

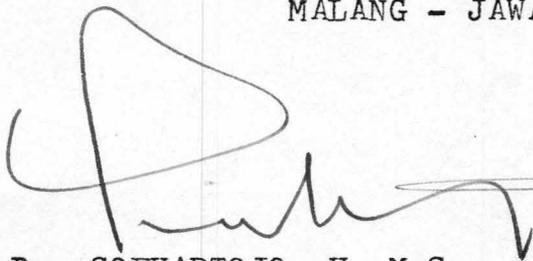
TEHNIK PENYIMPANAN MUDIGAH DAN PENERAPAN
PENCANGKOKAN MUDIGAH PADA
TERNAK SAPI

SKRIPSI

DISERAHKAN KEPADA FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN UNI-
VERSITAS AIRLANGGA UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN
SYARAT UNTUK MEMPEROLEH GELAR
DOKTER HEWAN

O L E H

BAMBANG EKO WIRATNOYO
MALANG - JAWA TIMUR



Dr. SOEHARTOJO, H. M.Sc.
PEMBIMBING UTAMA



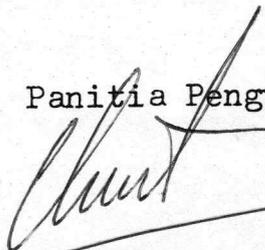
Drh. HARDIJANTO M.S.
PEMBIMBING KEDUA

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA

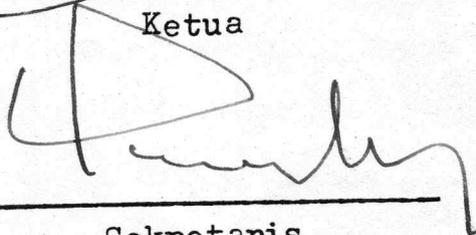
1 9 8 4

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh
sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ru-
ang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebaga
i skripsi untuk memperoleh gelar DOKTER HEWAN.

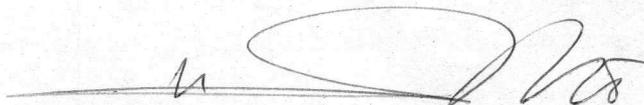
Panitia Penguji,



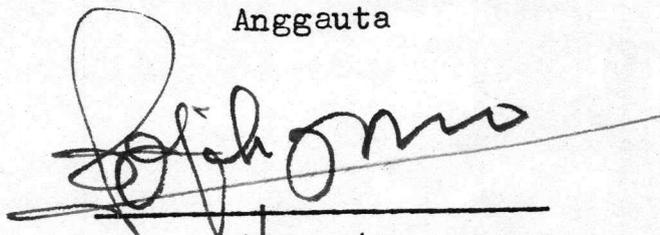
Ketua



Sekretaris



Anggauta



Anggauta



Anggauta

Anggauta

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadlirat Allah swt. karena karuniaNya-
lah maka penyusunan naskah skripsi ini dapat diselesaikan,
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar dokter he-
wan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya.

Terima kasih sebesar besarnya kepada yang terhormat
Bapak Dr. Soehartojo Hardjopranjoto, M.Sc., Kepala Bagian
Reproduksi Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Air-
langga Surabaya dan Bapak drh. Hardijanto, M.S., dosen pa-
da Bagian Reproduksi Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Uni-
versitas Airlangga Surabaya; yang telah meluangkan waktu
untuk memberikan petunjuk serta bimbingan hingga selesai
nya naskah skripsi ini. Semoga segala amal dan jasa beliau
mendapatkan imbalan pahala yang semestinya.

Juga kepada pihak lain yang telah membantu penyele-
saian naskah skripsi ini, tidak lupa penyusun ucapkan te-
rima kasih.

Meskipun hanya merupakan penelusuran kepustakaan, se-
moga skripsi ini dapat diambil manfaatnya untuk menunjang
perkembangan ilmu pengetahuan yang berguna bagi peningka-
tan kesejahteraan manusia pada umumnya.

Semoga.

Surabaya, Maret 1984

Penyusun



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vi
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. SUPEROVULASI & PENYERENTAKAN BIRAHI	6
BAB III. PENGAMBILAN MUDIGAH	9
a. Pengambilan Mudigah Dengan Pembedahan	9
b. Pengambilan Mudigah Tanpa Pembedahan	10
BAB IV. PENCANGKOKAN MUDIGAH	13
a. Pencangkokan Mudigah Dengan Pembedahan	13
b. Pencangkokan Mudigah Tanpa Pembedahan	14
BAB V. TEHNIK PENYIMPANAN MUDIGAH	15
a. Media Penyimpanan	15
b. Persiapan Media	17
c. Ketahanan Mudigah Pada Media	18
d. Tehnik Penyimpanan Mudigah In Vivo	20
e. Tehnik Penyimpanan Mudigah In Vitro	21
f. Tehnik Penyimpanan Mudigah Pada Suhu Beku	22

g. Faktor Yang Mempengaruhi Ketahanan Mu digah	23
h. Tehnik Mencairkan Kembali	26
BAB VI. PENERAPAN PENCANGKOKAN MUDIGAH	28
BAB VII. RINGKASAN	34
DAFTAR KEPUSTAKAAN	37

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN :

- I. Pengambilan Mudigah Dengan Pembedahan.
- II. Pengambilan Mudigah Tanpa Pembedahan.
- III. Pencangkokan Mudigah Dengan Pembedahan.
- IV. Pencangkokan Mudigah Tanpa Pembedahan.
- V. Bentuk Normal Mudigah Sapi Dari Berbagai Tingkat Pembelahan.
- VI. Berbagai Bentuk Kontainer Untuk Penyimpanan Mudigah.
- VII. Komposisi Media Yang Sering Digunakan Dalam Penyimpanan Mudigah.
- VIII. -. Komposisi Media Yang Sering Digunakan . Dalam Penyimpanan Mudigah.
-. Ketahanan Mudigah Sapi Setelah Pembekuan dan Pencangkokan.
- IX. Penerapan Pencangkokan Mudigah Pada Ternak Sapi.

B A B I

PENDAHULUAN

Sejalan dengan kemajuan jaman dan tingkat pendapatan penduduk yang semakin meningkat, maka kebutuhan akan protein hewani juga semakin meningkat. Di lain pihak ternak sapi yang merupakan sumber protein hewani utama, populasinya semakin menurun disebabkan tidak seimbangnya perbandingan antara jumlah pemotongan dengan tingkat kelahiran ternak sapi itu sendiri. Jumlah kelahiran yang rendah itu disebabkan antara lain oleh pemeliharaan ternak yang masih bersifat tradisional, pemuliabiakan dan seleksi yang belum berhasil, penyediaan bahan makanan ternak yang belum memadai, disamping masalah sosial seperti penyuluhan dan tingkat pengetahuan peternak yang masih rendah. (Har djopranjoto, 1974).

Dalam menangani masalah pemuliabiakan dan seleksi, telah diusahakan oleh pemerintah dengan mengetrapkan teknologi inseminasi buatan. Tehnik ini memang mampu meningkatkan populasi maupun nilai genetis dari ternak sapi yang dihasilkan, tapi untuk mencapai tingkat seperti bapaknya diperlukan beberapa generasi karena dalam tehnik ini individu yang dihasilkan tersebut mewarisi perpaduan induk maupun bapaknya baik dalam penotip maupun genotip termasuk daya reproduktivitas maupun produktivitasnya. (Hardjopr njoto, 1974).

Tehnologi terbaru dalam bidang reproduksi hewan adalah pencangkakan mudigah yang mempunyai pengertian suatu

rangkaian prosedur teknik yang diperlukan untuk memindahkan mudigah dari satu induk sebagai donor ke induk lain sebagai resipien dimana pada kedua induk telah dilakukan sinkronisasi pada kondisi alat reproduksinya. Kedua induk merupakan satu spesies yang sama. (Anonimous, 1982; Jillella, 1982). Pencangkokan mudigah ini prosesnya dimulai dengan mengadakan superovulasi, diikuti inseminasi pada induk donor dan kemudian pengambilan mudigah, selanjutnya diadakan pencangkokan mudigah yang diperoleh pada sapi resipien. Dengan teknologi ini akan dihasilkan satu individu baru yang langsung mempunyai sifat sifat penotip maupun genotip seperti bapak maupun induknya yang unggul. Karena individu ini dilahirkan langsung didaerah tersebut, maka tidak diperlukan lagi adaptasi terhadap lingkungan : yang baru. (Anonimous, 1982).

Dalam pelaksanaan teknologi pencangkokan mudigah ini dimungkinkan juga adanya penyimpanan mudigah, sehingga mudigah dapat digunakan pada saat diperlukan. Tempat yang paling baik bagi kehidupan mudigah sebenarnya adalah pada uterus induknya sendiri, tapi beberapa peneliti telah berhasil mengadakan penyimpanan mudigah didalam uterus kelin cipada saat bunting suri atau pada fase folikuler. (Cole & Cupps, 1969; Hafez, 1980; Jillella dkk, 1977). Cara lain untuk penyimpanan mudigah adalah dengan secara in vitro. Prinsip penyimpanan mudigah in vitro adalah menempatkan mudigah dalam suatu media tertentu, sehingga dapat tetap hidup dengan perkembangannya dipertahankan pada stadia

tertentu. (Boone dkk, 1978; Mc. Kenzie dkk, 1973; Newcomb, 1979; Newcomb dkk, 1978; Shea dkk, 1976; Wilmut & Rowson, 1973). Macam macam penyimpanan mudigah secara in vitro adalah penyimpanan pada media biakan, penyimpanan singkat pada suhu rendah dan penyimpanan beku.

(Boone dkk, 1978; Betteridge, 1977; Jillella, 1982; Moore, 1982; Quinn, 1982; Trounson & Pugh, 1982).

Penyimpanan mudigah pada media biakan dapat dilakukan pada media sederhana yang terbuat dari larutan garam faali ditambah alpha keto glutarat. Setelah mudigah dimasukkan kedalam larutan, dialiri gas yang merupakan campuran 5 % CO₂ dan 95 % O₂, selanjutnya diselaputi larutan minyak Kreb' Ringer parafin yang steril. (Boone, dkk, 1978; Hafez, 1980; Moore, 1982; Quinn, 1982).

Penyimpanan yang singkat dari mudigah pada suhu rendah bisa dilaksanakan dengan memasukkan mudigah pada media campuran antara larutan penyangga garam fosfat (Fosfat Buffer Saline/PBS) dengan glukosa dan natrium piruvat ditambah 20% serum fetus sapi (Foetal Calf Serum / FCS), lalu disimpan dalam lemari pengeram (incubator) pada suhu 37°C atau pada pendingin dengan suhu 4°C. Penyimpanan beku dapat dilaksanakan pada media larutan penyangga garam fosfat (PBS) dengan 20% serum fetus sapi (FCS), kemudian ditambahkan Dimethylsulfoxide (DMSO) atau glicerol sebagai zat antikristal (cryoprotectant), selanjutnya dimasukkan kedalam ampul yang telah disediakan

dan ⁴disimpan dalam nitrogen cair yang dapat menurun -
kan suhu sampai -196°C . (Betteridge, 1977; Jillella, 1982
Trounson dkk, 1978; Trounson & Pugh, 1982; Wilmot & Rowson
1973).

