

**UJI *IN VIVO* SEMEN BEKU HASIL PEMISAHAN  
SPERMATOZOA Y KAMBING PERANAKAN ETTAWA  
(PE) MENGGUNAKAN GRADIEN DENSITAS PERCOLL**

**SKRIPSI**

Oleh:

**ADRIANA GITA TUPEN**

**45 01 035 004**

**BOSOWA**



**JURUSAN PETERNAKAN FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS "45" MAKASSAR**

**2006**

## HALAMAN PEGESAHAN

**UJI *IN VIVO* SEMEN BEKU HASIL PEMISAHAN  
SPERMATOZOA Y KAMBING PERANAKAN ETTAWA  
(PE) MENGGUNAKAN GRADIEN DENSITAS PERCOLL**

Oleh:

**ADRIANA GITA TUPEN**

**45 01 035 004**

***TELAH DIPERTAHANKAN DI DEPAN PENGUJI DAN  
DINYATAKAN LULUS PADA TANGGAL 20 JANUARI 2006***

Menyetujui dan mengesahkan  
Rektor Universitas "45" Makassar



**PROF. DR. ABU HAMID**

**NIP. 130 078 989**

Dekan Fakultas Pertanian  
Universitas "45" Makassar



**Ir. SURYAWATI SALAM, M.Si**

**NIP. 132 005 516**

## LEMBAR PERSETUJUAN


Judul Penelitian : **Uji *In Vivo* Semen Beku Hasil Pemisahan Spermatozoa Y Kambing Peranakan Ettawa (PE) Menggunakan Gradien Densitas Percoll**


Nama Peneliti : **Adriana Gita Tupen**

Stambuk : **45 01 035 004**


Program Studi : **Produksi Ternak**


Skripsi ini telah Diperiksa  
dan Disetujui oleh:

  
**Prof. DR. Ir. H. Abdul Latief Toleng, M.Sc**  
Pembimbing Utama

  
**Ir. Sri Firmiaty, MP**  
Pembimbing Anggota

Diketahui Oleh:

  
**Ir. Hj. Suryawati Salam, M.Si**  
Dekan Fakultas Pertanian

  
**Svarifuddin, S.Pt, MP**  
Ketua Jurusan Peternakan

**Tanggal Lulus: 20 Januari 2006**

## RINGKASAN

ADRIANA GITA TUPEN: Uji *In Vivo* Semen Beku Hasil Pemisahan Spermatozoa Y Kambing Peranakan Ettawa (PE) menggunakan Gradien Densitas Percoll. (Di bawah bimbingan ABD. LATIEF TOLENG) sebagai pembimbing utama dan SRI FIRMIATY sebagai pembimbing anggota).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji keberhasilan kebuntingan setelah melakukan inseminasi buatan pada kambing PE yang berahi alam dan sinkronisasi menggunakan semen beku hasil pemisahan spermatozoa Y dengan metode gradien densitas percoll.

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium UPTD – BIB Makassar, Desa Balang Baru, Kecamatan Batang, Kabupaten Jeneponto dan Laboratorium Divisi dan Radio Isotop Pusat Kegiatan Penelitian (PKP) Universitas Hasanuddin, Makassar.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 35 ekor kambing betina PE dan semen segar. Penginduksi berahi digunakan hormon Gonadotropin (GnRH) merek Receptal, 1 set alat IB, Vagina Buatan dan kit hormon progesteron. Data penelitian ini dianalisis menggunakan Chi – Square Kontingensi 2x2 (Sudjana, 1996).

Prosedur penelitian: semen segar dengan motilitas > 70%, diproses untuk seksing menggunakan metode gradien densitas percoll. Pembekuan dilakukan pada semen dengan kandungan konsentrasi spermatozoa kromosom Y yang tinggi. Ternak yang disinkronisasi diinjeksi menggunakan 0,5 cc GnRH, 24 jam kemudian diamati berahi. Semua ternak di IB menggunakan semen beku hasil seksing metode gradien densitas percoll, baik pada berahi alam maupun hasil sinkronisasi.

Parameter yang diukur yaitu level hormon progesteron dan *Non Return Rate* (NRR).

Hasil penelitian menunjukkan ternak yang disinkronisasi menggunakan GnRH 100% berahi, setelah di IB pengamatan *NRR* ternak yang berahi alam 90,0% dan yang berahi hasil sinkronisasi 86,6%.



## KATA PENGANTAR

Segala hormat, puji dan syukur kuhaturkan kehadiran Tuhan Yesus dan Bunda Maria yang telah membimbing, mengarahkan dan melimpahkan berkat-Nya berupa kekuatan lahir dan batin sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini walaupun dalam bentuk yang sederhana.

Upaya penyelesaian skripsi ini tentunya tidak lepas dari keterlibatan berbagai pihak, oleh karena itu melalui kesempatan ini perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak Prof. Dr. Ir. H. Abd. Latief Toleng, M.Sc sebagai Pembimbing Utama dan Ibu Ir. Sri Firmiatty, MP sebagai Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktunya dengan penuh keikhlasan dan tanggung jawab dalam memberikan bimbingan, arahan dan nasehatnya kepada penulis dari awal penelitian hingga selesai sampai penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih kepada Dekan Fakultas Pertanian dan Ketua Jurusan Peternakan, kepada seluruh Staf Fakultas yang telah banyak membantu dalam kelancaran birokrasi, kepada seluruh dosen pengajar khususnya Jurusan Peternakan yang telah menyalurkan dan mengamalkan ilmu pengetahuannya kepada penulis selama masa perkuliahan.

Ucapan terima kasih pula kepada Bapak Kepala Dinas UPTD-BIB Makassar beserta seluruh staf khususnya bagian laboratorium (Ibu Matilda, Ibu Yahya, Pak

Gunadi) atas segala fasilitas dan bantuannya kepada penulis selama penelitian. Terima kasih pula penulis ucapkan kepada Bapak Kepala Desa Balang Baru, Kecamatan Batang, Kabupaten Jeneponto, Ka' Saleh, S.Pt. beserta seluruh lapisan masyarakat atas kerja samanya selama penulis melakukan penelitian.

Terima kasih yang tulus penulis ucapkan kepada Ka' Dasmaniar yang dengan ikhlas telah memberikan bantuan dan bimbingannya, buat rekan-rekan sesama penelitian Aris, Serli dan Idam atas segala bantuan dan kerja sama yang baik selama penelitian. Terima kasih pula penulis ucapkan buat teman-teman di Fakultas Pertanian khususnya Angkatan 2001 (Anti, Ida), teman-teman di Jurusan Peternakan (Leni, Echi, Pa' Niko, Pa' Martinus, Pa' Darius), teman-teman seperantauan di FKPPM-BTT Flotim – Makassar, teman-teman di Jl. Batua Raya V No. 25, serta seluruh teman-teman yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan moril selama penulis berkiprah menjadi mahasiswa hingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.

Ungkapan rasa hormat dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis persembahkan skripsi ini kepada Ibunda tersayang Martina Yari Lema dan Ayahanda tercinta Yosep Payong Sanga (Alm.) yang telah melahirkan, membesarkan dan memberikan pendidikan yang layak dengan penuh rasa sayang serta senantiasa mendoakan agar kelak menjadi orang yang berbakti kepada keluarga, agama dan bangsa. Terima kasih pula kuucapkan kepada Saudaraku Ka' Yohana Buka Doni, ade Yoseva Dai Boro dan Si Bungsu Yosep Payong Sanga atas dukungan dan

motivasi. Begitu pula ucapan terima kasih kepada nene Susana Solot, nene Marta Ero, buat keluarga besar Om Willem Wurin, Tante Nes Uba (Alm) dan Tante Ester Kewa, Mama Esi Sura dan Bapak Yan Boli, Mama Palan Kopong dan Bapak Buto, Bapak Wurin Geroda dan Mama Tuto Kopong, Ka' Tulit Samon, Om Pater Urbanus, SVD dan semua Opu Wae yang ada di Suku Lewo Tanah yang tidak sempat kusebut satu persatu.

