

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

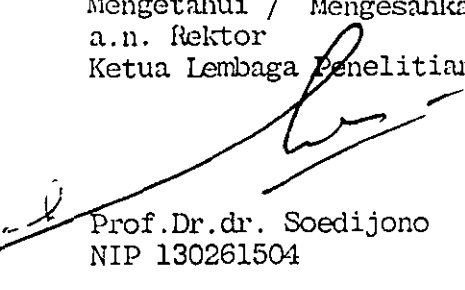
# LEMBAGA PENELITIAN

Jl. Darmawangsa Dalam 2 Telp. (031) 42322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : "Daya fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat dengan pengujian metoda flushing embrio.
- b. Macam Penelitian : ( ) Fundamental, (V) Terapan, ( ) Pengembangan.
2. Kepala Proyek Penelitian :
- a. Nama Lengkap Dengan Gelar : drh. Herry Agoes Hermadi  
b. Jenis Kelamin : Laki-laki  
c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata Muda TK.I/IIIB/131 690 437  
d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar  
e. Fakultas / Jurusan : Kedokteran Hewan  
f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga  
g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Biologi Reproduksi
3. Jumlah Tim Peneliti : 2 (dua) orang
4. Lokasi Penelitian : Jl. Darmawangsa Dalam Selatan Surabaya
5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerjasama kelembagaan, sebutkan :
- a. Nama Instansi : -  
b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 4 (empat) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 2.250.000,-
8. Hasil Penilaian : ( ) ~~Baik Sekali~~, (V) Baik, ( ) ~~Buruk~~,  
( ) ~~Ungut~~.

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

  
Prof. Dr. dr. Soedijono  
NIP 130261504

## RINGKASAN PENELITIAN

JUDUL PENELITIAN :

"DAYA FERTILISASI SPERMATOZOA DOMBA DALAM PENGECER SARI BUAH PISANG SITRAT DENGAN PENGUJIAN METODA FLUSHING EMBRYO"

KETUA PENELITI : HERRY AGOES HERMADI

ANGGOTA PENELITI : SUHERNI SUSILOWATI  
TATIK HERNAWATI

FAKULTAS/PUSLIT : KEDOKTERAN HEWAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

SUMBER BIAYA : SPP/DPP UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SK REKTOR NO.10769/PT03.H/N/1992  
TANGGAL 30 DESEMBER 1992

---

Salah satu cara yang dapat membantu meningkatkan populasi ternak domba adalah dengan melaksanakan metode kawin suntik atau inseminasi buatan. Dalam proses ini diperlukan kualitas dan kuantitas air mani yang baik, untuk itu dibutuhkan pengencer atau diluter air mani yang baik pula.

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Reproduksi dan Kebidanan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat dengan pengujian metode flushing embryo dibandingkan dengan pengencer standart kuning telur sitrat.

Hipotesis penelitian yang diajukan adalah, tidak ada perbedaan antara kelompok domba kontrol (Kawin suntik dengan menggunakan air mani yang diencerkan dalam kuning telur sitrat) dengan kelompok perlakuan (Kawin suntik dengan menggunakan air mani domba yang diencerkan dalam sari buah sitrat) terhadap daya fertilisasinya.

Manfaat penelitian ini diharapkan dengan menggunakan diluter sari buah pisang sitrat yang murah dan mudah dibuat, dapat meningkatkan daya fertilitas air mani domba sekaligus meningkatkan daya reproduksinya.

Dalam penelitian ini dibutuhkan 10 ekor domba meliputi, 2 ekor domba jantan ekor gemuk sebagai pemacek dan untuk deteksi birahi, dan 8 ekor domba betina yang dibagi dalam 2 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor dengan perlakuan pada kelompok I dikawin suntik dengan menggunakan air mani domba yang diencerkan dalam kuning telur sitrat. Kelompok II sebanyak 4 ekor dikawin suntikkan dengan air mani domba yang diencerkan dengan

sari buah pisang sitrat. Masing-masing pengencer dibuat suatu perbandingan 1 : 10.

Sinkronisasi birahi dengan menggunakan pgf 2  $\mu$  15mg perekor dilakukan 2 kali penyuntikan interval 12 hari. Superovulasi untuk semua kelompok perlakuan diberikan 1500 IU PMSG dan HCG 1000 IU. Setelah birahi masing-masing diinseminasikan 50 juta sel sperma melalui canalis servicilis. Pada hari ke 3 setelah inseminasi dilakukan pembedahan untuk mengetahui jumlah corpus luteum dan jumlah embrio melalui flushing dengan pembedahan mid ventral laparotomi.

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan yang sangat nyata ( $p > 0,05$ ) antara daya fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat yang diinseminasikan dibanding dengan spermatozoa domba yang diencerkan dengan kuning telur sitrat, dan terdapat pula korelasi positif antara jumlah corpus luteum dengan jumlah embrio yang ditemukan ( $p < 0,05$ ).

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa daya fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat adalah sama dengan daya fertilisasi spermatozoa domba yang disimpan dalam kuning telur sitrat dan terbukti mampu membuahi sel telur.

Saran dalam penelitian ini adalah, perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang diluter alternatif selain diluter sari buah sitrat terhadap daya fertilisasinya, mengingat belum tentu sel spermatozoa yang hidup dalam penyimpanan diluter mampu mengadakan fertilisasi, disamping perlunya mencari bahan diluter yang lebih baik, praktis dan murah.

## KATA PENGANTAR

Fuji syukur para Tim Peneliti panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayahnya kepada staf pengajar yang terlibat di dalam penelitian ini sehingga dapat terselesaikannya penulisan hasil laporan penelitian dengan judul " Daya fertilisasi spermatozoa Domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat dengan pengujian metode flushing embryo " yang dibiayai oleh DIP SPP - DPP tahun 1992 - 1993.

