tim Kerja Produksi yaitu meliputi produksi embrio baik secara *in vivo* dan *in vitro*, kegiatan sterilisasi alat, kalibrasi alat, kegiatan inseminasi buatan, kegiatan transfer embrio, pemberian saran teknik produksi dan transfer embrio, dan justifikasi penggunaan bahan-bahan keperluan produksi embrio yang kadaluarsa. Prosedur ini ditetapkan berdasarkan peraturan yang berlaku seperti UU No. 41 Tahun 2014 tentang Perubahan atas Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009 Tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan, Pedoman produksi embrio sesuai dokumen *International Embryo Transfer Society (IETS)*, IETS 4th Edition Tahun 2010, dokumen The International Organization for Standardization/ISO (sistem manajemen mutu produksi sesuai ISO 9001:2015), dokumen Standar Nasional Indonesia/ SNI (SNI Embrio Ternak nomor SNI 7880:2024), dan dokumen publikasi baik nasional maupun internasional yang terkait.

### A. PRODUKSI EMBRIO *IN VIVO*

#### 1. Persiapan

- 1.1. Merencanakan kebutuhan bahan-bahan untuk program produksi embrio *in vivo* dan aplikasi transfer embrio.
- 1.2. Sapi Donor, yaitu sapi betina yang memenuhi kriteria/syarat-syarat tertentu diantaranya :
  - a. Memiliki keunggulan secara genetik (*genetic superiority*);
  - b. Mempunyai data individu / silsilah keturunan;
  - c. Memiliki status reproduksi normal;
  - d. Ternak bebas PHMS (Penyakit Hewan Menular Strategis);
  - e. Sapi donor diproduksi embrio setelah beranak 1 kali, untuk kondisi tertentu sapi donor dapat diproduksi minimal umur 18 bulan.
- 1.3. Semen beku yang digunakan untuk program produksi berasal dari pejantan unggul yang memenuhi kriteria/syarat-syarat tertentu diantaranya :
  - a. Memiliki keunggulan secara genetik (*genetic superiority*);
  - b. Mempunyai silsilah keturunan;
  - c. Semen beku impor atau loka;
  - d. Memiliki silsilah yang berbeda dengan tetua donor;
  - e. Semen beku impor harus memenuhi persyaratan :

- memiliki surat sertifikat/keterangan yang dikeluarkan oleh Asosiasi Breeder Sapi dari Negara asal;
  - memiliki surat kesehatan hewan yang ditetapkan oleh pemerintah Indonesia, seperti yang tercantum dalam *Health Requirements for The Importation of Breeding Cattle*.
- f. Semen Lokal harus memenuhi persyaratan :
- memiliki surat sertifikat/keterangan yang dikeluarkan oleh produsen.
- 1.4. Obat-obatan dan hormon : *Folicle Stimulating Hormone (FSH)*, *Prostaglandin F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α)*, *Gonadotropin Releasing Hormone (GnRh)*, *Human Chorionic Gonadotropin (hCG)*, Oestradiol (Estrogen), Preparat Progesteron, antibiotik, Preparat anastesi, obat dan hormon lain yang dibutuhkan.
- 1.5. Media : Pemanenan embrio (*Flushing*), Evaluasi embrio dan pembekuan embrio (*Freezing*), diantaranya bahan media yang digunakan adalah :  
D-PBS, *Calf serum*, *Lactated Ringer*, *Ethylene Glicol (EG)*, BSA, Na Pyruvat, sukrose, Methanol, Antibiotik dan lain-lain.
- 1.6. Peralatan yang dibutuhkan : Plastik *sarung tangan plastik*, Jarum suntik, Spuit, *Folley catheter*, *stillet*, *Serviks Expander*, botol penampung, *Silicon tube*, *Infusion set*, kapas, *tissue*, mikroskop, Cawan Petri, Filter embrio, pipet, pipet pasteur, gunting, pinset, gas bunsen, kikir, bak pemanas air (*Water Bath*), *syring filter media*, *straw* kosong, pipet ballon, *powder/jelly*, label, selotip, mesin *freezing/cryosel*, *stereofom/ice box* dan lain-lain.

## **2. Pelaksanaan Produksi Embrio *In Vivo***

- 2.1 Penyiapan sapi donor  
Sesuai dengan manajemen pemeliharaan sapi donor di Yantek Pemeliharaan Ternak.
- 2.2 Seleksi Reproduksi Donor  
melakukan pemeriksaan performan dan kondisi organ reproduksi terhadap sapi donor yang akan diprogram superstimulasi/ superovulasi, serta pemeriksaan kondisi ovarium untuk menentukan status reproduksi (fase folikuler atau fase luteal) sapi donor.
- 2.3 Program Produksi Embrio  
Pengamatan *estrus* (berahi) dilakukan pada sapi donor yang akan diprogram berdasarkan berahi alam atau Penggunaan preparat hormon dilakukan pada

sapi donor yang akan diprogram berdasarkan metode sinkronisasi berahi/gelombang folikel.

2.4 Superstimulasi/Superoovulasi guna meningkatkan jumlah folikel untuk menghasilkan sel telur dalam jumlah banyak.

2.5 Inseminasi Buatan.

Inseminasi Buatan (IB) dilaksanakan mengikuti prosedur Skema Sistem Perkawinan dan program superstimulasi/superoovulasi yang digunakan.

2.6 Pemanenan Embrio (Flushing)

*Flushing* dilakukan pada hari ke-tujuh setelah IB yang pertama.

2.7 Interval *Flushing*/Panen Embrio

Produksi embrio sapi donor dapat dioptimalkan dengan tetap melihat kondisi dan performa sapi donor. Berdasarkan analisis yang dilakukan oleh Bo & Mapletoft (2014), tidak ada perbedaan nyata dalam produksi embrio ketika sapi disuperoovulasi dengan interval mulai dari 28 hingga 30 hari dengan yang lebih dari 90 hari.

2.8 Evaluasi Embrio

Evaluasi embrio merupakan penilaian kualitatif terhadap fase dan kualitas embrio yang diperoleh disesuaikan dengan standar yang berlaku. Perlakuan selanjutnya adalah:

- a. Hasil *flushing* disaring dengan filter embrio dan dipindahkan ke dalam cawan petri bergaris untuk memudahkan pencarian embrio di bawah mikroskop stereo.
- b. Setelah embrio diperoleh, selanjutnya dikoleksi dalam cawan petri yang berukuran lebih kecil (cawan petri ukuran 35x10mm) yang berisi media *handling* embrio dengan menggunakan perangkat pipet pasteur.
- c. Klasifikasi Embrio; Embrio yang dikoleksi diamati di bawah mikroskop untuk dievaluasi fase dan kualitasnya yang ditentukan berdasarkan standar yang berlaku. Penilaian kualitas embrio berdasarkan kriteria zona *pellucida* yang rata warnanya, kekompakan sel, persentase sel yang mengalami degenerasi, permukaan trophoblast yang rata, warna khas, kekompakan sel, dan ukuran banyaknya *vesicles*.
- d. Penentuan Kualitas Embrio oleh Petugas Quality Control.  
Finalisasi atau Penentuan akhir kualitas embrio dilakukan oleh petugas Quality Control dari Tim Kerja Produksi yang telah ditunjuk.

Kualitas embrio dinilai berdasarkan fase perkembangan (*stage*) dan kualitas (*quality*) embrio. Dengan mengacu pada standar penilaian yang ditetapkan oleh *International Embryo Transfer Society* (IETS), IETS 4th Edition Tahun 2010. Adapun daftar kode fase untuk penilaian perkembangan embrio adalah sebagai berikut :

Fase 1: *Unfertilized*

Fase 2: Embrio dengan 2 s/d 12 sel

Fase 3: *Early Morulla*

Fase 4: *Morulla*

Fase 5. *Early Blastocysts*

Fase 6: *Blastocysts*

Fase 7: *Expanded Blastocysts*

Fase 8: *Hatched Blastocysts*

Fase 9: *Expanded Hatched Blastocysts*

Sedangkan untuk kriteria kualitas embrio diuraikan sebagai berikut :

Kualitas 1 : *Excellent or Good*

- Bentuk embrio simetris dan bulat (*spherical*) dengan *blastomere* yang seragam baik pada ukuran, warna maupun kepadatannya.
- Embrio harus memiliki bentuk yang konsisten dengan perkiraan fase perkembangan embrio itu sendiri. Bentuk *irregular relative minor*.
- Memiliki minimal 85% material selular dalam keadaan *intact* dan massa embrio hidup.
- Zona pelusida harus bulat, mulus, tidak menempel pada cawan petri atau pipet.

Kualitas 2 : *Fair*

- Secara umum memiliki bentuk yang tidak teratur / *irregular* dalam kategori sedang dalam hal massa embrio, ukuran, warna dan kepadatan sel-sel individual.
- Memiliki sel *intact* dan massa embrio hidup minimal sebanyak 50%.

Kualitas 3 : *Poor*

- Embrio didominasi bentuk yang tidak teratur pada bentuk massa embrio, ukuran, warna, dan kepadatan individu sel.
- Memiliki sel *intact* dan massa embrio hidup minimal sebanyak 25%.

Kualitas 4 : *Dead or degenerating*

- Embrio degenerasi.
- Oosit.
- embrio 1 sel: tidak hidup/mati.

Embrio yang layak transfer dan dapat dibekukan lebih lanjut adalah embrio yang mencapai perkembangan fase 4 (morulla) sampai dengan fase 8 (hatched blastocyst) dan memiliki kualitas 1 dan 2. Embrio dengan fase 9 (expand hatched blastocyst) dapat dilakukan transfer segar. Embrio dengan kualitas 3 dapat ditransfer segar atau dilakukan kultur untuk perkembangan lebih lanjut. Embrio dengan fase 3 (early morulla) dilakukan kultur untuk perkembangan lebih lanjut.