~~X~~ Dengan adanya beberapa macam ³tehnik penyimpanan mu-
digah tersebut, pemakaian tehnik pencangkokan mudigah pa-
da ternak sapi semakin luas. Penerapan pencangkokan mudi-
gah mempunyai beberapa keuntungan antara lain ¹menghasil-
kan keturunan pada sapi yang sudah tua atau menderita sa-
kit anggota badannya atau sapi yang mempunyai ⁶kesuburan
yang rendah tapi mempunyai nilai genetik yang tinggi, ²pe-
ngadaan kembali suatu spesies ternak yang telah musnah a-
tau langka, ³penggunaan sapi muda sebagai resipien, penam-
bahan ternak unggul dengan cepat, ⁴mendorong kelahiran kem-
bar, ⁵pemilihan jenis kelamin yang akan dilahirkan, ⁶pembua-
tan generasi baru yang mempunyai nilai genetik maupun pe-
noti yang lebih baik, ⁷pengadaan bank bank mudigah. ⁸Juga
dalam transport internasional mampu menekan biaya yang cu-
kup besar karena pengangkutan mudigah tidak memerlukan ru-
angan yang besar seperti pada pengiriman ternak sapi lang-
sung. ⁹Selain itu akan memudahkan pula terhadap kontrol ke-
mungkinan penyebaran penyakit. (Anonimous, 1982; Archbald
dkk, 1976; Arifin, 1984; Betteridge, 1977; Davies, 1982;-
James, 1982; Jillella, 1982; Jillella dkk, 1977; Trounson
& Pugh, 1982.).

Penerapan tehnologi pencangkokan mudigah ini telah
dilakukan di Indonesia baik untuk sapi perah maupun sapi

potong didaerah Cicurug Sukabumi, sehingga hal ini merupakan suatu tantangan bagi ahli ahli reproduksi di Indonesia.

B A B II

SUPEROVULASI DAN PENYERENTAKAN BIRAHI

Walaupun dalam ovarium sapi dalam satu siklus birahi dapat disediakan sekurang-kurangnya satu sel telur yang dapat dilepaskan, namun jumlah kebuntingan yang terjadi cukup rendah. Hal ini antara lain disebabkan karena lamanya kebuntingan dari ternak tersebut atau tidak diketahuinya masa birahi yang tepat (silent oestrus), maupun tidak terjadinya fertilisasi yang tepat. (Hafez, 1980).

Untuk mengatasi problem tersebut telah diadakan usaha antara lain dengan tehnik inseminasi buatan. Tehnik baru yang lain adalah pencangkakan mudigah dimana dalam tehnik ini terdapat satu pihak usaha superovulasi pada induk donor dilain pihak diadakan penyerentakan birahi pada induk resipien sehingga diperoleh suasana yang sama pada alat reproduksinya antara induk donor dan resipien.

Ovulasi mempunyai pengertian terlemparnya sel telur dari ovarium karena pecahnya folikel yang telah masak. (Hardjopranjoto, 1980). Sedang superovulasi adalah bertambahnya jumlah pelepasan sel telur dalam satu masa birahi yang normal. (Hafez, 1980; Hardjopranjoto, 1980). Superovulasi dapat dilakukan secara rangsangan hormonal dengan pemberian preparat gonadotropin seperti serum gonadotropin dari kuda bunting (Pregnant Mare's Serum Gonadotropin/PMSG) dosis 1500 sampai 3000 i.u. secara intramuskuler. (Archbald, 1976; Betteridge, 1977; Betteridge, dkk, 1980; Hafez, 1980; Jillella, 1982; Jillella

Baker, 1978). Preparat lain adalah Follicle Stimulating Hormon (FSH) dengan dosis 30 sampai 50 miligram diberikan dua kali sehari selama lima hari. (Hafez, 1980; Mc. Kenzie & Kenney, 1973). Hormon lain yang biasa dipakai bersamaan dengan preparat diatas adalah Human Chorionic Gonadotropin (HCG) secara intra vena dengan dosis 2500 sampai 5000 i.u. (Hardjopranjoto, 1980; Jillella, 1982). Hormon Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) diberikan dengan dosis 100 sampai 200 mikrogram secara intravena atau intra muskuler, Estradiol 17 B dengan dosis 10 miligram diberikan sehari sebelum atau pada saat terlihat birahi, Prostaglandin dengan dosis 25 sampai 30 miligram diberikan secara intrameskuler atau dengan dosis 0.5 sampai 1 miligram diberikan secara intravena. (Archbald, 1976; Betteridge, 1977; Betteridge dkk, 1980; Hafez, 1980; Jillella, 1982). Superovulasi mempunyai beberapa kelemahan antara lain adanya sel telur yang belum masak yang dihasilkan sehingga berakibat lemahnya mudigah yang dihasilkan. (Hardjopranjoto, 1980). Superovulasi dapat dilaksanakan pada hewan betina yang sudah mencapai masa remaja.

Siklus birahi merupakan suatu ritme fungsi faal tertentu dari sistem kelamin yang terdapat pada hewan setelah masa remaja dicapai. (Hardjopranjoto, 1980). Penyerentakan birahi dapat dilaksanakan dengan beberapa metode antara lain :

- Hewan ternak yang mempunyai waktu birahi yang sama dijadikan dalam satu kelompok dimana disini tidak diberikan

rangsangan hormonal dan birahi terjadi secara alami.

(Betteridge, 1977; Gunn & Old, 1982).

- 2 Merangsang ovulasi dengan pemberian preparat preparat gonadotropin yang mampu merangsang pertumbuhan folikel sehingga menjadi masak dan akan menghasilkan hormon estrogen sehingga terjadi birahi. (Betteridge, 1977).
- 3 Menghambat proses ovulasi dengan pemberian hormon progesteron yang mampu menghambat pembentukan Follicle Stimulating Hormon (FSH) maupun Luteinizing Hormon (LH) yang selanjutnya bila pemberian dihentikan akan diikuti proses birahi dan ovulasi. (Gunn & Old, 1982).
- 4 Mempercepat pengecilan korpus luteum. Cara ini dapat dilaksanakan dengan pemberian Prostaglandin F₂ alpha (P-GF₂ alpha) sebagai faktor luteolitik yang mampu mempercepat pengecilan korpus luteum sehingga terjadi penurunan sekresi progesteron, selanjutnya terjadi siklus birahi yang baru. (Betteridge, 1977; Gunn & Old, 1982; Hafs dkk, 1975; Jillella & Baker, 1978; Newcomb, 1979).

B A B III

PENGAMBILAN MUDIGAH

Setelah diadakan superovulasi, sapi donor kemudian diinseminasi beberapa kali untuk menjamin bahwa telur telur tersebut benar benar terbuahi. (Anonimous, 1982).

Pengambilan mudigah dilakukan sekitar hari ke lima sampai hari keenam setelah pembuahan dimana pada saat itu diperkirakan mudigah sudah memasuki rongga uterus. (Anonimous, 1982; Archbald, 1976; Boone dkk, 1978; Sreenan, 1975).

Pengambilan mudigah dapat dilakukan dengan dua metode yaitu dengan pembedahan dan tanpa pembedahan. (Betteridge, 1977; Hafez, 1980; Jillella, 1982).

a. Pengambilan Mudigah Dengan Pembedahan.

Cara ini didahului dengan melakukan pembedahan pada sapi donor untuk mencapai uterus dengan laparotomi dinding bawah perut sebelah depan kelenjar susu setelah diadakan anestesi umum. (Archbald, 1976; Betteridge, 1977; Hafez, 1980; Jillella, 1982; Jillella & Baker, 1978). Beberapa cara yang digunakan dalam cara pembedahan ini adalah :

- Cara penyemprotan cairan (flushing) tunggal searah.

Cara ini dikemukakan oleh Hafez (1980), dimana pada cara ini mudigah diambil dengan penyemprotan cairan tunggal searah dimulai masuknya cairan dari korpus uteri menuju infundibulum melalui kornua uteri, dan cairan

ditampung dalam cawan melalui kanula yang dimasukkan ke dalam lubang tubafalopii yang menghadap kearah perut.

- Cara penyemprotan cairan ganda simultan.

Cara ini dilaporkan oleh Newcomb & Rowson pada tahun 1975, dimana pengambilan mudigah dilakukan melalui dua jalan, yaitu pertama mudigah akan keluar bersama cairan melowati kateter yang telah dipasang pada uterus menghadapkearah sambungan uterus dan tubafalopii. Kanula kedua dimasukkan kedalam tubafalopii melalui lubang tuba abdominal (ostium abdominale tubae). Alat suntik yang telah berisi cairan penyemprot disuntikkan pada jarak empat sampai lima sentimeter dari persambungan uterus dan tubafalopii. Jadi disini terdapat dua tempat penampungan. (Lihat lampiran I).

b. Pengambilan Mudigah Tanpa Pembedahan.

Cara ini lebih disenangi karena ada beberapa keunggulan, antara lain ⁽¹⁾ resiko yang kecil atau ⁽²⁾ tidak mempengaruhi kesehatan dan kesuburan sapi betina. (Anonymous, - 1982). Prinsip pengambilan mudigah tanpa pembedahan adalah mengalirkan cairan kedalam saluran reproduksi sapi betina yang mana cairan tersebut akan dikeluarkan lagi dengan membawa mudigah. Satu hari sebelum diadakan pengambilan mudigah, sapi betina tersebut harus dipuaskan sedang rektumnya dikosongkan. Untuk mengurangi ketegangan dipakai anestesi lokal (anestesi epidural). (Anonymous, 1982;

Betteridge, 1977; Jillella, 1982; Sreenan, 1975). Saat ini ada tiga macam kateter yang biasa digunakan oleh peneliti untuk pengambilan mudigah tanpa pembedahan ini, yaitu :

- Kateter Foley dengan dua atau tiga cabang dengan ujung yang panjang. Ini dipakai untuk pengambilan mudigah pada satu kornua uteri. Cara ini dipakai dan dikembangkan oleh beberapa peneliti seperti dilaporkan Betteridge, (1977), Hafez (1980), dan Jillella (1982).
- Kateter Foley dengan dua cabang dan ujung yang pendek. Kateter ini digunakan untuk pengambilan mudigah secara simultan dikedua kornua uteri. (Jillella, 1982).
- Kateter dua cabang model " Neustadt/ Aish " (Jerman), yang dilaporkan pemakaiannya oleh Schneider dan Hann - (1979) dan dikutip oleh Jillella (1982). Kateter tersebut saat sekarang banyak digunakan karena mempunyai ujung yang cukup panjang, lebih liat dan lebih kuat.

Dalam pengambilan mudigah tanpa pembedahan cairan yang digunakan antara lain media biakan jaringan (Tissue Culture Medium/TCM 199); larutan garam penyangga fosfat (PBS) atau larutan garam faali yang ditambah 10 sampai 20% serum fetus sapi serta 500 sampai 1000 iu penisilin dan 0.5 sampai 1 miligram streptomisin dalam tiap mililiter cairan yang dipakai. (Betteridge, 1977; Boone dkk 1978; Hafez. 1980; Jillella & Baker, 1978; Newcomb, 1979).

Setelah selesai semua proses pengambilan mudigah, maka untuk menghindari terjadinya infeksi uterus diinfeksi dengan larutan yang berisi penisilin dan streptomisin. (Jillella, 1982). (lihat lampiran II).

B A B IV

PENCANGKOKAN MUDIGAH

transfer

Tehnik pencangkokan mudigah ini dapat dilaksanakan dengan mudigah yang langsung diambil dari cairan flushing tanpa penyimpanan maupun mudigah yang telah dilakukan penyimpanan, yang penting adalah siapnya sapi resipien untuk menerima mudigah tersebut sebagai implan. Fase pertumbuhan mudigah 4 sampai 32 sel adalah fase yang paling baik kemungkinannya untuk hidup dalam pencangkokan mudigah. (Hafez, 1980). Ada dua macam teknik yang digunakan dalam pencangkokan mudigah ini yaitu dengan pembedahan dan tanpa pembedahan.

a. Pencangkokan Mudigah Dengan Pembedahan.

Cara ini dilakukan setelah diadakan laparotomi. Laparotomi ada dua macam yaitu sayatan pada bagian bawah perut dan sayatan pada sisi perut. (Jillella, 1982). Cara sayatan bagian bawah perut dilaksanakan seperti pada pengambilan mudigah pada sapi donor secara pembedahan. Mudigah dimasukkan kedalam kornua uteri dengan memakai pipet pasteur yang mempunyai diameter 1.5 milimeter. (Betteridge, 1977; Jillella, 1982; Newcomb, 1979). Sedang cara sayatan pada sisi perut dilakukan setelah diadakan palpasi terhadap adanya korpus luteum. Bila korpus luteum ada di sebelah kanan maka sayatan sisi perut dilakukan di sebelah kanan juga, demikian sebaliknya. Mudigah juga dimasukkan

dengan pipet pasteur dengan diameter 1.5 milimeter, kedalam kornua uteri pada sisi yang sama dengan adanya korpus luteum dalam ovarium. (lihat lampiran III).

b. Pencangkakan Mudigah Tanpa Pembedahan.