Pada kesempatan ini Peneliti mengucapkan terima kasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Rektor Universitas Airlangga Surabaya
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
3. Dekan Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
4. Rekan - rekan sejawat yang telah banyak membantu Kami dalam pelaksanaan penelitian ini, serta kepada semua pihak yang secara langsung maupun tak langsung telah ikut menyumbangkan tenaga dan pikiran dalam pelaksanaan penelitian ini.

Kami sadari bahwa penelitian ini masih memerlukan banyak penyempurnaan, untuk ini Peneliti mengharapkan saran dan kritik dari sejawat. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Tim Peneliti

## DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRACT.....	1
RINGKASAN PENELITIAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
DAFTAR PUSTAKA.....	25
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Hipotesis Penelitian.....	3
1.5. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1. Ternak Domba.....	5
II.2. Reproduksi Domba Betina.....	5
II.3. Sinkronisasi birahi dan superovulasi.....	7
II.4. Flushing Embrio.....	7
II.5. Reproduksi Domba Jantan.....	8
II.6. Air mani Domba.....	9
II.7. Inseminasi Buatan.....	9
II.8. Bahan Pengencer.....	10
BAB III. MATERI DAN METODE.....	13
III.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	13
III.2. Materi Penelitian.....	13
III.3. Metoda Penelitian.....	14
III.4. Identifikasi Variabel Penelitian dan de- finisi operasional.....	17
III.5. Analisis Data.....	17
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	24

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel I.	Hasil pengamatan Makroskopis Kualitas Airmani 2 ekor domba pejantan dengan satu kali ejakulasi sebelum diencerkan.....	18
Tabel II.	Hasil pengamatan Mikroskopis Airmani 2 ekor pejantan dalam satu kali ejakulasi sebelum diencerkan.....	19
Tabel III.	pH dan persentase hidup sel mani domba setelah percampuran dengan diluter 1 : 10 pada saat sebelum diinseminasikan.....	20
Tabel IV.	Jumlah Corpus Luteum, fertilisasi /jumlah embryo yang Airmaninya diencerkan dengan kuning telur sitrat dan sari buah pisang sitrat.....	22

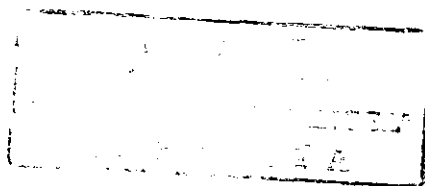
Lampiran 1.	Analisis terhadap penyebaran corpus luteum.....	29
Lampiran 2.	Analisis pengaruh macam diluter terhadap fertilisasi / jumlah embrio.....	30
Lampiran 3.	Analisis hubungan jumlah corpus luteum dengan fertilisasi / jumlah embrio.....	31
Lampiran 4.	Metoda flushing embrio pada domba.....	32
Lampiran 5.	Skema program kerja flushing embrio.....	35

**BAB I****PENDAHULUAN****I.1. Latar Belakang Penelitian**

Salah satu cara yang dapat membantu memecahkan masalah peningkatan mutu ternak domba adalah seleksi yang ketat pada pejantan dan pelaksanaan metode kawin suntik atau inseminasi buatan. Metode ini masih sangat sulit dilaksanakan sebab memerlukan sarana dan prasarana yang harus didukung biaya yang sangat besar disamping ketrampilan dan kemampuan peternak itu sendiri yang perlu ditingkatkan.

Dimasa - masa mendatang Inseminasi buatan pada domba akan memegang peranan penting dalam program peternakan di Indonesia. Karena di Indonesia peternakan domba saat ini masih bersifat tradisional dan Inseminasi buatan pada domba masih belum dimanfaatkan dan masih dalam taraf percobaan ( Harjopranto, 1980).

Dalam proses Inseminasi Buatan diperlukan kualitas dan kuantitas air mani yang baik. Kualitas air mani akan cepat menurun pada proses penyimpanan tanpa melibatkan bahan pengencer. Dilain pihak bahan pengencer dapat meningkatkan volume air mani sehingga dari satu ejakulasi, air mani seekor pejantan





memungkinkan untuk Inseminasi beberapa ratus ekor betina ( Hardjopranjoto, 1980, Partodiharjo, 1980 ). Selama ini telah diteliti bahwa diluter kuning telur sitrat, air susu masak dan Tris kuning telur dapat dipakai untuk penyimpanan air mani (Perry, 1969), dan diluter sari kacang hijau serta sari kedelai sitrat (Susilowati,1990).

Bahan pengencer alternatif lain sudah dicoba yaitu sari buah sitrat misalnya buah tomat, pisang, dan pepaya. Kenyataannya air mani dapat hidup layak seperti dalam bahan pengencer sitrat (Susilowati dkk, 1985). Dengan menggunakan bahan pengencer sari buah sitrat sel mani domba dapat hidup dengan baik, karena adanya komposisi yang lengkap seperti protein, lemak, zat hidrat arang dalam jumlah yang cukup. Selain itu sari buah tomat, pepaya, dan pisang juga mengandung beberapa vitamin yang juga merupakan unsur penting bagi kelangsungan hidup sel mani (Anna, 1975). Menurut Toelihere ( 1979 ), zat hidrat arang yang sederhana seperti glukosa dapat dipakai sebagai sumber energi bagi sel mani.

## **I.2. Rumusan masalah**

Bahan pengencer dari buah pisang sitrat kebaikan

nya sama dengan bahan pengencer kuning telur sitrat, hal ini karena lemak dan protein yang dikandung dalam buah - buahan tersebut dapat bergabung membentuk lipo protein seperti didalam kuning telur dapat bertindak sebagai lapisan pelindung pada sel mani sehingga tidak mengalami Cold Shock ( Susilowati, dkk, 1989 ). Pertimbangan lain dari hasil penelitian tersebut belum pernah dicoba sampai dimana daya fertilitasnya apabila semen yang diencerkan dalam sari buah sitrat akan di kawin suntikan pada hewan domba betina, karena terbatas pada hidup spermatozoa dalam diluter alternatif saja.