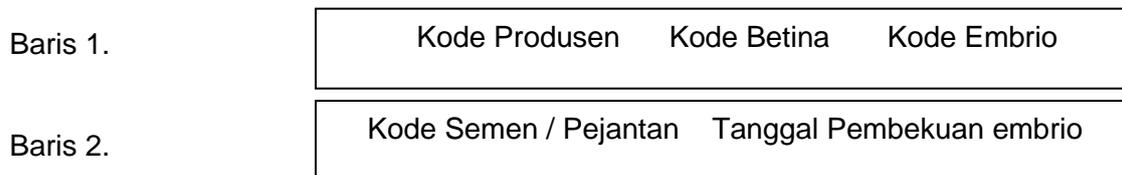
## 2.9 Pengecekan/Penilaian Kualitas Embrio (Quality Controlle Embryo)

Embrio yang dihasilkan adalah embrio yang berkualitas dan akan didistribusikan kepada konsumen/*stakeholder*. Hal ini sesuai dengan penerapan ISO 9001:2015 tentang System Manajemen Mutu. Untuk menjamin kualitas embrio maka ditunjuk tim atau petugas khusus *Quality Controlle (QC)*, yang memiliki tugas melakukan pengecekan/ penilaian kualitas embrio. Beberapa langkah QC untuk memberikan jaminan mutu embrio adalah sebagai berikut :

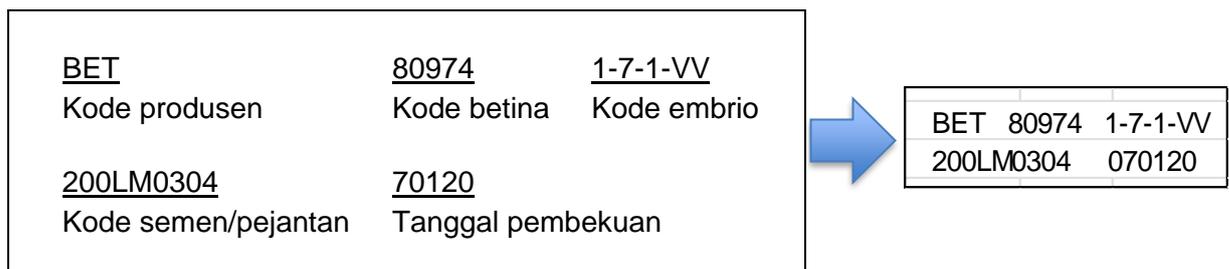
- a. Mencatat identifikasi donor yang diflushing/dipanen embrio.
- b. Mengecek kondisi donor yang diflushing/dipanen embrio dari data kesehatan hewan.
- c. Memeriksa dan melakukan pencatatan pemeriksaan secara makroskopis terhadap media hasil flushing.
- d. Memastikan proses penyaringan embrio dan pencarian embrio dilakukan dengan benar, alat-alat yang digunakan harus steril.
- e. Melakukan evaluasi embrio terhadap stadium (stage) dan kualitas (grade) dengan mengacu pada standar kualitas embrio yang tercantum dalam SNI Embrio Ternak – Bagian 1 : Sapi (SNI 7880.1:2013).
- f. Memastikan embrio layak transfer melewati prosedur pencucian embrio mengacu pada *International Embryo Transfer Society (IETS)*, IETS 4th Edition Tahun 2010 Chapter 6. Rekomendasi handling embrio in vivo.
- g. Memastikan bahwa hanya embrio yang sesuai standar SNI yang dimasukkan ke dalam straw embrio dengan media PBS apabila akan dilakukan transfer segar, atau media pembekuan embrio (Ethylene Glycol) untuk embrio yang akan dibekukan.
- h. Memeriksa kesesuaian penomoran/pemberian label pada embrio harus sesuai dengan tata cara penomoran embrio yang tercantum dalam SNI Embrio (SNI 7880:2024).

- i. Memastikan proses pembekuan dan penyimpanan sesuai prosedur yang ditetapkan.
  - j. Mencatat hasil pengecekan kualitas (QC) embrio dalam satu formulir.
- 2.10 Pencucian Embrio (Washing)
- Prosedur pencucian embrio mengacu pada International Embryo Transfer Society (IETS), IETS 4th Edition Tahun 2010 yaitu pencucian dilakukan dengan media PBS sebanyak 10 kali dalam cawan petri yang berbeda dengan minimal pengenceran 100 kali dari larutan sebelumnya dan menggunakan pipet yang berbeda untuk setiap cawan petri. Pada kondisi tertentu seperti pada embrio yang akan di ekspor wajib menambahkan pencucian dengan enzim tripsin pada pencucian ke-6 dan ke-7 (IK pencucian embrio).
- 2.11 Kemasan Embrio
- a. *Straw* transparan dengan ukuran 0.25 ml.
  - b. Kondisi kemasan harus tertutup.
  - c. Setiap *straw* berisi satu embrio.
  - d. Kemasan harus dilengkapi dengan identitas.
- 2.12 Pengemasan Embrio (Loading)
- a. Media yang digunakan untuk pembekuan embrio disesuaikan dengan metode pembekuan yang digunakan.
  - b. *Straw* yang digunakan untuk kemasan embrio berwarna transparan.
  - c. Saat memasukkan embrio ke dalam *straw* (loading), posisikan media, rongga udara serta embrio dalam posisi bergantian sesuai dengan metode pembekuan yang digunakan.
  - d. Embrio yang layak transfer dan dibekukan dimasukkan dalam *straw* dengan jumlah masing-masing *straw* adalah 1 (satu) embrio.
- 2.13 Identitas Embrio
- Identitas embrio tercantum dalam label embrio, susunan identitas embrio memuat :
- a. Baris pertama memuat informasi kode produsen, kode betina dan kode embrio,
  - b. Kode embrio terdiri dari:
    - 1. Nomor urut
    - 2. Fase
    - 3. Kualitas
    - 4. Kode (VV = embrio in vivo; VC = embrio hasil kultur; VF = embrio in vitro)

- c. Baris kedua memuat informasi kode semen/pejantan dan tanggal pembekuan



Contoh Pengkodean Embrio :



Gambar 1. Contoh pengkodean embrio (label embrio)

#### 2.14 Pembekuan Embrio

Prosedur pembekuan embrio disesuaikan dengan prosedur pembekuan embrio yang digunakan.

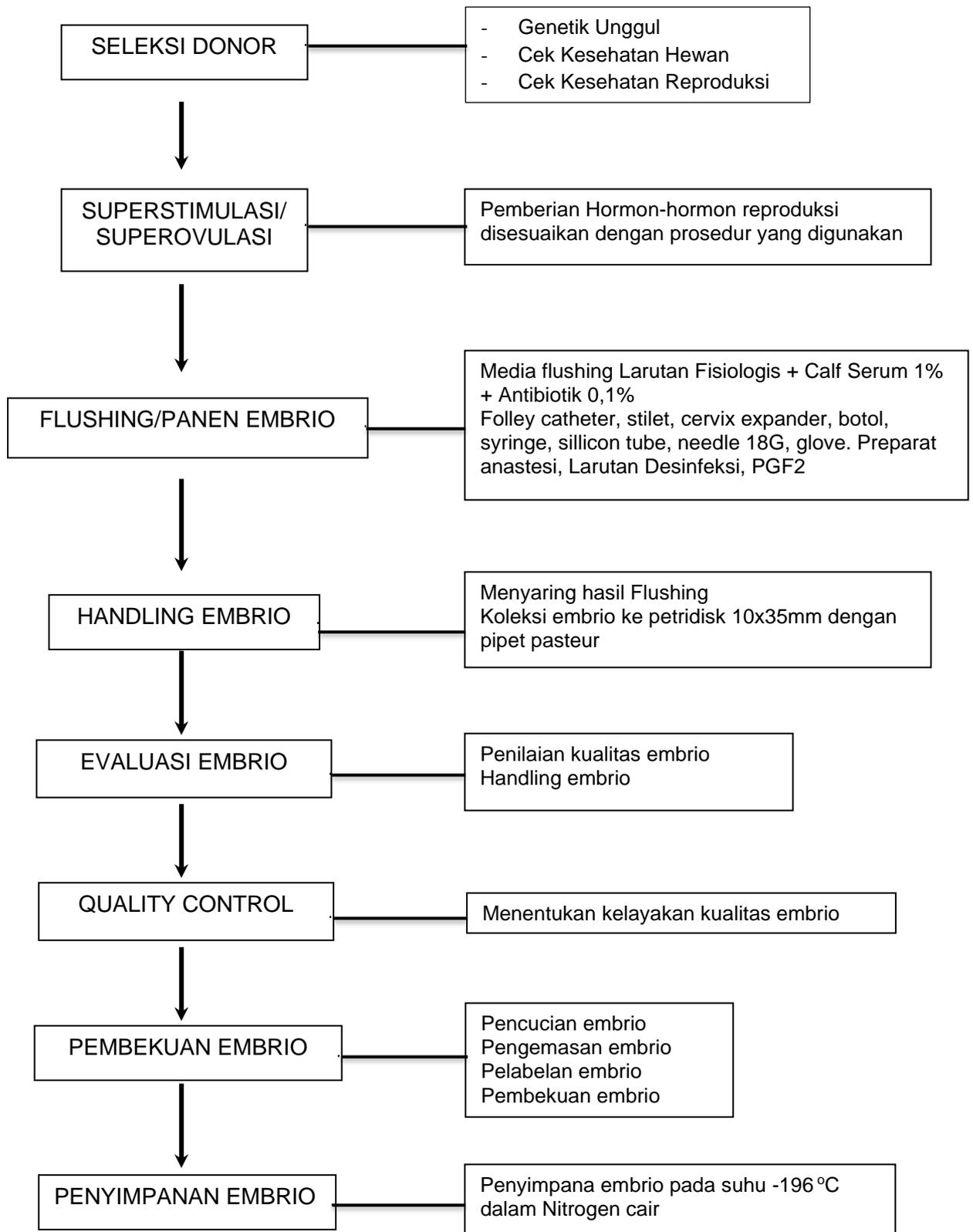
#### 2.15 Penyimpanan Embrio

Straw embrio disimpan dengan menggunakan goblet dalam canister, embrio harus selalu terendam penuh dalam Nitrogen Cair (LN<sub>2</sub>) dengan suhu -196 °C pada container kriogenik (cryogenic) dengan tujuan untuk menjaga kualitas embrio.

