

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

KIK S

KIK

636.08245

Pem

**PENGARUH PEMBEKUAN SEMEN KAMBING
(FROZEN SEMEN TYPE PELLET) TERHADAP
DAYA FERTILISASI DENGAN PENGUJIAN
METODE FLUSHING EMBRYO**

3000092963141-8

Ketua Peneliti :

Drh. Tatik Hernawati

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

PAMERAN

01 JAN 1997



SELESAI



30000929631418

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1995/1996

SK. Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Nomor : 23

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

**PENGARUH PEMBEKUAN SEMEN KAMBING
(FROZEN SEMEN TYPE PELLET) TERHADAP
DAYA FERTILISASI DENGAN PENGUJIAN
METODA FLUSHING EMBRYO**

3000092963141

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SUDHARMA

Peneliti :

Drh. Tatik Hernawati
Dr. Hardijanto, M.S., Drh.
Drh. Indah Norma Triana
Drh. Herry Agoes Hermadi
Drh. Tri Wahyu Suprayogi

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP OPF Unair 1995/1996

SK.Rektor Nomor : 6907/PT03.H/N/1995

Nomor urut : 23



UNIVERSITAS AIRLANGGA

LEMBAGA PENELITIAN

1. Puslit dan Pembangunan Regional
2. Puslit Obat Tradisional
3. Puslit Pengembangan Hukum

4. Puslit Lingkungan Hidup
5. Puslit dan Pengembangan Gizi
6. Puslit/Studi Wanita
7. Puslit Olahraga

8. Puslit Kependudukan dan Pembangunan
9. Puslit Bioenergi
10. Puslit/Studi Kesehatan Reproduksi

Jl. Darmawangsa Dalam No. 2 Telp. (031) 42322 Fax. (031) 42322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

=====

1. a. Judul Penelitian : Pengaruh Pembekuan Semen Kambing (Frozen Semen Type Pellet) Terhadap Daya Fertilisasi Dengan Pengujian Metoda Flushing Embryo
b. Macam Penelitian : (V) Fundamental, () Terapan, () Pengembangan
2. Kepala Proyek Penelitian
a. Nama Lengkap Dengan Gelar : drh. Tatik Hernawati
b. Jenis Kelamin : W a n i t a
c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata/IIIC/131 653 459
d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
e. Fakultas/Jurusan/Puslit : Kedokteran Hewan/Reproduksi dan Kebidanan
f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Reproduksi Ternak
3. Jumlah Tim Peneliti : 5 (lima) orang
4. Lokasi Penelitian : Fak. Kedokteran Hewan Unair
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
a. Nama Instansi : -
b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 (lima) Bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 3.000.000,00
8. Hasil Seminar Penelitian :
a. Dilaksanakan Tanggal : 8 Maret 1996
b. Hasil Penilaian : ~~() Baik Sekali~~ (V) B a i k
() S e d a n g () K u r a n g

Surabaya, 14 Maret 1996



Mengetahui/ Mengesahkan :
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini
NIP. 130 355 372

RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian : PENGARUH PEMBEKUAN SEMEN KAMBING (FROZEN SEMEN TYPE PELLET) TERHADAP DAYA FERTILISASI DENGAN PENGUJIAN METODA FLUSHING EMBRYO

Ketua Peneliti : Tatik Hernawati

Anggota Peneliti : Hardijanto
Indah Norma Triana
Herry Agoes Hermadi
Tri Wahyu Suprayogi

Fakultas/Puslit : Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Sumber Biaya : DIP Operasional dan perawatan Fasilitas tahun 1995/1996
SK. Rektor Nomor : 8907/PT03.H/N/1995
Tanggal 24 Agustus 1995

Dimasa mendatang inseminasi buatan pada domba/kambing akan memegang peranan penting dalam program peternakan di Indonesia. Karena di Indonesia peternakan domba/kambing saat ini masih bersifat tradisional dan pemanfaatan teknologi inseminasi buatan masih belum dilaksanakan dan masih taraf percobaan maka diperlukan usaha-usaha lebih lanjut (Hardjopranto, 1981). Berdasarkan hal tersebut diatas peneliti mencoba untuk melakukan proses pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) untuk diketahui daya fertilisasinya dimana dilakukan dengan pengujian metode flushing Embryo.

Berdasarkan uraian diatas timbul permasalahan apakah ada pengaruh pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) terhadap daya fertilisasi dengan pengujian metoda Flushing embryo.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sejauh mana pengaruh pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) terhadap daya fertilisasi dengan pengujian flushing Embryo.

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memacu program Inseminasi buatan pada kambing maupun domba dengan demikian dapat meningkatkan mutu genetik ternak kambing maupun domba.

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ada pengaruh pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) terhadap daya fertilisasi.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Inseminasi Buatan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ekor kambing betina dewasa dan 2 ekor kambing jantan untuk diambil air maninya.

Sampel yang digunakan adalah 10 ekor kambing betina sudah

dewasa kemudian dikelompokkan menjadi dua kelompok secara acak. Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :

Kelompok I : Sebagai kontrol yang terdiri dari 5 ekor kambing betina di inseminasi dengan Tris tanpa pembekuan.

Kelompok II : kelompok ini terdiri dari 5 ekor kambing betina di inseminasi dengan air mani yang diencerkan dengan Tris yang dibekukan dengan tipe pelet.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah corpus luteum dan embrio antara kelompok perlakuan tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol ($p > 0.05$), ini berarti bahwa air mani yang diencerkan dengan Tris yang dibekukan dengan tipe pelet sama baiknya dengan air mani yang diencerkan dengan Tris yang tanpa dibekukan.

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa air mani yang diencerkan dengan Tris yang dibekukan dengan tipe pelet mempunyai daya fertilisasi yang sama baiknya dengan air mani yang diencerkan dengan Tris yang tanpa dibekukan.

Saran dalam penelitian ini adalah perlu diteliti mengenai tipe-tipe semen beku lainnya dalam hal fertilisasinya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kita panjatkan kepada Allah S.W.T yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya sehingga dapat diselesaikannya penulisan hasil laporan penelitian dengan judul "Pengaruh pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) terhadap daya fertilisasi dengan pengujian metoda Flushing embryo". yang dibiayai oleh DIP/OPF Unair 1995/1996.

Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terimakasih serta penghargaan yang seting-tingginya kepada yang terhormat :

1. Rektor Universitas Airlangga Surabaya
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
4. Drh. Herliantin Kepala Seksi Produksi BIB Singosari
5. Rekan-rekan sejawat yang telah banyak membantu kami dalam pelaksanaan penelitian ini, serta kepada semua pihak yang secara langsung telah ikut menyumbangkan tenaga dan pikiran dalam pelaksanaan penelitian ini

Kami menyadari bahwa penelitian ini masih memerlukan banyak kesempurnaan, untuk ini peneliti mengharapkan saran dan kritik dari sejawat. Semoga hasil penelitian ini dapat berpengaruh bagi ilmu pengetahuan pada umumnya, khususnya di bidang peternakan.

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN PENELITIAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang Penelitian	1
I.2. Rumusan Masalah	3
I.3. Tujuan Penelitian	3
I.4. Kontribusi Penelitian	3
I.5. Hipotesis Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. Kambing	5
II.2. Sistim Reproduksi Kambing Jantan	5
II.3. Dewasa Kelamin Kambing Jantan	6
II.4. Air Mani Kambing	6
II.5. Bahan Pengencer Air Mani	7
II.6. Pembekuan Air Mani	8
II.7. Sistim Reproduksi Kambing Betina	9
II.8. Sinkronisasi Birahi, Super Ovulasi dan In- seminasi Buatan pada Kambing	10
II.9. Fertilisasi	11
II.10 Flushing Embryo	11
BAB III METODA PENELITIAN	13
III.1. Waktu dan Tempat Penelitian	13
III.2. Peralatan Penelitian	13
III.3. Bahan Penelitian	13
III.4. Prosedure Penelitian	14
III.5. Identifikasi Variabel dan Definisi Opera- sional	15
III.6. Analisis Data	16
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	25
DAFTAR PUSTAKA	26

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pemeriksaan makroskopis air mani 2 ekor kambing pejantan dalam satu ka- li ejakulasi	17
Tabel 2. Hasil pemeriksaan mikroskopis air mani 2 ekor kambing pejantan dalam satu ka- li ejakulasi	18
Tabel 3. Rata-rata Jumlah Corpus Luteum, Jumlah Embrio Pada Kelompok Kontrol dan Per- lakuan	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Analisis terhadap penyebaran corpus luteum	27
Lampiran 2. Analisis terhadap perolehan embryo hasil flushing	27
Lampiran 3. Metoda Flushing Embryo Pada Kambing	28
Lampiran 4. Prosedur Pembekuan Air Mani Tipe Pellet	30

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang Penelitian

Kambing merupakan salah satu ternak yang potensinya besar, hal ini berkaitan dengan keistimewaan biologi yang dimilikinya serta bukti penyebarannya yang sangat luas. Kambing banyak dijumpai di daerah Afrika, Timur Tengah, Asia Selatan dan Asia Tenggara (Dwyanto, 1986).

Kambing juga merupakan sumber daging yang amat penting yang berasal dari ternak kecil. Terutama bagi petani kecil, ternak kambing mempunyai keuntungan antara lain mampu mendayagunakan sumber hijauan yang tidak berguna secara lebih efisien (rumput jalanan, daun pisang dan lain-lain), ukuran kecil, cepat dewasa kelamin dan berkembang biak, mudah beradaptasi. Disamping itu penjualan sebagai ternak potong lebih mudah dan daya jualnya tinggi (Hutasoit, 1978).

Selama ini pemeliharaan ternak kambing masih bersifat tradisional sehingga sangat diperlukan pembinaan untuk meningkatkan daya produktivitas, hal ini mutlak memerlukan adanya perbaikan mutu genetik, dimana ini harus ditempuh melalui penyediaan dan penyebaran bibit unggul terutama pejantan unggul. Salah satu cara yang dapat membantu memecahkan masalah peningkatan mutu ternak kambing adalah seleksi yang ketat pada pejantan dan pelaksanaan metoda kawin suntik (Hardjopranjoto, 1981).

Teknologi kawin suntik atau inseminasi buatan mempunyai

beberapa manfaat antara lain berlangsungnya perkawinan tanpa harus ada pejantan, resiko penyebaran penyakit berkurang, peningkatan mutu genetik lebih cepat dan murah, ini semua kalau diringkas tidak lain adalah efisiensi nilai ekonomis (Suprayogi, 1995).

Menurut Partodihardjo (1992) ; Hafez (1987) keberhasilan inseminasi buatan dipengaruhi oleh beberapa faktor dimana keberhasilan ini salah satunya dapat diukur dengan conception rate. Conception rate yang rendah bukan saja disebabkan oleh rendahnya ketrampilan inseminator, tetapi disebabkan juga oleh faktor-faktor lain yang terutama bersifat biologis dari ternak. Seperti yang dikatakan Davendra (1994) kemungkinan untuk menerapkan tehnik inseminasi buatan guna mempercepat penyebaran dengan genotip unggul dalam populasi kambing, menyebabkan kualitas semen kambing dan hal-hal yang berkaitan menarik perhatian. Hal ini terutama bila nantinya untuk pembuatan frozen semen perlu mendapat perhatian jangan sampai air mani yang berkualitas sangat rendah karena perlakuan yang kurang baik (banyak sel-sel spermatozoa yang mati) masih dipakai dalam inseminasi buatan.

Pada sapi penggunaan semen beku sudah sejak tahun 1973 dimana Indonesia masih impor dari luar negeri dalam bentuk jerami plastik (straw). Berhubung harga semen beku cukup mahal maka sulitlah menggantungkan diri pada luar negeri. Untuk itu dibuat semen beku bentuk butiran (pellet) walaupun masih dalam jumlah sangat terbatas namun sudah terjadi kelahiran pada sapi yang diiseminasikan. Maka dapat dikatakan bahwa sejak tahun

1974 hampir semua inseminasi pada sapi di Indonesia dilakukan dengan menggunakan semen beku (Toilehere, 1981).

Dinasa mendatang inseminasi buatan pada domba/kambing akan memegang peranan penting dalam program peternakan di Indonesia. Karena di Indonesia peternakan domba/kambing saat ini masih bersifat tradisional dan pemanfaatan teknologi inseminasi buatan masih belum dilaksanakan dan masih taraf percobaan maka diperlukan usaha-usaha lebih lanjut (Hardjo-pranjoto, 1981). Berdasarkan hal tersebut diatas peneliti mencoba untuk melakukan proses pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) untuk diketahui daya fertilisasinya dimana dilakukan dengan pengujian metode flushing Embryo.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas timbul permasalahan apakah ada pengaruh pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) terhadap daya fertilisasi dengan pengujian metoda Flushing embryo.