Dari asumsi diatas timbul permasalahan apakah spermatozoa didalam bahan pengencer sari buah pisang sitrat dapat membuahi sel ovum?.

### **I.3. Tujuan penelitian**

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui sejauh mana daya fertilisasi sel spermatozoa domba dalam bahan pengencer sari buah pisang sitrat dengan menggunakan pengujian metoda Flushing Embryo.

### **I.4. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis penelitian yang diajukan adalah, Tidak ada

perbedaan antara kelompok domba kontrol ( kawin suntik dengan menggunakan air mani yang diencerkan dalam kuning telur sitrat) dengan kelompok perlakuan ( kawin suntik dengan menggunakan air mani domba yang diencerkan dalam sari buah pisang sitrat ) terhadap daya fertilisasinya.

#### **I.5. Manfaat Penelitian**

Dengan menggunakan diluter sari buah pisang sitrat yang murah dan mudah dibuat, diharapkan dapat membantu meningkatkan daya fertilitas air mani domba sekaligus meningkatkan daya reproduktifitasnya.

**BAB II****TINJAUAN PUSTAKA****II.1. Ternak Domba (*Ovis aries*)**

Domba termasuk famili Bovidae atau ternak ruminansia bertanduk seperti sapi dan kerbau (Toelihere, 1979). Manfaat utama dari pemeliharaan domba di Indonesia untuk diambil produksi dagingnya, oleh karena itu perkembangbiakan atau segi reproduksi untuk menghasilkan banyak anak di suatu peternakan domba memegang peranan penting (Hardijanto, 1982).

**II.2. Reproduksi Domba Betina**

Seperti kita ketahui bahwa domba betina mencapai umur pubertas lebih cepat dibanding domba jantan. Domba betina mulai menunjukkan birahi pada umur sembilan sampai sepuluh bulan mulai dapat digunakan sebagai bibit atau bila domba tersebut sudah mencapai berat badan 50 - 60% dari berat badan domba dewasa (Killen, 1967). Speeding (1965), menyarankan agar usia perkawinan domba-domba adalah 1 - 2 tahun.

Tanda birahi pada domba biasanya tidak nampak jelas seperti pada sapi, namun tanda yang sering terlihat adanya perhatian dan keinginan untuk mendekati pada domba jantan, membiarkan bagian belakang tubuhnya dicium-cium, digaruk, didorong dan akhirnya

membiarkan diri dinaiki oleh pejantan (Sriwuwuh, 1979). Domba-domba betina di Indonesia kegiatan reproduksinya sepanjang tahun dan tidak dipengaruhi oleh perbedaan musim (Natasasmita, 1967). Lama siklus birahinya 16 - 17 hari (Faur, 1968) dengan rata-rata 17 hari, lamanya saat birahi 24 - 48 jam atau rata-rata 36 jam.

Ovulasi pada domba terjadinya 11 jam menjelang berakhirnya waktu birahi sampai 7 jam setelah birahi berakhir (Hafez, 1980). Jumlah ovulasi pada domba meningkat sesuai dengan laju pertambahan umur, umumnya jumlah ovulasi yang maksimal dicapai pada domba umur 4 - 5 tahun dan jumlah tersebut berangsur-angsur turun pada domba yang sudah tua (Hulet dkk, 1974). Pada beberapa pengamatan domba mampu menghasilkan jumlah ovulasi kembar atau lebih dari 2 lebih-lebih pada domba umur pertengahan (Bearden dan Fuquay, 1980).

Cole dan Cupps (1977) menganjurkan agar fertilitas domba dapat lebih ditingkatkan dengan jalan lebih banyak jumlah sel mani yang di inseminasikan dan disarankan pula bahwa saat yang optimum untuk mengawinkan domba adalah 10 jam setelah terlihatnya tanda birahi.

### II.3. Sinkronisasi Birahi dan Super Ovulasi

Sinkronisasi birahi adalah suatu upaya yang dilakukan oleh tenaga medis agar hewan betina dewasa dapat birahi secara bersamaan, upaya ini mempunyai arti yang sangat penting mengingat cara ini merupakan cara yang praktis dalam kaitannya meningkatkan kesuburan ternak sekaligus meningkatkan populasi ternak dari hasil perkawinan, disamping itu sinkronisasi merupakan salah satu tahap dari pelaksanaan embryo transfer (Toelihere, 1981).

Cara sinkronisasi birahi pada domba dapat digunakan preparat Pgf 2 a dan dianjurkan penggunaannya 2 kali dengan interval 12 hari dan dosis yang dianjurkan 15 mg perekor dengan aplikasi intra muscular (Evans, 1987 ; Hafez, 1980).

Super ovulasi adalah suatu keadaan dimana suatu saat birahi dihasilkan beberapa sel telur. Menurut (Toelihere, 1981), domba betina muda dapat menunjukkan awal ovulasinya pada usia 16 minggu, Morrow (1980), menyatakan bahwa rangsangan super ovulasi dapat digunakan PMSG 1500 IU dan HCG 1000 IU.

### II.4. Flushing Embryo

Metoda flushing embryo adalah salah satu tahap dari tehnik embryo transfer setelah sinkronisasi, super ovulasi dan inseminasi. Hafez (1980), menyatakan pada sapi, pemanenan embryo pada hari ke 7 dan

ke 8 dari siklus birahi dapat dilakukan karena pada saat itu embrio dalam bentuk morula atau blastula. Sedangkan Armstrong dkk (1982), flushing embryo dilakukan setelah hari kelima siklus birahi.

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

#### II.5. Reproduksi Domba Jantan

Menurut Toelihere (1981) dan Hafez (1980), domba jantan mencapai pubertas pada umur 4 sampai 12 bulan, dan volume air mani domba pada setiap ejakulasi sekitar 0,7 - 0,9 ml.

