

S 79.16
OHD
P 21

PENUNTUN PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOREPRODUKSI TERNAK



Oleh :

Yon Supri Ondho
Daud Samsudewa

Laboratorium Pemuliaan dan Reproduksi Ternak
Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro

SEMESTER GENAP
2004 / 2005

UPT-PUSTAK-UNDIP
No. Daft: 24/KI/PP/21
Gl. : 24. mzzat '05

TATA TERTIB DAN PENILAIAN PRAKTIKUM TEKNOLOGI BIOREPRODUKSI

I. TATA TERTIB

1. Praktikum dilaksanakan sesuai dengan jadwal yang telah ditentukan.
2. Praktikan wajib mengikuti seluruh kegiatan yang meliputi asistensi, pre test, pelaksanaan praktikum dan post test / pertanggungjawaban praktikum.
3. Praktikan selama melaksanakan kegiatan praktikum dibimbing oleh asisten ataupun dosen pangampu yang sedang bertugas.
4. Praktikan wajib datang 10 menit sebelum praktikum dimulai.
5. Praktikan wajib mengenakan Pakaian bebas rapi dan bersih, Jas Laboratorium, sepatu dan mengenakannya dengan baik dan benar.
6. Praktikan wajib membawa buku petunjuk praktikum dan laporan sementara.
7. Praktikan wajib menyerahkan laporan sementara setiap selesai praktikum.
8. Praktikan wajib membuat laporan akhir maksimal dua minggu setelah praktikum dan wajib disetujui oleh asisten atau dosen pembimbing praktikum.
9. Apabila praktikan melanggar tata tertib tersebut maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum.

II. PENILAIAN

Penilaian praktikum berdasarkan komponen-komponen tugas sebagai berikut :

Pretest	: 10%
Aktivitas	: 30%
Laporan Sementara	: 20%
Posttest	: 20%
Laporan Akhir	: 20%

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas segala berkah dan rahmat-Nya hingga penulis dapat menyelesaikan Petunjuk Praktikum mata kuliah Teknologi Bioreproduksi.

Petunjuk Praktikum ini memuat tentang pedoman pelaksanaan praktikum, dan materi praktikum mata kuliah Teknologi Bioreproduksi.

Ucapan terima kasih penulis kami sampaikan kepada Dekan Fakultas Peternakan, Ketua Jurusan Produksi Ternak serta Kepala Laboratorium Ilmu Pemuliaan dan Reproduksi Ternak yang telah memberi kesempatan penulis untuk dapat segera mewujudkan petunjuk praktikum Teknologi Bioreproduksi ini.

Penulis sadari bahwa petunjuk praktikum ini masih banyak kekurangannya. Kritik dan saran sangat penulis harapkan. Akhir kata semoga petunjuk praktikum ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkannya.

Tim Pengampu Praktikum

Mk. Teknologi Bioreproduksi

I. INSEMINASI BUATAN (ARTIFICIAL INSEMINATION)

1.1. PENDAHULUAN

Artificial Insemination (AI), di Indonesia dikenal dengan nama Inseminasi Buatan (IB). adalah suatu tindakan memasukan semen ke dalam organ kelmian betina dengan bantuan manusia dan tanpa adanya aksi perkawinan.

Dengan demikian jelaslah bahwa IB sendiri tidak dapat memperbaiki "mutu ternak", akan tetapi IB merupakan cara yang tepat untuk sarana perbaikan mutu genetik ternak.

Dalam melakukan inseminasi buatan sebenarnya tidak sesederhana seperti yang tersebut di atas, akan tetapi ada 3 hal pokok yang harus dikerjakan yaitu :

1. Pengambilan / penampungan semen
2. Perawatan sperma yang meliputi :
 - Pemeriksaan semen
 - Pengenceran semen
 - Penyimpanan semen

3. Inseminasi Buatan

Dengan demikian berarti yang menjadi obyek / sasaran adalah organ-organ reproduksi, maka sebelum dilakukan IB perlu terlebih dahulu diketahui organ-organ reproduksi baik organ reproduksi jantan maupun betina.

Perlu diketahui bahwa di dalam program IB di Indonesia telah dimasukkan juga program pemuliaan ternak, yaitu seleksi pada pejantan yang akan diambil semennya, sehingga ternak hasil IB mempunyai mutu genetik yang lebih baik daripada induknya. Dalam hal ini banyak orang yang mempunyai anggapan salah yaitu "Inseminasi Buatan dapat memperbaiki mutu ternak".

1.2. PENAMPUNGAN SEMEN

Di dalam penampungan semen, hal-hal yang perlu diperhatikan adalah :

- a. Semen yang tertampung tidak berkurang kualitas dan kuantitasnya, dan tidak terkontaminasi bahan-bahan dari luar terutama kuman atau bibit atau bibit penyakit.
- b. Jumlah sperma yang keluar tidak boleh berkurang bila dibandingkan dengan jumlah sperma dalam ejakulasi perkawinan alami.
- c. Kesehatan dan libido sexual pejantan harus total dan tidak terganggu.