I.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sejauh mana pengaruh pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) terhadap daya fertilisasi dengan pengujian flushing Embryo.

I.4. Kontribusi Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memacu program Inseminasi buatan pada kambing maupun domba dengan demikian dapat mening-

katkan mutu genetik ternak kambing maupun domba.

I.5. Hipotesis Penelitian

Ada pengaruh pembekuan semen kambing (Frozen Semen Type Pellet) terhadap daya fertilisasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Kambing

Menurut Davendra (1980) usaha untuk meningkatkan penelitian serta keinginan untuk mengembangkan memerlukan pengenalan atas pola pemilikan kambing di berbagai negara tropis. Usaha tersebut terutama ditujukan pada pemilik kambing dalam jumlah kecil atau petani penggarap dan pekerja tani yang tidak mempunyai lahan, yang merupakan bagian terbesar dari orang-orang miskin di dunia.

Di Indonesia telah dikenal berbagai jenis kambing yang dipelihara masyarakat terutama didesa. Tetapi kebanyakan kambing-kambing tersebut sudah tidak dikenali kemurnian jenisnya dan hanya sebagian kecil saja yang masih murni. Menurut catatan Direktorat Jendral Peternakan tahun 1987 populasi ternak kambing di Jawa Timur adalah 26344 ekor, dan apabila dilihat dari populasi penduduknya jumlah tersebut masih sangat kecil sehingga perlu adanya peningkatan mutu genetik dari ternak kambing.

II.2. Sistem Reproduksi Kambing Jantan

Organ reproduksi hewan jantan dibagi atas tiga bagian yaitu testes sebagai organ kelamin primer dan serangkaian saluran kelamin berupa saluran-saluran yang menghubungkan testes dengan dunia luar yaitu vas eferens, epididymis, vas deferens dan uretra. Saluran-saluran ini dilengkapi dengan

sekelompok kelenjar kelamin pelengkap, yaitu vesikula seminalis, protata dan bulbouretralis serta organ lainnya adalah alat kelamin luar atau alat kopulasi yaitu penis (Hafez, 1987 ; Evans, 1987).

II.3. Dewasa Kelamin Kambing Jantan

Dewasa kelamin adalah periode dalam kehidupan jantan dan betina dimana proses-proses reproduksi mulai terjadi yang ditandai oleh kemampuan untuk pertama kalinya memproduksi benih (Partodihardjo, 1992).

Menurut Toilehere (1981) pada umumnya anak kambing jantan mencapai dewasa kelamin pada umur delapan bulan dengan variasi empat sampai dua belas bulan. Pada umur ini akan terlihat tingkah laku hewan sering menaiki kawan dan induknya, terlihat pula perkembangan penisnya yang mulai aktif yaitu sering ereksi dan mengadakan ejakulasi.

Tercapainya dewasa kelamin bagi setiap individu berbeda-beda karena dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain umur, makanan, iklim, jenis dan kondisi kambing. Dengan kondisi dan makanan yang baik, kambing mampu menghasilkan sel mani yang fertil pada umur enam bulan (Hafez, 1987).

II.4. Air Mani Kambing

Menurut Toilehere (1979) air mani adalah sekresi kelamin jantan yang secara normal diejakulasikan ke dalam saluran kelamin betina sewaktu kopulasi, tetapi dapat pula ditampung dengan berbagai cara untuk keperluan inseminasi buatan.

Air mani dari satu species hewan dengan species yang lain mempunyai perbedaan dalam sifat-sifatnya. Perbedaan ini terletak pada volume, kekentalan, derajat keasaman, konsentrasi, warna bau dan volume (Hardjopranjoto, 1981 ; Evans, 1987). Menurut Toilehere (1981) ; Hafez (1987) volume air mani kambing mencapai 0.8 ml, konsentrasi sel mani berkisar 800 juta - 4000 juta tiap ml.

Menurut Hafez (1987) ; Evans (1987) air mani kambing seperti pada hewan ruminansia lainnya yaitu terdiri dari bagian yang padat disebut sel-sel mani atau sel spermatozoa yang dihasilkan oleh testes dan disimpan di dalam epididymis serta bagian cairan air mani yang dihasilkan oleh kelenjar asesoris. Air mani kambing mengandung sel spermatozoa sebanyak sepertiga bagian dan duapertiga bagian adalah cairan air mani yang didalamnya banyak mengandung fruktosa.

Susunan cairan air mani sangat bervariasi tergantung kepada aktifitas dari masing-masing kelenjar. Pada kambing cairan air mani mengandung glycerilphosphorylcholin dalam kadar yang tinggi dibanding pada sapi, babi dan kuda. Bahan organik maupun anorganik yang dikandung dalam air mani berbeda-beda dari satu spesies dengan spesies lain (Hardjopranjoto, 1981).

II.5. Bahan Pengencer Air Mani

Dalam proses kawin suntik diperlukan kualitas dan kuantitas air mani yang tinggi, jika kualitas dan kuantitas memuaskan, maka air mani yang baru ditampung tersebut dapat diencer-

kan dengan bahan pengencer supaya tahan lama dan bisa dipakai sewaktu-waktu untuk keperluan kawin suntik (Toilehere, 1981).

Menurut Hardjopranjoto (1981) macam bahan pengencer harus yang dipakai dalam penyimpanan harus sedemikian rupa, sehingga kualitas yang tinggi dari air mani tetap dipertahankan. Selain untuk meningkatkan volume air mani, pengenceran dapat dimungkinkan untuk pembuatan semen beku sehingga dapat digunakan untuk pengiriman jarak jauh. Syarat penting yang harus dimiliki oleh setiap bahan pengencer ialah harus mengandung zat makanan sebagai sumber energi bagi sel mani.

Menurut Evans (1987) bahan pengencer untuk air mani kambing yang akan dibekukan yang sesuai adalah menggunakan bahan pengencer Tris (hydroxymethyl) amino methane glucose egg yolk.