Dewasa kelamin pada domba jantan ditandai oleh kesanggupannya berkopulasi dan menghasilkan spermatozoa hidup di samping perubahan-perubahan sekunder lainnya (Toelihere, 1981). Sedangkan masa pubertas domba menurut Lindsay dkk (1982), merupakan umur dimana domba dapat menghasilkan sel mani dan ejakulasi untuk pertama kali pada umur 6 bulan. Sedangkan kematangan sexual dimana periode kemampuan produksi air mani terjadi pada umur 18 bulan, jadi sebaiknya domba jantan dikawinkan pada umur tersebut.

## II.6. Air Mani Domba

Air mani domba jantan yang diejakulasikan merupakan kombinasi produksi testis, produksi saluran pengeluaran dan sekresi kelenjar pelengkap. Produksi spermatozoa oleh testis maupun produksi plasma semen oleh kelenjar-kelenjar pelengkap keduanya di kontrol oleh sistem hormonal (Hafez,1980). Air mani domba jantan biasanya berwarna putih, kepekataannya bervariasi dari kental, sedikit kental sampai encer tergantung pada kosentrasi sel spermatozoa yang dikandungnya.

Sekitar 90% volume semen terdiri dari plasma semen. Jumlah semen dan kosentrasinya pada setiap species berbeda-beda. Plasma semen secara biokimiawi mengandung persenyawaan yang spesifik termasuk fruktosa, asam sitrat, sorbitol, inositol, glyceril phosporil choline (gpc), ergothioneine dan prostatglandin (Toelihere,1981;Harjopranjoto,1980).

Pada keadaan anaerobik dan suhu 37<sup>o</sup> C pada domba kosentrasi sel spermatozoa dapat mencapai 3.500 juta sel/ml (Hernawati dan Tri wahyu, 1990).

## II.7. Inseminasi buatan

Menurut definisi inseminasi buatan berarti penempatan atau memasukkan semen kedalam saluran kelamin betina dengan menggunakan alat sedemikian



rupa sehingga kejadian ini bukan merupakan kejadian alami yang membutuhkan pejantan secara langsung. Di dalam prosedur inseminasi buatan meliputi pemeliharaan pejantan unggul, penampungan semen, pemeriksaan dan ejakulasi semen. Untuk lebih mensukseskan program tersebut dibutuhkan pula ketrampilan inseminator, pencatatan hasil inseminasi dan bimbingan penyuluhan pada ternak (Anonimous,1978).

Menurut Salisbury (1961), besarnya pengenceran tidak memegang peranan penting terhadap daya fertilitas sel spermatozoa, namun yang terpenting adalah jumlah sel mani yang hidup untuk satu kali inseminasi. Pada domba apabila inseminasi di tumpahkan pada canalis cervicalis hanya dibutuhkan 50 juta sel spermatozoa saja, tetapi apabila di tumpahkan pada bagian anterior vagina dibutuhkan 500 juta sel sperma. Justru pada pH dan konsentrasi air mani sangat memegang peranan penting (Salisbury,1961).

## II.8. Bahan Pengencer

Dalam proses kawin suntik diperlukan kualitas dan kuantitas air mani yang tinggi, jika kualitas dan kuantitasnya memuaskan, air mani yang baru di tampung dan sudah dinilai, dapat diencerkan supaya tahan lama hidup untuk dipakai sewaktu-waktu untuk

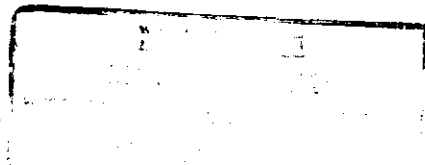
inseminasi (Toelihere,1979). Menurut Salmon dan Robinson , yang dikutip oleh Perry (1969), menyatakan bahwa air mani segar tanpa bahan pengencer yang disimpan, dapat hidup beberapa jam sampai dua puluh empat jam. Bahan pengencer yang dipakai untuk penyimpanan air mani harus sedemikian rupa, sehingga kualitas yang tinggi dari air mani yang disimpan dapat dipertahankan selain untuk meningkatkan volume air mani. Pengenceran dapat memungkinkan untuk pengiriman jarak jauh dan dapat disimpan lebih lama (Harjopranto,1980).

Syarat penting yang harus dimiliki setiap bahan pengencer yakni harus mengandung zat makanan sebagai sumber energi bagi sel mani. Bahan pengencer tersebut harus memenuhi fungsi-fungsi sebagai berikut:

1. Bahan pengencer harus menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi bagi sel spermatozoa.
2. Melindungi sel spermatozoa terhadap cold shock
3. Menyediakan suatu penyangga untuk mencegah perubahan ph.
4. Mempertahankan tekanan osmose dan keseimbangan elektrolit.
5. Mencegah pertumbuhan kuman.
6. Memperbanyak volume semen (Toelihere,1981;Parto-diharjo,1980).

Salisbury di Amerika Serikat, telah membuat bahan pengencer kuning telur citrat dengan komposisi larutan Na Citrat dan kuning telur 1 : 1, dapat meningkatkan daya hidup sel spermatozoa lebih baik dari pada menggunakan buffer .phosphat pada air mani domba dengan kesuburan yang sama (Salisbury,1961).

Menurut susilowati dkk (1989), bahan pengencer sari buah pisang sitrat dapat digunakan sebagai diluter air mani domba. Larutan Na citrat yang dicampurkan dengan sari buah pisang dimana telah diketahui bahwa terdapat komposisi yang lengkap seperti protein, lemak, karbohidrat, vitamin dalam jumlah yang cukup.



**BAB III****MATERI DAN METODA****III.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini di Laboratorium Ilmu Reproduksi dan kebidanan Fakultas Kedokteran hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian dibutuhkan selama 3 bulan yaitu mulai tanggal 1 Februari sampai dengan 1 Mei 1993.