Pada pencangkakan mudigah cara ini, sapi resipien disiapkan seperti pada pengambilan mudigah pada sapi donor tanpa pembedahan. Disini dilakukan dengan alat inseminasi Cassou. (Betteridge, 1977; Jillella, 1982; Newcomb, 1979; Sreenan, 1975). Pertama kali mudigah dimasukkan kedalam straw semen bersama dengan sedikit cairan transfer sebanyak 0.25 sampai 0.5 mililiter. Selanjutnya straw yang telah berisi mudigah tersebut dimasukkan kedalam alat inseminasi Cassou kemudian dimasukkan kedalam vagina sampai dengan servik sampai kira kira dipertengahan dari uterus selanjutnya mudigah dilepaskan ke kornua uteri pada sisi yang sama dengan adanya korpus luteum pada ovarium. (ipsilateral). untuk mendapatkan Kebuntingan tunggal.

(Betteridge, 1977; Jillella, 1982; Newcomb, 1979; Sreenan, 1975). Untuk mendapatkan kembar, mudigah dilepaskan di kedua kornua uteri masing masing sebuah mudigah. (Jillella, 1982; Sreenan, 1981). Jillella (1982) menambahkan bahwa keberhasilan teknik pencangkakan mudigah ini banyak dipengaruhi oleh umur mudigah, tempat pelepasan mudigah dan keahlian operatornya. Keberhasilan teknik ini berkisar 30 sampai 60%. (Betteridge, 1977; Jillella, 1982; Newcomb, 1979; Sreenan, 1981). (lihat lampiran IV).

B A B V

TEHNIK PENYIMPANAN MUDIGAH

Untuk keberhasilan pencangkokan mudigah ini, sinkronisasi birahi antara sapi induk donor dengan sapi induk resipien merupakan salah satu hal yang harus diperhatikan. Dalam mengatasi hal tersebut, penyimpanan mudigah merupakan salah satu alternatif sehingga mudigah dapat digunakan pada saat yang tepat. Dalam tehnik penyimpanan mudigah ini banyak hal yang harus diperhatikan demi keberhasilannya antara lain media yang digunakan, umur mudigah, lama penyimpanan dan cara pembekuan maupun cara mencairkan kembali (thawing). Tehnik penyimpanan mudigah ini ada 2 macam yaitu tehnik penyimpanan in vivo dan tehnik penyimpanan in vitro.

a. Media Penyimpanan.

Media yang digunakan harus diperhatikan karena komposisi media yang digunakan amat mempengaruhi terhadap pertumbuhan mudigah selanjutnya. (Hafez, 1980; Moore, 1982; Quinn, 1982). Banyak sekali media untuk penyimpanan mudigah yang telah dipakai oleh banyak peneliti seperti dikutip oleh Betteridge (1977) maupun Hafez (1980), mulai media sederhana yang berisi larutan garam penyangga dan karbohidrat sampai media yang kompleks yang berisi larutan garam, karbohidrat, vitamin, asam amino dan sebagainya. Boone dkk (1978) membagi media penyimpanan ini

secara umum menjadi 3 macam :

- a Media sederhana yang hanya berisi larutan garam penyangga dan karbohidrat.
- b Serum darah dan atau cairan folikel dalam larutan garam.
- c Media yang kompleks yang berisi garam, karbohidrat, vitamin, asam amino dan sebagainya.

Dari berbagai media yang digunakan, secara umum beberapa peneliti telah berpendapat bahwa untuk lebih berhasilnya proses penyimpanan mudigah diperlukan penambahan bahan yang diperlukan untuk media tersebut, seperti serum albumin sapi (Bovine Serum Albumin/ BSA) dengan konsentrasi sekitar 1 sampai 3.2%; Serum fetus sapi (Foetal Calf Serum/ FCS) konsentrasi 5 sampai 20% tapi ada juga peneliti lain yang menggunakan FCS dengan konsentrasi 50%. Kombinasi glukosa, laktat dan piruvat sebagai sumber energi dan antibiotika yang biasa digunakan adalah 50 miligram streptomisin dan 100.000 i.u. penisilin setiap liter larutan

media. Media harus mempunyai osmolaritas berkisar antara 270 sampai 320 miliosmol, dan pH nya sekitar 7.2 sampai 7.8. Sebagai indikator pH ini bisa digunakan " Phenol Red " sebanyak 1 sampai 20 miligram per liter. Untuk penyimpanan yang baik suasananya perlu ditambah pula dengan 5% CO₂, 5% O₂ dan 90% N₂. (Betteridge, 1977; Boone dkk, 1978; Hafez, 1980; Mc Kenzie & Kenney, 1973; Moore, 1982; Quinn, 1982; Trounson dkk, 1976/ 1978). Bahan lain yang perlu ditambahkan pada larutan media adalah zat antikristal (cryoprotectant). yang berguna untuk mencegah

shock dan kematian mudigah karena kristalisasi cairan pada penyimpanan dibawah titik beku. Sampai sekarang yang banyak dipakai sebagai bahan ini adalah Dimethylsulphoxide (DMSO) yang mempunyai konsentrasi 1 sampai 3 M. dan gliserol dengan konsentrasi 1 sampai 2 M. (Bilton & Moore, 1979; Hafez, 1980; Trounson & Pugh, 1982; Willadsen dkk 1978). Wilmot dan Rowson (1973) telah mempergunakan sukrose dan juga polyvinyl pyrrolidone (PVP). Bahan lain adalah 1.2 M propanediol yang digunakan oleh Renard dkk (1981) yang mempunyai efektivitas yang sama dengan DMSO.

b. Persiapan Media.

Bahan media yang dipakai dalam penyimpanan mudigah harus betul betul steril, demikian juga alat alat yang dipakai. Cara mempersiapkan media ini dikemukakan oleh Moore (1982), dimulai dengan membersihkan kontainer dengan di rendam dalam larutan daterjen dengan konsentrasi 2%, selanjutnya dibilas kedalam akuades dan kemudian dipanaskan atau dikeringkan sampai suhu 120°C . Sterilisasi dilakukan dengan pemanasan suhu 180°C selama 1 jam, atau pada alat tidak tahan panas dapat dilakukan dengan penyinaran sinar ultraviolet. Antibiotika kemudian dimasukkan dan bila disimpan tidak boleh lebih dari 2 minggu. Serum yang dipakai diambil dari vena jugularis kemudian dipusingkan dengan kecepatan 1500 putaran per menit selama 30 menit, selanjutnya diinaktivasi pada suhu 56°C selama 30 menit. (Hafez, 1980; Moore, 1982). Media kemudian disaring dengan

alat penyaring yang mempunyai pori pori berdiameter 0.45 mikron, selanjutnya dimasukkan kedalam tabung polystyrene dan ditutup dengan campuran minyak parafin dan Kreb's Ringer steril yang merupakan campuran 20 mililiter Kreb's Ringer dalam 1 liter minyak parafin. (Boone dkk, 1978).

Media tersebut selanjutnya disimpan dalam suhu dibawah titik beku (-20°C) atau langsung dipakai sebagai media mudigah yang mampu bertahan selama 2 hari. (Moore, 1982). Hafez, (1980) menambahkan bahwa untuk penyimpanan yang lama dari media tersebut perlu ditambahkan 25 mili Mol larutan penyangga N¹-2-Hydroxyethyl piperazine-N¹ - Ethane Sulfonic acid (HEPES), dan konsentrasi NaCl dikurangi untuk memperthankan osmolaritasnya bila penyimpanan dilakukan dalam lingkungan udara tanpa CO_2 .

c. Ketahanan Mudigah Pada Media.

Komposisi dari media yang dipakai dalam penyimpanan mudigah, pengaruhnya cukup besar dalam ketahanan hidup maupun dalam pertumbuhan selanjutnya dari mudigah tersebut. (Betteridge, 1977; Bilton & Moore, 1979; Hafez, 1980; Moore, 1982; Quinn, 1982; Trounson dkk, 1976). Renard dkk (1980) mengemukakan bahwa adanya pemakaian glukosa oleh mudigah selama penyimpanan menunjukkan adanya pertumbuhan yang lebih baik dibanding dengan mudigah yang tidak menyerap glukosa. Media larutan garam penyangga phospat (Dulbecco's Phospat Buffer Saline/ PBS) banyak dipakai oleh beberapa peneliti seperti Bilton & Moore (1979);

Willadsen dkk (1978) dan Trounson dkk (1976). Mereka menggunakan media ini untuk penyimpanan mudigah yang diambil dari sapi betina donor 5 hari setelah pembuahan dan mampu dipertahankan kehidupannya sebanyak 88%, sedang yang diambil dari sapi betina donor 3 hari setelah pembuahan sebanyak 85%. Dari data yang dikutip oleh Betteridge (1977) menunjukkan bahwa media ini lebih baik dari media yang lain.

Dengan media biakan jaringan (Tissue Culture Media / TCM 199), ketahanan mudigah yang diambil hari kelima sesudah pembuahan mampu mempertahankan kehidupan mudigah sebanyak 71%, sedang pada hari ketiga sesudah pembuahan sebanyak 49%. PH dari media ini adalah antara 6.85 sampai 6.95 sebelum mudigah disimpan dan antara 7.4 sampai 7.6 sesudah penyimpanan mudigah, setelah 6 sampai 7 jam media ini dalam suhu ruangan, maka pH dibuat 8.2 sampai 8.4. Untuk media ini mudigah yang diambil pada hari kelima sesudah birahi mampu bertahan beberapa hari tanpa banyak mengalami perubahan yang berarti. (Trounson dkk, 1976)..

Pada media Brinster (Brinster's Medium for Ovum Culture/ BMOC) seperti dilaporkan oleh Boone dkk (1978) bahwa pada media ini mudigah tidak banyak dipengaruhi oleh adanya glukosa sebagai sumber energi tetapi adanya alpha ketoglutarat dalam media ini mendorong pertumbuhan lebih baik terutama untuk mudigah stadium 16 sel. Sumber energi yang lain adalah piruvat yang mempunyai efek yang sama dengan alpha ketoglutarat, sedang pada percobaan

Mc Kenzie & Kenney (1973) dan Shea (1974) menggunakan asam laktat sebagai sumber energi, media ini mampu me-rangsang pertumbuhan mudigah sampai dengan stadium morula sebanyak 26% dalam penyimpanan selama tiga hari.

Media lain yang banyak dipakai adalah cairan oviduk sintetis(Synthetic Oviduct Fluid/ SOF); Ham's F10; Eagle's minimum essentielle medium; Media Whitten's; Media bicarbo-nat; Media fertilisasi (Fertilization Medium / FM 15); Modified Tyrodes (T6); M 16 dan M 2. (Hafez, 1980; Moore, 1982; Quinn, 1982),

Secara umum banyak faktor yang mempengaruhi ketaha--nan mudigah pada media yaitu : komposisi media, tingkat pembelahan dari mudigah yang disimpan, umur dan cara ovu-lasi sapi donor, volume media, jumlah mudigah dalam satu kontainer, tekanan udara, temperatur penyimpanan, penggu-naan parafin sebagai penutup kontainer, ketahanan indivi-du dan sterilitas media. (Betteridge, 1977; Hafez, 1980; Quinn, 1982).

d. Tehnik Penyimpanan Mudigah In Vivo.