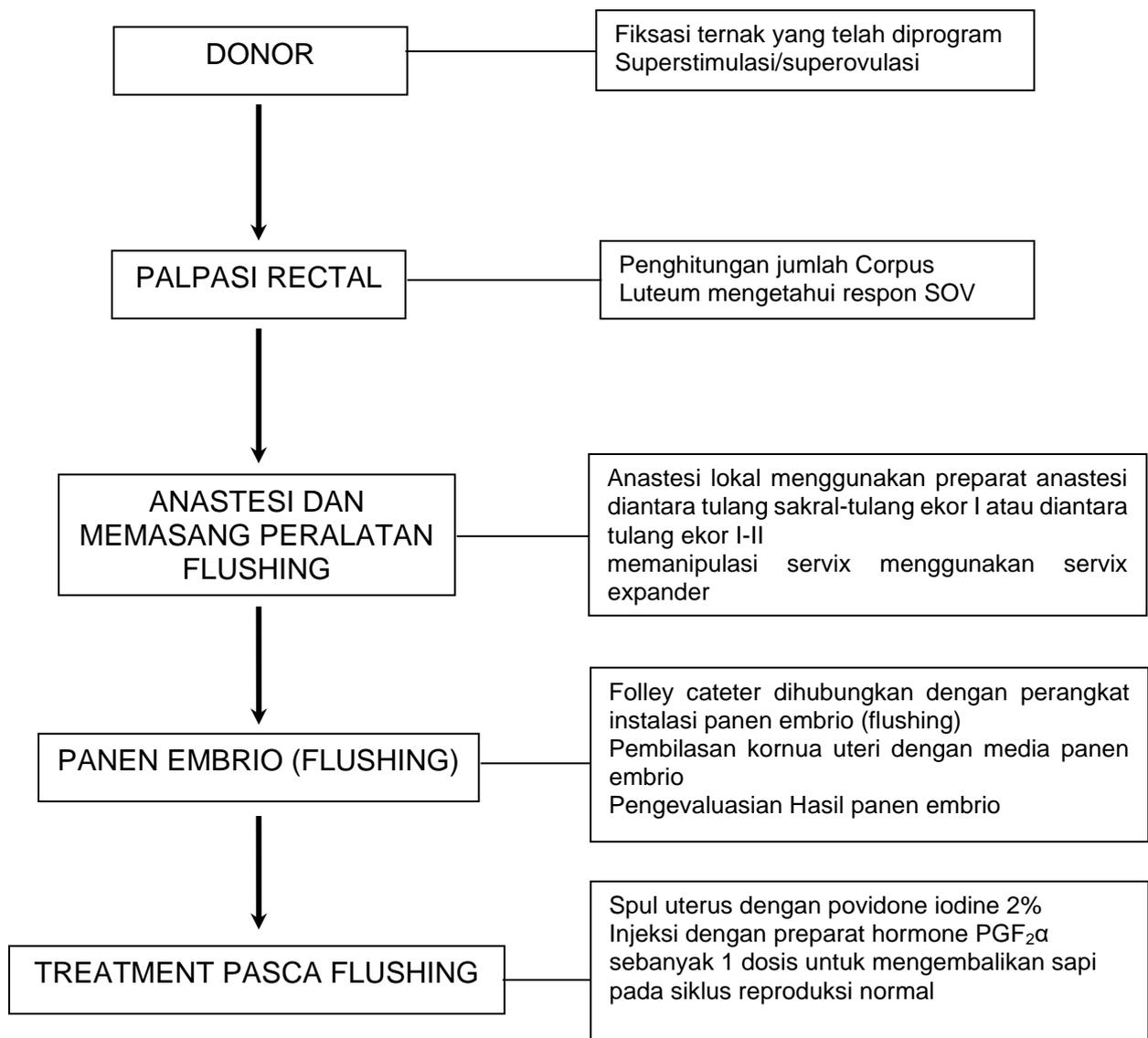
#### 2.16 Evaluasi Sapi Donor

Evaluasi sapi donor dilakukan untuk mengetahui perkembangan produksi embrio yang dihasilkan dan permasalahan yang terjadi pada setiap individu sapi donor. Pada sapi donor yang mengalami gangguan reproduksi sehingga tidak produktif menghasilkan embrio, yaitu sapi-sapi donor yang diprogram SOV 3 kali berturut-turut tidak menghasilkan embrio, maka akan diberikan rekomendasi kepada Yantek Pemeliharaan Ternak untuk selanjutnya dilakukan perawatan untuk pemulihan. Selama dalam masa perawatan/pemulihan, sapi donor tersebut akan terus dipantau perkembangannya oleh Yantek Pemeliharaan Ternak sampai dengan sapi donor benar-benar siap untuk dilakukan produksi embrio kembali oleh Tim Kerja Produksi. Sapi Donor yang telah di IB dan tidak bunting akan di seleksi untuk program produksi embrio atau

dilakukan pemulihan apabila terdapat gangguan reproduksi oleh Yantek Pemeliharaan Ternak.



Gambar 2. Bagan prosedur program donor dan produksi embrio *in vivo*



Gambar 3. Bagan *flushing*/panen embrio

## **B. PRODUKSI EMBRIO *IN VITRO***

### **1. Persiapan**

- 1.1 Merencanakan kebutuhan bahan-bahan untuk program produksi embrio *in vitro* dan aplikasi transfer embrio.
- 1.2 Media yang harus disiapkan antara lain media transportasi dan penyimpanan ovari dari RPH, media untuk aspirasi oosit, media untuk *ovum pick up* (OPU), maturasi oosit, mencuci semen (sperma), mengencerkan semen, fertilisasi dan untuk kultur.
- 1.3 Peralatan yang harus disiapkan : gunting, pinset, alkohol 70%, tissue steril, jarum 18G, cawan petri bergaris, cawan petri 35x10 mm, spuit 5 ml, termos, sensi sarung tangan plastik, inkubator CO<sub>2</sub>, centrifuge, *water bath*, timbangan analitik, gas bunsen, kikir, *straw* kosong, *powder/jelly*, label, selotip, mesin *freezing/cryosel*, *stereofom/ice box*, Ultrasonografi (USG), probe dan alat set OPU, tabung 50 ml, gloves palpasi, gel USG, iodin 2%, sediaan antipiretik jika diperlukan, dan lain-lain.

### **2. Pelaksanaan Produksi Embrio *In vitro* melalui Koleksi Oosit dari RPH**

#### **2.1 Koleksi Ovarium**

- a. Ovarium dari sapi betina yang baru dipotong di RPH langsung disimpan dalam media handling ovarium, pada suhu ruang dan diberi kode betina yang dipotong.
- b. Lama waktu transportasi ovarium dari RPH sampai ke laboratorium maksimal sampai 8 jam. Selama dalam perjalanan ovarium disimpan dalam termos supaya suhu stabil.

#### **2.2 Aspirasi Oosit**

- a. Ovarium dibersihkan dan dicuci dari ligamen dan organ yang masih menempel dengan media handling ovarium kemudian dimasukkan dalam gelas piala dengan media yang sama, setelah itu gelas piala diletakkan di atas plat penghangat supaya suhu tetap stabil pada 37,5°C.
- b. Aspirasi oosit dari ovarium dengan menggunakan spuit 5ml dan jarum 18G yang telah diisi media aspirasi, hasil aspirasi yang diperoleh dikumpulkan dalam cawan petri bergaris untuk memudahkan pencarian oosit.
- c. Pencarian oosit dilakukan dengan menggunakan mikroskop stereo, oosit dikumpulkan pada cawan petri 35x10mm yang berisi media aspirasi.

- d. Penyeleksian oosit dilakukan dengan kriteria kualitas oosit sebagai berikut :
    - Kualitas A : oosit tertutup sel kumulus kompleks yang tebal
    - Kualitas B : oosit tertutup kumulus tipis
    - Kualitas C : oosit tidak tertutup sel kumulus (denuded)
    - Kualitas D : sel kumulus dan sitoplasma sudah rusak/degenerasi (expanded)
  - e. Oosit dengan kualitas A dan B yang dilakukan maturasi.
- 2.3 Invitro Maturasi Oosit (IVM)
- a. Mencuci oosit pada media TCM-199.
  - b. Oosit dengan kualitas A dan B dimasukkan dalam media maturasi yang telah ditutup dengan mineral oil lalu dibilas untuk menghilangkan sisa media aspirasi.
  - c. Setelah dibilas 1-2x dimasukkan pada drop media Maturasi yang ditutup mineral oil, lalu disimpan dalam CO<sub>2</sub> inkubator pada suhu temperatur 38,5 °C dan kandungan CO<sub>2</sub> 2-5% selama 18 - 24 jam.
- 2.4 Fertilisasi *In vitro* (IVF)
- a. Penggunaan semen untuk proses fertilisasi pada produksi embrio IVF didasarkan pada Skema Sistem Perkawinan.
  - b. Menyiapkan media fertilisasi.
  - c. Menyiapkan sperma yang akan digunakan untuk fertilisasi dengan melakukan prosedur kapasitasasi sperma sesuai dengan metode yang digunakan.
  - d. Penentuan konsentrasi sperma sesuai dengan yang dipersyaratkan.
  - e. Cuci oosit yang telah dimaturasi dengan media pencuci oosit (Oosit Washing Solution/OWS).
  - f. Fertilisasi dilakukan dengan cara memasukkan oosit yang telah dimaturasi dan dicuci dengan OWS ke dalam drop sperma, lalu dimasukkan ke dalam inkubator CO<sub>2</sub>, selama 5 – 18 jam. Hari dilakukan fertilisasi dihitung sebagai hari ke-0.
- 2.5 Invitro Kultur / IVC
- a. Oosit yang telah difertilisasi selanjutnya dicuci dengan media kultur dan dipisahkan dari sperma, lalu dimasukkan ke dalam drop kultur (5 µl media/oosit) dan dimasukkan ke dalam inkubator CO<sub>2</sub>, selama 10 hari dengan pengamatan berkala.

- b. Hari ke-2 setelah fertilisasi dilakukan pengamatan perkembangan pembelahan embrio.
- c. Pengamatan perkembangan Blastosis dilakukan pada hari ke 6-9 setelah fertilisasi.