1.2.1. Beberapa Teknik Penampungan Semen

1. Tanpa Aksi Perkawinan

a. Massage / urut

Pada umumnya dilakukan pada unggas atau pada ternak besar (sapi,kerbau), Sekalipun pada ternak besar jarang / tidak menggunakan metode ini. Pada masa lalu sebelum dipergunakan artificial vagina menggunakan metode ini, yaitu tangan masuk anus, dilakukan pengurutan disekitar daerah ampula, kelenjar vesikularis dan prostata. Semen dapat menetes / keluar dari penis tanpa ereksi terlebih dahulu. Semen tercampur dengan urine atau kotoran dalam preputium (dubris) dari preputium.

b. Dengan mempergunakan rangsang listrik (elektro ejakulator)

2. Dengan Gerakan / Aksi Perkawinan

- a. Menampung semen yang menetes / tersisa dari penis setelah terjadi perkawinan.
- b. Mengambil semen dari vagina hewan, sesaat setelah dikawini. Pejantan dibiarkan memacek betina. Semen diambil dari vagina

dengan mempergunakan sendok atau spone. Spone dapat diletakkan dalam vagina sebelum betina dipacek. Semen yang diambil dengan cara ini biasanya berkualitas jelek, tetapi dapat dipakai dalam latihan evaluasi.

- c. Memasang kondom (setelah dihilangkan bahan-bahan spermicidanya) pada organ reproduksi pejantan.

1.2.2. Penampungan Semen dengan Metode Vagina Buatan

1. Vagina Buatan

Ada berbagai macam vagina buatan untuk species ternak yang berbeda. Secara umum vagina buatan adalah vagina yang terbuat dari bahan karet berbentuk selongsong yang dapat diatur suhu, tekanan pada karet lapis dalam dan kelicinannya.

2. Bagian-bagian Vagina Buatan

- a. Tabung ebonit, karet yang lembam atau dapat dibuat dari tabung radiator mobil dengan diameter 5 cm dan panjang 40 cm (sapi)
- b. Karet lapis dalam ukuran diameter 4 cm dan panjang 50 cm
- c. Corong penampung dari bahan karet.
- d. Tabung berskala untuk menampung semen (babi : botol 200-300 cc)
- e. Tali / gelang karet secukupnya
- f. Air hangat, suhu 43 – 48° C ; untuk kuda 46 - 49° C.
- g. Pelicin/jelly/vaselin alba/minyak

3. Mempersiapkan Vagina Buatan

- a. Masukkan karet tipis dalam ke dalam ebonit
- b. Lipat keluar kedua ujungnya dan ikat dengan karet
- c. Masukkan air hangat melalui lubang pentil pada tabung ebonit
- d. Tiupkan udara melalui pentil sampai tekanan dalam vagina sama dengan tekanan vagina asli
- e. Pasang tabung penampung pada ujung runcing karet corong kemudian ikat dengan karet gelang

- f. Olesi bagian dalam vagina buatan dengan pelicin sampai $\frac{1}{3}$ panjang dari vagina buatan

Sebelum mempergunakan vagina buatan, alat-alat harus disterilkan lebih dahulu dengan mempergunakan air mendidih, kemudian dibilas dengan alkohol 70% kemudian dikeringkan, baru boleh dipergunakan.

4. Persiapan Pejantan yang akan Ditampung

Hewan jantan pertama kali dibersihkan dari kotoran / dimandikan. Bersihkan bagian bawah sekitar penis, kalau perlu rambut di sekitar preputium digunting/cukur, tinggalkan bulu kurang lebih 1 cm preputium dicuci dengan air hangat kemudian dibilas dengan NaCl fisiologis kemudian dikeringkan dengan dilap.

5. Penampungan Semen pada Domba

Siapkan domba betina pemancing kemudian didekatkan pejantan pada betina pemancing (dummy) untuk merangsang libidonya. Pejantan dibiarkan menaiki (mounting) betina pemancing sampai 2 kali, tetapi dijaga jangan sampai terjadi intromisi ke vagina domba pemancing. Kemudian vagina buatan yang telah disiapkan dibawa mendekat dan setelah domba jantan naik untuk yang ketiga kalinya; barulah tangan kiri memegang pangkal penis dan diarahkan masuk ke dalam vagina buatan yang dipegang tangan kanan.

Pejantan akan melakukan dorongan tersentak ke arah bagian muka, dan penis masuk ke dalam vagina buatan. Biarkan pejantan turun sendiri dari hewan pemancing, **vagina buatan jangan dilepas dulu sebelum pejantan benar-benar turun dari pemancing.**

Setelah dilepas dari penis, peganglah vagina buatan dalam posisi tegak dengan penampung di bawah. Kemudian lakukan gerakan

berayun, biarkan agar semen yang tertampung masuk ke dalam gelas/tabung penampung.

Semen hasil penampungan harus dihindarkan dari sinar matahari secara langsung, dan "shock" dingin selama penampungan dan penanganan. Setelah semen tertampung, dilakukan pemeriksaan semen secepat mungkin.

1.3. PEMERIKSAAN SEMEN

Pemeriksaan semen meliputi :

a. Pemeriksaan Makroskopis; yaitu pengamatan visual terhadap semen. Pengamatan ini meliputi :

1. Volume semen
2. Warna semen
3. Konsistensi semen
4. pH semen
5. Bau semen

b. Pemeriksaan secara mikroskopis; yaitu pengamatan yang hanya dapat dilakukan dengan mempergunakan bantuan mikroskop.

Pengamatan ini meliputi :

1. Gerakan massa dan gerakan individu sperma
2. Konsentrasi sperma
3. Mortalitas
4. Morfologi

1.3.1. Pemeriksaan Semen secara Makroskopis :

1. Volume semen, diukur menggunakan pipet berskala
2. Warna semen diamati secara organoleptis
3. Konsistensi semen ditentukan dengan cara menggoyangkan tabung penampung semen
4. pH semen diukur dengan universal indikator pH
5. Bau semen diamati secara organoleptis

1.3.2. Pemeriksaan Semen Secara Mikroskopis

1.3.2.1. Gerakan Massa

Setetes semen yang masih segar dan belum di encerkan letakkan pada objek glass, kemudian di bagian kanan dan kirinya diberi deck glass kemudian di atas sperma ditutup juga dengan deck glass yang menumpang pada kedua deck glass kanan dan kiri. Sperma tersebut dilihat dibawah mikroskop pada temperatur 37⁰C dengan perbesaran lemah, kemudian dilakukan pengamatan gerakan massa dari spermatozoa.