Tehnik penyimpanan in vivo tidak banyak dilakukan o-leh para peneliti, mengingat kelemahan kelemahan yang ada seperti kemungkinan bahwa kelinci sebagai ibu sementara (mather incubator) sakit atau mati pada waktu dipakai sebagai media penyimpan mudigah. Selain itu , karena kelin-ci sendiri merupakan ternak yang hidup maka diperlukan pe-ngawasan tersendiri terhadap hewan tersebut. Penyimpanan

pada kelinci biasa dilakukan pada saat kelinci mengalami bunting suri atau pada fase folikuler, walaupun sebenarnya fase birahi tidak mempengaruhi terhadap penyimpanan mudigah tersebut. (Boland & Gordon, 1978; Wimut dkk, 1975). Pada media ini mudigah mampu bertahan 3 sampai 5 hari tanpa banyak mengalami perubahan. (Hafez, 1980; Trounson dkk, 1976). Mc Kenzie & Kenney (1973) menambahkan pada media ini bisa dipakai untuk menyimpan mudigah tingkat morula sampai blastosis.

Teknik penyimpanan mudigah ini dimulai dengan identifikasi mudigah, selanjutnya mudigah yang telah diidentifikasi dimasukkan kedalam saluran tuba falopii dari kelinci yang telah disiapkan. (Trounson dkk, 1976).

e. Tehnik Penyimpanan Mudigah In Vitro.

Disini dilakukan penyimpanan pada suhu 37°C atau pada suhu 4°C . Media yang biasa digunakan dalam tehnik ini adalah larutan garam penyangga garam fosfat (PBS). (Hafez, 1980; Jillella, 1982; Trounson dkk, 1976). Pada suhu 37°C mudigah mampu disimpan dalam 48 jam tanpa banyak mengalami perubahan, sedang pada suhu 4°C mudigah mampu bertahan selama 5 hari atau lebih. (Jillella, 1982; Trounson dkk, 1976).

Tingkat pembelahan mudigah mempengaruhi ketahanan mudigah pada penyimpanan ini, dimana mudigah dengan tingkat pembelahan yang rendah hasilnya kurang memuaskan dibandingkan tingkat pembelahan yang lebih tinggi. (Hafez, 1980;

Trounson dkk, 1976).

Tehnik ini dimulai dengan memasukkan mudigah yang telah diidentifikasi kedalam media, selanjutnya media tersebut dialiri gas yang terdiri 5% CO₂ dan 95% O₂ selama lebih kurang 20 detik. Kemudian diselaputi parafin steril dan Kreb's Ringer akhirnya disimpan dalam almari pengeram suhu 37°C atau kedalam pendingin dengan suhu 4°C, pada tekanan udara 0.022 atmosfer. (Boone dkk, 1978; Mc Kenzie & Kenney, 1973). Kecepatan pendinginan adalah 0.2°C per menit pada suhu penyimpanan 4°C atau 10°C per menit pada penyimpanan 37°C. (Wilmut dkk, 1975).

f. Tehnik Penyimpanan Mudigah Pada Suhu Beku.

Mudigah yang telah diidentifikasi pada suhu kamar dimasukkan kedalam media larutan penyangga garam phospat (PBS) dan 20% serum fetus sapi (FCS) yang telah diinaktivasi pada suhu 56°C selama setengah jam. Dimethylsulphoxide (DMSO) dengan konsentrasi 0.5 M, 1.0 M dan 1.5M atau gliserol dengan konsentrasi 2; 5; 7.5 dan 10% dipakai sebagai anti kristal (cryoprotectant). Mudigah dimasukkan kedalam DMSO melalui tiga tingkatan yakni dalam konsentrasi 0.5 dan 1.0 M, masing masing 10 menit dan 1.5 M selama 20 sampai 30 menit sebagai waktu equiligrasi. Dalam konsentrasi 1.5 M mudigah ditempatkan dalam ampul ber volume 0.25 mililiter dan masing masing ampul berisi 2 sampai 5 mudigah. Selanjutnya mudigah ditutup dengan oxyacethylene, selanjutnya dipindahkan dalam alat pembeku

yang telah diatur. Kecepatan pendinginan masing masing peneliti mempunyai metoda yang berlainan, seperti Trounson dkk (1978) menggunakan kecepatan 20°C per menit sampai mencapai suhu -7°C ; 3°C per menit sampai suhu -80° dan 1°C per menit sampai suhu mencapai -100°C , selanjutnya dimasukkan kedalam nitrogen cair yang dapat menurunkan suhu sampai -196°C . Bilton & Moore (1979) menggunakan kecepatan 0.7°C per menit sampai dicapai suhu -55°C , selanjutnya dengan kecepatan 1°C per menit sampai mencapai suhu -100°C , selanjutnya dimasukkan kedalam nitrogen cair. Metode lain untuk pembekuan mudigah dengan memakai kecepatan 1°C per menit dari suhu ruangan sampai suhu -7°C . Pada suhu ini media digoyangkan untuk menghindari pembentukan kristal kristal es, selanjutnya pendinginan dilakukan dengan kecepatan 0.3°C per menit sampai suhu -30°C . Dari suhu -30°C sampai -33°C kecepatan pendinginan 0.1°C per menit. Setelah dicapai suhu -33°C , selanjutnya dimasukkan kedalam nitrogen cair. (Hafez, 1980; Jillella, 1982 ; Trounson & Pugh, 1982).

g. Faktor Yang Mempengaruhi Ketahanan Mudigah.

Untuk memperoleh keberhasilan dalam teknik penyimpanan mudigah ini banyak faktor yang harus diperhatikan sebelum, selama maupun sesudah pembekuan. Faktor faktor tersebut antara lain :

- Tingkat pembelahan mudigah.

Menurut penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa penyimpanan paling berhasil adalah pada mudigah stadium akhir morula sampai blastosis. (Bilton & Moore, 1979; Trounson dkk, 1976/1978; Trounson & Pugh, 1982; Willadsen dkk, 1978).

- Antikristal (cryoprotectant) yang digunakan.

Antikristal yang digunakan sebagai bahan untuk mengurangi atau menghindari terjadinya shock karena pendinginan sangat penting artinya untuk keberhasilan dalam pembekuan mudigah, karena tidak sesuainya bahan ini banyak menimbulkan kematian mudigah. Sebagai bahan yang sering digunakan adalah Dimethylsulfoxide (DMSO) atau gliserol dengan konsentrasi 1 sampai 2 moles. (Bilton & Moore, 1979; Hafez, 1980; Trounson 1976/-1978; Trounson & Pugh, 1982; Willadsen dkk, 1978; Wilmut dkk, 1973). Renard dkk (1981) menggunakan 1.2-M propanediol sebagai antikristal yang mempunyai efektifitas mirip DMSO.

- Induksi kristal es.

Penyebaran kristal es yang merata dalam media akan mengurangi kematian dari mudigah yang disimpan. Untuk hal ini bisa dilakukan dengan menggoyang-goyang dinding kontainer pada saat suhu mencapai -5 sampai -9°C. (Jillella, 1982; Trounson & Pugh, 1982).

- Kecepatan pembekuan dan mencairkan kembali. (Thawing).

Kecepatan pembekuan bila dilakukan dengan kecepatan 0.1 sampai 0.5°C per menit sampai dicapai suhu sekitar -45°C selanjutnya dimasukkan kedalam nitrogen cair, maka mencairkan kembali dapat dipakai kecepatan antara 4 sampai 10°C per menit. (Trounson & Pugh, 1982). Bila pembekuan diakhiri pada suhu -40°C selanjutnya dimasukkan kedalam nitrogen cair, maka mencairkan kembali dengan cepat akan memberikan hasil yang baik. (Bilton & Moore, 1979; Trounson & Pugh, 1982).

- Suhu dan lama penyimpanan.

Trounson & Pugh (1982) mengutip penelitian yang dilakukan oleh Whittingham dkk (1977) yang mengatakan bahwa penyimpanan mudigah dalam waktu yang lama dalam nitrogen cair tidak banyak mengalami kelainan dalam hal ketahanan hidupnya, tapi pada penyimpanan suhu -44° dan -79°C cepat sekali berkurang kemampuan hidup dari mudigah tersebut.

- Metoda pencangkokan mudigah. ✓

Menurut Bilton & Moore (1979) dan Willadsen dkk, (1979) mudigah yang diambil dari sapi betina donor pada hari ketujuh sesudah birahi kemudian dilakukan penyimpanan dengan pembekuan selanjutnya dilakukan pencangkokan pada sapi resipien menunjukkan keberhasilan

yang cukup tinggi yaitu sebesar 66.6% bila pencangkokan dilakukan secara pembedahan.

h. Teknik Mencairkan Kembali (Thawing).

Teknik mencairkan kembali dilakukan berdasarkan teknik pembekuan yang dilakukan. Bilton & Moore (1979) dan Jillella (1982) melakukan thawing dengan kecepatan 1.2; 2; 2.2 atau 4.6°C per menit sehingga dicapai suhu 0°C , selanjutnya dengan kecepatan 0.7°C per menit sampai dicapai suhu 30 atau 37°C . Selanjutnya mudigah dipindahkan pada media segar yang berisi 1.5 M DMSO dan larutan penyangga garam fosfat (PBS) dengan 25% serum yang telah diinaktivasi. Cara pengambilan DMSO sebagai antikristal dilakukan melalui beberapa tahap yaitu 1.5 M selama 5 menit, 1.25 M; 1.0 M; 0.75 M; 0.5 M dan 0.25 M masing masing selama 10 menit. (Jillella, 1982; Trounson dkk, 1978). Sebelum dicangkokkan keresiapien mudigah diteliti terhadap bentuk yang abnormal. Kebuntingan yang dihasilkan berkisar antara 25 sampai 40%. (Jillella, 1982).

Trounson & Pugh (1982) mengatakan bahwa untuk pembekuan yang dilakukan secara cepat, maka pencairan kembali langsung dilakukan pada suhu 37°C tetapi pengambilan anti kristal dengan tahapan yang sama, selanjutnya mudigah dibilas dengan larutan penyangga garam fosfat (PBS) dan 20% serum yang telah diinaktivasi dan bisa langsung dicangkokkan atau disimpan dulu dalam media

selama 24 jam sebelum dicangkokkan kedalam uterus resipien. Sedang untuk pembekuan yang lambat, maka mencairkan kembali dilakukan dengan kecepatan berkisar antara 4 sampai 20°C per menit, sampai dicapai suhu -10°C , selanjutnya dimasukkan kedalam water bath dengan suhu 37°C . Metode lain dengan kecepatan rata rata 6 sampai 12°C per menit selanjutnya dipanaskan sampai suhu ruangan, bila suhu telah mencapai 10°C . (Shea dkk, 1977; Trounson dkk 1978).

PENERAPAN PENCANGKOKAN MUDIGAH

Pencangkokan mudigah sebagai teknologi baru bidang reproduksi hewan akan mampu mengatasi sebagian persoalan dibidang reproduksi hewan terutama dalam hal peningkatan mutu genetis dari ternak. Dengan diketemukannya berbagai tehnik penyimpanan mudigah, maka penerapan tehnik ini semakin meluas dimana dengan tehnik ini, mudigah dapat dikirim kebeberapa negara yang memerlukannya sehingga makin mempercepat penyebaran mutu genetis yang baik. Disamping itu dengan tehnik penyimpanan mudigah ini mampu mengatasi persoalan dalam sinkronisasi birahi antara induk donor dengan induk resipien

Penerapan tehnik pencangkokan mudigah ini mempunyai i keuntungan antara lain : *+ ada*

1. Memperbanyak keturunan induk dengan nilai ganetis baik.

Selama periode kehidupan reproduksinya, sapi betina secara normal hanya mampu menghasilkan anak sebanyak 6 sampai 7 ekor, walaupun sebenarnya sel telur yang dihasilkan oleh ovarium sapi tersebut sangat banyak. Dengan tehnik pencangkokan mudigah dimungkinkan meningkatkan jumlah anak yang dihasilkan dengan cara superovulasi.

(Betteridge, 1977; Jillella, 1982). Juga pada sapi tua atau cacat anggota badannya serta sapi yang mempunyai kesuburan yang rendah tapi mempunyai nilai genetis tinggi,

untuk mendapatkan keturunannya dapat dilakukan dengan menerapkan tehnik ini. (Anonymous, 1982).