## 2.6 Evaluasi Embrio

Evaluasi embrio merupakan penilaian kualitatif terhadap fase dan kualitas embrio yang dikultur disesuaikan dengan standar yang berlaku. Pelaksanaan evaluasi dilakukan sebagai berikut :

- a. Klasifikasi Embrio; Embrio yang dikultur diamati di bawah mikroskop untuk dievaluasi fase dan kualitasnya yang ditentukan berdasarkan standar yang berlaku. Penilaian kualitas embrio berdasarkan kriteria zona pellucida yang rata warnanya, kekompakan sel, persentase sel yang mengalami degenerasi, permukaan trophoblast yang rata, berwarna khas, kekompakan sel, dan ukuran banyaknya vesicles. Kualitas embrio dinilai berdasarkan fase perkembangan (*stage*) dan kualitas (*quality*) embrio. Dengan mengacu pada standar penilaian yang ditetapkan oleh *International Embryo Transfer Society* (IETS).

Adapun daftar kode fase untuk penilaian perkembangan embrio adalah sebagai berikut:

Fase 1: *Unfertilized*

Fase 2: Embrio dengan 2 s/d 12 sel

Fase 3: *Early Morulla*

Fase 4: *Morulla*

Fase 5. *Early Blastocysts*

Fase 6: *Blastocysts*

Fase 7: *Expanded Blastocysts*

Fase 8: *Hatched Blastocysts*

Fase 9: *Expanded Hatched Blastocysts*

Sedangkan kriteria untuk kualitas embrio diuraikan sebagai berikut :

Kualitas 1 : *Excellent or Good*

- Bentuk embrio simetris dan bulat (*spherical*) dengan blastomer yang seragam baik pada ukuran, warna maupun kepadatannya.
- Embrio harus memiliki bentuk yang konsisten dengan perkiraan fase perkembangan embrio itu sendiri. Bentuk *irregular relative minor*.

- Memiliki minimal 85% material selular dalam keadaan intact dan massa embrio hidup.
- Zona pelusida harus bulat, mulus, tidak menempel pada cawan petri atau pipet.

Kualitas 2 : *Fair*

- Secara umum memiliki bentuk yang tidak teratur (irregular) dalam kategori sedang dalam hal massa embrio, ukuran, warna dan kepadatan sel-sel individual.
- Memiliki sel intact dan massa embrio hidup minimal sebanyak 50%.

Kualitas 3 : *Poor*

- Embrio didominasi bentuk yang tidak teratur pada bentuk massa embrio, ukuran, warna, dan kepadatan individu sel.
- Memiliki sel intact dan massa embrio hidup minimal sebanyak 25%.

Kualitas 4 : *Dead or degenerating*

- Embrio degenerasi
- Oosit
- embrio 1 sel: tidak hidup/mati.

Embrio yang layak transfer atau yang dibekukan lebih lanjut adalah embrio yang mencapai fase perkembangan fase 6 (*Blastocysts*) sampai dengan fase 8 (*hatched blastocyst*) dan memiliki kualitas 1. Panen embrio dilakukan pada hari ke 6, 7, 8, dan 9 setelah fertilisasi.

- b. Embrio yang layak transfer dilakukan aplikasi TE pada resipien atau dibekukan, sedangkan embrio yang belum layak transfer dan masih hidup dilakukan kultur untuk perkembangan lebih lanjut sampai hari ke 9 setelah fertilisasi.

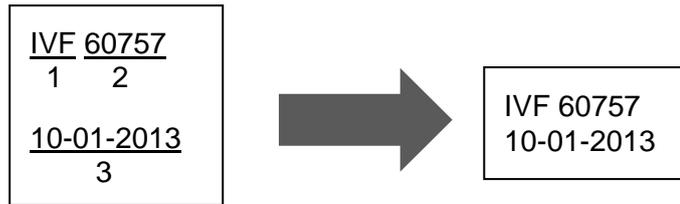
## 2.7 Pengkodean *Straw*

Pengkodean *Straw* menggunakan kertas label berwarna putih dengan sistem penulisan berdasarkan urutan informasi yang diuraikan sebagai berikut:

Gambar:

<u>Metode Produksi Embrio (IVF)</u>	<u>Kode Pejantan</u>
1	2
<u>Tanggal Pembekuan</u>	
3	

- 1 Metode produksi embrio (IVF)
- 2 Kode pejantan
- 3 Tanggal produksi (tanggal pembekuan)



Gambar 4. Contoh pengkodean straw embrio *in vitro*

### 3. Pelaksanaan Produksi Embrio *In vitro* melalui Metode *Ovum Pick Up* (OPU)

#### 3.1 Penyiapan sapi donor

Sesuai dengan manajemen pemeliharaan sapi donor di Yantek Pemeliharaan Ternak.

#### 3.2 Seleksi Reproduksi Donor

Melakukan pemeriksaan performan dan kondisi organ reproduksi terhadap sapi donor yang akan diprogram OPU, serta pemeriksaan kondisi ovarium sapi donor.

#### 3.3 Superstimulasi/Superovulasi

Bertujuan meningkatkan jumlah folikel untuk menghasilkan sel telur dalam jumlah banyak. Metode superstimulasi untuk OPU dilakukan dengan menyuntikkan hormon gonadotropin seperti FSH atau PMSG dengan dosis lebih rendah daripada dosis superstimulasi pada produksi embrio secara *in vivo*.

#### 3.4 Koleksi oosit

Oosit dipanen dengan cara *ovum pick up* 3 hari setelah penyuntikan hormon superstimulasi.

##### a. Persiapan donor

Donor difiksasi dan dibersihkan area rectum dan vulva kemudian dilakukan anestesi epidural.

##### b. *Ovum Pick Up*

Probe OPU dimasukkan ke dalam vagina hingga ujung vagina. Jarum OPU ditusukkan ke dinding vagina hingga menembus ovarium mengarah pada folikel dengan melihat letak folikel pada layar monitor USG. Aspirasi oosit dalam folikel dilakukan dengan mesin aspirator hingga cairan folikel yang berisi oosit masuk ke dalam botol penampung oosit. Jarum aspirator kemudian dibilas menggunakan media OPU.

- c. Hasil OPU disaring dengan filter embrio dan dipindahkan ke dalam cawan petri bergaris untuk memudahkan pencarian embrio di bawah mikroskop stereo.
- d. Pencarian oosit dilakukan dengan menggunakan mikroskop stereo, oosit dikumpulkan pada cawan petri 35x10mm yang berisi media koleksi embrio.
- e. Penyeleksian oosit dilakukan dengan kriteria kualitas oosit sebagai berikut :
  - Kualitas A : oosit tertutup sel kumulus kompleks yang tebal
  - Kualitas B : oosit tertutup kumulus tipis
  - Kualitas C : oosit tidak tertutup sel kumulus (denuded)
  - Kualitas D : sel kumulus dan sitoplasma sudah rusak/degenerasi (expanded)
- f. Oosit dengan kualitas A dan B yang dilakukan maturasi.

### 3.5 Invitro Maturasi Oosit (IVM)

- a. Mencuci oosit pada media TCM-199.
- b. Oosit dengan kualitas A dan B dimasukkan dalam media maturasi yang telah ditutup dengan mineral oil lalu dibilas untuk menghilangkan sisa media aspirasi.
- c. Setelah dibilas 1-2x dimasukkan pada drop media Maturasi yang ditutup mineral oil, lalu disimpan dalam CO<sub>2</sub> inkubator pada suhu temperatur 38,5 °C dan kandungan CO<sub>2</sub> 2-5% selama 18 - 24 jam.

### 3.6 Fertilisasi In vitro (IVF)

- a. Penggunaan semen untuk proses fertilisasi pada produksi embrio IVF didasarkan pada Skema Sistem Perkawinan.
- b. Menyiapkan media fertilisasi.
- c. Menyiapkan sperma yang akan digunakan untuk fertilisasi dengan melakukan prosedur kapasitasasi sperma sesuai dengan metode yang digunakan.
- d. Penentuan konsentrasi sperma sesuai dengan yang dipersyaratkan.
- e. Cuci oosit yang telah dimaturasi dengan media pencuci oosit (Oosit Washing Solution/OWS).
- f. Fertilisasi dilakukan dengan cara memasukkan oosit yang telah dimaturasi dan dicuci dengan OWS ke dalam drop sperma, lalu dimasukkan ke dalam inkubator CO<sub>2</sub>, selama 5 – 18 jam. Hari dilakukan fertilisasi dihitung sebagai hari ke-0.

### 3.7 Invitro Kultur / IVC

- a. Oosit yang telah difertilisasi selanjutnya dicuci dengan media kultur dan dipisahkan dari sperma, lalu dimasukkan ke dalam drop kultur (5 µl media/oosit) dan dimasukkan ke dalam inkubator CO<sub>2</sub>, selama 10 hari dengan pengamatan berkala.
- b. Hari ke-2 setelah fertilisasi dilakukan pengamatan perkembangan pembelahan embrio.
- c. Pengamatan perkembangan Blastosis dilakukan pada hari ke 6-9 setelah fertilisasi.

### 3.8 Evaluasi Embrio

Evaluasi embrio merupakan penilaian kualitatif terhadap fase dan kualitas embrio yang dikultur disesuaikan dengan standar yang berlaku. Pelaksanaan evaluasi dilakukan sebagai berikut :

- a. Klasifikasi Embrio; Embrio yang dikultur diamati di bawah mikroskop untuk dievaluasi fase dan kualitasnya yang ditentukan berdasarkan standar yang berlaku. Penilaian kualitas embrio berdasarkan kriteria zona pellucida yang rata warnanya, kekompakan sel, persentase sel yang mengalami degenerasi, permukaan trophoblast yang rata, berwarna khas, kekompakan sel, dan ukuran banyaknya vesicles. Kualitas embrio dinilai berdasarkan fase perkembangan (*stage*) dan kualitas (*quality*) embrio. Dengan mengacu pada standar penilaian yang ditetapkan oleh *International Embryo Transfer Society* (IETS).