Penilaian gerakan massa

- Nilai 5 : Gerakan terbaik; lebih dari 80% spermatozoa bergerak sangat aktif (gerakan gelombang menyerupai awan yang bergulung – gulung / pusaran air)
- Nilai 4 : Gerakan sangat bagus; 70% - 80% spermatozoa bergerak aktif (terlihat jelas gerakan gelombang dan pusaran air)
- Nilai 3 : Gerakan bagus; 50% spermatozoa bergerak aktif (terlihat gerakan gelombang dan pusaran air)
- Nilai 2 : Gerakan cukup; 20 – 50% spermatozoa bergerak (gerakan gelombang terlihat tetapi pusaran air tidak)
- Nilai 1 : Gerakan spermatozoa jelek, kurang dari 20% jumlah spermatozoa yang bergerak (terlihat gerakan gelombang yang lemah)
- Nilai 0 : Gerakan sangat jelek, dalam hal ini jumlah spermatozoa yang bergerak sedikit sekali bahkan sampai tidak ada sama sekali; sehingga tidak terlihat gerakan massa sama sekali.

1.3.2.2. Gerakan Individu

Untuk gerakan individu, dipergunakan spermatozoa yang sudah mati sebagai pembanding.

Cara :

Sperma diletakkan di atas objek glass; kemudian ditetesi garam fisiologis 0.9% dan ditutup dengan deck glass. Pemeriksaan dapat menggunakan pembesaran lemah atau kuat. Yang baik spermatozoa bergerak maju (Progressive motility). Di samping itu ada juga gerakan spermatozoa yang :

- a. Berputar (Circular motility)
- b. Berayun (Oscillatory motility)
- c. Mundur (Reserve motility)
- d. Tidak bergerak (nervous spermia)

1.3.2.3. Konsentrasi Spermatozoa

1. Secara mikroskopis

Untuk melihat konsentrasi spermatozoa secara mikroskopis, yang dilihat adalah jarak antara kepala spermatozoa dengan kepala spermatozoa.

Cara :

Pada objek glass kita teteskan semen segar yang belum dihancurkan, kemudian ditutup dengan deck glass kemudian dilanjutkan dengan dilihat perbesaran kuat atau lemah.

Sedangkan penilaiannya adalah sebagai berikut :

- DENSUM** : Bila rata-rata jarak antar kepala spermatozoa lebih pendek dari panjang kepalanya, berarti padat, konsentrasi pekat; lebih dari 1 juta spermatozoa / mm³
- SEMI DENSUM** : Bila rata-rata jarak antar kepala spermatozoa sama dengan panjang

- kepala spermatozoa. Konsentrasi cukup kuat ; 0,5 – 1 juta spermatozoa / mm³.
- OLIGOSPERMIA** : Bila rata-rata jarak spermatozoa 0,5 dari panjang spermatozoa. Konsentrasi lebih sedikit dari 0,2 juta spermatozoa / mm³.
- ASPERMIA** : Bila jarak rata-rata antar kepala spermatozoa jauh Sekali. Konsentrasinya sangat encer yaitu hanya mengandung beberapa ribu spermatozoa / mm³.

2. Secara khemis/kimiawi

Hal ini dilihat dengan memperhatikan resistensi spermatozoa terhadap ion chlor.

Cara :

Kedalam tabung reaksi dimasukkan 0,2 cc semen pekat; atau 0.05 semen encer. Lalu ditambah 10 cc NaCl 1% dicampur alkohol; dan dihomogenkan. Cara pemeriksaannya satu tetes cairan tersebut diletakkan di atas objek glass dan ditutup dengan deck glass, kemudian diperiksa dibawah mikroskop.

Jika masih ada spermatozoa yang bergerak, tambah lagi dengan NaCl dan periksa lagi. Demikian seterusnya sampai tidak ada spermatozoa yang bergerak.

Penilaian terhadap resistensi ion chlor adalah

$R = \frac{\text{Volume Nacl yang dipergunakan}}$

$\text{Volume semen yang dipergunakan}$

Jika R lebih dari 20.000 berarti baik sekali.

Jika R = 10.000 – 20.000 = baik

= 5.000 – 10.000 = cukup

= 3.000 - 5.000 = sedang

= <3.000 = jelek

Catatan : Pekerjaan ini tidak boleh dilakukan lebih dari 15 menit.

Perhitungan konsentrasi spermatozoa dengan menggunakan haemocytometer

Metode ini meniru perhitungan sel darah merah yang dilakukan oleh Neubauer, yang merupakan prosedur yang akurat tentang perhitungan konsentrasi spermatozoa.

Caranya :

Pipet eritrosit diisi dengan semen segar sampai batas 0,5; kemudian dilarutkan dengan 3% NaCl atau larutan eosin 0.02% yang dihisap sampai tanda 1.01; yang berarti semen diencerkan sampai 200 kali. Kemudian lakukan pengocokan dengan hati-hati namun cukup cepat; dengan cara membuat gerakan angka 8 selama 3 – 5 menit. Kemudian larutan yang berada di ujung hemocytometer dibuang 3 – 5 tetes. Setelah itu semen yang telah diencerkan tadi ditetaskan diatas objek glass penghitung (kotak penghitung Neubauer) dan dihitung 5 kotak dengan arah diagonal. Perhitungan Konsentrasi

Dalam tiap kotak terdapat 16 ruangan kecil, maka dalam 5 kotak terdapat 80 ruangan kecil. Jadi seluruh objek glass penghitung memiliki 400 ruangan kecil; yang volume keseluruhannya adalah $0,1 \text{ mm}^3$.