2. Membuat induk pada sapi yang masih muda.

Dengan tehnik ini dimungkinkan untuk membuat sapi sapi yang masih muda untuk dipakai sebagai resipien. (Anonymous, 1982; Betteridge, 1977; Jillella, 1982). Tetapi penerapan hal ini mempunyai kelemahan karena kemungkinan terjadinya kesulitan kelahiran cukup besar.

3. Memperpendek interval generasi. 1

Yang dimaksudkan dengan memperpendek interval generasi adalah mempercepat sapi betina tersebut memperoleh keturunan selain memperpendek waktu yang diperlukan untuk memperoleh sifat genetik yang baik dari induk maupun pejantannya. (Jillella, 1982). Menurut perhitungan James (1982) dengan inseminasi buatan pada ternak sapi baru dapat dilaksanakan pada sapi yang berumur dua tahun atau lebih, dimana akan menghasilkan rata rata 0.8 anak sapi tiap tahun atau satu anak sapi setiap 15 bulan maka untuk mendapatkan sifat unggul dari bapaknya sebesar $\frac{7}{8}$ diperlukan waktu 10 tahun. Dengan tehnik pencangkakan mudigah, bila diperhitungkan setiap tahun induk donor menghasilkan anak sebanyak 3 ekor, maka nilai genetik diatas dapat dicapai dalam jangka waktu 6 sampai 6 tahun saja.

4. Membuat kelahiran kembar.

4. Membuat kelahiran kembar.

Kebuntingan kembar buatan dapat dilakukan dengan meletakkan satu mudigah pada proses pencangkokan mudigah ini dimasing masing kornua uteri. (Betteridge, 1977; Jillella, 1982; Wilmut & Hume, 1978). Kebuntingan kembar ini bisa dilakukan pada sapi potong maupun sapi perah tetapi pada sapi perah mengandung resiko yang berbahaya karena bila anak sapi yang dihasilkan mempunyai jenis kelamin yang tidak sama maka anak sapi dengan jenis kelamin betina akan steril (freemartin). (Arifin, 1984; Jillella, 1982). Untuk kembar identik dapat dilakukan dengan melakukan sayatan kecil pada blastomer, selanjutnya dimasukkan kedalam zon pelusida yang telah dikosongkan sebelumnya. Blastomer tersebut dieramkan sampai diperkirakan telah terjadi pertumbuhan. Selanjutnya mudigah yang telah tumbuh tersebut dicangkokkan pada sapi resipien yang telah dipersiapkan. (Jillella, 1982).

5. Penentuan jenis kelamin mudigah.

Penentuan jenis kelamin mudigah pada ternak sapi baru dapat dilakukan setelah mudigah tersebut berumur dua minggu. Ada tiga metode yang bisa dipakai untuk penentuan jenis kelamin mudigah ini seperti diungkapkan oleh Betteridge (1977) dan Jillella (1982), yaitu :

- Identifikasi seks kromatin.

- Identifikasi seks kromatin.

Seks kromatin merupakan bentukan kondensasi dari kromosom x yang hanya terlihat dibawah mikroskop bila sel tersebut berisi dua buah kromosom x. Metoda ini tidak biasa dipakai pada sapi.

- Karyotyping atau analisa seks kromosom.

Metoda ini dapat dipercaya dan paling sering dipakai pada sapi. Disini dilakukan pembedahan mikro pada mudigah selanjutnya diadakan analisa terhadap kromosom seksnya.

- Deteksi antigen H-Y.

Antigen H-Y merupakan protein yang terkandung pada dinding sel jantan. Pengujian dilakukan dengan melihat ada tidaknya antigen ini dengan tes antigen antibodi.

6. Transportasi internasional.

Dengan metoda penyimpanan beku dari mudigah, maka pengiriman jarak jauh beberapa mudigah akan memerlukan biaya yang lebih rendah dibandingkan dengan pengiriman ternak dewasa, selain lebih memudahkan pengawasan pada karantina hewan, juga pemetaan kejadian penyakit menular lebih mudah dilakukan. Disamping itu proses penyesuaian iklim dari anak sapi yang dilahirkan tidak perlu

dilakukan lagi. (Anonymous, 1982; Arifin 1984; Jillella 1982). Pada ternak sapi, kambing dan domba penyebaran genetik yang baik dapat dipercepat dengan pencangkakan mudigah yaitu dengan pengiriman secara langsung mudigah tersebut kenegara lain yang memerlukan dalam keadaan beku. (Betteridge, 1977; Davies, 1982; Jillella, 1982). Shea dkk (1977) dalam percobaannya melaporkan bahwa keberhasilan pencangkakan mudigah setelah mudigah mengalami pengangkutan adalah sebesar 43%.

7. Cloning.

Banyak pengertian yang dikemukakan oleh para peneliti mengenai arti kata cloning ini, tetapi yang dimaksudkan adalah pembentukan individu baru yang tidak sama baik dengan bapak maupun induknya. Hal ini dapat dilakukan dengan memasukkan kromosom somatik kedalam inti sel mudigah yang akan merusak inti mudigah yang asli sehingga individu yang dihasilkan sama sekali baru. (Anonymous , 1982; Rathie, 1982; Shelton, 1982). Cara lain dapat dilakukan dengan memisahkan sel telur yang telah dibuahi selanjutnya digabung dengan sel telur lain yang juga telah dibuahi dan dipisahkan. Individu yang dilahirkan akan mempunyai sifat genetik 50% gen A dan 50% gen B.

Pencangkakan mudigah seperti telah terlihat hasilnya merupakan teknologi baru dibidang reproduksi hewan yang harus diterima kehadirannya dalam rangka perbaikan mutu genetik ternak. Dengan meningkatnya mutu genetik,

maka hal ini merupakan salah satu alternatif dalam usaha peningkatan produksi ternak sapi di Indonesia dalam rangka mengatasi kebutuhan protein hewani yang semakin meningkat. (Arifin, 1984). Disamping kelebihan kelebihan yang ada, karena teknologi ini merupakan proses yang panjang dimana menyangkut banyak disiplin ilmu, maka ketelitian dari tenaga yang mengerjakan harus benar benar teruji. Juga kemungkinan penyebaran genetis yang jelek akan lebih mudah terjadi bila seleksi yang ketat tidak dilakukan. Hal lain yang perlu diperhatikan adalah kemungkinan penyakit penyakit virus yang mungkin terbawa dalam proses pencangkakan mudigah ini. Karena virus dapat tetap hidup selama penyimpanan mudigah walaupun penyimpanan beku sekalipun, seperti dilaporkan oleh Parsonson (1982).

1. w/ perbanyak keturunan & nilai genetik baik.
2. w/ tidak mudah sakit & mudah udd.
3. w/ penghasil awal generasi -
4. w/ tidak kelaparan.
5. penerusan jenis kelamin.
6. transportasi nonsexual
7. cloning

B A B VII

RINGKASAN

Kebutuhan masyarakat akan protein hewani yang semakin meningkat belum mampu diimbangi penyediaan ternak yang cukup sebagai sumber protein hewani karena mutu genetis ternak lokal masih rendah.

Tehnologi inseminasi buatan mampu menambah kekurangan tersebut, tetapi untuk meningkatkan mutu genetis ternak seperti yang diharapkan, diperlukan waktu yang lebih lama.

Tehnologi baru yang mampu mempercepat perbaikan mutu genetis ternak adalah pencangkakan mudigah yang merupakan rangkaian usaha yang diperlukan untuk memindahkan mudigah dari sapi betina yang satu dengan mutu genetis yang tinggi sebagai donor kepada sapi betina lain sebagai resipien.

Tehnik ini dimulai dengan mengadakan superovulasi untuk memperoleh sel telur yang lebih banyak dengan memakai preparat preparat hormon yang mampu merangsang ovulasi seperti PMSG dan HCG, PMSG dan PGF₂ alpha atau FSH dan LH. Selanjutnya dilakukan perkawinan induk tersebut dengan pejantan superior, sehingga dapat terjadi fertilisasi, kemudian diadakan pengambilan mudigah baik secara pembedahan maupun tanpa pembedahan. Untuk pencangkakan mudigah diperlukan sinkronisasi birahi antara sapi donor dan sapi resipien sehingga mudigah yang dicangkokkan mempunyai suasana yang sesuai dengan suasana induk sebelumnya.

Pencangkakan mudigah dapat dilaksanakan secara pembedahan maupun tanpa pembedahan.

Untuk mengatasi masalah sinkronisasi birahi antara sapi betina donor dan sapi betina resipien dapat dilakukan penyimpanan mudigah, sehingga mudigah dapat dipindahkan pada saat yang tepat.

Penyimpanan mudigah dapat dilaksanakan dengan beberapa cara yaitu secara *in vivo* atau pada media tertentu untuk waktu yang terbatas dan dapat juga mudigah disimpan pada suhu beku.

Penyimpanan *in vivo* dilakukan didalam tubafalopii kelinci pada keadaan bunting suri ataupun pada fase foliuler.

Penyimpanan mudigah dalam media dapat dilakukan pada suhu 37°C atau pada suhu 4°C , dimana pada penyimpanan suhu 37°C mudigah mampu bertahan selama 48 jam tanpa banyak mengalami perubahan, sedang penyimpanan pada suhu 4°C mudigah mampu bertahan selama 5 hari. Tingkat pembelahan mudigah dan media yang digunakan dapat mempengaruhi ketahanan dalam penyimpanan ini.

Penyimpanan mudigah dalam keadaan beku dilakukan dengan nitrogen cair yang dapat menurunkan suhu sampai -196°C . Media yang biasa digunakan adalah larutan penyangga garam fosfat dengan 20% serum fetus sapi yang telah diinaktivasi dan ditambah Dimethylsulfoxide (DMSO) sebagai bahan antikristal. Untuk keberhasilan pembekuan mudigah ini banyak faktor yang harus diperhatikan antara

lain teknik pembekuan, teknik thawing, antikristal yang digunakan, tingkat pembelahan mudigah, penyebaran kristal es, kecepatan pembekuan maupun thawing dan cara pencangkokan mudigah.

Penerapan teknologi pencangkokan mudigah ini cukup luas dalam bidang perernakan, apabila setelah ditemukannya metode penyimpanan mudigah ini.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Anonimous. 1982. Penerapan Transplantasi Embrio Dalam Pe-
ternakan. Serba Serbi Negeri Belanda. 49 : 26-28. ✓
- Anonimous. 1983. Peternak Nongkojajar Ditawari Pencangkok
an Embrio Bibit Unggul. Jawa Pos. XXXV : 5.
- Archbald, L.E. 1976. Superovulation In The Cow Using Preg-
nant Mare's Gonadotropin and Prostaglandin F_2 alpha.
Vet. Med./ Small anim. Clin. 71 : 953-955.
- Arifin, C. 1984. Pencangkokan Mudigah Harapan Baru Bidang
Kesehatan Hewan. Surabaya Post. XXXII : 6.
- Betteridge, K.J. (ed). 1977. Embryo Transfer In Farm Ani-
mal. A Review Of Techniques and Applications. Agricul-
ture Canada. Monograph 16.
- Betteridge, K.J.; M.D. Eaglesome; G.C.B. Randal and D. -
Mitchell. 1980. Collection, Description and Transfer
of Embryo From Cattle 10-16 days After Oestrus. J.
Reprod. Fert. 59 : 205-216.
- Bilton, R.J. and N.W. Moore. 1979. Factors Affecting the
Viability of Frozen Stored Cattle Embryos. Aust. J.
Biol. Sci. 32 : 101-107.
- Boland, M.P. and I. Gordon. 1978. Twinning in Lactating
Friesian Cows by Non Surgical Egg Transfer. Vet.
Rec. 103 : 241.
- Boone, W.R.; J.F. Dickey; L.J. Luszcz; J.R. Dantzler and
J.R. Hill Jr. 1978. Culture of Ovine and Bovine Ova.
J. Anim. Sci. 47 : 908-913.
- Cole, H.H. and P.T. Cupps. 1969. Reproduction in Domestic
Animals. 2nd ed. Academic Press. p 370-381. ✓ ✓

- Davies, W.G. 1982. The Case for Exportation of Australian Livestock and Embryos. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 74-75.
- Gunn, I.M. and K.G. Old. 1982. Embryo Transfer, Recipient Selection, Synchronization, Transfer Methods and Result. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 31-34.
- Hafez, E.S.E. (ed). 1980. Reproduction in Farm Animals. 4th ed. Lea and Febiger. Philadelphia. p. 569-592. 3
- Hafs, H.D.; J.G. Manns and B. Drew. 1975. Onset of Oestrus After Prostaglandin F₂alpha in Cattle. Vet. Rec. 96 : 134.
- Hardjopranto, S. 1974. Beberapa Persoalan Protein Hewani Berasal Dari Ternak dan Kemungkinan Pemecahannya di Indonesia. Pidato Dies Natalis ke XX Universitas Airlangga Surabaya. hal 9-25.
- Hardjopranto, S. 1980. Fisiologi Reproduksi. Edisi Kedua. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Hal 128-136 dan 146-160. 24
- James, J.W. 1982. The Use of Superovulation and Embryo Transfer for Progeny Testing and Grading Up of Genetic Quality. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p.58-61.
- Jillella, D. 1982. Embryo Transfer Technology and its

Application in Developing Countries. America's Development Foundation. p. 1-33.