Adapun daftar kode fase untuk penilaian perkembangan embrio adalah sebagai berikut:

Fase 1: *Unfertilized*

Fase 2: Embrio dengan 2 s/d 12 sel

Fase 3: *Early Morulla*

Fase 4: *Morulla*

Fase 5. *Early Blastocysts*

Fase 6: *Blastocysts*

Fase 7: *Expanded Blastocysts*

Fase 8: *Hatched Blastocysts*

Fase 9: *Expanded Hatched Blastocysts*

Sedangkan kriteria untuk kualitas embrio diuraikan sebagai berikut :

Kualitas 1 : *Excellent or Good*

- Bentuk embrio simetris dan bulat (*spherical*) dengan blastomer yang seragam baik pada ukuran, warna maupun kepadatannya.
- Embrio harus memiliki bentuk yang konsisten dengan perkiraan fase perkembangan embrio itu sendiri. Bentuk *irregular relative minor*.
- Memiliki minimal 85% material selular dalam keadaan intact dan massa embrio hidup.
- Zona pelusida harus bulat, mulus, tidak menempel pada cawan petri atau pipet.

Kualitas 2 : *Fair*

- Secara umum memiliki bentuk yang tidak teratur (*irregular*) dalam kategori sedang dalam hal massa embrio, ukuran, warna dan kepadatan sel-sel individual.
- Memiliki sel intact dan massa embrio hidup minimal sebanyak 50%.

Kualitas 3 : *Poor*

- Embrio didominasi bentuk yang tidak teratur pada bentuk massa embrio, ukuran, warna, dan kepadatan individu sel.
- Memiliki sel intact dan massa embrio hidup minimal sebanyak 25%.

Kualitas 4 : *Dead or degenerating*

- Embrio degenerasi
- Oosit
- embrio 1 sel: tidak hidup/mati.

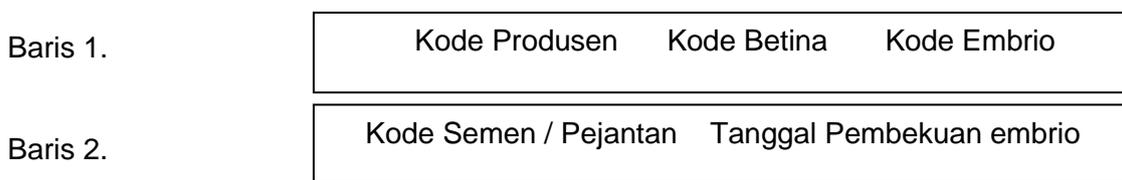
Embrio yang layak transfer atau yang dibekukan lebih lanjut adalah embrio yang mencapai fase perkembangan fase 6 (*Blastocysts*) sampai dengan fase 8 (*hatched blastocyst*) dan memiliki kualitas 1. Panen embrio dilakukan pada hari ke 6, 7, 8, dan 9 setelah fertilisasi.

- b. Embrio yang layak transfer dilakukan aplikasi TE pada resipien atau dibekukan, sedangkan embrio yang belum layak transfer dan masih hidup dilakukan kultur untuk perkembangan lebih lanjut sampai hari ke 9 setelah fertilisasi.

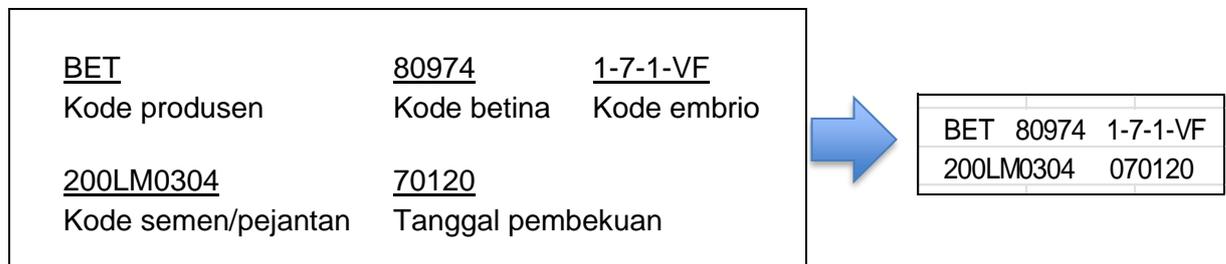
### 3.9 Pengkodean Straw

Identitas embrio tercantum dalam label embrio, susunan identitas embrio memuat :

- d. Baris pertama memuat informasi kode produsen, kode betina dan kode embrio,
- e. Kode embrio terdiri dari:
  - 1. Nomor urut
  - 2. Fase
  - 3. Kualitas
  - 4. Kode VF (embrio in vitro)
- f. Baris kedua memuat informasi kode semen/pejantan dan tanggal pembekuan



Contoh Pengkodean Embrio :



Gambar 5. Contoh pengkodean straw embrio *in vitro* hasil OPU

### C. STERILISASI ALAT

Kegiatan sterilisasi alat merupakan rangkaian proses pembersihan dan pencucihamaan peralatan yang digunakan untuk seluruh kegiatan proses produksi embrio. Jenis prosedur sterilisasi yang digunakan disesuaikan dengan jenis bahan dari alat yang dipakai. Sterilisasi alat-alat yang digunakan sesuai dengan prosedur metode sterilisasi yang digunakan.

### D. KALIBRASI ALAT

Alat-alat yang digunakan di laboratorium produksi embrio yang memiliki skala pengukuran akan dilakukan perencanaan, perawatan dan kalibrasi secara rutin. Alat-

alat tersebut dikalibrasi dan diverifikasi secara berkala. Kalibrasi dilakukan oleh Lembaga Kalibrasi dengan jangka waktu 1-2 tahun sekali disesuaikan dengan alat yang bersangkutan ataupun berdasarkan pemakaian sedangkan verifikasi dilakukan setiap 1 (satu) bulan sekali.

## **E. INSEMINASI BUATAN (IB)**

### **1. Persiapan**

- 1.1 Merencanakan kebutuhan bahan-bahan untuk kegiatan IB, waktu pelaksanaan pengamatan berahi dan waktu IB.
- 1.2 Peralatan yang perlu dipersiapkan adalah : Gun IB, *sheat* IB, sarung tangan plastik, gunting *straw*, pinset, termometer, formulir IB.
- 1.3 Bahan-bahan yang digunakan adalah : Semen beku, ternak donor, kapas alkohol, *tissue*.
- 1.4 Kegiatan IB baik untuk kegiatan produksi embrio maupun kegiatan pembuntingan harus mengikuti Skema Sistem Perkawinan.

### **2. Pelaksanaan IB**

Pelaksanaan IB dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

- 2.1 Pengamatan berahi pada sapi donor yang diistirahatkan dari produksi dan calon donor.
- 2.2 IB dilaksanakan  $\pm$  8 jam setelah menunjukkan gejala berahi.
- 2.3 Posisikan ternak pada posisi diam.
- 2.4 Thawing straw semen dengan menggunakan air hangat (34°C - 36°C) selama 25 – 30 detik.
- 2.5 Straw semen di lap dengan menggunakan tissue kering.
- 2.6 Masukkan straw semen kedalam AI gun kemudian potong bagian penutup straw.
- 2.7 Selubungkan plastic shet IB pada AI gun.
- 2.8 Posisikan tangan kiri memegang cervix.
- 2.9 Vulva di lap menggunakan tissue non alkohol hingga bersih dari kotoran.
- 2.10 Disposisikan semen pada posisi cincin ke 4 dari cervix.
- 2.11 Melakukan pencatatan dan pengarsipan.

## **F. TRANSFER EMBRIO (TE)**

### **1. Persiapan awal**

Merencanakan : kebutuhan bahan-bahan untuk kegiatan TE, waktu pelaksanaan pengamatan berahi, seleksi resipien dan waktu TE.

### **2. Seleksi Resipien**

Ternak yang dapat dijadikan resipien harus memenuhi persyaratan:

- 2.1 Ternak resipien adalah dara atau induk dalam kondisi tidak bunting, memiliki organ reproduksi baik dan memiliki catatan reproduksi / siklus berahi normal;  
\*Catatan : dalam hal resipien, dara atau sapi lokal dilakukan justifikasi teknis untuk dapat dilakukan inseminasi buatan.
- 2.2 Performa tubuh baik dan sehat dengan *Body Condition Score* (BCS) 2,5-3,5 pada skala 5;
- 2.3 Sehat, tidak menunjukkan gejala klinis penyakit hewan menular strategis;
- 2.4 Terseleksi setelah palpasi rektal, pada salah satu ovarium memiliki *corpus luteum* (CL) fungsional.

### **3. Alat dan Bahan**

#### **3.1 Alat**

Peralatan yang perlu dipersiapkan adalah : Gun TE, spuit 5ml, jarum suntik 18G, *sheat* TE dan *outer sheat*, sarung tangan plastik, gunting *straw*, pinset, tempat/alat thawing, termometer, form seleksi resipien dan aplikasi transfer embrio.

#### **3.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah : embrio, resipien, preparat anastesi, kapas alkohol, air hangat, *tissue*.

### **4. Metode Transfer Embrio**

Metode yang digunakan :

- 4.1 Transfer embrio segar (fresh) dengan cara sebagai berikut :
  - a. Resipien dipersiapkan dan disamakan berahinya (sinkronisasi) dengan donor yang akan dipanen embrio (flushing).
  - b. Resipien yang akan di TE disiapkan terlebih dahulu dengan mengecek keberadaan *Corpus Luteum* (CL) fungsional.