Apabila dalam 5 kotak atau 80 ruangan kecil terdapat X spermatozoa maka konsentrasi spermatozoa yang diperiksa adalah:

$$KS = X \times \frac{400}{80} \times 200 \times 10 \text{ spermatozoa} / \text{mm}^3$$

Catatan :

Larutan yang digunakan dalam perhitungan Konsentrasi metode hemocytometer, di samping untuk mengencerkan sekaligus membunuh spermatozoa; disamping itu juga berfungsi mewarnai spermatozoa sehingga lebih jelas dan memudahkan dalam pemeriksaan dan menghitung oleh sebab itu lebih baik menggunakan larutan eosin.

1.3.2.4. Persentase Mortalitas

Cara menghitung persentase mortalitas adalah sebagai berikut :

Teteskan 1 tetes eosin 2% diatas objek glass. Lalu tambahkan 1 tetes semen yang dicampur dengan ujung objek glass yang lain. Kemudian dibuat preparat apus, dan dipanaskan di atas pemanas spirtus. Amati preparat tersebut di bawah mikroskop (pencampuran ini tidak boleh lebih dari 6 detik).

(Pelaksanaan pemanasan dengan cara menggoyang-goyangkan diatas api secara cepat). Spermatozoa yang mati sebelum pewarnaan warna kepalanya akan lebih merah jika dibandingkan dengan spermatozoa yang mati setelah pewarnaan, jumlah sperma yang di amati makin banyak makin baik, minimal 200 spermatozoa.

Perhitungan :

$$\text{Persentase spermatozoa yang hidup} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa hidup}}{\text{sperma yang diamati}} \times 100\%$$

1.3.2.5. Morphologi Spermatozoa

Dalam penilaian morphologi spermatozoa yang dilihat adalah adanya keabnormalan morphologi spermatozoa dapat ditentukan dari :

Kepala terlalu besar ; kepala terlalu kecil ; kepala bercabang (kepala dua); ekor terlalu pendek / panjang / ekor putus ; tidak punya ekor sama sekali ; ekornya bercabang dan sebagainya.

Dalam penilaian morphologi harus diketahui lebih dahulu bentuk spermatozoa yang normal dari hewan yang akan diamati morphologi spermatozoanya.

Spermatozoa dapat dilihat di bawah mikroskop baik dengan pewarnaan maupun tanpa pewarnaan, kemudian dihitung

persentase keabnormalan seperti halnya penilaian motilitas spermatozoa.

Perhitungan :

$$\text{Persentase abnormal spermatozoa} = \frac{\text{Jumlah spermatozoa abnormal}}{\text{spermatozoa yg diamati}} \times 100\%$$

Sebagai sample spermatozoa yang di amati lebih banyak lebih baik minimal 200 spermatozoa.

Untuk persyaratan IB abnormal spermatozoa tidak boleh lebih dari 15%.

1.4. PENGECERAN SEMEN

Istilah pengenceran semen sebenarnya kurang tepat dipergunakan dalam "pengenceran semen", karena di samping untuk memperbanyak volume semen (mengencerkan) juga harus dapat mengawetkan dan mempertahankan daya hidup spermatozoa : sehingga istilah yang tepat adalah DILUTER.

Tujuan pokok dari penggunaan dilutter adalah untuk memperbanyak volume dan memperpanjang hidup spermatozoa, sehingga dapat dipergunakan untuk menginseminasi betina dalam jumlah yang lebih banyak jika dibandingkan dengan kawin alam. Oleh karena adanya sifat pengawet, maka semen dapat disimpan dan dipergunakan dalam jangka waktu yang cukup lama tanpa adanya penurunan fertilitas yang berarti sebagian waktu pelaksanaan IB telah longgar.

Untuk mencapai maksud tersebut, dilutter pada dasarnya harus memenuhi beberapa persyaratan :

1. Secara teknis, bahan mudah didapatkan dan mudah pengelolaannya.
2. Secara ekonomis bahan mudah didapatkan dan harganya murah.
3. Secara biologis. Bahan merupakan sumber zat makanan untuk spermatozoa dan merupakan penyangga yang dapat mempertahankan kondisi asam basa serta dapat menahan perkembangan bakteri / kuman serta tidak bersifat toksik bagi spermatozoa dan juga merupakan media isotonik dengan semen.

Berdasarkan asalnya diluter dapat dibagi menjadi :

- a. Diluter alami : bahan dari nabati/hewani
- b. Diluter sintesis : dengan bahan kimia

1.4.1. Cara Menentukan Volume Pengenceran

Untuk menentukan berapa banyaknya diluter yang perlu ditambahkan/dipergunakan, maka harus diketahui terlebih dahulu : konsentrasi spermatozoa; progressive motility; dan kebutuhan spermatozoa untuk keperluan 1 kali IB (dosis IB).