**III.2 Materi Penelitian**

Materi dan bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini adalah; domba ekor gemuk sebanyak 8 ekor betina dewasa dan 2 ekor domba jantan untuk diambil air maninya, yang nantinya akan diencerkan dalam diluter. Makanan domba dan obat-obatan meliputi rumput, dedak, vitamin, obat cacing dan antibiotika. Hormon PMSG (Foligon Intervet) - HCG (Chorulon Intervet) untuk bahan superovulasi, serta bahan sinkronisasi birahi digunakan PGF<sub>2α</sub> (Enzaprost). Bahan untuk pemeriksaan kualitas sperma meliputi, alkohol 70%, kapas, larutan eosin negrosin, NaCl 1%, NaCl 3%, dan spiritus. Sedangkan bahan untuk pengambilan air mani meliputi air hangat dan vaselin alba. Bahan untuk pengenceran air mani meliputi, airmani domba, sulfanilamid, penicillin, streptomycin, kuning telur, pisang hijau, dan Na Citrat. Bahan untuk operasi meliputi

anestesi lokal dengan procain HCl, bahan anestesi general menggunakan Ketamin HCl (Ketalar Parke Davis), Premedikasi Etibernal, Betadine larutan, Aquabidest steril, dan sabun kulit.

Peralatan yang dibutuhkan meliputi kandang domba percobaan lengkap dengan tempat makanan dan minuman. Alat untuk pengambilan sperma dan pemeriksaan sperma meliputi, Vagina buatan, tabung berskala, glas objek, glas cover, termometer, pembakar bunsen, pipet, timbangan mikro, haemocytometer thoma, gun inseminasi buatan, batang pengaduk, thermos, gelas ukur, kertas saring, erlenmeyer 250 ml, mortar penggerus, pH meter, tabung reaksi. Alat untuk operasi dan flushing embrio meliputi Microscope stereo, cawan petri, skalpel, pinset, pipet pasteur, introducer, gunting operasi, kapas, dan arteri klem.

### III.3 Metoda Penelitian

Dibutuhkan hewan coba domba ekor gemuk sebanyak 8 ekor dibagi secara acak menjadi 2 kelompok masing-masing terdiri dari 4 ekor yang ditempatkan dalam kandang terpisah. Dalam penelitian ini terdapat 2 ekor pejantan yang terlatih sebagai pemacek dan sebagai pengontrol terjadinya birahi. Sebelum perlakuan terlebih dahulu hewan percobaan tersebut diadaptasikan selama 2 minggu. Selama penelitian berlangsung hewan percobaan memperoleh

makan dan minuman yang sama.

Pada hewan jantan sebelum penelitian, dilatih untuk diambil air maninya. Penampungan air mani dilakukan dengan memakai vagina buatan. Dalam penelitian ini air mani yang diperoleh diperiksa kualitas dan kuantitasnya meliputi ; pemeriksaan mikroskopis meliputi volume, bau, warna, pH. Pemeriksaan mikroskopis meliputi konsentrasi, gerakan masa, gerakan individu dan prosentase hidup mati. setelah didapatkan air mani dengan kualitas dan kuantitas yang memuaskan, maka ditambahkan bahan pengencer. Bahan pengencer terdiri dari Na sitrat ditambah komponen yang dibutuhkan dengan perbandingan satu bagian bahan sari buah pisang dan 4 bagian Na sitrat. Begitu juga dengan bahan kuning telur dengan perbandingan 1 : 4.

Pembuatan bahan pengencer meliputi Natrium sitrat 2,9 g ditambahkan 0,3 g sulfanilamida dan dilarutkan dalam aquades sampai 100 ml didalam tabung erlenmeyer berukuran 250 ml, kemudian dipanaskan sampai 100oC lalu ditimbang sebanyak 3 g pisang hijau kemudian dihaluskan dan ditambahkan aquades 60 ml setelah itu disaring dan diperiksa phnya. dibuat larutan sari buah pisang sitrat 1 : 4, kemudian ditambahkan 1000 IU penisilin dan 1 mg streptomisin untuk setiap ml bahan pengencer. Pengenceran air mani domba ditambahkan 0,1 ml air mani dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml diluter.

Pembuatan bahan pengencer kuning telur sitrat sama dengan pembuatan bahan pengencer sari buah pisang sitrat yaitu 1 : 4.

Pembagian kelompok hewan percobaan adalah sebagai berikut :

Kelompok I : Sebagai kontrol yang terdiri dari 4 ekor domba betina. Kelompok ini dilakukan inseminasi buatan dengan menggunakan air mani yang diencerkan dengan kuning telur sitrat.

Kelompok II: Kelompok ini terdiri dari 4 ekor domba betina. Dilakukan inseminasi buatan dengan menggunakan air mani yang diencerkan dengan sari buah pisang sitrat.

Sebelum inseminasi buatan, dilakukan sinkronisasi birahi dilakukan penyuntikan dua kali (interval 12 hari) PGF<sub>2</sub> 15 mg/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 domba birahi diinseminasikan dengan air mani yang telah diencerkan, dosisnya 50 juta sel spermatozoa pada canalis cervicales.

Metoda flushing embryo dilakukan dengan sistem bedah dengan tehnik mid ventral laparotomi melalui bedah pada daerah linea alba untuk mengeluarkan bagian uterus untuk pemanenan embrio. Flushing embryo dilakukan 3 hari setelah inseminasi. Apabila pada saat tersebut hanya ditemukan sel ovum yang tidak dibuahi menjadi embrio maka

daya fertilisasi dinyatakan negatif. Metoda selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 4 dan 5 pada halaman 32 dan 35.

#### **III.4 Identifikasi Variabel Dan Definisi Operasional**

Yang menjadi variabel bebas atau variabel yang berpengaruh (independent variable), adalah pemeriksaan terhadap kualitas dan kuantitas semen yang diejakulasikan sebelum diinseminasikan, baik secara Mikroskopis maupun Makroskopis. Dilakukan pemeriksaan daya hidup sperma domba setelah percampuran dengan diluter pada saat sebelum diinseminasikan.

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

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

#### **III.5 Analisis Data**

Untuk mengetahui daya fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat, 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 daya Fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah sitrat dengan pengujian metoda flushing embryo dapat dilihat pada tabel-tabel yang disajikan dibawah ini :

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis kualitas semen (air mani) 2 ekor domba pejantan dalam satu kali ejakulasi sebelum diencerkan.