II.6. Pembekuan Air Mani

Pembekuan adalah fenomena pengeringan fisik. Apabila suatu larutan dibekukan, pelarut, yaitu air, membeku menjadi kristal-kristal es, dan bahan terlarut tidak bersatu dengan kristal-kristal tersebut melainkan berakumulasi dan makin pekat. Pada pembekuan semen dimana terbentuk kristal kristal es, terjadi penumpukan elektrolit dan bahan terlarut lainnya di dalam larutan atau di dalam sel-sel. kristal-kristal es intraseluler dapat merusak spermatozoa secara mekanik selubung lipoprotein dinding sel sperma dan pada waktu pencairan kembali (Thawing), permeabilitas membran sel akan berubah dan menyebabkan kematian sel spermatozoa sapi banyak mengalami rusak-

an pada suhu kritik antara $-1,5^{\circ}$ dan -30° , rata-rata pada suhu -17°C . kerusakan 20 persen dari seluruh spermatozoa pada waktu pembekuan masih dianggap memuaskan (Toilehere, 1981).

Pembekuan semen dalam bentuk yang paling sederhana adalah bentuk butiran atau pellet. air mani yang dibekukan, diencerkan dalam perbandingan yang rendah, sehingga air mani masih dalam keadaan kental. Larutan pengencer sebagian dicampur sewaktu pencairan kembali (thawing) dengan demikian frozen semen bentuk ini menjadi lebih ringkas dosis maninya untuk satu kali inseminasi waktu penyimpanan. Berbagai-bagai macam diluter telah diselidiki dalam hubungannya dengan pemakaian pellet ini untuk frozen semen. Demikian pula ukuran pellet, equilibration time dan freezing rate.

Beberapa pejantan yang air maninya dalam ampul memberikan conception yang rendah, dalam bentuk pellet conception lebih tinggi. Inseminasi di Inggris dan pusat inseminasi buatan lain kira 30-60 non return rate sebesar 78,8% dan 72,3% dari lebih dari 10.000 sampai yang diinseminasi dengan pellet. Dari hasil tersebut diambil kesimpulan bahwa frozen semen bentuk pellet memberikan conception rate yang cukup memuaskan (Harjopranto, 1980 ; Evans, 1987).

II.7. Sistem Reproduksi Kambing Betina

Secara anatomi alat kelamin kambing betina dapat dibagi dalam tiga bagian besar yaitu pertama gonad atau ovarium yang merupakan alat kelamin yang utama, kedua adalah saluran reproduksi betina terdiri dari oviduct atau tuba falopii, uterus

yang terbagi atas kornua uteri dan korpus uteri, serviks dan vagina (Hafez, 1987 ; Evans, 1987).

Kambing betina seperti juga domba betina mulai menunjukkan birahi pada umur sembilan sampai sepuluh bulan mulai dapat dikawinkan disarankan pada umur antara 1-2 tahun (Speeding, 1965). Tanda birahi pada kambing betina menurut Evans (1987) lebih kelihatan daripada domba betina. Tanda yang terlihat adalah vulva dan vagina mengeluarkan sekreta mucus, ekor dikibas-kibaskan, membiarkan bagian belakang tubuh dicium dan mendekati pejantan. Biasanya digunakan teaser males (pejantan pengusik) untuk mendeteksi oestrus sekelompok kambing betina.

Kambing-kambing betina di Indonesia kegiatan reproduksinya sepanjang tahun dan tidak dipengaruhi oleh perbedaan musim (Natasasmita, 1967). Lama estrus kambing berkisar antara 16 sampai 50 jam dan ovulasi terjadi 30-36 jam sesudah permulaan dari estrus (Evans, 1987).

II.8. Sinkronisasi Birahi , Super ovulasi dan inseminasi pada kambing

Menurut Bearden & Fuquay (1992) sinkronisasi adalah upaya untuk membuat birahi secara bersamaan sekelompok hewan betina sehingga nantinya dapat dilakukan inseminasi buatan dalam satu waktu. Sinkronisasi birahi pada kambing dapat digunakan preparat PgF2 alfa dan dianjurkan penggunaannya diulang dengan interval 12 hari dan dosis yang dianjurkan 15 mg perekor dengan aplikasi intra muskuler (Hafez, 1987).

Super ovulasi adalah suatu keadaan dimana suatu saat bi-

rahi dihasilkan beberapa sel telur. Rangsangan super ovulasi dapat digunakan PMSG 1500 IU dan HCG 1000 IU (Morrow, 1986).

Inseminasi buatan harus dilakukan pada bagian kedua dari periode estrus, yaitu antara 12 sampai 18 jam sesudah pertama kali terlihat berahi, sebaiknya pada kambing inseminasi dilakukan dua kali menurut Fraeser (1982) yang dikutip Toilehere (1981).

II.9. Fertilisasi

Fertilisasi adalah peleburan sebuah ovum dan spermatozoa dan menghasilkan sel yang diploid baru dengan $2n$ chromosome disebut sebuah embryo (zigote) (Evans, 1987). Dimana menurut Toilehere (1979) fertilisasi adalah proses ganda yaitu dalam aspek *embriologik*, fertilisasi meliputi pengaktifan ovum oleh spermatozoa. Tanpa rangsangan fertilisasi, ovum tidak akan memulai "cleavage" dan tidak ada perkembangan embriologik. Aspek yang lain adalah aspek genetik, fertilisasi meliputi memasukkan faktor-faktor heriditas pejantan ke dalam ovum. Disini terletak manfaat perkawinan atau inseminasi, ialah untuk mrnyatukan faktor-faktor unggul kedalam satu individu.

II.10. Flushing Embryo

Metoda flushing embryo adalah salah satu tahap dari tehnik embryo transfer setelah sinkronisasi, super ovulasi dan inseminasi. Menurut Hafez (1987), pada sapi, pemanenan embryo pada hari ke 7 dan ke 8 dari siklus dapat dilakukan karena

pada saat itu embryo dalam bentuk morula atau blastula. Sedang Armstrong dkk (1982), flushing embryo dilakukan setelah hari kelima siklus berahi. Pada kambing flushing embryo dilakukan 3 hari setelah inseminasi seperti halnya pada domba (Hermadi, 1993).

Pemanenan embryo dapat dilakukan dengan dua cara yaitu cara tanpa pembedahan dan cara pembedahan. Cara pemanenan embryo dengan sistim bedah dapat dilakukan melalui mid ventral laparotomi (Epleston, 1982 ; Jillela, 1982).

BAB III

METODA PENELITIAN

III.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Inseminasi Buatan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, yang dilaksanakan selama 4 bulan yaitu pada bulan September sampai dengan bulan Desember 1985.