Volume setelah diencerkan :

$$\frac{\text{Vol} \times \text{Kons} \times \text{PM} \times 1\text{mm}^3}{\text{Dosis } 1 \times \text{IB}}$$

Keterangan :

- Vol : Volume semen segar
 Kons : Konsentrasi spermatozoa
 PM : Progressive motility

1.4.2. Contoh Diluter yang Telah Digunakan Para Ahli :

D.2.1. KUNING TELUR SITRAT (Salisbury, 1985)

Bahan yang dipergunakan :

- Sodium sitrat 2,9 gram
- Aquadest 100cc
- Kuning telur = 1 : 4 (1 bagian KT dan 4 bagian larutan sodium sitrat)

D.2.2. KUNING TELUR PHOSPAT

Bahan yang dipergunakan :

- Kalium phospat 0,2 gram
- Aquadest 100cc
- Kuning telur sama banyaknya dengan phospat dan aquadest

D.2.3. GLUKOSA SITRAT GELATIN

Bahan yang dipergunakan :

- Na sitrat 3 gram
- Glukosa 2,85 gram
- Aquadest 100cc
- Kuning telur 2,5 cc tiap 5 cc diutter

D.2.4. GLUKOSA KUNING TELUR SITRAT

Bahan yang diperugunakan :

- Glukosa 2,85 gram
- Na citrat 2,80 gram
- Aquadest 100cc
- Kuning telur 20%

D.2.5. TRIS

Bahan yang dipergunakan :

- 6,06 gram TRIS
- 2,5 gram fruktosa
- 3,4 gram asam sitrat
- 200 cc aquadest

D.2.6. DILUTER AIR SUSU

Air susu harus dipanaskan lebih dahulu 92-95⁰C selama 10 menit untuk menghilangkan kerja enzim laktokinase, kemudian disaring ; kalau perlu dapat ditambah kuning telur 20-30%.

Fungsi kuning telur :

- Mencegah terjadinya shock dingin karena mengandung lechitine
- Melindungi kesempurnaan sifat koloit karena mengandung lipoprotein.

- Sebagai makanan spermatozoa karena mengandung glukosa, vitamin dan bermacam asam amino.
- Mencegah terjadinya glutinasi karena dapat menghalangi teroksidasinya antiaglutinasi

D.2.7. DILUTER AIR KELAPA

Air kelapa merupakan air yang steril sehingga banyak juga yang menggunakan sebagai Diluter sperma, perlu dimengerti bahwa air kelapa banyak mengandung Mg dan kualitas air kelapa sangat heterogen, serta cepat turun pH nya apabila berhubungan dengan udara. Penggunaan air kelapa sebaiknya dilakukan apabila memang tidak ada pengecer yang lain dan spermanya harus segera dipakai untuk IB.

D.2.8. NaCl Fisologis

NaCl fisiologi mempunyai kelebihan yang jauh lebih banyak dari air kelapa antara lain :

- Dapat mempertahankan tekanan asmotik sperma
- pH nya tidak mudah berubah
- Mudah penyimpanannya
- Memperbaiki mobilitas sperma

Sedangkan kelemahannya NaCl tidak menyediakan energi untuk spermatozoa. NaCl fisiologi telah digunakan untuk pengecer sperma terutama sperma ayam tahun 1959 oleh Lorens.

1.5. PENGAWETAN DAN PENYIMPANAN SEMEN

Supaya spermatozoa dapat hidup lebih lama, maka spermatozoa harus dibuat non aktif, atau aktifitasnya ditekan. Penekanan aktivitas spermatozoa ini dilakukan dengan cara menyimpan spermatozoa dalam temperatur yang rendah.

Ada 2 cara penyimpanan spermatozoa yaitu :

1. Disimpan sebagai semen cair (liquid semen).
2. Disimpan sebagai semen beku (frozen semen) = deep freeze semen

1.5.1. SEMEN CAIR

Semen cair adalah semen yang diencerkan dan ditempatkan dalam tabung-tabung semen, kemudian dimasukkan dalam beaker glass yang berisi air, dan disimpan dalam almari es dengan suhu 4 – 5^o C.

Semen yang disimpan dengan menggunakan cara ini fertilitasnya masih baik selama 4 hari (semen sapi). Tujuan pemasukan semen dalam beaker glass yang berisi air adalah untuk menghindari shock dingin.

1.5.2. SEMEN BEKU

Sperma yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam straw, ampul atau pelet (mempunyai dosis 1 x inseminasi) kemudian disimpan dalam suhu rendah.

Bila disimpan dengan menggunakan liquid nitrogen suhu penyimpanannya -320^oF atau -196^oC. Dengan CO₂ padat (dry ice), suhu penyimpanannya -76^oC. Dengan menggunakan uap nitrogen cair suhu penyimpanannya -150^oC ; dengan CO₂ cair temperaturnya sama dengan CO₂ padat.

1.6. PELAKSANAAN INSEMINASI BUATAN

1.6.1. Alat-Alat Inseminasi Buatan :

1. Insemination gun / pistol gun, berfungsi untuk memasukkan semen ke dalam alat reproduksi betina (untuk semen beku), sedang untuk semen cair dengan menggunakan syring.
2. Spekulum.
3. Vagina buatan, dipergunakan untuk menampung semen.
4. Container, dipergunakan untuk menyimpan semen beku.
5. Straw, ampul, pelet; kemasan yang dipergunakan untuk menyimpan semen baku masing-masing berisikan dosis 1 kali IB.
6. Plastik sheet (selubung plastic), untuk menyelubungi pistol gun dan menahan straw saat pistol gun dioperasikan.

1.6.2. Pelaksanaan IB

Dalam pelaksanaan IB dapat dibagi menjadi 2 tahap yaitu :

F.2.1. Tahap persiapan

Yaitu tahap pengambilan semen dari dalam penyimpanan, dan memasukkannya ke dalam alat IB sampai siap untuk di IB kan.