- c. Embrio yang telah dipanen dengan kualitas 123, kemudian diloading ke dalam *straw* dengan media PBS.
  - d. *Straw* yang telah berisi embrio dimasukkan ke dalam gun TE, kemudian dilakukan aplikasi TE ke resipien.
  - e. Lakukan pencatatan pada formulir Seleksi resipien dan aplikasi TE.
- 4.2 Transfer embrio beku ada 2 (dua) metode yaitu :
- 4.2.1 Transfer embrio beku Langsung (direct) dengan cara sebagai berikut :
- a. Embrio yang digunakan pada metode ini adalah embrio yang telah dibekukan.
  - b. *Thawing* dilakukan dengan cara, *straw* diambil dari kontainer, diamkan di udara/suhu ruang selama 10 detik, kemudian dimasukkan ke dalam air bersuhu 38,5 °C sampai media terlihat mencair ( $\pm$  10-15 detik).
  - c. Buka label embrio dan tempelkan pada formulir Aplikasi Transfer Embrio.
  - d. *Straw* dikeringkan dengan tissue, potong ujung *straw* pada bagian sumbat laboratorium lalu dimasukkan ke dalam gun TE dan kemudian dilakukan aplikasi transfer embrio ke resipien.
  - e. Lakukan pencatatan tanggal pelaksanaan TE, kode resipien, kode embrio, posisi deposisi embrio dan petugas TE pada formulir aplikasi TE.
- 4.2.2 Transfer embrio beku bertahap (step wise) dengan cara sebagai berikut :  
Metode *stepwise* digunakan untuk mengevaluasi viabilitas (daya hidup) embrio yang telah dibekukan, sebelum dilakukan aplikasi transfer embrio.
- a. Alat dan bahan yang digunakan dalam metode ini adalah : PBS, Ethylene glikol (EG), serum, pipet pasteur, cawan petri 35x10 mm, mikroskop stereo.
  - b. Penyiapan media yang digunakan pada metode *stepwise* yaitu : EG 6.6%, EG 3.3% dan PBS yang disuplementasi dengan 20% serum.
  - c. *Thawing* dilakukan dengan cara, *straw* diambil dari kontainer, diamkan di udara/suhu ruang selama 10 detik, kemudian dimasukkan ke dalam air bersuhu 38,5 °C sampai media terlihat mencair ( $\pm$  10-15 detik).
  - d. *Straw* dipotong pada kedua sisinya untuk mengeluarkan embrio, lalu ditampung pada cawan petri 35x10 mm.
  - e. Evaluasi embrio dilakukan di bawah mikroskop stereo, embrio dengan daya hidup di atas 50% yang dinyatakan layak transfer.
  - f. Embrio yang telah dinyatakan layak transfer, kemudian diloading ke dalam *straw* dengan media PBS.

- g. Straw yang telah berisi embrio dimasukkan ke dalam gun TE, kemudian dilakukan aplikasi TE ke resipien.
- h. Lakukan pencatatan tanggal pelaksanaan TE, kode resipien, kode embrio, posisi deposisi embrio dan petugas TE pada formulir aplikasi TE.

## **5. Persiapan Transfer Embrio**

- 5.1 Untuk mempersiapkan resipien yang sesuai, dapat ditempuh dengan 3 cara yaitu secara alami (berahi alam), sinkronisasi dengan preparat hormon prostaglandin ( $PGF_{2\alpha}$ ) dan sinkronisasi menggunakan preparat progesteron. Untuk transfer embrio segar, resipien dipersiapkan dan disamakan berahinya (sinkronisasi) dengan donor yang akan dipanen embrio (flushing).
- 5.2 Jika resipien tersebut berahi, periksa dan amati kondisi berahinya seperti derajat berahi, konsistensi dan tingkat kejernihan lendir harus normal. Lakukan pencatatan tanggal berahi resipien tersebut.
- 5.3 Pada hari keenam/ketujuh setelah berahi atau sehari sebelum ditransfer, dilakukan pemeriksaan kembali kondisi ovarium, apabila terdapat *Corpus Luteum* (CL) fungsional baik ovarium kiri maupun kanan, dapat dilakukan aplikasi TE.

## **6. Pelaksanaan Transfer Embrio**

Pelaksanaan transfer embrio dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

- 6.1 Pemeriksaan pada kondisi ovarium untuk memastikan keberadaan *corpus luteum* (CL).
- 6.2 Melakukan anestesi epidural dengan preparat anestesi.
- 6.3 Melakukan *thawing* embrio dengan cara straw diambil dari kontainer, diamkan di udara/suhu ruang selama 10 detik, kemudian dimasukkan ke dalam air bersuhu 38,5 °C sampai media terlihat mencair ( $\pm$  10-15 detik).
- 6.4 Label embrio dibuka dan ditempelkan pada formulir Aplikasi TE.
- 6.5 Straw dikeringkan dengan tissue, potong ujung straw pada bagian sumbat laboratorium kemudian dimasukkan ke dalam gun TE dan tutup dengan sheat TE steril yang dibungkus *outer sheat*, kemudian dilakukan aplikasi TE ke resipien.
- 6.6 Aplikasi TE dilakukan dengan cara mendeposisikan embrio pada sepertiga depan apex kornua yang terdapat CL (ipsilateral).

## 7. Program Kelahiran Kembar (Twinning)

Program kelahiran kembar (twinning) adalah suatu usaha optimalisasi reproduksi ternak sapi betina sehingga diharapkan akan dilahirkan dua ekor pedet untuk satu kali masa beranak. Metode yang digunakan untuk menghasilkan kelahiran kembar yaitu :

### 7.1 Transfer Embrio Duplet

#### a. Transfer dua embrio

Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan 2 (dua) embrio untuk satu kali aplikasi TE pada resipien.

#### b. Splitting embrio (pemotongan embrio)

Metode ini hanya dilakukan secara terbatas pada embrio *in vivo* yang dihasilkan dari program produksi embrio *in vivo* atau MOET (Multiple Ovulation and Embryo Transfer).

### 7.2 Sinergi antara Aplikasi IB dan TE

Metode ini dilakukan dengan aplikasi TE yang dilaksanakan pada hari ke 6-8 setelah aplikasi IB. Untuk program ini pendeposisian embrio dilakukan berseberangan dengan kornua yang terdapat CL (Contralateral). Dengan metode ini, program aplikasi TE tidak mengganggu program IB yang telah direncanakan oleh inseminator sehingga program ini dapat berjalan selaras dan saling mendukung. Untuk menghindari kesalahan penentuan definisi antara pedet hasil IB dan TE, maka bangsa embrio yang digunakan dalam aplikasi TE berbeda dengan bangsa resipien atau bangsa pejantan yang digunakan pada aplikasi IB.

Syarat resipien yang digunakan untuk program twinning :

- a. Memiliki kondisi reproduksi yang baik
- b. Sapi dara atau induk dengan umur maksimal 7 tahun
- c. Performa tubuh baik dengan siklus berahi normal
- d. Tidak terjangkit penyakit menular
- e. Terdapat CL fungsional setelah dilakukan pemeriksaan palpasi rektal
- f. Berada pada kawasan *Village Breeding Center* (VBC) dengan sistem monitoring yang intensif

## 8. Pemeriksaan Kebuntingan (PKb)

Pemeriksaan kebuntingan dilaksanakan 2 (dua) sampai 3 (tiga) bulan setelah pelaksanaan kegiatan pembuntingan melalui aplikasi TE maupun kegiatan pembuntingan melalui aplikasi IB. Pemeriksaan kebuntingan dapat dilakukan dengan cara palpasi perrektal dan USG. Penggunaan USG dilakukan untuk penetapan diagnosa kebuntingan. Petugas PKb selanjutnya melaporkan hasil PKb melalui Berita Acara Pemeriksaan Kebuntingan dengan melampirkan hasil pemeriksaan. Berita Acara Pemeriksaan Kebuntingan diserahkan kepada Subkelompok Pemeliharaan Ternak untuk selanjutnya dilakukan pemeliharaan sapi bunting bagi ternak yang didiagnosa bunting.

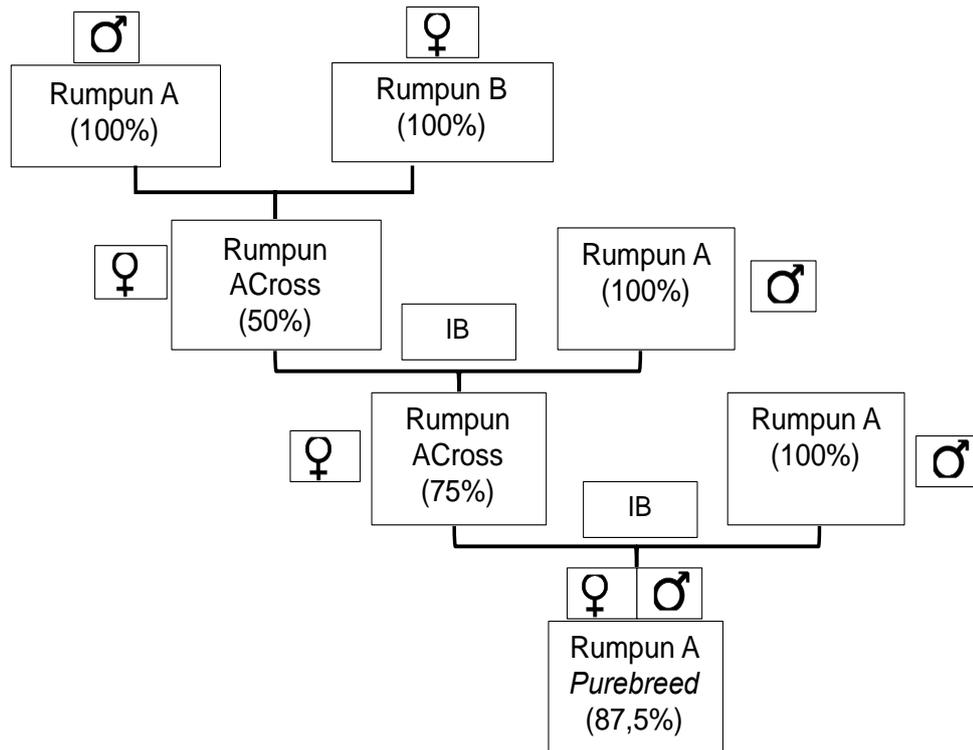
## G. SKEMA SISTEM PERKAWINAN DI BALAI EMBRIO TERNAK

Pemurnian sapi mengacu pada beberapa terminologi sebagai berikut :

1. Sapi persilangan (*crossbreed*) : merupakan sapi hasil perkawinan dari 2 rumpun berbeda yang memiliki persentase darah 25% - 87,49%
2. Sapi komposit (*composite breed*) : merupakan sapi hasil perkawina dari 3 rumpun berbeda yang memiliki persentase darah 37,5% – 62,5%.
3. *Purebreed cattle* : merupakan sapi hasil perkawinan dari 2 rumpun berbeda yang memiliki persentase darah 87,5% - 99,99%
4. *Fullblood cattle* : ternak yang memiliki persentase darah 100%.