Ucapan terima kasih pula buat saudara sepupu Thres sekeluarga, Jonis, Tina, Frans, Ima, Deni sekeluarga, Nia, Gusti sekeluarga, Eman, Ani, Marlin, Voni, Ita dan Ade Geroda, atas doa dan dorongannya.

Akhirnya penulis menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak, semoga Tuhan Yang Maha Kuasa memberikan balasan yang sebaik-baiknya dan meskipun skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, penulis berharap semoga dapat bermanfaat bagi pembaca, Amin.

Makassar, Januari 2006

Adriana Gita Tupen





## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
RINGKASAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vi
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
PENDAHULUAN	
Latar Belakang .....	1
Hipotesa .....	3
Tujuan dan Kegunaan .....	3
TINJAUAN PUSTAKA	
Karakteristik Kambing Peranakan Ettawa (PE) .....	4
Metode Pemisahan Spermatozoa .....	5
Pemisahan Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll .....	5
Pembekuan Semen .....	7
Inseminasi Buatan .....	9
Kebuntingan .....	11
Metode Radioimmunoassay .....	12
MATERI DAN METODE PENELITIAN	
Waktu dan Tempat .....	14

Materi Penelitian	14
Prosedur Penelitian .....	15
Parameter yang Diukur .....	16
Analisis Konsentrasi Progesteron dalam Serum .....	16
Analisis Data .....	17
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
Sinkronisasi berahi .....	18
Tingkat Kebuntingan .....	19
Level Hormon Progesteron .....	21
<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
Kesimpulan .....	22
Saran .....	22
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	
<b>RIWAYAT HIDUP</b>	



## DAFTAR TABEL

Nomor

*Teks*

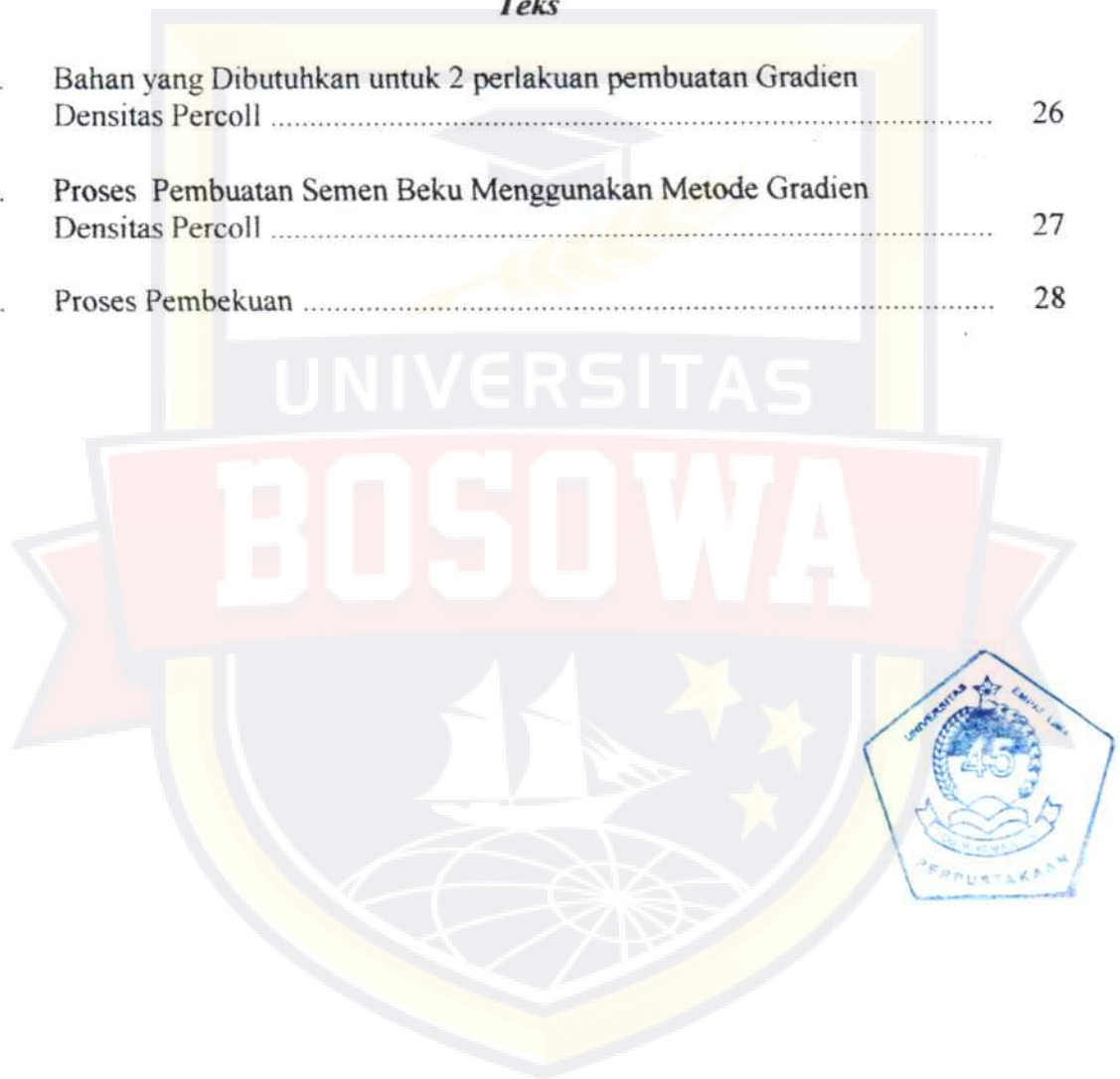
Halaman

1. Tingkat Kebuntingan ..... 19



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Bahan yang Dibutuhkan untuk 2 perlakuan pembuatan Gradien Densitas Percoll .....	26
2.	Proses Pembuatan Semen Beku Menggunakan Metode Gradien Densitas Percoll .....	27
2.	Proses Pembekuan .....	28



## PENDAHULUAN

Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu bioteknologi di bidang reproduksi yang bertujuan untuk meningkatkan mutu genetik ternak. Pemanfaatan IB ini akan mempunyai nilai tambah jika didukung oleh pengembangan bioteknologi di bidang reproduksi seperti pemisahan spermatozoa X dan Y.

Pemisahan spermatozoa merupakan salah satu pengembangan IB menggunakan semen yang mengandung salah satu kromosom kelamin saja dalam konsentrasi yang tinggi. Penggunaan semen yang mengandung spermatozoa Y diharapkan mampu memberikan anak jantan yang kelak dikembangkan sebagai bibit unggul dan ternak potong. Salah satu metode pemisahan spermatozoa yang dapat digunakan adalah metode sentrifugasi gradien densitas percoll. Kaneko, *et al.* (1983) setelah melakukan pemisahan spermatozoa X dan Y pada manusia dengan menggunakan sentrifugasi gradien densitas percoll didapatkan spermatozoa Y sebesar 71,3 persen pada densitas 1,06 mg/ml yang terus menurun dengan meningkatkan densitas percoll. Menurut Susilawati, dkk., (1996) dengan menggunakan sentrifugasi 2250 rpm (850 G) selama 5 menit, maka menghasilkan ratio spermatozoa sebesar 83,1 persen.

Hasil penelitian Firmiaty, dkk., (2004) menunjukkan semen beku hasil pemisahan spermatozoa kambing PE menggunakan metode gradien percoll mempunyai motilitas *post thawing* (PTM) sebesar  $48,0 \pm 3,45$ . Syarat minimal

motilitas semen beku yang ditetapkan oleh Balai Inseminasi Buatan (2000) dapat digunakan untuk IB adalah sebesar  $\geq 40$  persen.