Jillella, D and A.A. Baker. 1978. Transcervical Transfer of Bovine Embryos. Vet. Rec. 103 : 574-576.

Jillella, D; R.J. Eaton and A.A. Baker. 1977. Successful Transfer of Bovine Embryo Through A Cannulated Fallopian-tuba. Vet. Rec. 100 : 385-386.

Mc Kenzie and R.M. Kenney. 1973. In Vitro Culture of Bovine Embryos. Am. J. Vet. Res. 34 : 1271-1275. ✓
8

Moore, N.W. 1982. Liquid Storage and Culture of Embryos of Farm Animals. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 51-53.

Newcomb, R. 1979. Surgical and Non Surgical Transfer of Bovine Embryos. Vet. Rec. 105 : 432-434.

Newcomb, R and L.E.A. Rowson. 1975. A Technique for the Simultaneous Flushing of Ova From the Bovine Oviduct and Uterus. Vet. Rec. 96 : 468-469.

Newcomb, R.; W.B. Christie and L.E.A. Rowson. 1978. Birth of Calves after In Vivo Fertilisation of Oocytes Removed from Follicles and Matured In Vitro. Vet. Rec. 102 : 461-462. ✓
4

Parsonson, I.M. 1982. Transmission of Disease by Embryo Transfer. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 79-81.

— Purhows B
Quinn, P. 1982. Fertilization and Culture of Embryos : ✓
7

- Factors which have a Major Influence on Embryo Survival In Vitro. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 47-50.
- Rathie, K.A. 1982. A Geneticist's View of Embryo Transfer. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 61-67.
- Renard, J.P.; A. Philppon and Y. Menezo. 1980. In Vitro Uptake of Glucose by Bovine Blastocysts. J. Reprod. Fert. 58 : 161-164. ✓ 8
- Shea, B.F.; G.W. Ollis and M.E. Jacobson. 1977. Pregnancies Following Long Distance Transport and Transfer of Frozen Bovine Embryos. Can. J. Anim. Sci. 57 : 801-802.
- Shelton, J.N. 1982. Embryo Transfer in Research. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 71-73.
- Sreenan, J.M. 1975. Successful Non Surgical Transfer of Fertilised Cow Eggs. Vet. Rec. 96 : 490-491.
- Sreenan, J.M.; M.G. Diskin and T.Mc Donagh. 1981. Induction of Twin-Calving by Non Surgical Embryo Transfer : A Field Trial. Vet. Rec. 109 : 77-80.
- Trounson, A.O. and A. Pugh. 1982. Embryo Freezing. In : J.N. Shelton (ed). Embryo Transfer in Cattle, Sheep and Goats. Aust. Soc. for Reprod. Biol. p. 53-58.
- Trounson, A.O.; B.F. Shea; G.W. Ollis and M.E. Jacobson.

1978. Frozen Storage and Transfer of Bovine Embryos. J. Anim. Sci. 47 : 677-681.

Trounson, A.O.; S.M. Willadsen and L.E.A. Rowson. 1976b. The Influence of In Vitro Culture and Cooling on the Survival and Development of Cow Embryos. J. Reprod. Fert. 47 : 367-370. ✓g

Trounson, A.O.; S.M. Willadsen; L.E.A. Rowson and R. Newcomb. 1976a. The Storage of Cow Eggs at Room Temperatures. J. Reprod. Fert. 46 : 173-178.

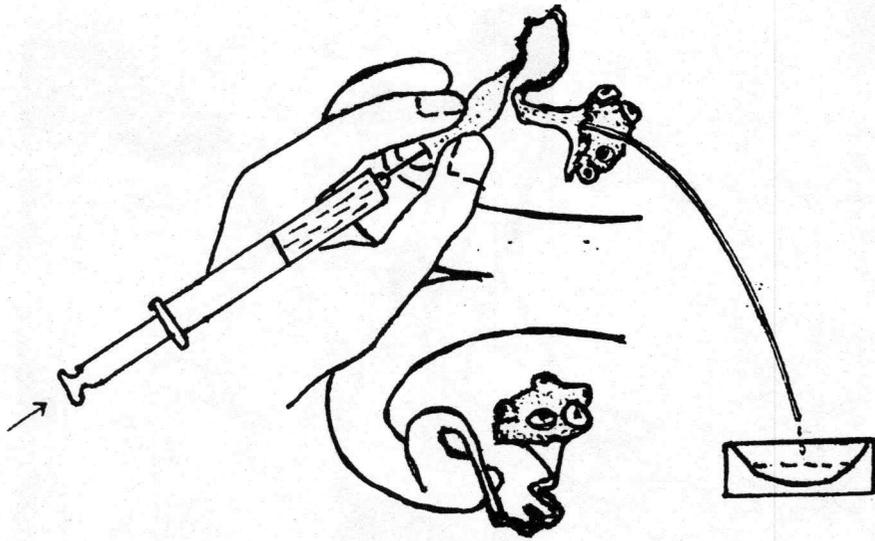
Willadsen, S.; C. Polge and L.E.A. Rowson. 1978. The Viability of Deep Frozen Cow Embryos. J. Reprod. Fert. 52 : 391-393.

Wilmut, I and A. Hume. 1978. The Value of Embryo Transfer to Cattle Breeding in Britain. Vet. Rec. 103 : 107-110.

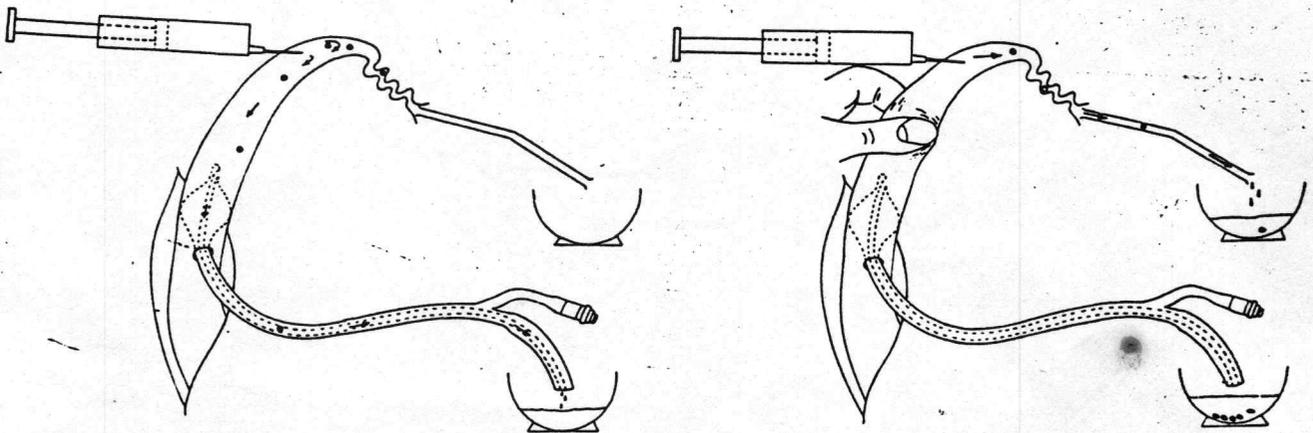
Wilmut, I.; C. Polge and L.E.A. Rowson. 1975. The Effect on Cow Embryos of Cooling to 20, 0 and -196°C. J. Reprod. Fert. 45 : 409-411.

Wilmut, I. and L.E.A. Rowson. 1973. Experiment on the Low Temperature Preservation of Cow Embryos. Vet. Rec. 92 : 686-690.

LAMPIRAN I.

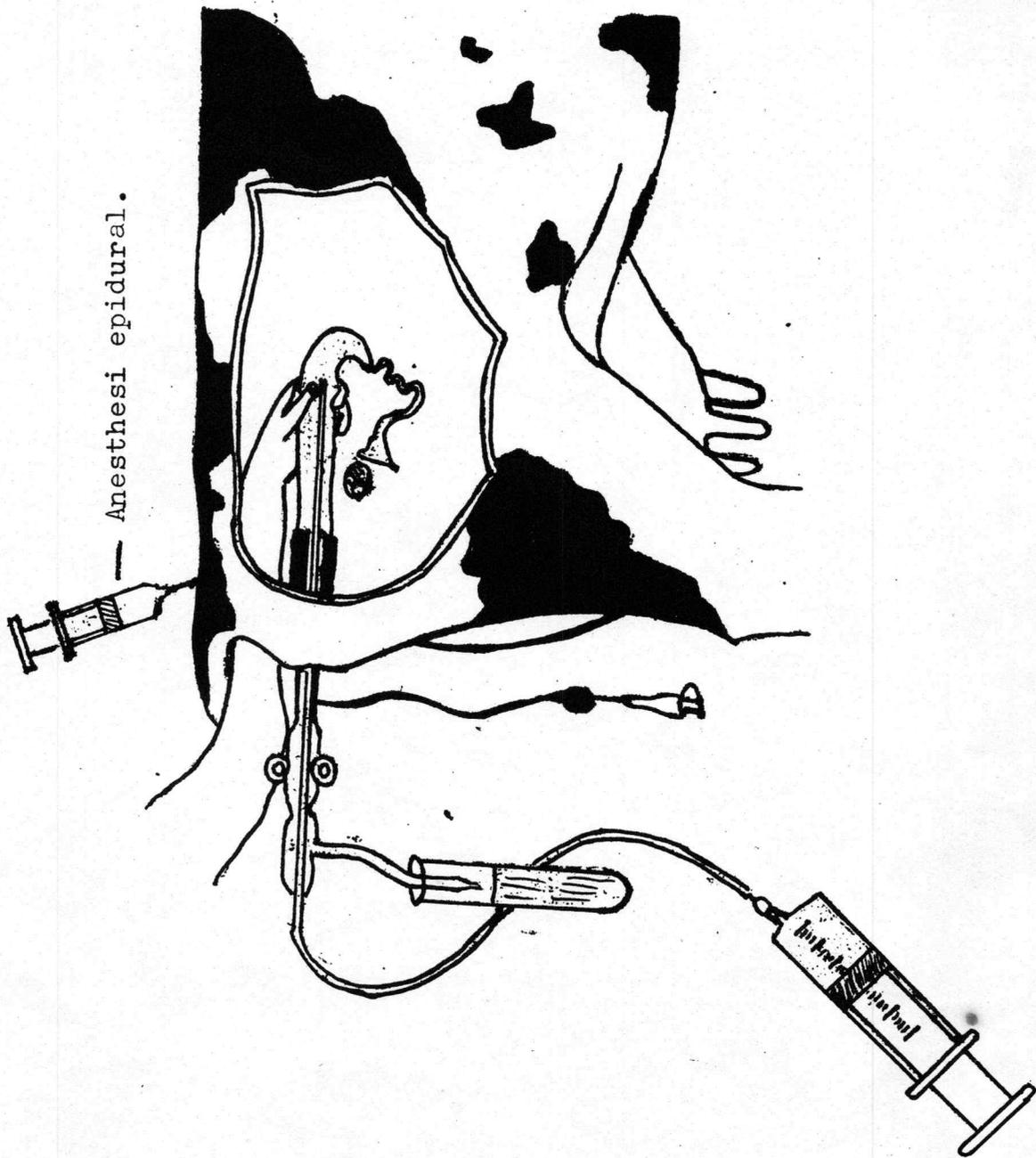


Pengambilan mudigah dengan penyemprotan tunggal searah
(Hafez, 1980).