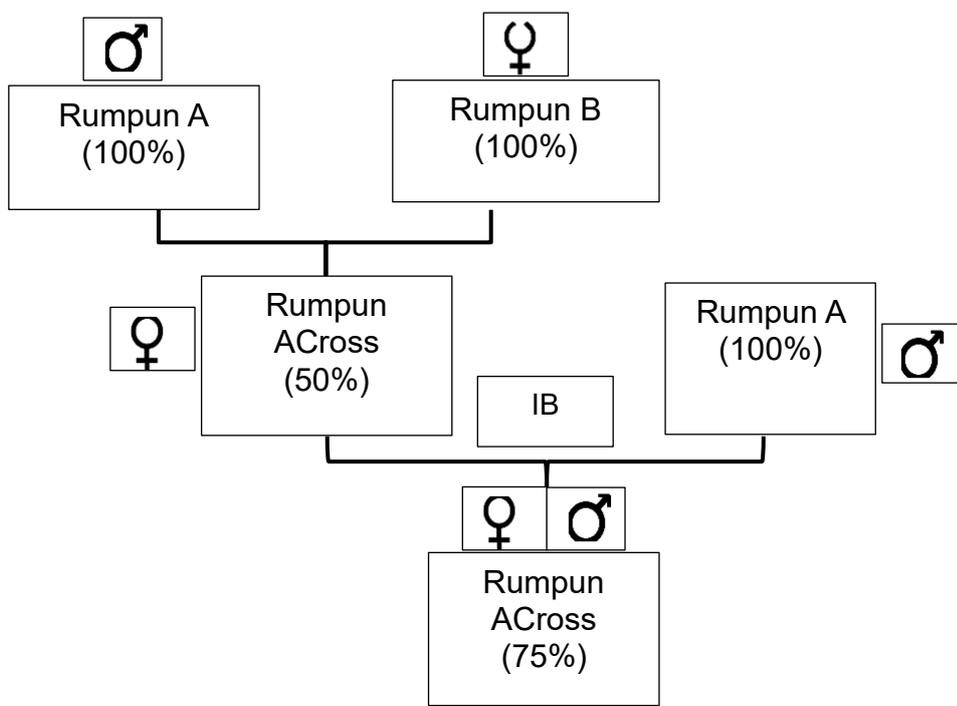
Beberapa pola perkawinan antara lain:

1. Perkawinan untuk menghasilkan *Fullblood*. Pola perkawinan untuk menghasilkan Fullblood dilakukan dengan cara mengawinkan sesama rumpun sapi. Hal ini berlaku untuk sapi dari rumpun FH, Simmental, Limousin, Angus, Brangus, Brahman, Bali, PO, Pasundan, Madura, Aceh, Belgian Blue murni, dan Kerbau Lumpur
2. Perkawinan Purebreed. Pola perkawinan untuk menghasilkan *Purebreed* dilakukan dengan cara mengawinkan 2 rumpun sapi berbeda. Hal ini berlaku untuk sapi dari rumpun Belgian Blue dan Galician Blond. Skema perkawinan *Purebreed* sebagai berikut:



Gambar 6. Skema perkawinan *Purebreed*

- Perkawinan silang (*Crossbreed*). Pola perkawinan untuk menghasilkan *Crossbreed* dilakukan dengan cara mengawinkan 2 rumpun sapi berbeda. Hal ini berlaku untuk sapi dari rumpun Belgian Blue dan Galician Blond. Skema perkawinan *Crossbreed* sebagai berikut:



Gambar 7. Skema perkawinan *Crossbreed*

Dalam rangka mendapatkan sapi dengan komposisi darah 100% diperlukan waktu yang relatif lama dan pola perkawinan yang terstruktur agar tujuan pemurnian dapat tercapai. Tujuan pemurnian yang berasal dari sapi persilangan bertujuan untuk mengetahui daya adaptasi sapi yang diharapkan. Berikut adalah dasar penentuan komposisi darah ternak hasil perkawinan:

a typical **Fullblood, Purebred, Percentage and Composite Chart**

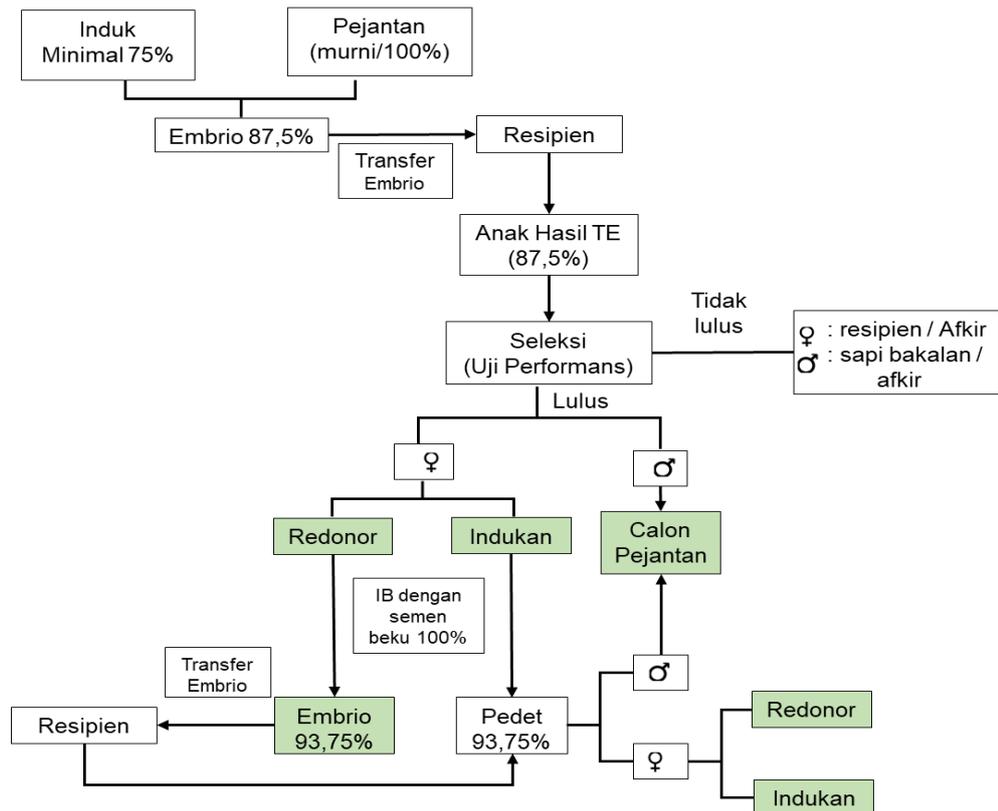
		BULL								PB		FB
		0	1/8	1/4	3/8	1/2	5/8	3/4	7/8	15/16	100%	
		0	1/16	1/8	1/8	1/4	1/4	3/8	3/8	1/2	1/2	
COW	1/8	1/16	1/8	1/8	1/4	1/4	3/8	3/8	1/2	1/2	1/2	
	1/4	1/8	1/8	1/4	1/4	3/8	3/8	1/2	1/2	5/8	5/8	
	3/8	3/16	1/4	1/4	3/8	3/8	1/2	1/2	5/8	5/8	5/8	
	1/2	1/4	1/4	3/8	3/8	1/2	1/2	5/8	5/8	3/4	3/4	
	5/8	1/4	3/8	3/8	1/2	1/2	5/8	5/8	3/4	3/4	3/4	
	3/4	3/8	3/8	1/2	1/2	5/8	5/8	3/4	3/4	7/8	7/8	
	PB	7/8	3/8	1/2	1/2	5/8	5/8	3/4	3/4	7/8	7/8	15/16
PB	15/16	1/2	1/2	5/8	5/8	3/4	3/4	7/8	7/8	15/16	31/32	
FB	100%	1/2	1/2	5/8	5/8	3/4	3/4	7/8	15/16	31/32	FB	

HOMESTEAD CATTLE.COM

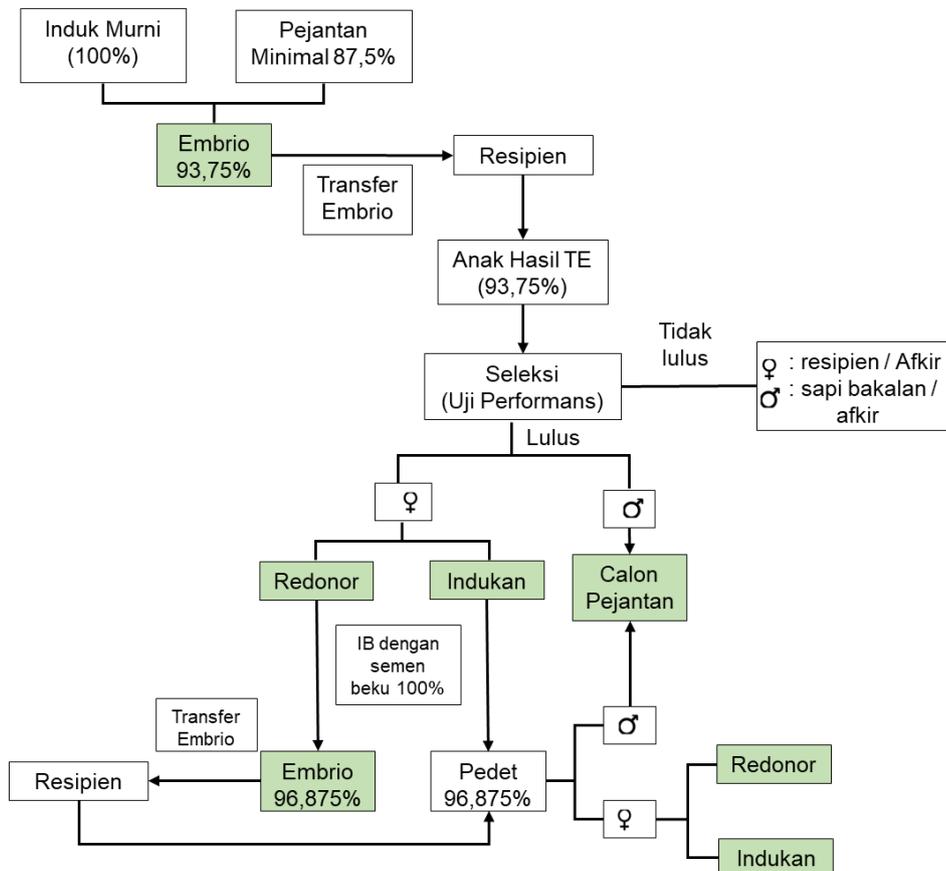
Gambar 8. Dasar penentuan komposisi darah ternak hasil perkawinan

Sumber: <https://futurebeef.com.au/resources/crossbreeding-systems-for-beef-cattle/>  
Balai Embrio Ternak (BET) sebagai UPT penghasil benih dan bibit memiliki Skema Sistem Perkawinan sebagai dasar petugas dalam melakukan kegiatan produksi embrio dan kegiatan pembuntingan. Berikut adalah skema perkawinan di BET:

- 1 Produksi embrio berasal dari sapi donor sesuai dengan persyaratan rumpunnya.
- 2 Sapi donor memiliki komposisi darah minimal 75% (rumpun yang dimaksud), semen beku / pejantan yang digunakan adalah semen beku yang berasal dari pejantan unggul dengan komposisi darah minimal 87,5% untuk menghasilkan embrio dengan komposisi darah minimal 93,75%.
- 3 Seleksi dilakukan terhadap anak hasil TE berdasarkan performans fisik, performans reproduksi, kesehatan hewan dan catatan rekording.
- 4 Anak hasil TE digunakan sebagai indukan dan redonor untuk digunakan dalam program produksi embrio untuk menghasilkan embrio dengan kemurnian yang tinggi atau dapat di inseminasi buatan dengan menggunakan semen beku dari pejantan yang murni.
- 5 Anak hasil TE jantan dengan komposisi darah minimal 87,5% yang lolos uji performan akan dijadikan calon pejantan, sedangkan yang tidak lolos akan dijadikan sapi bakalan dan di afkir dari BET.