Caranya :

1. Thawing : straw diambil dari container dan dimasukkan ke dalam air biasa kurang lebih 15 detik, dengan tujuan mencairkan kembali semen.
2. Straw diambil dan dimasukkan ke dalam pistollet, dimana ujung yang disumbat ditaruh dimuka / ujung.
3. Gunting ujung straw dibawah sumbat nya (dibawah laboratory plug).
4. Memasang plastik sheet untuk menyelubungi straw kemudian pistollet dikunci dan siap di IB kan.

F.2.2. Teknik pelaksanaan IB

Ada 2 cara pelaksanaan IB yaitu :

1. Metode spekulum / vaginoskop

Caranya :

Vaginoskop dimasukkan ke dalam vagina untuk melihat posisi serviks. Kemudian pistollet yang sudah disiapkan untuk meng IB, ujungnya dimasukkan lewat vaginaskop sampai ke lubang serviks, kemudian spermanya ditumpahkan atau di deposisikan disitu.

2. Metode rektovaginal

Caranya :

1. Pasang sarung tangan pada salah satu tangan dan olesi dengan pelicin secukupnya
2. Pistollet yang sudah siap untuk inseminasi dibawa dengan cara digigit dengan ujung mengarah kekanan .

3. Dengan mempergunakan kertas tissue, vulva dibersihkan
4. Bentuk jari-jari tangan kiri seperti kerucut (stream-line) dan dengan perlahan-lahan dimasukkan ke dalam rektum dengan gerakan memutar.
5. Segera bersihkan vulva dengan menggunakan tissue.
6. Dengan dibantu orang lain, usahakan dapat membuka bibir vulva menggunakan jari-jari tangan agar pistollet masuk dengan bersih.
7. Lewatkan ujung pistollet melalui vulva, vagina menuju serviks sampai pada posisi tertentu (Posisi 1, 2, 3 dan 4).
8. Semprotkan semen secara perlahan-lahan sambil pistollet ditarik ke belakang, supaya semen tidak mengumpul.
9. Keluarkan pistollet dari dalam vulva dan tangan dari rektum secara hati-hati
10. Lepaskan plastik sheet, hindarkan kontaminasi pada pistollet dan setelah dibersihkan pistollet tersebut segera disimpan.

1.7. PENILAIAN HASIL INSEMINASI BUATAN

Keberhasilan IB dapat ditentukan antara lain :

1. NRR (Non Return Rate) yaitu persentase jumlah betina yang tidak kembali minta kawin atau tidak ada permintaan IB kembali. Biasanya ditunggu sampai 90 hari dianggap bunting. NRR yang tinggi yang diharapkan.
2. Conception Rate (CR) yaitu persentase jumlah betina yang bunting pada inseminasi pertama, ditentukan dengan diagnosa secara palpasi rektal pada waktu umur kurang lebih 3 bulan kebuntingan CR yang tinggi yang diharapkan.

3. Service per Conception (S/C) yaitu banyaknya jumlah pelayanan inseminasi yang dibutuhkan oleh seekor betina untuk menghasilkan satu kebuntingan. S/C yang rendah (≥ 1) diharapkan S/C terendah adalah satu.
4. Calving Rate (CRT) yaitu persentase jumlah anak yang lahir dari hasil IB. CRT yang tinggi yang diharapkan.

Pelaksanaan Praktikum :

Praktikum yang dilaksanakan adalah :

1. Thawing Semen Beku.

Thawing semen beku dilakukan dengan menggunakan air hangat dengan suhu 37°C selama 10 detik.

2. Pemeriksaan Semen

Pemeriksaan semen yang dilakukan antara lain penilaian gerakan massa dan konsentrasi spermatozoa dan dilanjutkan dengan perhitungan angka pengenceran.

3. Simulasi Pelaksanaan Inseminasi Buatan

Simulasi pelaksanaan inseminasi buatan dilakukan dengan menggunakan preparat organ reproduksi sapi betina, menggunakan dummy atau hewan hidup.

II. FERTILISASI

Fertilisasi terdiri dari penyatuan atau fusi dua sel gamet yaitu gamet jantan dan betina untuk membentuk satu sel atau *zygot*. Proses ini terjadi di bagian bawah *ampula tuba Fallopii* (Hafez, 1980).

Fertilisasi merupakan proses ganda yang terdiri dari aspek embrionik dan aspek genetik. Aspek embrionik meliputi pengaktifan ovum oleh spermatozoa. Apabila rangsangan ini tidak ada maka ovum tidak bisa memulai *cleavage* dan hal ini akan mengakibatkan tidak berlangsungnya perkembangan embrionik. Aspek genetik meliputi pemasukan faktor-faktor hereditas pejantan ke dalam ovum (Nalbandov, 1990).

Sebelum terjadi fertilisasi, spermatozoa akan mengalami beberapa perkembangan yang bertujuan untuk mengoptimalkan keberhasilan proses ini. Tahapan pertama spermatozoa akan diejakulasikan di vagina yang jumlahnya berjuta-juta. Lendir serviks sebagai barier pertama akan menyeleksi spermatozoa, sesampainya di uterus spermatozoa akan mengalami kapasitasasi dan dekapasitasasi sebelum mencapai tempat fertilisasi di *ampula tuba Fallopii* (Toelihere, 1981).

Pengamatan terhadap terjadinya proses fertilisasi antara lain dapat dilakukan dengan cara membuat percobaan pembuahan di luar tubuh (In Vitro fertilization) (IVF). Menurut Supri Ondho (1998) secara garis besar percobaan IVF meliputi serangkaian kegiatan berupa Mengumpulkan ovarium, koleksi oosit, pematangan oosit, kapasitasasi spermatozoa, pembuahan dan perkembangan embrio.