Penampungan	Vol. (ml)	Bau	Warna	pH	Konsistensi
I	1,30	khas	putih	6,6	kental
II	1,12	khas	putih	6,7	kental
III	1,23	khas	putih	6,7	kental
IV	1,32	khas	putih	6,7	kental

Dari tabel I, dapat diketahui bahwa volume hasil penampungan air mani dinilai cukup banyak, berkisar antara 1,12 ml sampai 1,32 ml mengingat volume satu kali ejakulasi semen domba umumnya berkisar 0,7 ml sampai 0,9 ml (Hafez, 1980). Sedangkan dalam air mani tersebut berbau khas serta berwarna putih dan phnya berkisar antara 6,6 dan 6,7. pH air mani domba dianggap normal bila konstan diantara 6,3 - 6,7 (Hernawati dan Tri wahyu,1990). Tidak didapatkan bau yang menyimpang

seperti bau anyir atau bau busuk, hal ini membuktikan bahwa tidak terjadi pencemaran air mani oleh urine, darah atau nanah yang berasal dari saluran alat kelamin jantan. Sedangkan konsistensi air mani yang diperoleh adalah kental. Hasil ini diperoleh dengan jalan memiringkan tabung skala dan ditegakkan kembali, dimana pada tabung masih tersisa air mani dengan kata lain jika konsistensi kental berarti konsentrasinya semakin tinggi.

Tabel II. Hasil pengamatan Mikroskopis air mani 2 ekor domba jantan dalam satu kali ejakulasi sebelum diencerkan dalam diluter.

Penampungan	Gerak		Konsentrasi Juta/ml.	Persentase hidup		
	M a s a	Individu				
I	+	+	+	Progresif	3056	88
II	+	+	+	Progresif	2566	86
III	+	+	+	Progresif	2766	85
IV	+	+	+	Progresif	3866	85

Pada tabel II, diperoleh hasil pengamatan secara mikroskopis terhadap gerakan masa menunjukkan +++, artinya dalam pengamatan secara mikroskopis membuat gelombang yang besar dan banyak, sedangkan gerakan individu sel spermatozoa ini adalah progresif dengan konsentrasi rata-rata berkisar antara 2566 juta/ml sampai 3866 juta/ml. Jumlah konsentrasi sel spermatozoa tersebut dianggap memenuhi syarat mengingat Hafez (1980), menyatakan bahwa IB pada domba harus memenuhi jumlah konsentrasi

sperma dalam satu kali ejakulasi, yaitu antara 200 - 3800 juta/ml dalam satu kali ejakulasi dengan persentase kehidupan 75 %. Sedangkan dalam penelitian ini mempunyai persentase kehidupan antara 85% sampai 88%.

Tabel III . pH dan persentase hidup sel spermatozoa domba setelah percampuran dengan diluter 1:10 pada saat sebelum diinseminasikan.

Penampungan	Diluter			
	Kuning telur sitrat pH	% Hidup	Sari pisang sitrat pH	% Hidup
I	6,49	85	6,43	85
II	6,47	83	6,42	84
III	6,50	85	6,43	84
IV	6,49	83	6,43	82

Dari data Tabel III diatas, air mani yang dicampur diluter 1 : 10 dalam kuning telur sitrat mempunyai persentase hidup antara 83 % sampai 85% sedangkan di dalam diluter sari buah pisang sitrat persentase hidupnya berkisar antara 82 % sampai 85%, kondisi ini dirasa cukup untuk memenuhi syarat untuk dilakukan inseminasi buatan dengan air mani tersebut. Pengukuran pH berdasarkan pengamatan pada kuning telur sitrat berkisar antara 6,47 sampai 6.50, dan sari buah pisang sitrat pHnya antara 6,42 sampai 6.43. Alasan dilakukan pengukuran pH dalam penelitian ini, karena perubahan pH merupakan satu faktor yang mempengaruhi daya hidup sel mani baik di dalam diluter penyimpanan, maupun di dalam saluran alat kelamin

betina. Hafez (1980), menyatakan bahwa motilitas, persentase hidup, dan fertilitas sel mani akan tetap baik apabila air mani tersebut berada pada bahan pengencer yang sesuai dengan pHnya, pada keadaan terlalu basa atau terlalu asam akan menyebabkan kematian pada sel spermatozoa. Susilowati dkk (1989) menyatakan bahwa, pH rata-rata pada beberapa macam diluter sari buah sitrat menunjukkan kualitas air mani yang masih baik pada pH 6,53.

Analisis data terhadap penyebaran corpus luteum akibat super ovulasi antara dua kelompok domba dapat dilihat pada Tabel IV, ternyata tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ), berturut-turut  $3,75 \pm 0,96$  dan  $3,00 \pm 0,00$ . Jika jumlah corpus luteum yang ditemukan dalam pembedahan acap kali sedikit berbeda dengan embrio yang ditemukan dalam flushing embryo, karena sering terjadi kesalahan kecil operator di dalam kejeliannya melacak embrio (Eppleston, 1982), oleh sebab itu keahlian dan ketrampilan operator haruslah sering dilatih.

Antara diluter kuning telur sitrat dan sari buah pisang sitrat yang dicampur semen domba ternyata tidak menunjukkan perbedaan nyata ( $p > 0,05$ ) terhadap fertilisasi/jumlah embryo. Kejadian fertilisasi/jumlah embryo pada domba yang diinseminasikan dengan semen yang diencerkan dengan diluter kuning telur sitrat adalah  $3 \pm 0,82$ , sedang yang diencerkan dengan sari buah pisang adalah  $2,75 \pm 0,5$

tetapi antara jumlah corpus luteum dengan jumlah embryo terdapat korelasi positif ( $p < 0,05$ ) dengan koefisien  $r = 0,62994$ . Hasil bahasan mengenai pengaruh pemberian diluter kuning telur sitrat dan sari buah pisang sitrat selengkapnya disajikan dalam tabel IV.