Pelaksanaan IB ini lebih efektif apabila dilakukan sinkronisasi berahi sehingga terjadi kelahiran anak yang relatif seragam. Preparat yang dapat digunakan untuk sinkronisasi berahi ini antara lain prostaglandin (PGF-2 $\alpha$ ), progesteron dan GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*).

Frandsen (1996) menyatakan GnRH merupakan hormon-hormon yang menunjang aktivitas gonad seperti FSH (*Follicle Stimulating Hormone*), LH (*Luteinizing Hormone*) dan LTH (*Luteotropic Hormone*). FSH menyebabkan pertumbuhan folikel pada ovarium. Perkembangan folikel ini akan menghasilkan folikel de Graaf, pada saat inilah kadar hormon estrogen mencapai puncak sehingga ternak menjadi berahi. Diperjelas oleh Partodihardjo (1992) bahwa hormon estrogen dihasilkan pada lapisan teka interna dari folikel, jika folikel de graaf mencapai kebesaran yang optimal, maka jumlah sel-sel teka interna juga mencapai maksimal.

Penelitian tentang semen beku hasil pemisahan spermatozoa telah banyak dilakukan, namun penggunaan di lapangan belum banyak dilaporkan, khususnya pada ternak kambing.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka perlu dilakukan uji *in vivo* semen beku kambing PE hasil pemisahan spermatozoa Y menggunakan gradien densitas percoll dengan melakukan inseminasi pada kambing PE.

## Hipotesa

Semen beku hasil pemisahan spermatozoa Y memberikan kebuntingan yang tinggi (>50%) baik bagi induk yang berahi alam maupun yang disinkronisasi.

## Tujuan dan Kegunaan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji keberhasilan kebuntingan setelah melakukan inseminasi buatan pada kambing PE yang berahi alam dan sinkronisasi menggunakan semen beku kambing PE hasil pemisahan spermatozoa Y dengan metode gradien densitas percoll.

Kegunaan penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi pengembangan bidang ilmu reproduksi peternakan dalam pemanfaatan semen beku hasil pemisahan spermatozoa kambing PE.



## TINJAUAN PUSTAKA

### Karakteristik Kambing Peranakan Ettawa (PE)

Kambing adalah suatu jenis ternak yang sudah lama dikenal petani dan mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan karena pemeliharaan kambing hanya diperlukan sarana yang relatif sederhana, modal yang dibutuhkan tidak terlalu besar, tidak menuntut areal tanah yang luas dan cara-cara pemeliharaannya tidak terlalu sulit serta cepat berkembang biak ( Direktorat Jenderal Peternakan, 1981 ).

Kambing yang dikenal sekarang merupakan keturunan dari tiga jenis kambing liar yang termasuk jenis *Capra* yaitu *Capra falconeri* yang berasal dari daerah Khasmir, *Capra hircus* yang berasal dari Pakistan dan Turki serta *Capra prisca* yang berasal dari sepanjang semenanjung Balkan ( Muljana,1982 ).

Kambing peranakan Ettawa (PE) merupakan hasil persilangan antara kambing Ettawa dengan kambing Kacang, dengan ciri-ciri tubuh besar dan tinggi, bulu kaki panjang, baik jantan maupun betina bertanduk, telinga terhelai panjang. Kambing PE merupakan penghasil daging dan susu ( Nazaruddin dan Viviani, 1991 )

Kambing PE dikenal dengan kambing Kaligesing dengan postur tubuh jauh lebih besar dari kambing Kacang dan telinganya menggantung (Setiadi,1987). Kambing PE kini banyak terdapat di Sulawesi Selatan, antara lain di Kabupaten Majene dan Kabupaten Jeneponto yang merupakan pusat pengembangan kambing.



## Metode Pemisahan Spermatozoa

Metode pemisahan spermatozoa adalah suatu cara pemisahan spermatozoa X dan Y yang dapat dilakukan dengan cara dan bahan yang bermacam-macam. Berbagai metode pemisahan sperma telah dilakukan, antara lain electrophoresis (berdasarkan muatan listrik yang dimiliki oleh masing-masing spermatozoa), filtrasi sephadex G-200 (pemisahan yang menggunakan gel yang dibuat dari bahan dasar dextrane), gradien konsentrasi putih telur (pemisahan dengan menggunakan albumen dari putih telur), dan Bovine serum albumin (pemisahan dengan bahan kimia yang berisi albumin yang berasal dari sapi) serta sentrifugasi gradien densitas percoll (pemisahan dengan perlakuan sentrifugasi yang menggunakan media densitas percoll) (Susilawati, 2003).



### **Pemisahan Spermatozoa Pembawa Kromosom X dan Y dengan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll**

Percoll adalah medium yang terdiri dari partikel koloid yang diselaputi dengan polyvenilpyrolidone (PVP) yang dapat meningkatkan mortalitas spermatozoa. Selama ini percoll digunakan untuk memisahkan darah seperti fraksi-fraksi limposit, monosit, eritrosit dan thimosit juga partikel sub seluler seperti membran plasma, liposome dan mitochondria, selain itu juga dapat digunakan untuk memisahkan virus, bakteri dan spermatozoa (Mc Clure, *et al.*, 1989 yang dilaporkan oleh Susilawati, dkk., 1998 ).

4. Densitas : percoll memiliki densitas  $1,13 \pm 0,005$  g/ml dan dapat membentuk gradien densitas di bawah 1,13 g/ml, untuk pemisahan sel-sel diencerkan dengan garam fisiologis atau medium kultur jaringan.

Tingkat keberhasilan pemisahan spermatozoa menggunakan metode gradien percoll disentrifugasi 2250 rpm (850G) selama 5 menit, menghasilkan ratio atas dasar ukuran kepala sebesar 83,1 persen dengan penurunan motilitas sekitar 10 persen (Susilawati, 2003).

Spermatozoa hasil pemisahan ini agar dapat hidup lebih lama dan digunakan dalam jangka waktu yang lebih lama, maka dilakukan proses pembekuan semen.

### **Pembekuan Semen**

Pembekuan semen merupakan salah satu teknologi inseminasi yang sudah cukup lama dikenal. Menurut Toelihere (1993) Indonesia mulai mengimpor semen beku sejak tahun 1973 atas kerja sama dengan pemerintah Inggris dan Selandia Baru. Produksi semen beku di Indonesia sendiri pertama kali dilakukan pada departemen reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB pada bulan Desember 1974.

Keuntungan penggunaan semen beku antara lain memungkinkan penggunaan pejantan unggul, baik yang masih sehat maupun yang terluka atau sudah tua digunakan secara efisien sepanjang tahun, penyimpanan dalam nitrogen cair pada suhu  $-196^{\circ}\text{C}$  memungkinkan spermatozoa untuk tetap hidup dalam waktu yang tak terhingga. Semen beku juga memungkinkan perkawinan selektif dengan pejantan-pejantan unggul untuk daerah luas (Toelihere, 1993).

Toelihere (1993) menjelaskan bahwa pembekuan merupakan suatu fenomena pengeringan fisik. Pada pembekuan semen akan terbentuk kristal-kristal es, terjadi penumpukan elektrolit dan bahan terlarut lainnya di dalam larutan. Kristal-kristal es intraseluler dapat merusak spermatozoa secara mekanik. Hal ini dapat menyebabkan kerusakan sperma, sehingga dapat memberikan sedikit kerugian atau bahkan menghilangkan daya fertilitas individu dalam membuahi sel telur betina. Kerusakan 20 persen dari seluruh spermatozoa pada waktu pembekuan masih dianggap memuaskan.