III.2. Peralatan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kandang kambing percobaan lengkap dengan tempat makan dan minum. Vagina buatan lengkap beserta tabung skala untuk menampung air mani, spekulum, alat inseminasi untuk kambing, senter, obyek glass, cover glass, pembakar bunsen, thermometer, pipet, timbangan mikro, haemocytometer thoma, alat pence- tak pellet, alat suntik 1ml, 2,5 ml, 5 ml, batang pengaduk, thermos, beker glas 250 ml, tabung erlenmeyer 250 ml, mikroskop, tabung reaksi, gelas ukur 100 ml, kertas pH, tabung reaksi. Alat untuk operasi meliputi mikroskop stereo, cawn ptri, scalpel, piset, pipet pasteur, introducer, gunting operasi, kapas, benang jahit, arteri klem.

III.3. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ekor kambing betina dewasa dan 2 ekor kambing jantan untuk diambil air maninya. Makanan kambing dan obat-obatan meliputi

rumput, dedak, vitamin, obat cacing dan antibiotika. Bahan sinkronisasi birahi digunakan PgF 2 a (Enzaprost) serta hormon PMSG (Foligon Intervet), HCG (Chorulon Intervet) untuk bahan super ovulasi.

Bahan pemeriksaan kualitas dan kuantitas spermatozoa meliputi larutan NaCl 1%, larutan eosin negrosin. larutan eosin+larutan NaCl 3%, alkohol 70 %, spiritus serta bahan pengencer dan pembuatan frozen semen tipe pellet yaitu diluter Tris, glyserol CO₂ padat.

III.4. Prosedur Penelitian

Air mani diambil dari kambing jantan, pejantan sebelum penelitian dilatih dulu untuk diambil air maninya. Penampungan dilakukan dengan memakai vagina buatan. Air mani yang diperoleh diperiksa secara makroskopis meliputi volume, bau, warna, pH dan konsistensi serta pemeriksaan mikroskopis meliputi gerakan massa, gerakan individu, persentase hidup/mati, konsentrasi rusia dan thoma dan pemeriksaan resistensi test. Setelah didapatkan hasil yang memuaskan maka dilakukan pengenceran dalam diluter Tris dan pembekuan dilakukan pada CO₂ padat, prosedur pembekuan lihat lampiran 4.

Sampel yang digunakan adalah 10 ekor kambing betina sudah dewasa kemudian dikelompokkan menjadi dua kelompok secara acak. Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :
Kelompok I : Sebagai kontrol yang terdiri dari 5 ekor kambing betina di inseminasi dengan air mani yang dien-

cerkan dengan Tris tanpa pembekuan.

Kelompok II : kelompok ini terdiri dari 5 ekor kambing betina di inseminasi dengan air mani yang diencerkan dengan Tris yang dibekukan dengan tipe pelet.

Sebelum inseminasi buatan, dilakukan sinkronisasi berahi dengan penyuntikan dua kali (interval 12 hari) PgF 2 a 15 ng/im perekor dan super ovulasi dengan pemberian PMSG 1500 IU hari ke 10 siklus birahi dan HCG 1000 IU pada hari ke 14. Jika masing-masing kambing berahi diinseminasi dengan air mani yang telah diencerkan dan dibekukan, dosisnya 50 juta sel spermatozoa pada canalis cervicalis.

Metoda flushing embryo dilakukan dengan sistem bedah dengan tehnik mid ventral laparotomi melalui bedah pada daerah linea alba untuk mengeluarkan bagian uterus untuk pemanenan embryo. Flushing embryo dilakukan 3 hari setelah inseminasi. Apabila pada saat tersebut hanya ditemukan sel ovum yang tidak dibuahi menjadi embryo maka daya fertilisasi dinyatakan negatif. Metode selengkapnya dari flushing embryo dapat dilihat pada lampiran 3.

III.5. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

Yang menjadi variabel bebas atau variabel tidak berpengaruh (independent variable), adalah pemeriksaan terhadap kualitas dan kuantitas semen yang diejakulasikan sebelum diinseminasikan, baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Dilakukan pemeriksaan daya hidup sperma kambing setelah pencampuran dengan diluter dan pembekuan pada saat sebelum diinseminasi.

Variabel yang tidak bebas atau variabel yang terpengaruh (dependent variabel), pada penelitian ini yang dimaksud adalah yang dimaksud adalah jumlah corpus luteum dan pemeriksaan hasil flushing embryo (fertilisasi/jumlah embryo).

Variabel kendali atau variabel terkontrol pada penelitian ini adalah, jenis kambing, kelamin betina dan umur kambing 1-2 tahun.

III.6. Analisis Data

Untuk mengetahui daya fertilisasi spermatozoa kambing dalam pengencer Tris yang dibekukan, data yang diperoleh ditabulasikan sesuai dengan variabel yang diukur, kemudian diuji dengan uji wilcoxon (Sarmanu, 1989).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pembekuan semen kambing (frozen semen type pellet) terhadap daya fertilisasi dengan pengujian metode flushing embryo dapat dilihat pada tabel-tabel yang disajikan dibawah ini:

Tabel 1. Hasil pemeriksaan makroskopis air mani 2 ekor kambing pejantan dalam satu kali ejakulasi

Penampungan	Volume (ml)	Warna	Bau	pH	Konsistensi
I	0.9	normal	khas	6.5	kental
II	0.95	normal	khas	6.6	kental
III	1.05	normal	khas	6.5	kental
IV	0.85	normal	khas	6.4	kental
Rataan SD	0.938 ±0.085			6.5 ±0.08	

Dari tabel 1. dapat diketahui bahwa volume hasil penampungan air mani dinilai cukup baik, mengingat volume satu kali ejakulasi air mani kambing umumnya berkisar 0.5 sampai 1.5 ml dengan rata-rata 1.0 ml (Hardijanto dkk., 1991). Apabila dilihat dari hasil rata-ratanya maka terlihat lebih rendah, hal ini karena volume air mani hewan tergantung umur, kurus gemuknya, frekuensi pengambilan, jumlah cairan yang dimakan dan musim (Hafez, 1987). Dalam pemeriksaan warna, bau dan pH serta konsistensi tidak terdapat penyimpangan dari air mani yang biasa digunakan untuk IB.

Warna air mani kambing normal ini maksudnya bahwa kambing tersebut tidak ada kelainan pada alat kelaminnya. Bila berwarna kemerahan, berarti ada luka atau perdarahan di dalam saluran alat kelaminnya. Berwarna abu-abu kotor dapat diduga air mani bercampur dengan nanah. Sedang berwarna kuning menunjukkan bahwa air mani tercampur dengan urine (Hardijanto dkk., 1991).