Tabel IV . Jumlah corpus luteum, fertilisasi/jumlah embryo domba yang air mani diencerkan dengan kuning telur sitrat dan sari buah pisang sitrat.

Jenis Pengencer	Jumlah Corpus luteum	Jumlah Fertilisasi/Embrio
Kuning Telur S	$3.75 \pm 0,96$	$3.00 \pm 0,82$
Sari B. Pisang. S	$3.00 \pm 0,00$	$2.75 \pm 0,50$

Pada hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Susilowati dkk (1990), bahwa diluter alternatif sangat dibutuhkan serta masih memerlukan pengembangan lebih lanjut tentang daya fertilisasi sel spermatozoa domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat. Juga hasil penelitian tersebut hanya terbatas pada lama penyimpanan didalam pengencer saja, yang mempunyai efektifitas sama dengan diluter kuning telur sitrat. Dengan demikian penggunaan diluter kuning telur sitrat yang selama ini sering digunakan dalam pengenceran air mani domba dapat diganti dengan sari buah pisang sitrat.

Diluter sari buah pisang sitrat secara ekonomis

lebih murah dan lebih mudah dikerjakan. Dalam penelitian ini mampu membuktikan bahwa daya fertilisasi sel spermatozoa domba sama baiknya dalam kedua diluter tersebut. Alasan pembuktian daya fertilisasi spermatozoa domba dalam penyimpanan dan pengenceran dengan diluter sangatlah tepat, mengingat selama ini banyak penelitian yang dipublikasikan hanya terbatas pada daya tahan hidup dalam diluter alternatif saja, justru daya fertilisasinya jarang diteliti. Belum tentu juga spermatozoa yang hidup dalam setiap jenis diluter alternatif mampu mengadakan fertilisasi di dalam saluran alat kelamin betina domba, oleh karenanya perlu pengujian daya fertilisasinya.

**BAB V****KESIMPULAN DAN SARAN****V.1 Kesimpulan**

Setelah dilakukan penelitian tentang daya fertilisasi spermatozoa domba dalam pengencer sari buah pisang sitrat dengan pengujian metoda flushing embryo, dari data diperoleh dapat ditarik suatu kesimpulan sebagai berikut:

1. Diluter sari buah pisang sitrat dapat digunakan sebagai bahan pengencer air mani domba, karena mempunyai efektifitas yang sama dengan diluter kuning telur sitrat yang umum dipakai dalam proses pengenceran air mani domba.
2. Sel spermatozoa domba didalam diluter sari buah sitrat terbukti mampu membuahi sel telur.

**V.2 Saran**

Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemeriksaan berbagai diluter alternatif selain diluter sari buah pisang sitrat terhadap daya fertilisasinya, mengingat belum tentu sel spermatozoa yang hidup dalam penyimpanan diluter mampu mengadakan fertilisasi. Disamping itu perlu mencari alternatif lain untuk memperoleh bahan diluter yang lebih baik, praktis dan murah.

DAFTAR PUSTAKA

- Anna, P. 1975. Pengetahuan Gizi Bagi Keluarga.
- Anonimous. 1978. Inseminasi Buatan. Majalah pertanian. Tahun ke XXV. Dep. Pertanian Jakarta. hal. 36-39.
- Armstrong, D.T; Miller, B.G; Walton, E.A; Pfitzner, A.P and Warn G.M. 1982. Endocrine Response of follicles to PMSG and FSH. Australia. Soc. For Reprod. Biol. p.8-14.
- Bearden, H.J. dan J.W. Fuquay. 1980. Applied Animal Reproduction. Pusat Penelitian dan Pengembangan Ternak (P3T). Ciawi Bogor.
- Cole, H.H. and P.T. Cupps. 1977. Reproduction in domestic animals. 3th ed. Academic Press. New York.
- Eppleston, J. 1982. Embryo transfer procedures in the goat physiological and procedural deferences in superovulation and transfer between sheep and goats. Aust. Soc. for Reprod. p.41-42.
- Evan, S. 1987. Salamons Artificial Insemination in sheep and goat. Butterworths. Australia.
- Faur, D.R. 1968. Sheep farming for profit. A. H and H. W. Reed. Wellington.
- Hafez, E.S.E. 1980. Reproductions in farm animals. 3 rd ed. Lea febiger. Philadephia.



- Hardijanto. 1982. Pengaruh pemberian prostatglandin F2 alfa dan Pregnant Mares Serum Gonadotropin terhadap jumlah fetus pada domba. Pasca sarjana IPB. Bogor.
- Hardjopranto, S. 1980. Ilmu Inseminasi Buatan. Fakultas Kedokteran hewan Universitas Airlangga.
- Hernawati, T dan Tri wahyu, S. 1990. Hubungan antara kadar fruktosa dengan kualitas air mani domba jantan . Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Hulet, C.V.M; Shelton, J.R. Gallagher and D.N. Price. 1974. Effect of origin and enviroment on reproduction Phenomena in Rambouillet ewes I, Breeding season and Ovulation. J. Animals. Sci. 38. p. 1210-1216.
- Jillela, D. 1982. Embryo transfer technology and its aplication in developing countries. American Development Foundation.p.1-33.
- Killen, I. D. 1967. The effect of body weight and level of nutrition before, during and after joining on ewe fertility. Australia.J. Exp. Agric. and anim. Hub. 7. 126-136.
- Lindsay. D. R ; K. W. Enswiste and Winantea. 1982. Reproduction in domestic lives stock in Indonesia. Australian University International Development Program.p.1-17.