Perez, *et al.* ( 2001 ) menyatakan bahwa salah satu efek pembekuan yaitu kejutan dingin (*cold shock*) yang menyebabkan kerusakan membran plasma spermatozoa dan kehilangan beberapa kemampuan. Efek pembekuan adalah berbeda pada beberapa individu, spermatozoa kambing dan domba lebih mudah mengalami stres karena *cold shock* daripada spermatozoa sapi, kelinci atau manusia.

*Cold shock* spermatozoa dapat dicegah dengan penambahan bahan-bahan dalam pengencer yang memberikan perlindungan sel spermatozoa. Kuning telur yang mengandung lipoprotein dan lechitin dapat mempertahankan dan melindungi selubung lipoprotein dan sel spermatozoa (Sahni dan Mohan, 1990 yang disitasi oleh Hedah, 1997). Davendra dan Burns (1997) menyatakan bahwa spermatozoa pejantan kambing Jamnapari dan kambing PE menunjukkan daya hidup yang lebih baik daripada spermatozoa pejantan kambing Barbari.

## Inseminasi Buatan

Pengertian Inseminasi Buatan (IB) bukan hanya mendeposisikan semen saja akan tetapi masih mempunyai arti yang luas yakni meliputi seleksi pemeliharaan dan evaluasi semen, pengenceran semen dan penyimpanan atau pengawetan serta pengangkutan semen (Sumbung, dkk.,1977).

Salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan sebelum melakukan inseminasi buatan yaitu waktu optimum karena inseminasi lebih awal atau lambat, maka akan menyebabkan tidak terjadinya fertilisasi sehingga angka konsepsi menjadi rendah. Cepat lambatnya waktu inseminasi diperhitungkan berdasarkan kapasitas, yaitu proses fisiologi yang dialami oleh spermatozoa di dalam saluran kelamin betina untuk memperoleh kapasitas atau kemampuan membuahi ovum (Toilehere, 1993).

Berahi atau estrus adalah saat ternak betina bersedia untuk melakukan kopulasi. Tanda-tanda berahi pada ternak kambing yang spesifik yaitu ternak gelisah, suka menaiki temannya, mengibas-ngibas ekornya, mendekati pejantan dan diam apabila dinaiki (Evans and Maxwell, 1987). Panjang siklus berahi pada kambing sangat beragam yaitu 18 – 21 hari (Devendra and Burn, 1994), dan 17 – 24 hari (Evans and Maxwell, 1987), dengan lama berahi 24 – 36 jam (Devendra and Burn, 1994). Evans and Maxwell (1987) bahwa rata-rata lama berahi pada kambing dewasa 20 – 40 jam, sedangkan kambing muda 18 – 30 jam. Seiring dengan pendapat Sodiq dan Zainal (2002), bahwa siklus berahi pada kambing PE 18 – 21 hari, dan lama berahi 24 – 36 jam.

Pengamatan terhadap berahi ternak adalah sangat penting karena berhubungan dengan terjadinya ovulasi dan menentukan saat yang tepat untuk mengawinkan ternak ataupun melaksanakan IB, sehingga terjadi kebuntingan.

Ovulasi pada kambing terjadi sekitar 24 – 36 jam (Hafes, 1993), 30 – 36 jam setelah terlihat tanda-tanda berahi (Evans and Maxwell, 1987).

Waktu optimum pelaksanaan IB yaitu 12 – 18 jam setelah terlihat tanda-tanda berahi (Evans and Maxwell, 1987), hasil terbaik 9 – 24 jam dan baik pada 6 – 9 jam atau 24 – 28 jam (Herman, *et al*, 1994), 12 jam dan 1 hari kemudian diinseminasi lagi apabila ternak masih menunjukkan gejala berahi (Hafez, 1993), sedangkan menurut Sodiq dan Zainal (2002) pada kambing PE sebaiknya dikawinkan pada 8 – 12 jam.

Pelaksanaan IB lebih efektif apabila dilaksanakan pada ternak kambing yang telah disinkronisasi berahi karena menghemat waktu bagi inseminator dalam melaksanakan IB dan diharapkan terjadi kelahiran ternak kambing yang relatif seragam. Pelaksanaan sinkronisasi ini dapat digunakan beberapa preparat hormon yaitu hormon progesteron, prostaglandin (PGF-2 $\alpha$ ) dan GnRH. GnRH merupakan hormon-hormon yang menunjang aktivitas gonad seperti FSH (*Follicle Stimulating Hormone*), LH (*Luteinizing Hormone*) dan LTH (*Luteotropic Hormone*). FSH menyebabkan pertumbuhan folikel pada ovarium. Perkembangan folikel ini akan menghasilkan folikel de Graaf, pada saat inilah kadar hormon estrogen mencapai puncak sehingga ternak menjadi berahi. Partodihardjo (1992) hormon estrogen

dihasilkan pada lapisan teka interna dari folikel, jika folikel de Graaf mencapai kebesaran yang optimal, maka jumlah sel-sel teka interna juga mencapai maksimal.

### **Kebuntingan**

Periode kebuntingan dimulai dengan pembuahan dan berakhir dengan kelahiran anak yang hidup (Salisbury dan Vandemark, 1985). Seiring dengan pendapat Partodihardjo (1992), dan Toilehere (1993), bahwa satu periode kebuntingan adalah periode dari mulai terjadinya fertilisasi sampai terjadinya kelahiran normal.

Waktu kebuntingan untuk setiap spesies berbeda untuk kambing 147 hari, domba berkisar antara 148 hari, sapi 270 hari dan kuda berkisar 337 hari (Toilehere, 1993).

Tanda-tanda kebuntingan adalah tidak terjadinya berahi lagi atau tidak minta kawin lagi atau dalam istilah Inseminasi Buatan yaitu *Non Return Rate* (Partodihardjo; 1992).

Hormon progesteron dikenal sebagai hormon kebuntingan karena menyebabkan penebalan indometrium dan perkembangan kelenjar uterin mendahului terjadinya implantasi ovum yang telah dibuahi. Progesteron terutama dihasilkan oleh *corpus luteum (CL)*, tetapi juga dihasilkan oleh adrenal korteks, plasenta dan testes (Frandsen, 1996).

terbentuknya CL. Hilangnya hormon progesteron dari peredaran darah, misalnya dengan jalan membuang CL maka proses kebuntingan terganggu dan terjadi abortus. Pada waktu plasenta telah terbentuk, maka terbentuk pula sumber-sumber progesteron dan estrogen. Perbandingan kadar progesteron dan estrogen secara biologik telah diatur oleh plasenta sedemikian rupa sehingga imbangannya menyebabkan kebuntingan dapat berlangsung baik sampai kelahiran tiba (Partodihardjo, 1992).

Kebuntingan dapat dideteksi dengan melihat kadar hormon progesteron dan ternak yang tidak berahi kembali (*Non Return Rate*). Pemeriksaan level hormon progesteron dapat menggunakan metode RIA (IAEA, 1984).

### **Metode Radioimmunoassay**

Penentuan adanya hormon dalam tubuh secara kualitatif dapat dipakai metode bioassay (uji biologi) sedang secara kuantitatif dipergunakan radioimmunoassay (RIA) (Partodihardjo, 1992).

Dua metode analisis yang penting untuk pengukuran perubahan-perubahan aras (level) hormon selama siklus berahi secara lebih tepat yakni metode uji immunradioaktif (Radioimmunoassay atau RIA), dan uji peningkatan protein (protein-protein assay). Metode RIA sangat sensitif dan dapat mendeteksi dengan baik hormon protein maupun hormon steroid meskipun dalam jumlah yang sangat kecil (Nalbandov, 1990).

Teknik Radioimmunoassay (RIA) adalah teknik yang dikembangkan dengan maksud mengukur kadar progesteron dalam plasma atau serum darah serta susu untuk

memonitor siklus berahi atau kebuntingan pada spesies domestikasi, meliputi sapi, kambing, kuda dan babi. (IAEA, 1984).