Bau air mani khas kambing karena air mani dari setiap jenis hewan yang normal mempunyai bau yang spesifik, bau ini banyak dipengaruhi oleh bau cairan dari kelenjar pelengkap. Bau air mani yang tidak normal, misalnya bau busuk dan anyir (amis) dapat digunakan sebagai indikasi adanya radang di dalam saluran reproduksi hewan jantan tersebut. Bila seperti urine, dapat diduga bahwa air mani tersebut banyak tercampur dengan urine.

pH air mani kambing dalam penelitian ini berkisar antara 6.4 sampai 6.6 dengan rata-rata 6.5 ± 0.08 . pH ini masih dalam taraf normal karena pH kambing yang normal berkisar antara 6.4 sampai 6.8 (Hardijanto dkk., 1991). Derajat keasaman ini dapat menunjukkan kualitas dari air mani tersebut, misalnya makin rendah nilai pH-nya (asam) makin kurang baik kualitasnya. Sedang makin tinggi pH-nya (basa) akan menunjukkan tingkat kematian sel spermanya yang tinggi.

Konsistensi kental berarti air mani tersebut konsentrasinya tinggi, hal ini bisa terlihat pada dinding tabung penampung adanya bintik kecil yang banyak yang seolah berdesakan turun ke bawah perlahan-lahan.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan mikroskopis air mani 2 ekor kambing pejantan dalam satu kali ejakulasi

Penampungan	Konsentrasi (juta/ml)	Gerakan massa	Gerakan individu	Hidup (%)	Resistensi test
I	2270	+++	Progresif	93	4000
II	2400	+++	Progresif	90	4000
III	2350	+++	Progresif	85	3000
IV	2360	+++	Progresif	87	3500
Rataan SD	2345 ± 54.47			88.6 ±3.5	3625 ± 478.7

Dari tabel 2. dapat dilihat bahwa konsentrasi air mani yang didapat berkisar antara 2270 sampai 2400 juta/ml dengan rata-rata 2345 ± 54.47 juta/ml. Konsentrasi normal kambing yang layak dipakai untuk pelaksanaan inseminasi buatan berkisar antara 2000 sampai 6000 juta/ml dengan rata-rata 3500 juta/ml (Hafez, 1987), ini berarti konsentrasi yang didapat dalam penelitian ini memenuhi syarat.

Apabila dilihat pada hasil rata-ratanya maka terlihat lebih rendah, hal ini karena konsentrasi air mani hewan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain ; pakan, temperatur dan musim, frekuensi pengambilan air mani, perlakuan terhadap pejantan, adanya penyakit, transportasi, umur, hereditas dan latihan (exercise) (Hardijanto dan Hardjopranjoto, 1994).

Gerakan massa air mani (+++) ini berarti sel mani mengadakan gerakan secara bersama-sama dengan membentuk gelombang kecil sampai besar yang tebal dan gelap dalam jumlah banyak dan bergerak cepat. Gerakan massa ini mencerminkan daya gerak dan konsentrasi sel mani. Menurut Hafez (1987) gerakan massa yang masih layak dipakai untuk inseminasi buatan berkisar

antara D/+++ /P sampai D/++ /P, jadi (+++) merupakan kualitas air mani yang baik untuk digunakan inseminasi buatan.

Demikian pula untuk gerakan individunya ternyata dalam penelitian ini didapatkan progresif semuanya, ini berarti sel mani secara individu bergerak aktif maju ke depan. Pergerakan yang baik ini memungkinkan sel mani dapat mencapai sel ovum di dalam saluran oviduct dalam waktu yang relatif singkat, sehingga memungkinkan terjadinya pembuahan yang sempurna.

Persentase hidup sel mani kambing dalam penelitian ini berkisar antara 85 sampai 93 % dengan rata-rata 86.6 ± 3.5 . Persentase hidup dari sel mani ini sangat baik untuk digunakan inseminasi buatan. Menurut Hafez (1987) persentase hidup sel mani kambing yang masih bisa digunakan untuk pelaksanaan inseminasi buatan berkisar antara 40 sampai 90 %.

Persentase hidup ini merupakan salah satu indikator untuk menilai baik buruknya kualitas air mani, semakin tinggi persentase hidupnya semakin baik pula kualitas air mani itu dan sebaliknya. Persentase hidup sel spermatozoa ini sangat dipengaruhi oleh cairan asesoris yang dikeluarkan oleh kelenjar vesikula seminalis, karena cairan asesoris mempunyai fungsi untuk menetralsir keasaman dari saluran kelamin dan juga sebagai media yang mendukung kehidupan dan gerak sel mani.

Resistensi test ialah daya tahan sel spermatozoa terhadap larutan NaCl 1% yang bersifat hipotonis terhadap sel sperma. Dalam penelitian ini didapat angka resistensinya berkisar antara 3000 sampai 4000 dengan rata-rata 3625 ± 478.7 .

Angka resistensi yang baik untuk air mani kambing sekurang-kurangnya mempunyai nilai 3000 untuk dapat digunakan inseminasi buatan (Hardijanto dkk., 1981). Sehingga air mani yang diperoleh dalam penelitian ini layak digunakan untuk inseminasi buatan.

Angka resistensi ini menggambarkan bahwa semakin banyak jumlah larutan NaCl 1% yang ditambahkan, berarti semakin baik kualitas air mani yang diuji atau dengan kata lain semakin tinggi angka resistensinya maka air mani yang diuji tersebut mempunyai kualitas yang baik pula.

Setelah penambahan diluter Tris sel mani mempunyai persentase hidup antara 80 % sampai 82 % dalam pH 6.4, sedangkan setelah dilakukan pembekuan persentase hidup sel mani berkisar 60 % sampai 70 % dalam pH 6.4. Perbedaan persentase hidup sel mani antara sebelum dan sesudah pembekuan disebabkan karena proses pembekuan berpengaruh terhadap metabolisme dan daya hidup sel mani (Hafez, 1987 ; Hardijanto, 1984).

Penurunan suhu yang terlalu cepat dapat mengakibatkan cold shock terhadap sel mani, akan tetapi bahan pengencer yang mengandung kuning telur seperti diluter Tris lebih tahan terhadap reaksi cold shock ini.

Dari hasil pemeriksaan persentase hidup sel mani setelah pengenceran dan pembekuan ternyata masih layak digunakan untuk pelaksanaan inseminasi buatan.