Pelaksanaan Praktikum :

Dalam praktikum ini yang dapat dilaksanakan adalah kegiatan – kegiatan sebagai berikut :

1. Pengumpulan Ovarium dari Rumah Pemotongan Hewan (RPH), Pengumpulan ovarium dilaksanakan dengan mengambil ovarium dari ternak yang dipotong. Selanjutnya ovarium tersebut dimasukkan ke dalam NaCl fisiologis 0,9% dan dibawa ke laboratorium (Supri Ondho, 1998).
2. Koleksi Oosit, proses koleksi oosit ini dapat dilakukan dengan tiga metode yaitu aspirasi (menghisap), sayatan dan injeksi medium (Supri Ondho, 1998). Metode pelaksanaannya sebagai berikut :
 - Teknik Aspirasi
 1. Ovarium dipindahkan ke dalam cawan petri kemudian dicuci/dibilas dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9%.
 2. Ovarium diletakkan di dalam beaker-glass dan pertahankan suhu pada 37.5°C.
 3. Permukaan ovarium dibersihkan sekali lagi dari kemungkinan adanya kotoran yang masih melekat, dengan cara meletakkan diatas kertas saring.
 4. Disposable syringe diisi dengan NaCl fisiologis 0,9% (1-1.5 ml). Gunakan jarum suntik ukuran 21 g yang dipasang pada disposable syringe ukuran 5 ml tersebut.
 5. Tusukan diarahkan pada bagian parenkhim ovarium dekat folikel yang membentuk vesikula (diameter 1-5 mm), kemudian diaspirasi. Atau dapat pula jarum ditusukkan melalui stroma ovarium lalu menuju ke folikel. Cara ini untuk menghindari terlepasnya oosit keluar dari permukaan ovarium melalui permukaan folikel yang tipis.
 6. Setelah seluruh folikel dalam satu ovarium diaspirasi, selanjutnya cairan aspirasi yang

mengumpul memenuhi syringe segera dipindahkan pada petridish 35 mm yang telah dipersiapkan.

7. Jumlah, kualitas oosit, serta waktu yang dibutuhkan dari setiap ovarium dicatat.
8. Oosit yang didapatkan kemudian dibilas sebanyak tiga kali dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9% kemudian dipindahkan sementara ke dalam medium yang sama untuk menunggu proses selanjutnya.

➤ Teknik sayatan

1. Ovarium disayat menjadi empat sampai delapan bagian, kemudian setiap bagian disayat menjadi bagian-bagian yang lebih kecil dengan menggunakan gunting/skalpel dalam cawan petri yang diisi NaCl fisiologis 0,9% secukupnya. Dengan bantuan mikroskop pembesaran 200 kali dapat diidentifikasi oosit yang terdapat dalam ovarium tadi.
2. Dengan menggunakan mikropipet dipindah/dikumpulkan oosit yang sudah diperoleh ke dalam cawan petri lainnya.
3. Dihitung jumlah perolehan dan kualitas oosit, media serta waktu yang dibutuhkan dari setiap ovarium dengan cara ini.
4. Oosit yang didapatkan dibilas tiga kali kemudian dipindahkan ke dalam medium NaCl fisiologis 0,9% untuk dilakukan proses selanjutnya.

➤ Teknik Injeksi Medium

1. Ovarium dicuci bersih dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9%.

2. Isi disposable syringe dengan NaCl fisiologis 0,9% 1-1.5 ml. Tusukan-tusukan dibuat merata diseluruh permukaan ovarium dengan menggunakan jarum ukuran 21 G, kemudian disemprotkan medium perlahan-lahan.
 3. Cairan medium mengandung oosit yang keluar dari ovarium ditampung di dalam petridish.
 4. Hitung dan amati jumlah, kualitas oosit yang dapat diperoleh serta waktu yang dibutuhkan dari setiap ovarium dengan cara ini.
 5. Oosit yang didapatkan kemudian dibilas tiga kali dan dipindahkan ke dalam medium NaCl fisiologis 0,9% untuk dilakukan proses selanjutnya.
3. Pematangan Oosit, proses pematangan oosit dilakukan dengan langkah langkah sebagai berikut (Supri Ondho, 1998) :
- Ke dalam cawan Petri dibuat masing-masing 3 sampai 5 drop medium perlakuan dengan menggunakan pipet berskala, medium ini digunakan untuk membilas oosit sebelum dikultur ke dalam medium pematangan.
 - Kemudian pada cawan Petri yang lain (diameter 65 mm) diberi 4 atau 5 drop medium perlakuan pematangan oosit pada 4 atau 5 posisi (satu drop = 100µl medium). Medium ini kemudian diinkubasi selama 2 jam di gaspack yang mengandung 5% CO₂, temperature 37,5⁰C.
 - Selanjutnya setiap drop medium perlakuan pematangan diisi dengan 10-20 buah oosit yang telah dibilas. Kemudian tutup dengan minyak mineral.
 - Cawan Petri ditutup serta diberi label tentang waktu awal (jam, tanggal, hari), jumlah oosit/drop dan medium perlakuan yang dipergunakan. Kemudian dimasukkan ke dalam gaspak

yang mengandung 5% CO₂, temperature 37,5°C serta kelembaban udara 90-100% selama 24 jam.