## MATERI DAN METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan yaitu pada bulan September sampai November 2005.

Lokasi penelitian untuk penampungan semen dan pemisahan serta pembekuan spermatozoa dilakukan di Laboratorium UPTD – BIB, Makassar, Sulawesi Selatan.

Pelaksanaan IB dilaksanakan di Desa Balang Baru, Kecamatan Batang, Kabupaten Jeneponto, Sulawesi Selatan.

Analisis progesteron dilakukan di Laboratorium Divisi Energi dan Isotop Pusat Kegiatan Penelitian (PKP) Universitas Hasanuddin, Makassar.

### Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Semen segar kambing PE yang mempunyai motilitas  $\geq 70\%$
- 35 ekor kambing PE milik rakyat yang telah beranak
- Preparat hormon Gonadotropin (GnRH) merek Receptal untuk sinkronisasi berahi.
- 1 set alat IB kambing
- Vagina buatan
- Kit hormon progesteron.

## Prosedur Penelitian:

### 1. Pembuatan Semen Beku

- Menampung semen segar kambing PE menggunakan vagina buatan
- Semen yang memenuhi syarat mempunyai motilitas  $\geq 70\%$ , diproses untuk pembuatan semen beku metode gradien densitas percoll. (Lampiran 2.).
- Semen hasil seksing yang banyak mengandung spermatozoa kromosom Y dibekukan. (Lampiran 3).

### 2. Pelaksanaan Inseminasi

- Ternak dibagi dalam dua kelompok  
Kelompok 1 : Ternak berahi alam (n = 20 ekor)  
Kelompok 2 : Ternak disinkronisasi menggunakan GnRH (n = 15 ekor)
- Semua kambing milik rakyat yang dipelihara secara semi intensif
- Pengamatan berahi dilakukan 1 bulan sebelumnya, setelah itu dilakukan IB pada ternak yang berahi alam.
- Pelaksanaan sinkronisasi dilakukan dengan injeksi GnRH sebanyak 0,5 cc/ekor.
- 24 jam kemudian diamati tanda-tanda berahi.
- Pada kedua kelompok, ternak yang menunjukkan tanda berahi dilakukan inseminasi menggunakan semen beku hasil pemisahan spermatozoa Y dengan gradien densitas percoll.



- Pada hari ke 21 setelah IB, sampel darah diambil untuk dianalisis kadar hormon progesteron menggunakan metode RIA untuk deteksi kebuntingan.

### **Parameter Yang Diukur**

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah tingkat kebuntingan.

Indikasi kebuntingan ditandai dengan:

1. Level hormon progesteron: Level progesteron yang tinggi ( $> 1$  ng/ml) pada hari ke-21 setelah IB, diindikasikan bunting.
2. *NRR* : *Non Return Rate* Merupakan persentase dari jumlah ternak yang tidak kembali berahi setelah dikawinkan. (Partodihardjo, 1992). Ternak yang tidak minta kawin lagi dianggap bunting.

### **Analisis Konsentrasi Progesteron dalam Serum**

Sampel darah yang telah diambil kemudian disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan *3000 rpm* sehingga diperoleh plasma darah (serum darah) kemudian dipipet ke dalam tabung sampel dan dianalisis dengan menggunakan metode Radioimmunoassay (RIA).

Tabung Kit yang telah berisi sampel darah kemudian diberi radioisotop sebanyak 1 cc pertabung, kemudian diforteks (mixer) agar menjadi homogen. kemudian plasma darah tersebut diinkubasi selama 4 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , setelah itu dituang dan dihitung CPMnya dengan menggunakan Gammatec II. Setelah dihitung

pencacahan radioaktifnya dengan menggunakan Gammatec II maka nilai *Count Per Menite* (CPM) tersebut kemudian dikonversikan dalam bentuk persen (%) Bound dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Bound} = \frac{\text{Nilai CPM Sampel}}{\text{Nilai CPM Standar}} \times 100 \%$$

### Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Uji Chi-Square kontingensi 2 x 2 (Sudjana, 1996)

$$\chi^2 = \frac{n(|ad - bc| - 1/2n)^2}{(a+b)(a+c)(b+d)(c+d)}$$

- Keterangan:
- a = Jumlah ternak yang bunting hasil sinkronisasi berahi
  - b = Jumlah ternak yang tidak bunting hasil sinkronisasi berahi
  - c = Jumlah ternak yang bunting hasil berahi alam
  - d = Jumlah ternak yang tidak bunting hasil berahi alam
  - n = Jumlah ternak yang diinseminasi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Sinkronisasi Berahi

Penggunaan preparat GnRH dalam sinkronisasi berahi pada ternak kambing menunjukkan bahwa setelah diinjeksi menggunakan GnRH sebanyak 0,5 cc/ekor, semua ternak kambing menunjukkan gejala berahi (100%) dan rata-rata waktu timbulnya berahi 22,982 jam.

Hasil ini menunjukkan bahwa preparat hormon GnRH efektif digunakan untuk tujuan sinkronisasi berahi pada ternak kambing. Sesuai pendapat Frandson (1996), GnRH adalah hormon yang menunjang aktivitas gonad seperti FSH (*Follicle Stimulating Hormone*), LH (*Luteinizing Hormone*) dan LTH (*Luteotropic Hormone*). FSH menyebabkan pertumbuhan folikel pada ovarium. Perkembangan folikel ini akan menghasilkan folikel de Graaf, pada saat inilah kadar hormon estrogen mencapai puncak sehingga ternak menjadi berahi. Seiring dengan Partodihardjo (1992) hormon estrogen dihasilkan pada lapisan teka interna dari folikel, jika folikel de Graaf mencapai maksimal.

Hal tersebut di atas menyebabkan jumlah hormon estrogen yang dihasilkan juga mencapai puncaknya, sehingga ternak menjadi berahi. Evans and Maxwell (1987) tanda-tanda berahi pada ternak kambing yang spesifik yaitu ternak gelisah, suka menaiki temannya, mengibas-ibaskan ekornya, mendekati pejantan dan diam apabila dinaiki.



Kemungkinan juga kambing yang diberi perlakuan GnRH, pada saat itu telah terdapat beberapa folikel yang matang (*growing follicle*) pada ovariumnya sehingga mempercepat follikel tersebut mencapai ukuran yang maksimal..

Berdasarkan hal ini maka tujuan sinkronisasi pada kambing sebaiknya menggunakan GnRH karena tidak menyebabkan keguguran pada ternak apabila tidak diketahui secara pasti kondisi bunting atau tidaknya ternak tersebut. Selain itu menurut Hutchinson (1993) bahwa pemberian GnRH juga dapat meningkatkan jumlah ovulasi.

### Tingkat Kebuntingan

Pengamatan terhadap berahi ternak adalah sangat penting karena berhubungan dengan terjadinya ovulasi menentukan saat yang tepat untuk mengawinkan ternak ataupun melaksanakan IB, sehingga terjadi kebuntingan.

Tabel 1. Tingkat Kebuntingan

No	Perlakuan	Berahi – IB (Jam)	Bunting	Tidak	CR
1	Kelompok I	26,4	18	2	90,0
2	Kelompok II	26,9	13	2	86,6
	Jumlah	-	31	4	88

Setelah dilakukan pengamatan pada *NRR*, semakin membesarnya perut bagian kanan, dan mulai terjadi pembesaran ambing pada kambing-kambing yang telah diinseminasi, maka secara keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan tingkat kebuntingan (*Conception Rate: CR*) sebesar 88% dari 35 ekor yang diinseminasi.

Hasil ini masih lebih tinggi daripada hasil IB menggunakan semen cair yang dilakukan oleh Herman *et al.* (1994) yaitu sebesar 65 – 75%.