Setelah dilakukan inseminasi buatan pada masing-masing kelompok kambing, dan kemudian dilakukan flushing embrio maka diperoleh data yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Jumlah Corpus Luteum, Jumlah Embrio Pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan

Kelompok	Corpus luteum			Jumlah Embrio		
Kontrol	2.8	±	0.84	2.2	±	0.84
Perlakuan	2.8	±	0.84	2.2	±	1.1

Keterangan :

Kel. Kontrol = di inseminasi dengan air mani yang diencerkan dengan Tris tanpa pembekuan.

Kel. Perlakuan = di inseminasi dengan air mani yang diencerkan dengan Tris yang dibekukan dengan tipe pelet.

Dari data diatas dapat dibaca rata-rata jumlah corpus luteum pada kelompok kontrol 2.8 ± 0.08 dan pada kelompok perlakuan 2.8 ± 0.84 , setelah dilakukan analisa data antara keduanya, ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0.05$). Jumlah embrio pada kelompok kontrol rata-rata 2.2 ± 0.84 dan pada kelompok perlakuan rata-rata 2.2 ± 1.1 , setelah dilakukan analisa data antara keduanya, ternyata juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

Dari data tersebut juga menunjukkan bahwa rata-rata jumlah corpus luteum baik kontrol maupun perlakuan sedikit berbeda dengan jumlah embrio yang diperoleh dalam flushing embrio pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Hal ini menurut Eppleston (1982) dikarenakan kemungkinan sering terjadi kesalahan kecil operator di dalam kejeliannya dalam melacak embrio, oleh sebab itu keahlian dan ketrampilan operator haruslah sering terlatih.

Sedangkan hasil analisa data antara kelompok kontrol dan

kelompok perlakuan baik jumlah corpus luteum maupun jumlah embrio tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, hal ini membuktikan bahwa daya fertilisasi sel mani kambing dalam diluter Tris baik dalam keadaan segar langsung di inseminasikan maupun terlebih dahulu dibekukan dalam type pellet adalah sama baik. Seperti yang telah dijelaskan diatas bahwa diluter yang digunakan dalam penelitian ini sangat cocok untuk proses pembekuan semen kambing maupun domba (Evans, 1987), dimana diluter ini mengandung bahan-bahan lengkap beserta kuning kuning telur sehingga berfungsi selain untuk pengenceran dan memberi nutrisi bagi sel mani, juga dapat melindungi sel mani dari penurunan suhu yang terlalu cepat yang mengakibatkan sel mani mengalami "cold shock" (Hardijanto, 1994).

Penambahan glicerol atau glycerin ke dalam medium telah dapat mengatasi problema cold shock diatas, akan tetapi bagaimana cara yang tepat glycerol melancarkan fungsi protektifnya terhadap spermatozoa belum diketahui. Ada yang menganggap bahwa glycerol memodifikasi kristal-kristal es yang terbentuk di dalam medium sewaktu pembekuan, jadi menghambat pengrusakan mekanik. Dinding sel permeabel terhadap glycerol. Glycerol berdifusi, menembus dan memasuki spermatozoa semudah fruktosa dan dapat dipakai oleh spermatozoa untuk aktivitas metabolisme oksidatif. Glycerol yang memasuki sel akan menggantikan sebagian air yang bebas dan mendesak ke luar elektrolit-elektrolit, menurunkan konsentrasi intraselluler elektrolit-elektrolit tersebut dan mengurangi daya perusakannya terhadap spermatozoa (Toilehere, 1981).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa air mani yang diencerkan dengan Tris yang dibekukan dengan tipe pelet mempunyai daya fertilisasi yang sama baiknya dengan air mani yang diencerkan dengan Tris yang tanpa dibekukan.

Saran

Saran dalam penelitian ini adalah perlu diteliti mengenai tipe-tipe semen beku lainnya dalam hal fertilisasinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Armstrong, D.T ; Miller, B.G ; Walton, E.A : Pfitzner, A.P and Warm, G.M. 1982. Endocrine Response Of Follicles To PMSG and FSH. Soc. For Reprod. Biology.
- Bearden, H.J. dan J.W. Fuguay. 1992. Applied Animal Reproduction. Third Edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Davendra, C. 1980. Goat Husbandry and Potential in Malaysia. Bulletin no. 158. Ministry of Agriculture Malaysia.
- Dwyanto, K. 1986. Pengamatan Berahi Pada Kambing. Poultry Indonesia. No. 74.
- Eppleston, J. 1982. Embryo Transfer Procedure In Goat Physiological And Procedural Deferences In Superovulation And Transfer Between Sheep And Goats. Aust.Soc.For Reprod.Biology.
- Evan, S. 1987. Salamons Artificial Insemination In Sheep and Goat. Butterwoths. Australia.
- Hardijanto ; T,Sardjito ; T,Hernawati ; S, Susiowati ; T, Suprayogi. 1991. Penutun Praktikum Inseminasi Buatan. FKH Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hardijanto ; S, Hardjopranjoto. 1994. Ilmu Inseminasi Buatan. FKH. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Harjopranjoto,S. 1981. Ilmu Fisiologi Reproduksi . FKH. Universitas Airlangga.
- Hafez, E.S.E. 1987. Reproductions in Farm Animals. 5 rd ed. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Hernadi, A.H ; S, Susiolwati ; T, Hernawati. 1993. Daya Fertilisasi Spermatozoa Domba Dalam Pengencer Sari Buah Pisang Sitrat Dengan Pengujian Metoda Flushing Embryo. Lembaga Penelitian. Universitas Airlangga.
- Hutasoit, J.H. 1978. Spermatologi dan Kaitannya dengan Pembangunan Peternakan di Indonesia. Prociding Simposium Spermatologi Surabaya.
- Jillela, I.D. 1982. Embryo Transfer Technology And Its Application In Developing Countries. American Development Foundation.
- Morrow, D.A. 1980. Curent Therapy In Theriogenology ; Diagnosis, Tretment And Prevention Of Reproductive Deases In Animals. W.B. Saunders Company. Philadelphia.