4. Kapasitasi Spermatozoa, proses kapasitasi spermatozoa dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut (Supri Ondho, 1998) :

- Enam milliliter medium kapasitasi dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge, kemudian tambahkan 0,5 ml semen segar hasil penampungan dari pejantan terpilih ke dalam tabung tersebut.
- Kemudian disentrifuge pada putaran 485 G selama 7,5 menit.
- Lapisan atas atau supernatant diambil dengan pipet-tip, teknik pengambilan supernatant di pipet melingkar pada bagian tepi tabung agar seluruh material yang terdapat pada supernatant terambil.
- Ke dalam sedimen ditambahkan 6 ml medium kapasitasi, kemudian diulang sekali lagi tahap di atas.
- Untuk membuat konsentrasi sperma menjadi $12,5 \times 10^6$, ditambahkan 2,56 ml medium yang sama.
- Lakukan preinkubasi sperma dalam incubator dengan suhu 37,5°C selama 30 menit, dengan cara memasukkan tabung berisi sperma yang sudah mengalami kapasitasi ke dalam beaker glass berisi aquabidest.
- Sperma siap digunakan untuk fertilisasi In Vitro.

5. Pembuahan di Luar Tubuh, proses pembuahan di luar tubuh melalui langkah-langkah sebagai berikut (Supri Ondho, 1998) :

- Dibuat 4-5 drop medium fertilisasi masing-masing 50 µl pada cawan Petri 65 mm. Oosit yang telah dibilas dipindahkan ke dalam drop-drop medium fertilisasi, masing-masing 10-20 oosit per drop. Kemudian ditutup dengan minyak mineral.

- Sperma yang telah di preinkubasi diambil menggunakan pipet berskala. Sebanyak 50 μ l sperma melalui pipet dimasukkan ke dalam drop-drop berisi oosit. Kemudian cawan Petri ditutup kembali dan diberi label.
- Cawan Petri dimasukkan ke dalam ruang CO₂ 5%, pada suhu 37,5°C (menggunakan gaspack), inkubasi selama 5 jam.
- Setelah diinkubasi selama 5 jam seluruh oosit dibilas, kemudian dilakukan pengamatan terhadap oosit yang berhasil dibuahi/ dipenetrasi oleh sperma.
- Oosit yang telah terbuahi kemudian dibilas sampai 3 kali dengan larutan pembilas.
- Oosit yang terbuahi siap ditumbuhkan dalam medium kultur embrio.

III. PENINGKATAN KESUBURAN

Peningkatan kesuburan ternak dapat dilakukan dengan memanipulasi siklus reproduksi ternak. Salah satu upaya peningkatan kesuburan pada ternak betina adalah superovulasi. Superovulasi menurut Salisbury *et al.* (1985) yaitu :

1. Pemecahan corpus luteum pada pertengahan siklus berahi dan penyuntikan subcutan dengan PMS (sapi biasanya menjadi berahi 2-4 hari kemudian).
2. Penyuntikan PMS secara subcutan kira-kira 4 hari sebelum berahi.
3. Penyuntikan ekstrak kelenjar hipofisa kuda secara subcutan 3 hari berturut-turut, dimulai 6 hari sebelum berahi yang diharapkan.
4. Penyuntikan secara subcutan FSH dan hipofisa domba selama 5 hari berurutan menjelang berahi, diikuti dengan penyuntikan intravenous gonadotrophin chorion atau gonadotropin domba yang masih utuh pada hari ke-6.
5. Penyuntikan satu dosis PMS secara subcutan pada hari ke-5 menjelang berahi diikuti dengan penyuntikan intravenous dengan gonadotrophin domba utuh 6 hari kemudian.
6. Penyuntikan subcutan dengan satu dosis PMS 5 hari menjelang berahi lalu dengan gonadotropin chorion manusia (HCG) secara intravenous 6 hari kemudian.

Pelaksanaan Praktikum :

Dalam praktikum ini akan dilaksanakan pembuatan bahan yang digunakan dalam super ovulasi dan peningkatan kesuburan. Metode super ovulasi dan peningkatan kesuburan antara lain adalah dengan menggunakan penyuntikan hormon FSH atau PMSG. Hormon FSH secara alam diproduksi oleh Kelenjar Hipofisa. Praktikum akan dilaksanakan dengan pembuatan ekstrak hipotalamus dan hipofisa yang diambil dari otak kambing. Metode pelaksanaannya adalah :

- a. Siapkan kepala kambing, kemudian buat potongan melintang dari ujung mulut hingga kepala bagian belakang dengan menggunakan tатаh atau gergaji.
- b. Pemotongan melintang dilakukan secara hati-hati, sehingga bagian kepala kambing dapat dibuka tanpa memotong bagian otak.
- c. Selanjutnya bagian hipotalamus dan hipofisa dipisahkan dari bagian otak dengan cara membuat potongan bentuk segitiga pada bagian cekungan otak bawah.
- d. Selanjutnya hipotalamus dan hipofisa yang terambil digerus menggunakan cawan penggerus. Hasil gerusan tersebut dicampur dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 5 ml.
- e. Hasil campuran tersebut disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit.
- f. Larutan supernatan disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga larutan yang didapat adalah hasil ekstrak hipotalamus dan hipofisa.

DAFTAR PUSTAKA

- Hafez, E.S.E. 1980. *Reproduction in Farm Animal*. 4 th ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
- Nalbandov, A.V. 1990. *Reproduksi pada Mamalia dan Unggas*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Salisbury, G. W. and N. L. van Demark. 1985. *Fisiologi Reproduksi dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta (Diterjemehkan Oleh R. Djanuar).
- Supri Ondho, Y. 1998. *Peningkatan Pematangan Oosit dan Perkembangan Embrio Domba In Vitro melalui Penambahan FSH, Estradiol-17 β dan Kokultur Sel Epitel Tuba Falopii ke Dalam TCM-199*. Disertasi. Program Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Toelihere. MR. 1981. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Penerbit Angkasa Bandung.

UPT-PUSTAK-UNDIP