Beberapa kemungkinan faktor yang menyebabkan keberhasilan IB pada penelitian ini yaitu ternak yang diinseminasi fertilitasnya baik, semen beku yang digunakan mempunyai fertilitas tinggi sesuai syarat minimal motilitas semen beku ( $\geq 40\%$ ), dan pendeteksian berahi yang akurat serta waktu pelaksanaan IB yang optimum. Pelaksanaan IB dalam penelitian ini rata-rata 26,65 jam setelah terlihat gejala berahi. Seiring pendapat Herman *et al.*, (1994) bahwa pelaksanaan IB dengan hasil baik adalah pada 6 – 9 jam atau 24 – 28 jam setelah terlihat tanda-tanda berahi.

### **Level Hormon Progesteron**

Pengukuran kadar hormon progesteron dipakai sebagai salah satu diagnosa kebuntingan secara hormonal. Teknik radioimmunoassay (RIA) adalah teknik yang dikembangkan dengan tujuan mengukur kadar progesteron dalam plasma atau serum darah serta susu, untuk memonitor siklus berahi atau kebuntingan pada spesies domestikasi meliputi sapi, kambing, kuda, dan babi (IAEA, 1984).

Penelitian ini ternak yang bunting mempunyai level progesteron berkisar antara 3,94 – 8,8 ng/ml. Hal ini sejalan dengan pendapat IAEA (1984), konsentrasi progesteron saat kambing bunting pada 21 hari setelah IB adalah terkadang  $> 2$  ng/ml (6,4 nmol/l). Pada domba selama fase luteal kira-kira 2 – 4 ng/ml, sedang pada waktu

estrus sekitar 0,15 – 0,8 ng/ml. Peningkatan konsentrasi progesteron dari 2 – 4 ng/ml menjadi 12 – 20 ng/ml juga terjadi pada umur kebuntingan 60 – 125 hari. Peningkatan ini terjadi karena progesteron juga dihasilkan oleh plasenta.

Hormon progesteron disebut juga hormon kebuntingan yang dihasilkan oleh CL pada saat ternak bunting, karena menyebabkan penebalan endometrium dan perkembangan kelenjar uterin mendahului terjadinya implantasi ovum yang dibuahi (Frandsen, 1996).

Ternak yang tidak bunting level progesteron berkisar antara 0,19 – 0,43 ng/ml. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Suastawa (1953) kadar hormon progesteron pada saat ternak berahi sangat rendah ( $0,87 \pm 1,0$  nmol/l), mulai meningkat pada hari ke-3 setelah berahi dan mencapai level tertinggi (47,3 nmol/l) pada hari sebelum berahi berikutnya.





## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan:

- a. Angka kebuntingan inseminasi menggunakan semen beku (88%) tinggi baik pada berahi alam maupun sinkronisasi.
- b. Penggunaan preparat GnRH efektif digunakan untuk tujuan sinkronisasi berahi pada ternak kambing.

### Saran

Disarankan mengamati seks rasio anak yang akan lahir dari induk-induk bunting, untuk mengetahui keefektivitasan seksing spermatozoa menggunakan metode gradien densitas percoll.



## DAFTAR PUSTAKA

- Davendra, C., and M. Burns. 1994. *Produksi Kambing di Daerah Tropis*. Universitas Udayana. Bandung.
- \_\_\_\_\_. 1997. *Produksi Kambing di Daerah Tropis*. ITB. Bandung.
- Direktorat Jenderal Peternakan. 1981. *Pola Operasional Pembinaan Sumber Bibit Kambing*. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Direktorat Perbibitan. 2000. *Produksi dan Distribusi Semen Beku*. DEPTAN Direktorat Jenderal Produksi Peternakan Prosedur Tetap (PROSTAP). Jakarta.
- Downson, R.M.C., Elliot, W.H., Jones, K.M. 1986. *Data For Biochemical Research 3<sup>rd</sup> Edition*. Oxford Science Publication, Now York : 514-515. 1986.
- Evans, G and McWell, WMC. 1990. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths Pty Limited. Australia.
- Firmiaty, S., Murniaty, T., Toleng, AL., dan Rahardja, DP. 2004. *Upaya Meningkatkan Ratio Kelahiran Jantan Pada Ternak Kambing dalam Meningkatkan Pendapatan Petani, Laporan Hibah Pekerti Angkatan II, th. 2004*. Fakultas Pertanian Universitas 45. Makassar.
- Franson, R.D., 1996. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Penerbit Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction in farm Animals*. 6<sup>th</sup> Edition Lea & Febiger. Philadelphia.
- Hedah, D. 1997. *Pengaruh Penggunaan Berbagai Konsentrasi Raffinosa dalam Pengencer Semen Terhadap Kualitas Semen Beku*. Tesis Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang
- Herman, H.A., Mitchell, J.R., Doak, G.A. 1994. *The Artificial Insemination and Embryo Transfer of Dairy and Beef Cattle*. Interstate Publishers. Inc. Danville, Illionois.
- Hutchinson, J.S.M. 1993. *Controlling Reproduction*. Chapman & Hall. London.

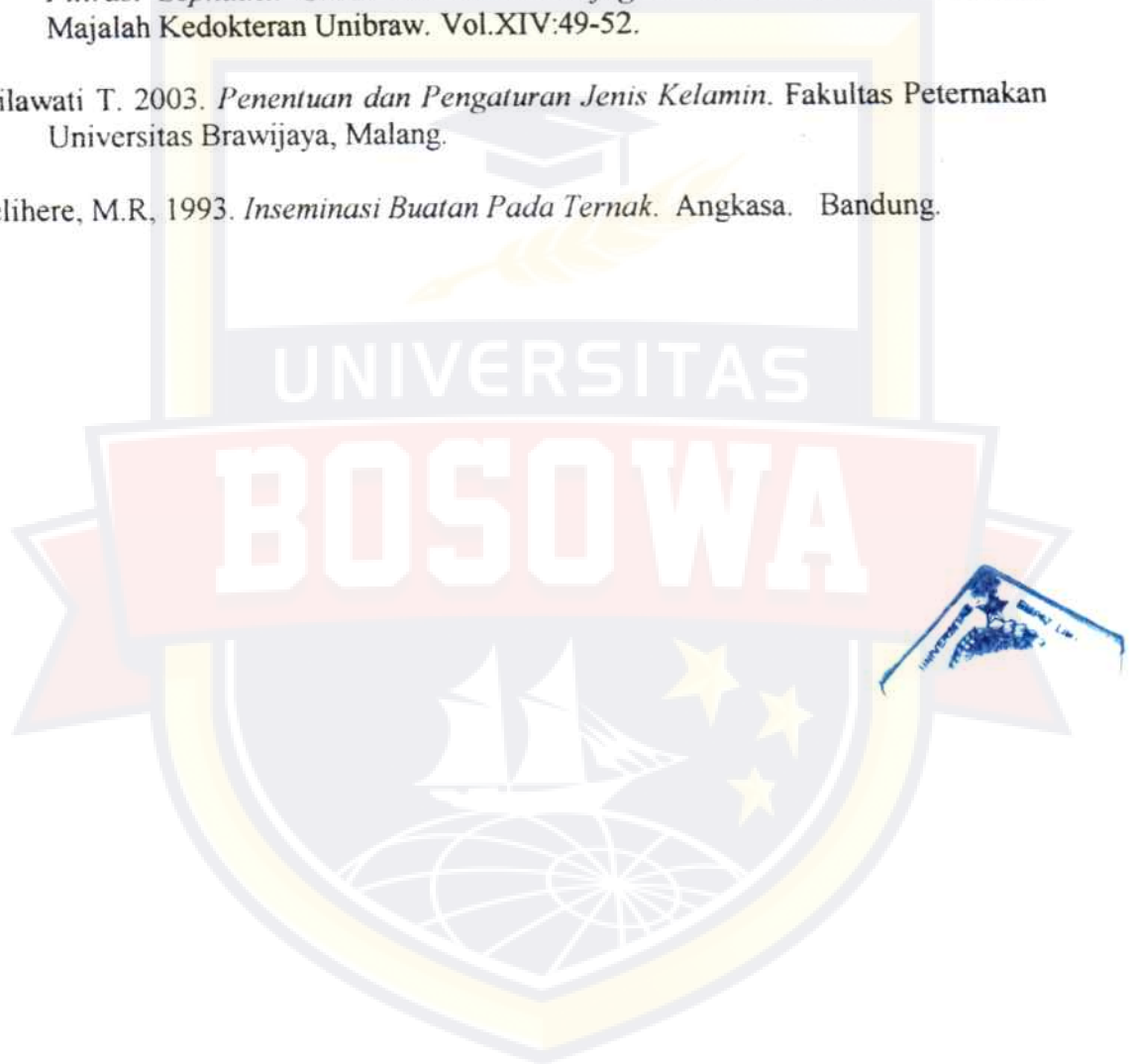
- IAEA. 1984. *International Atomic Energy Agency, Laboratorium on Radioimmunoassay in Animal Reproduction*. Technical Reports Series No. 233, Vienna Austria.
- Kaneko, J. Yamaguchi, T. Kobayashi and R. Rizuka. 1983. *Separation of Human X and Y Bearing Sperm Using Percoll Density Gradient*. J. Fertil Steril. 40:235:246.
- Muljana. W. 1982. *Cara Beternak Kambing, Aneka Ilmu*. Semarang
- Nalbandov, A.V. 1990. *Fisiologi Reproduksi Pada Mammalia dan Unggas*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Nazaruddin dan K., Viviani. 1991. *Petunjuk Praktis Usaha Peternakan*. PT. Mahkota. Jakarta.
- Partodihardjo. S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Jaya. Jakarta.
- Perez. Pe, R.J.A. Cebrian. Perez and T. Muino Blanco. 2001. *Semen Plasma Proteins Prevent Cold Shock Membrane Damage to Ram Spermatozoa*. *Theriogenology*. Vol.56:425-434.
- Salisbury, G.W., N.L Vandemark dan R. Djanuar. 1985. *Fisiologi Reproduksi Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setiadi, B. 1987. *Studi Karakteristik Kambing Peranakan Ettawa*. Tesis Fakultas Pascasarjana, IPB. Bogor.
- Sodiq, A dan Abidin, Z. 2002. *Kambing PE Penghasil Susu Berkhasiat Obat*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Suastawa, I.K.G. 1993. *Profil Hormon Progesteron dalam Serum Selama Siklus Berahi pada Kambing Kacang*. Skripsi Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Ujung Pandang.
- Sudjana, 1996. *Metode Statistika*. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Sumbung, F.P.D Patunru dan J.T Batosamma. 1977. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang.