- Morrow, D. A. 1980. Current therapy in theriogenology ; diagnosis, treatment and prevention of reproductive deases in animals. W b Saunders Company. Philadelphia. p.875-996.
- Natasasmita. A. 1967. Aktivitas reproduksi domba priangan. Media Peternakan. IPB Bogor. Hal 2,3.
- Partodiharjo. 1980. Ilmu Reproduksi Hewan. Mutiara offset Jakarta.
- Perry, E. J. 1969. The artificial Insemination of farm animals 4th ed. Oxford and publishing Co. Caculta Bombay New Delhi.
- Salisbury, G. W. 1961. Phisiology Reproduction and Artificial Insemination of Cattle 1st ed.
- Sarmanu. 1989. Statistika Non Parametrik. Penataran Peneliti Muda. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Speeding, C. R. W. 1965. Sheep production and grazing management, 2nd ed. Morrison and Gibb Ltd London.
- Sriuwuh, M. I. 1979. Pengaruh berbagai dosis prostaglandin F2 alfa terhadap siklus birahi domba priangan. Thesis Magister sains. IPB Bogor.
- Susilowati, S; Tatik. H. dan Soehartojo. H, 1989. Sari buah sebagai diluter air mani domba. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Susilowati, S, 1990. Penyimpanan airmani domba dengan

menggunakan diluter sari kedelai dan sari kacang ijo. Fakultas Kedokteran hewan Universitas Airlangga.

Toelihere, R. M. 1979. Pengantar pratikum Inseminasi Buatan. Edisi kelima. Departemen Reproduksi. IPB. Bogor.

Toelihere, R. M. 1981. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Penerbit Angkasa Bandung. hal 120-128.

Trounson, A. O.; S. M. Willadsen and R. M. Moor. 1976. Effect of prostaglandin pgf<sub>2</sub> alfa analogue closprostenol on estrus, ovulation and embryonic viability in Sheep. J. Agric. Sci. Camb. 86;609-611.

Lampiran 1. Analisis terhadap penyebaran corpus luteum.

No. domba	Kelompok		no	Sari buah pisang sitrat	
	Kuning telur sitrat a	r		a	r
1	5	8	5	3	3.5
2	3	3.5	6	3	3.5
3	3	3.5	7	3	3.5
4	4	7	8	3	3.5
X	3.75		X	3	
sd	0.96		sd	0	

a / r = Jenjang

Uji jenjang Wilcoxon dua sampel bebas

Jumlah jenjang kelompok kuning telur sitrat = 22

Jumlah jenjang kelompok sari buah pisang sitrat = 14

Z = 1.155, Prob. = 0.1241

## Lampiran 2. Analisis pengaruh macam diluter terhadap fertilisasi / jumlah embrio.

Jenis diluter					
No. domba	Kuning telur sitrat		no	Sari buah pisang sitrat	
	a	r		a	r
1	4	8	5	3	5
2	3	5	6	3	5
3	2	1.5	7	3	5
4	3	5	8	2	1.5
X	3		X	2.75	
sd	0.82		sd	0.5	

Uji jenjang Wilcoxon dua sampel bebas

Jumlah jenjang kelompok kuning telur sitrat = 19.5

Jumlah jenjang kelompok sari buah pisang sitrat = 16.5

$Z = 0.433$  Prob. = 0.3325

## Lampiran 3. Analisis hubungan jumlah corpus luteum dengan

## Lampiran 3. Analisis hubungan jumlah corpus luteum dengan fertilisasi / jumlah embrio.

No. domba	Jumlah corpus luteum		Jumlah embrio	
	a	r	a	r
1	5	8	4	8
2	3	4	3	5
3	3	4	2	2
4	4	7	3	5
5	3	4	3	5
6	3	4	3	5
7	3	4	3	5
8	3	4	2	2

## Perhitungan korelasi spearman

	Jenjang corpus luteum	Jenjang embrio
Jenjang corpus luteum	1.00000	
Jenjang embrio	0.62994	1.00000
Nilai.kritis $\alpha = 0.05$		
1 ekor +/-	= 0.62658	2 ekor = +/- = 0.70477

Lampiran 4. Metoda Flushing embryo pada domba (Metoda ini dikembangkan berdasarkan pengalaman di laboratorium kemajiran FKH UNAIR).

Metoda flushing embryo pada domba dilakukan secara terbuka, artinya embryo dipanen dari uterus induk domba dengan melalui operasi Laparatomi (Midventral laparotomi). Posisi domba tertidur dengan posisi rebah dorsal (dorsal recumbency) dimana punggung domba terletak diatas meja operasi dengan keempat kakinya diikatkan pada tepi meja operasi guna mempertahankan posisi tubuh tetap terlentang dan perut berada diatas dengan tingkat kemiringan 40°. Domba yang akan dioperasi harus dipuaskan pada malam harinya selama  $\pm$  10 jam.

Sebelum dioperasi terlebih dahulu domba diadakan penyuntikan premedikasi dengan etibernal 1 miligram perkilogram berat badan dengan aplikasi intramuskular. Ikatlah kaki domba pada posisi yang telah ditentukan dipinggir meja dan dibersihkan daerah disekitar linea alba dengan sabun dan air bersih, kemudian cukur bulunya dan bersihkan sekali lagi dan dioleskan larutan anti septic betadine solution dengan kapas setipis mungkin.

Anaestesi lokal diberikan pada lokasi daerah sekitar linea alba sebelah anterior mammae dengan menggunakan procain HCl yang diencerkan dengan aquabidest steril secara subcutan dengan dosis 2mg perkilogram berat badan,

Anestesi general sangat dibutuhkan untuk menidurkan hewan percobaan dengan pemilihan short acting anesthesia seperti katalar (ketamin) Parkedavis 5mg/Kb BB secara intramuscular.

Setelah reflek Anestesi 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 uterutuba junction kemudian cairan yang keluar ditampung dalam cawan petri diameter 5 cm.

Kemudian hasil cairan Flushing segera dilakukan pemeriksaan dibawah bisecting Microscope. Dengan pembesaran 10 x 10. Embryo yang ditemukan di koleksi dengan pipet pasteur dan di pindahkan 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 mengusahakan luka dalam keadaan kering dan berikan bubuk Sulfanilamid pada jahitan kulit



kemudian tutup dengan kasa dan perban. Gurita diperlukan bila sayatan yang diperoleh terlalu besar untuk 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.