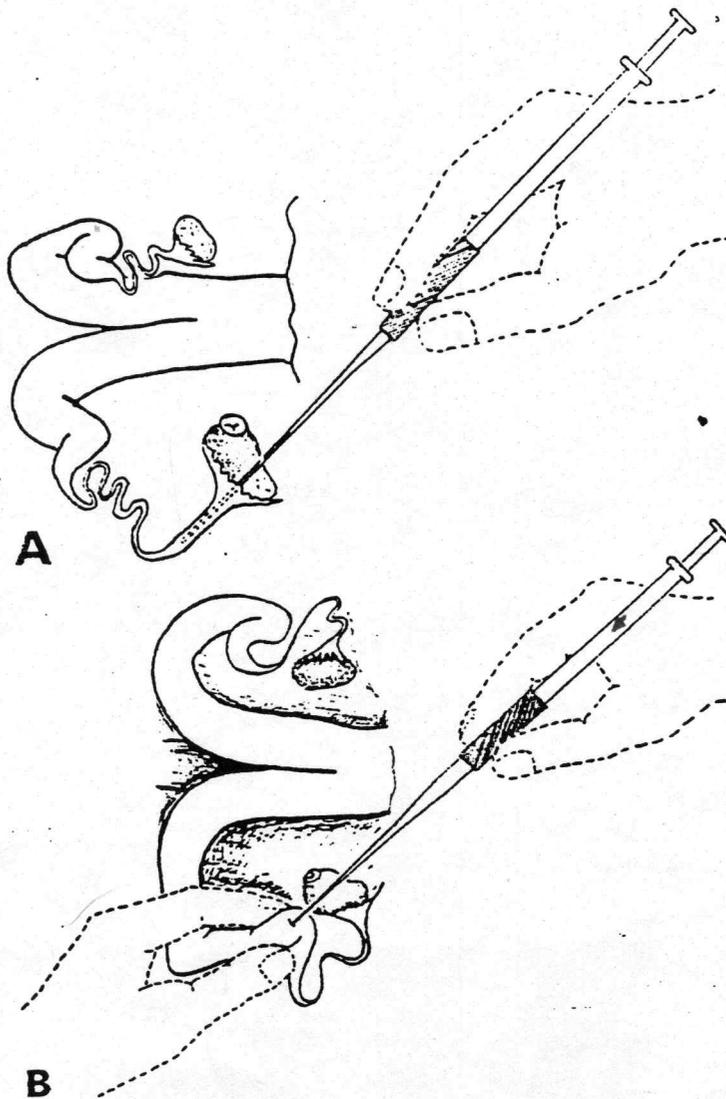
Pengambilan mudigah dengan pembedahan secara penyemprotan
ganda simultan. (Newcomb & Rowson, 1975).

LAMPIRAN II



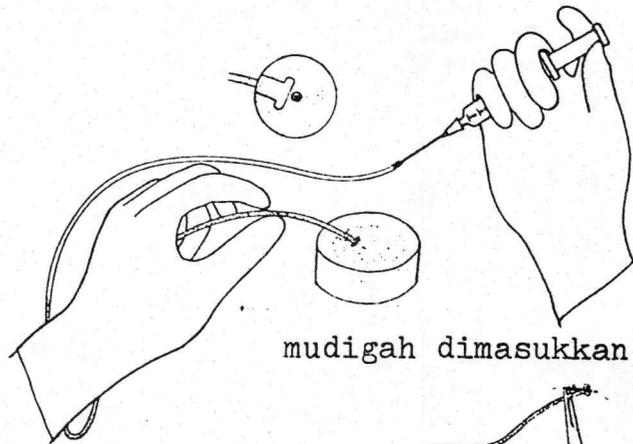
Pengambilan mudigah tanpa pembedahan. (Jillella, 1982).

LAMPIRAN III

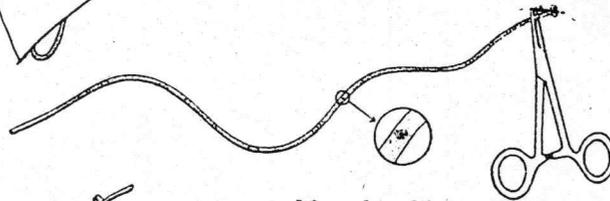


Pencangkakan mudigah dengan pembedahan. A. Mudigah dimasukkan dalam tubafalopii. B. Mudigah dimasukkan dalam kornua uteri (Hafez, 1980).

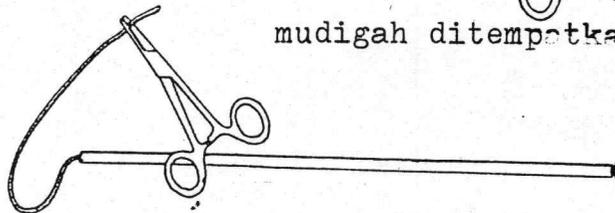
LAMPIRAN IV.



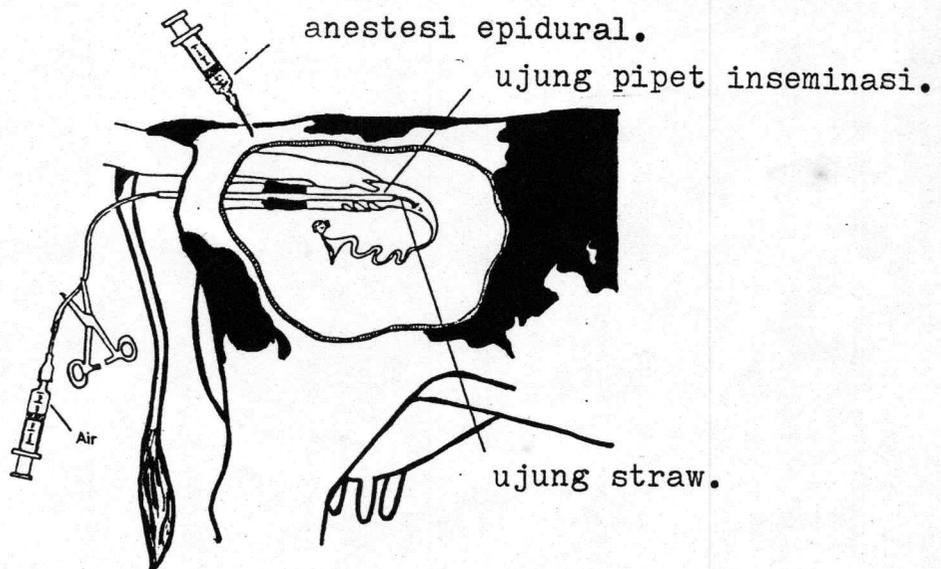
mudigah dimasukkan straw.



mudigah ditempatkan ditengah straw.



straw dimasukkan kedalam pipet inseminasi Cassou.

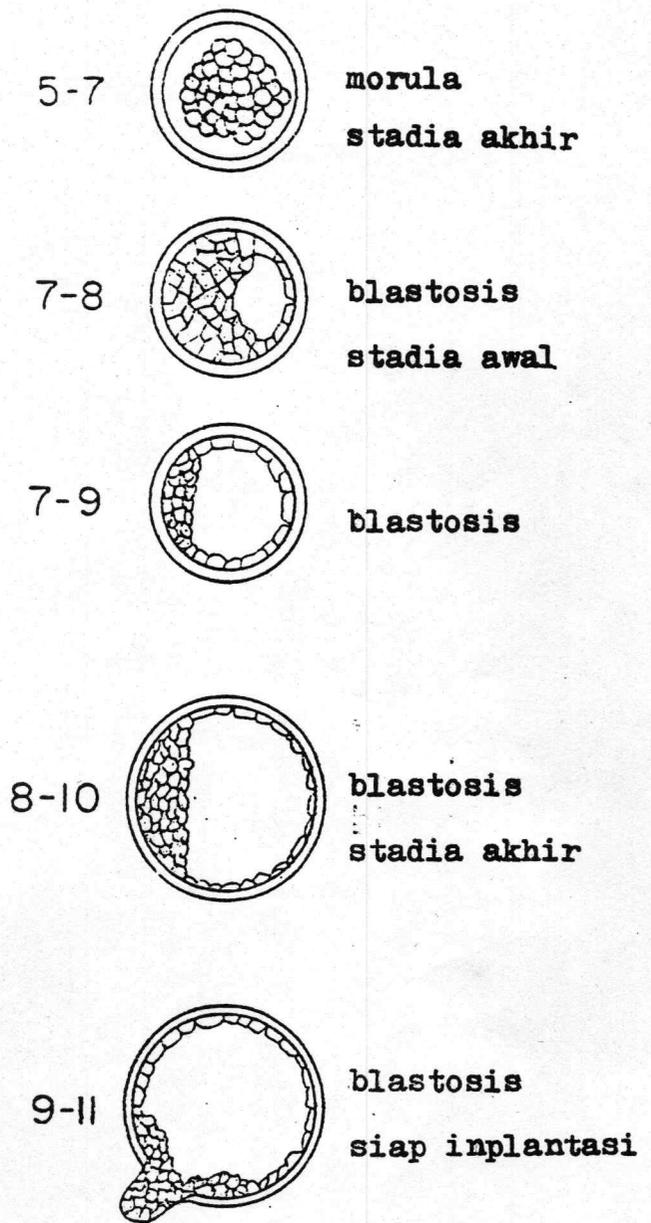
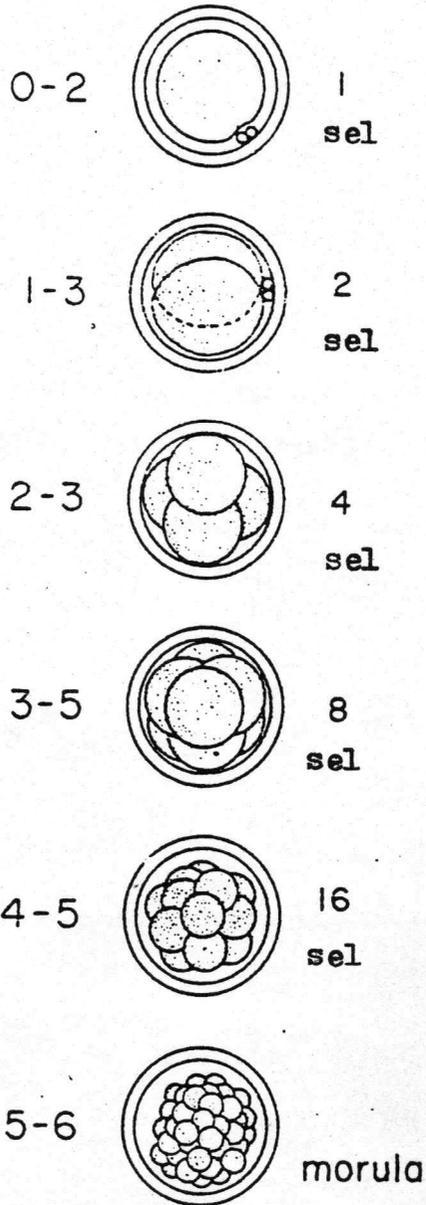


Pencangkakan mudigah tanpa pembedahan. (Jillella & Baker, 1978).