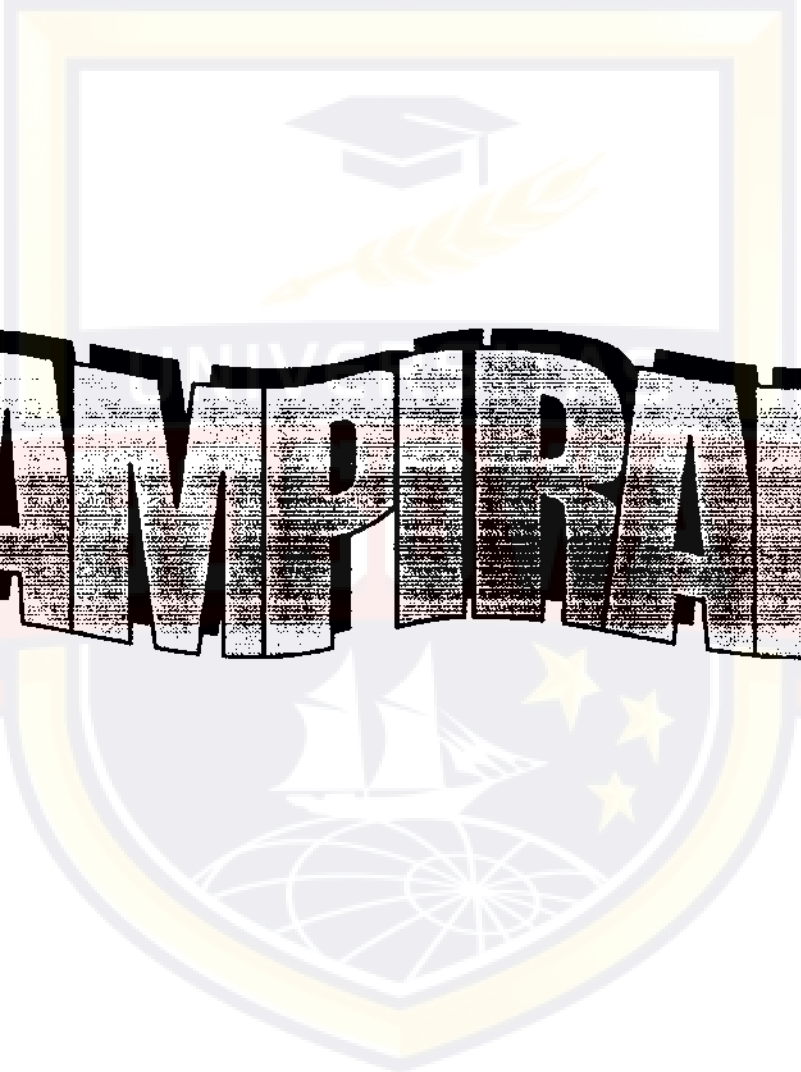
Susilawati, T. Sumitro, SB., Rahayu, S., Ciptadi, G., Isnaeni, N., 1996. *Separation of X-Y Chromosome Bearing Sperm in Indonesia Native Bull with Sephadex G-200*. The 13<sup>th</sup> Int. Cong On Animal Reproduction Darling Harbour Convention Center, Sydney, 24:3.

Susilawati dan S.B. Sumitro. 1998. *Sexing Spermatozoa Manusia Dengan Metode Filtrasi Sephadex GnRH-100 dan Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll*. Majalah Kedokteran Unibraw. Vol.XIV:49-52.

Susilawati T. 2003. *Penentuan dan Pengaturan Jenis Kelamin*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang.

Toelihere, M.R, 1993. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.