- Natasasmita, A. 1967. Aktivitas Reproduksi Domba Priyangan. Media Peternakan. IPB. Bogor.
- Partodiharjo, S. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara Offset. Jakarta.
- Sarmanu, 1989. Statistika Non Parametrik. Penataran Peneliti Muda. Universitas Airlangga.
- Speeding, C.R.W. 1965. Sheep Production And Grazing Management. 2nd ed. Morrison And Gibb Ltd. London.
- Suprayogi, T.W. 1995. Keberhasilan Inseminasi Buatan Pada Kambing Dengan Menggunakan Sel Mani Kambing Yang Telah Ditambah Bahan Pengencer Cairan Mukosa Servik Uteri Kambing. Lembaga Penelitian. Universitas Airlangga.
- Toilehere, M.R. 1981. Inseminasi Buatan Pada Ternak. Penerbit Angkasa. Bandung.

Lampiran 1. Analisis terhadap penyebaran corpus luteum

No. kamb.	Kelompok				
	kontrol		No. kamb.	perlakuan	
	a	r		a	r
1	2	2.5	6	3	6.5
2	3	6.5	7	2	2.5
3	2	2.5	8	4	9.5
4	4	9.5	9	3	6.5
5	3	6.5	10	2	2.5
X	2.8		X	2.8	
SD	0.84		SD	0.84	

$a / r = \text{Jenang}$

Uji Rank-sum Test for two groups

Jumlah jenjang kelompok kontrol = 27.5

Jumlah jenjang kelompok perlakuan = 27.5

$Z = 0.000$ Prob. = 0.500

Lampiran 2. Analisis terhadap perolehan embryo hasil flushing

No. kamb.	Kelompok				
	kontrol		No. kamb.	perlakuan	
	a	r		a	r
1	1	2	6	3	8
2	3	8	7	1	2
3	2	4.5	8	3	8
4	3	8	9	3	8
5	2	4.5	10	1	2
X	2.2		X	2.2	
SD	0.84		SD	1.1	

$a / r = \text{Jenang}$

Non Parametric test

Wicoxon rank-sum test for two groups

Sum of rank, group 1 = 27 N1 = 5

Sum of rank, group 1 = 28 N2 = 5

$Z = -0.104$ Prob. = 0.4584

Lampiran 3. Metoda Flushing embryo pada kambing

Metoda flushing embryo pada kambing dilakukan secara terbuka, artinya embryo dipanen dari uterus induk kambing dengan melalui operasi laparotomi (Midventral laparotomi). Posisi kambing tertidur dengan posisi rebah dorsal (dorsal recumbency) dimana punggung kambing terletak diatas meja operasi guna mempertahankan posisi tubuh tetapi terletang dan perut berada diatas dengan tingkat kemiringan 40° . Kambing yang akan dioperasi harus dipuasakan pada malam harinya selama ± 10 jam.

Sebelum dioperasi terlebih dahulu pada kambing dilakukan penyuntikan premedikasi dengan etibernal 1 miligram perkilogram berat badan dengan aplikasi intramuscular. Kaki kambing diikat pada posisi yang telah ditentukan dipinggir meja dan dibersihkan daerah disekitar linea alba dengan sabun dan air bersih, kemudian dicukur bulunya dan dibersihkan sekali lagi serta dioleskan larutan anti septic betadine solution dengan kapas setipis mungkin.

Anastesi lokal diberikan pada lokasi disekitar linea alba sebelah anterior mammae dengan menggunakan procain HCL yang diencerkan dengan aquabidest steril secara subcutan dengan dosis 2 mg perkilogram berat badan. Anastesi general sangat dibutuhkan untuk menidurkan hewan percobaan dengan pemilihan short acting anastesi seperti katalar (ketamin) parkedavis 5 mg/kg berat badan secara intra muscular.

Setelah reflek anastesi berjalan dengan melihat reaksi

pupil dan nafas yang normal. Sayatan dapat dimulai pada linea alba menembus peritonium selebar 5 cm dengan hati-hati. Fiksasi dengan tangan, uterus dan ovarium secara cepat dan hitung jumlah corpus luteum. Kemudian pada lokasi yang terdapat corpus luteum dilakukan pencucian uterus (flushing) dengan TCM-199 5 ml dengan arah menuju infundibulum dari uterotuba junction kemudian cairan yang keluar ditampung dengan cawan petri diameter 5 cm.

Hasil cairan flushing segera dilakukan pemeriksaan dibawah bisecting mikroskop dengan pembesaran 10X10. Embryo yang ditemukan di koleksi dengan pipet pasteur dan dipindahkan pada cawan petri lain, kemudian dicatat perkembangan jumlah sel yang dihasilkan dan jumlah embryo secara keseluruhan.

Setelah flushing embryo selesai, hasil sayatan dikembalikan dan jahitan dimulai satu persatu secara bertahap yaitu peritonium, musculus dengan cat gut, kecuali kulit dengan mengusahkan luka dalam keadaan kering dan berikan bubuk sulfanilamid pada jahitan kulit kemudian tutup dengan kasa dan perban. Gurita diperlukan bila sayatan yang dilakukan terlalu besar dan mencegah terjadinya tekanan organ viscera dan lepas jahitan.

Berikan injeksi antibiotik penisilin atau teramisin selama 5 hari dan 2 minggu setelah operasi jahitan kulit dilepas.

Lampiran 4. Prosedure Pembekuan Air Mani tipe Pellet

Pengenceran

A. Bahan diluter Tris dalam 1000 ml terdiri dari :

- Tris Amino methan	13,63 gram
- Cictrio Acid	7,62 gram
- Lactosa	15 gram
- Fruktosa/Levulosa	3,75 gram
- Raffinosa	27 gram
- Kuning telur	200 cc
- Penicillin	1 juta I.U
- Streptomycin	1 gram
- Aquadest	755 ml

B. Pengencer A + glycerol 14 %

Cara pembuatan :

- Diambil Pengencer Tris sebanyak 20 ml dan ditambahkan glycerol 14 % .
- Campurkan air mani yang sudah diketahui jumlah sel mani yang hidup kedalam diluter Tris glycerol dengan perbandingan 1 : 5 (menurut kebutuhan).
- Dinginkan diluter yang mengandung air mani kedalam suhu 5° C selama 1- 2 jam sebagai waktu equilibrasi.
- Buat lobang-lobang kecil pada balok es kering/dry ice (CO₂

padat) dengan diameter 1 cm dan dalamnya 2 - 3 mm.

- Testeskan air mani yang sudah mengalami waktu equilibrasi kedalam lobang-lobang kecil pada balok es kering dengan memakai pipet atau alat suntik plastik.
- Biarkan tetesan air mani pada balok es kering itu selama beberapa menit sampai menjadi padat.