Gambar 9. Skema 1 pembentukan benih dan bibit



Gambar 10. Skema 2 pembentukan benih dan bibit

## **H. PEMBERIAN SARAN TEKNIK PRODUKSI DAN TRANSFER EMBRIO**

Kegiatan memberikan saran teknik produksi dan aplikasi TE diberikan pada *Stakeholder* yang merencanakan atau telah melakukan kegiatan produksi dan transfer embrio di daerah. Saran teknik produksi dan transfer embrio diberikan jika menurut perencanaan atau hasil evaluasi kegiatan yang telah dilakukan, ada tahap kegiatan, bahan atau media yang digunakan dianggap belum optimal atau perlu mendapatkan perbaikan. Semua saran teknik yang diberikan mengacu pada SOP dari masing-masing kegiatan yang dilakukan. Bentuk pemberian saran teknik ini dapat berupa:

1. Kunjungan ke lapangan

Saran teknik dilakukan dengan melakukan dialog langsung antara petugas BET Cipelang dengan *Stakeholder* di daerah saat melakukan kegiatan produksi dan atau transfer embrio di lapangan.

2. Kunjungan ke BET Cipelang

Saran teknik diberikan kepada *Stakeholder* yang sedang berkunjung ke BET Cipelang.

3. Surat atau surat elektronik

Saran teknik diberikan dengan membalas surat, surat elektronik (email) atau BET Cipelang secara aktif memberikan beberapa saran teknis kegiatan yang sebaiknya dilakukan sebelum kegiatan utama dilaksanakan

4. Informasi melalui website

Website BET Cipelang yang beralamatkan di [betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id](http://betcipelang.ditjenpkh.pertanian.go.id) menyediakan banyak informasi yang berhubungan dengan produksi dan transfer embrio. *Stakeholder* di lapangan dapat menggunakan media ini untuk mendapatkan informasi/saran teknik terkait teknologi produksi dan transfer embrio. Pertanyaan juga dapat dikirimkan melalui menu yang tersedia pada website ini.

## **I. JUSTIFIKASI PENGGUNAAN BAHAN DAN MEDIA KEPERLUAN PRODUKSI EMBRIO YANG KADALUARSA**

Bahan dan media produksi embrio yang telah melewati tanggal kadaluarsa masih dapat digunakan kembali setelah dilakukan pemeriksaan dan justifikasi oleh dokter hewan. Pemeriksaan bahan dan media dilakukan terhadap bentuk, warna, bau, pH dan homogenitas. Apabila tidak terjadi perubahan terhadap bentuk, warna, bau dan pH, tidak terbentuk kristalisasi dan tidak ada perubahan dari bening menjadi keruh (berubah) maka masih dapat dimanfaatkan. Namun apabila terjadi perubahan dari satu atau lebih kriteria tersebut diatas maka tidak dapat dipergunakan.

Bahan dan media yang sudah tidak dapat dipergunakan dikumpulkan dan diserahkan ke bagian pengelola limbah Balai Embrio Ternak untuk dilakukan pemusnahan sesuai dengan peraturan yang berlaku.

### III PENUTUP

Standar Operasional Prosedur Tim Kerja Produksi Tahun 2025 merupakan penyempurnaan edisi sebelumnya. Standar Operasional Prosedur ini menjadi acuan dan pedoman setiap kegiatan yang dilakukan agar setiap bagian dapat melaksanakan kegiatannya dengan baik. Pelaksanaan manajemen produksi embrio dan aplikasi transfer embrio yang baik diharapkan dapat menghasilkan benih dan bibit yang berkualitas.

Penyusunan SOP ini tentunya tidak luput dari kekurangan sehingga pengembangan dan perbaikan senantiasa akan dilakukan. Saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sangat kami harapkan demi perbaikan di masa mendatang. Ucapan terima kasih penyusun sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan SOP ini. Semoga dengan diterbitkannya SOP ini, setiap kegiatan dapat berjalan dengan baik sehingga dapat mencapai tujuan yang telah ditetapkan.

Mengetahui dan Menyetujui,



Kepala Balai,

Deasy Zamanti, S.Pt, M.Si

Ketua Tim Kerja Produksi

Anny Rosmayanti, S.Pt.

	<b>BALAI EMBRIO TERNAK CIPELANG</b>	Nomor : 10/BET/Form/01/2020
	<b>Formulir Perubahan ISO</b>	Tanggal Terbit : 02 Januari 2020 Tanggal Revisi : 22 Juli 2022 Revisi : 2 Halaman : 1 dari 1

Prosedur pengisian perubahan dokumen mutu

- 1 Tuliskan setiap perubahan pada kolom yang disediakan
- 2 Tuliskan nomor bagian/bab dokumen yang akan dirubah pada kolom semula dan kolom menjadi
- 3 Tuliskan halaman keberapa dokumen yang akan dirubah
- 4 Lakukan paraf yang mengisi perubahan
- 5 Keterangan: keterangan terhadap perubahan yang dilakukan

Nama Dokumen : **STANDAR OPERASIONAL PROSEDUR TIM KERJA PRODUKSI TAHUN 2025 REVISI 1**

NO.	TANGGAL REVISI	PERUBAHAN		HALAMAN	KETERANGAN	PARAF		
		SEMULA	MENJADI					
1	11-Feb-25	SNI Embrio Ternak Sapi no SNI 7880:2013	SNI Embrio Ternak nomor SNI 7880:2024	1	Perubahan nomor SNI (perbaharuan)			
2	11-Feb-25	<b>2. Pelaksanaan Produksi Embrio In Vivo</b>						
		<b>2.9. Pengecekan/Penilaian Kualitas Embrio (Quality Control Embryo)</b>						
		tidak ada	f.Memastikan embrio layak transfer melewati prosedur pencucian embrio mengacu pada International Embryo Transfer Society (IETS), IETS 4th Edition Tahun 2010 Chapter 6. Rekomendasi handling embrio in vivo.	7	penambahan klausul			
		<b>2.10. Pencucian Embrio (Washing)</b>						
		tidak ada	2.10Pencucian Embrio (Washing) Prosedur pencucian embrio mengacu pada International Embryo Transfer Society (IETS), IETS 4th Edition Tahun 2010 yaitu pencucian dilakukan dengan media PBS sebanyak 10 kali dalam cawan petri yang berbeda dengan	8	penambahan klausul			
		<b>2.13. Identitas Embrio</b>					8	revisi kata "kode embrio" menjadi "label embrio"
		Identitas embrio tercantum dalam kode embrio, susunan identitas embrio memuat	Identitas embrio tercantum dalam label embrio, susunan identitas embrio memuat					
		a.Baris pertama memuat informasi kode produsen, nomor betina dan nomor urutan embrio,	a.Baris pertama memuat informasi kode produsen, kode betina dan kode embrio					
tidak ada	b.Kode embrio terdiri dari: 1.Nomor urutan 2.Fase 3.Kualitas 4.Kode (VV = embrio in vivo; VC = embrio hasil kultur; VF = embrio in vitro)	8	penambahan klausul					
3	11-Feb-25	<b>3. Pelaksanaan Produksi Embrio In vitro melalui metode OPU</b>						
		<b>3.9. Pengkodean Straw</b>						

**BALAI EMBRIO TERNAK CIPELANG**

Nomor : 10/BET/Form/01/2020

Tanggal Terbit : 02 Januari 2020

Tanggal Revisi : 22 Juli 2022

Revisi : 2

Halaman : 1 dari 1

**Formulir Perubahan ISO**

Prosedur pengisian perubahan dokumen mutu

- 1 Tuliskan setiap perubahan pada kolom yang disediakan
- 2 Tuliskan nomor bagian/bab dokumen yang akan dirubah pada kolom semula dan kolom menjadi
- 3 Tuliskan halaman keberapa dokumen yang akan dirubah
- 4 Lakukan paraf yang mengisi perubahan
- 5 Keterangan: keterangan terhadap perubahan yang dilakukan

Nama Dokumen : **STANDAR OPERASIONAL PROSEDUR TIM KERJA PRODUKSI TAHUN 2025 REVISI 1**

NO.	TANGGAL REVISI	PERUBAHAN		HALAMAN	KETERANGAN	PARAF
		SEMULA	MENJADI			
		Pengkodean Straw menggunakan kertas label berwarna putih dengan sistem penulisan berdasarkan urutan informasi yang diuraikan sebagai berikut:  1. Metode produksi embrio (IVF) 2. Kode pejantan 3. Tanggal produksi (tanggal pembekuan)	Identitas embrio tercantum dalam label embrio, susunan identitas embrio memuat : a. Baris pertama memuat informasi kode produsen, kode betina dan kode embrio, b. Kode embrio terdiri dari: 1. Nomor urutan 2. Fase 3. Kualitas 4. Kode VF (embrio in vitro) c. Baris kedua memuat informasi kode semen/pejantan dan tanggal pembekuan	19	penambahan klausul	