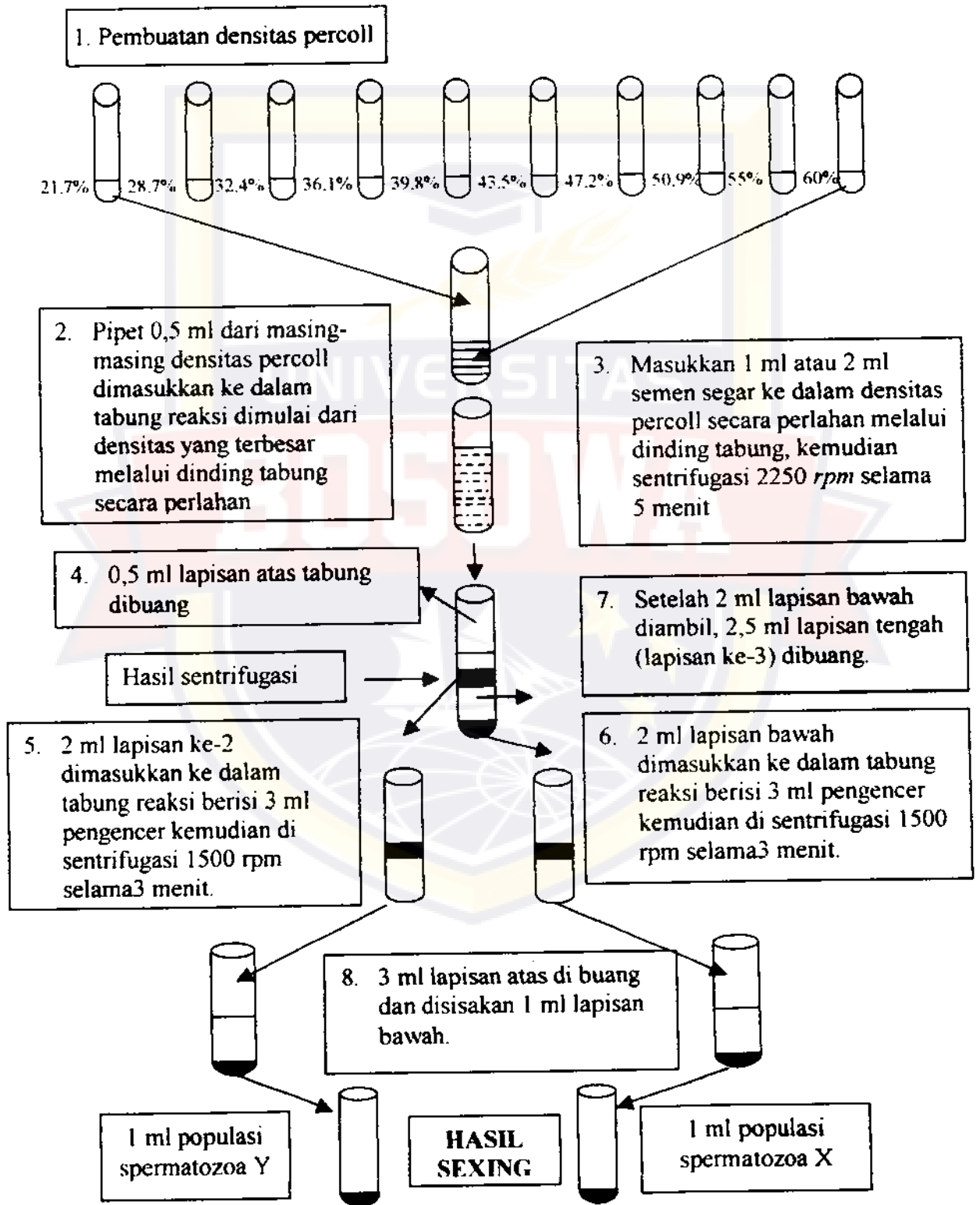
LAMPURAN

## LAMPIRAN

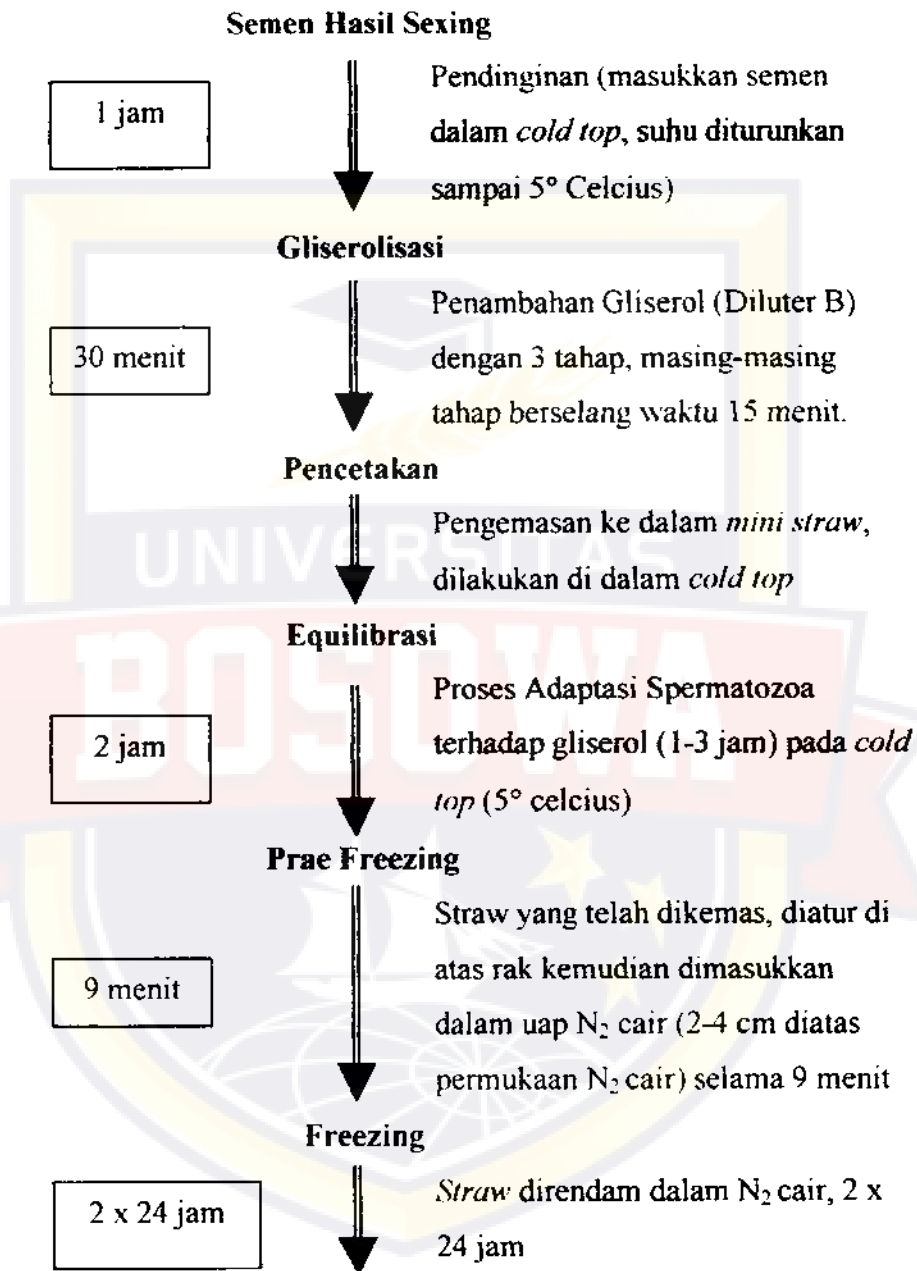
### *Lampiran 1. Bahan Yang Dibutuhkan Untuk 2 Perlakuan Pembuatan Gradien Densitas Percoll*

No	Persentase Percoll (%)	Percoll (ml)	Pengencer (ml)
1.	21,7	0,217	0,783
2.	28,7	0,287	0,713
3.	32,4	0,324	0,676
4.	36,1	0,361	0,639
5.	39,8	0,398	0,602
6.	43,5	0,435	0,565
7.	47,2	0,472	0,528
8.	50,9	0,509	0,491
9.	55,0	0,550	0,450
10.	60,0	0,600	0,400
	Jumlah Total	4,153	5,847

**Lampiran 2. Proses Pembuatan Semen Beku Menggunakan Metode Gradien Densitas Percoll**



**Lampiran 3. Proses Pembekuan**





## RIWAYAT HIDUP



**ADRIANA GITA TUPEN.** Dilahirkan pada tanggal 07 Agustus 1980, di Tewelu, Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT), anak kedua dari empat bersaudara dari pasangan Ibunda Martina Yari Lema dan Ayahanda Yosep Payong Sanga (Alm).

Pendidikan yang ditempuh penulis:

- Tamat Sekolah Dasar (SD) Inpres Watowaeng, Kabupaten Flores Timur, Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) pada tahun 1992.
- Tamat Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri Boru, Kecamatan Wulanggitang, NTT pada tahun 1995.
- Tamat Sekolah Pertanian Pembangunan (SPP) St. Isidorus Boawae, Kabupaten Ngada, NTT pada tahun 1999.
- Terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian Universitas "45" Makassar pada tahun 2001.