LAMPIRAN V

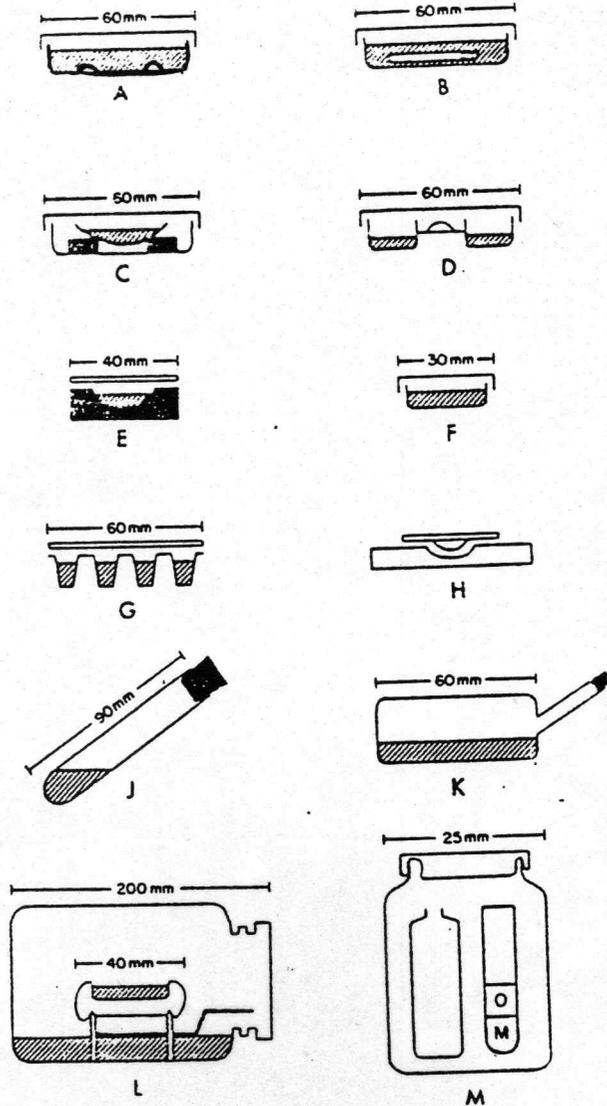
hari se
sudah birahi.

hari sesu-
dah birahi.



Bentuk normal dari mudigah sapi dari berbagai tingkat pem-
belahan. (Hafez, 1980).

LAMPIRAN VI ✓



Berbagai bentuk kontainer untuk penyimpanan ~~mudigah~~ A. Microdroplet dalam minyak parafin; B. tabung kapiler dalam minyak parafin; H. Metode tetes bergantung. A s/d E, berbagai bentuk vial yang berisi media yang ditempatkan terbuka didalam inkubator. J s/d M vial yang tertutup rapat. (Hafez, 1980).

LAMPIRAN VII

Komposisi media yang sering digunakan dalam penyimpanan mudigah

Komposisi (mg/l)	Brinster's mouse ova culture medium-3 (GIBCO)	Menezos B-2 medium (Menezos, 1976)	Eagle's minimum essential medium* (GIBCO)	Modified Dulbecco's PBS (Gwatkin, 1972)	Ham's nutrient mixture F-10 (GIBCO)	Synthetic oviduct fluid (Fervit, et al, 1972)	Tissue culture medium 1994 (GIBCO)	Whitten's medium (Gwatkin, 1972)
Saram anorganik								
NaCl	5546	5250	6800	8000	7400	6300	8000	1140
KCl	356	800	400	200	285	533	400	356
CaCl ₂	189	—	200	100	33	190	140	—
MgCl ₂ ·6H ₂ O	—	—	—	100	—	100	—	—
MgSO ₄ ·7H ₂ O	294	200	200	—	153	—	200	294
NaHCO ₃	2106	2500	2200	—	130	2106	350	1900
Na ₂ HPO ₄	—	61	—	1150	154	—	48	—
Na ₂ H ₂ PO ₄ ·H ₂ O	—	—	140	—	—	—	—	—
KH ₂ PO ₄	162	60	—	200	83	162	60	162
Carbohydrates	—	—	—	—	—	—	—	—
Glucose	1000	1200	1000	1000	1100	270	1000	1000
Na pyruvate	56	250	—	31	110	16	16	16
Na lactate (DL)	2253	—	—	—	—	470	—	2116
Ca (lactate) ₂ ·5H ₂ O	—	644	—	—	—	—	—	527
ribose	—	—	—	—	—	—	5	—
deoxyribose	—	—	—	—	—	—	5	—
Amino acids	none	contains 23	contains 13	none	contains 20	none	contains 21	none
Vitamins	none	contains 1	contains 8	none	contains 10	none	contains 16	none
Nucleic acids and precursors	none	none	none	none	contains 2	none	contains 8	none
Trace elements	none	none	none	none	contains 3	none	contains 1	none
komponen lain								
bovine serum albumin	5000	10000	varies	varies	varies	varies	varies	3000
cholesterol	—	125	—	—	—	—	2	—
Na acetate	—	50	—	—	—	—	50	—
liponic acid	—	—	—	—	2	—	—	—
Tween 80	—	50	—	—	—	—	20	—
glutathione	—	—	—	—	—	—	.05	—
α tocopherol PO ₄ (Na)	—	—	—	—	—	—	.01	—

(Hafez, 1980).

LAMPIRAN VIII

Komposisi media yang sering digunakan dalam penyimpanan mudigah

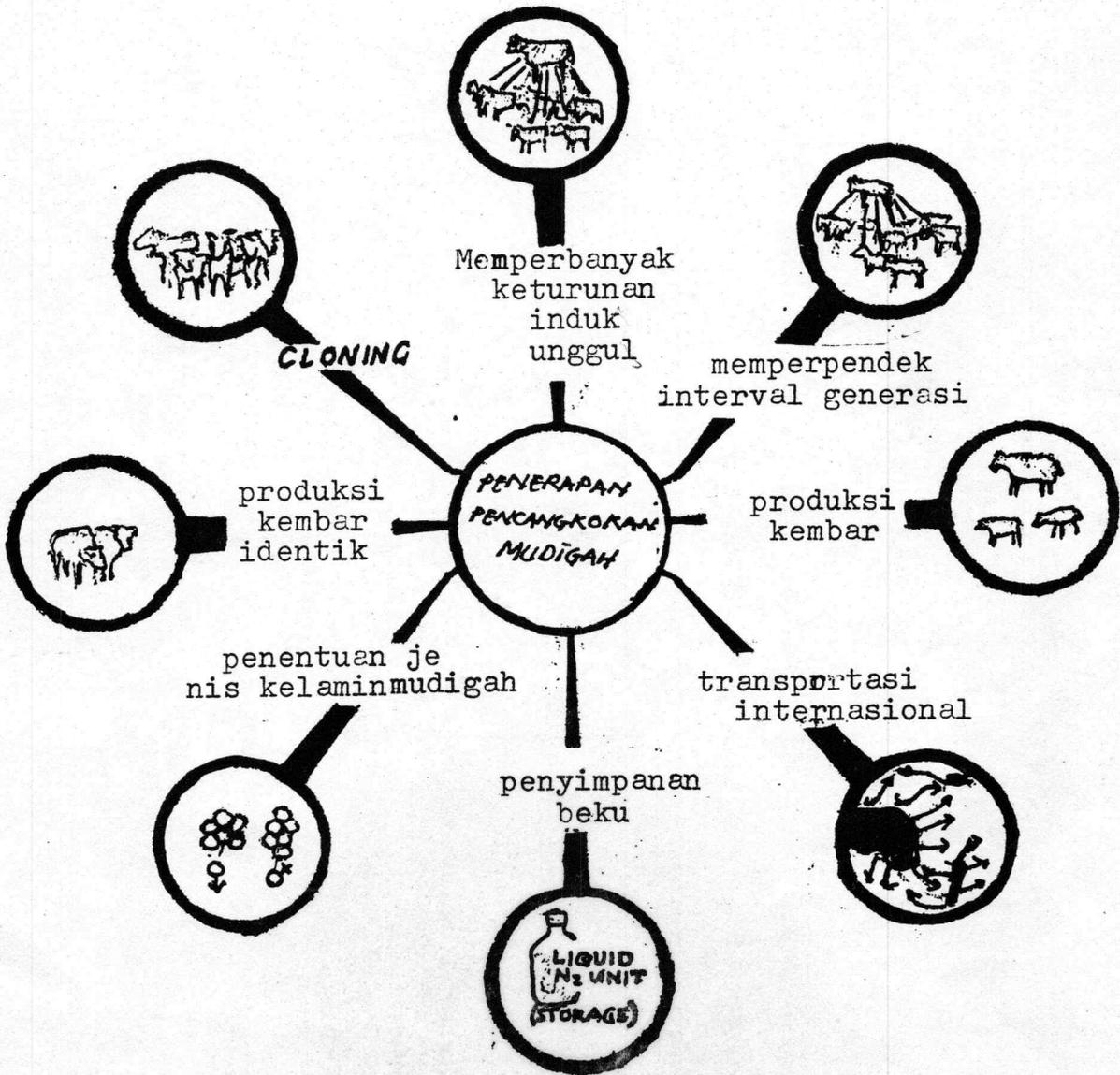
Komposisi (mM)	Whitten's Medium (WM ₁) (Hoppe & Pitts, 1973)	Fertilization Medium (FM/15) (Stanger-unpublished)	Modified Tyrodes (T6) (Quinn & Whittingham, 1980)	M16 (Whittingham, 1971)	M2 (Whittingham-unpublished)
NaCl	88.0	58.6	99.4	94.7	94.7
KCl	4.78	4.78	1.42	4.78	4.78
MgSO ₄ .7H ₂ O	1.19	1.19	—	1.19	1.19
MgCl ₂ .6H ₂ O	—	—	0.47	—	—
KH ₂ PO ₄	1.19	1.19	—	1.19	1.19
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	—	—	0.36	—	—
NaHCO ₃	22.6	52.0	25.0	25.0	4.0
HEPES*	—	—	—	—	21.0
CaCl ₂ .2H ₂ O	—	—	1.78	1.71	1.71
Ca lactate	1.71	1.71	—	—	—
Na lactate**	21.6	21.6	24.9	23.3	23.3
Na pyruvatet	0.25	0.25	0.47	0.33	0.33
Glucose	5.56	5.56	5.56	5.56	5.56
Penicillin	100 U/ml	100 U/ml	100 U/ml	100 U/ml	100 U/ml
Streptomycin SO ₄	50 µg/ml	50 µg/ml	50 µg/ml	50 µg/ml	50 µg/ml
Phenol Red	0.001% (w/v)	0.001%	0.001%	0.001%	0.001%
BSA++	3 mg/ml	15 mg/ml	15 mg/ml	4 mg/ml	4 mg/ml

Ketahanan mudigah sapi setelah pembekuan dan pencangkakan (Quinn, 1982)

Kepustakaan	jumlah kebuntingan	jumlah tingkat mudigah kebunt.	tingkat kebunt. %	ket.
Bilton and Moore (1977)	5	16	31	
Bilton and Moore (1978)	9	39	23	
Bilton (1980)	26	81	32	
	39	92	42	Glycerol
Lehn-jensen and Greve (1978)	11	56	20	
Lehn-jensen et al (1981)	17	35	48	Glycerol, NS Transfer
Massip et al (1978)	7	38	18	
	2	11	18	Straws
Renard et al (1981a)	5	20	25	Propanediol
	9	34	26	
Renard et al (1981b)	21	84	25	NS Transfers
Santos-Valadez et al (1981)	7	25	28	
Schneider et al (1980)	23	68	34	
Shea et al (1977)	4	16	25	
Tervit et al (1981)	7	40	18	
Trounson et al (1978a)	4	21	19	NS Transfer
Trounson et al (1978c)	17	42	40	
Trounson et al (1980)	199	646	30	
Willadsen et al (1976a)	9	61	15	
Willadsen et al (1977)	12	39	31	
Willadsen et al (1978)	9	20	45	
	1	22	5	DMSO not removed
	3	17	18	NS Transfer

(Trounson dan Pugh, 1982).

LAMPIRAN IX



Penerapan pencangkokan mudigah pada ternak sapi.
(Jillella, 1982).